

بررسی تکوین اندام‌های زایشی در گیاه دارویی تشنه‌داری *Scrophularia striata* Boiss.

احمد مجد Ph.D.، علی‌رضا رنگین Ph.D.*، گلناز تجدد Ph.D.، صدیقه مهرابیان Ph.D.، معصومه میرزایی Ph.D.

- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست‌شناسی، تهران، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: alireza1121sar@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۶

چکیده

هدف: بررسی تکوین گل برای درک تمایز سلولی و ساز و کارهای ژنتیکی لازم برای اندام‌زایی مناسب است. در پژوهش حاضر تکوین اندام‌های زایشی *S. striata* بررسی شد.

مواد و روش‌ها: غنچه‌های گل در مراحل نمو برداشت شدند، پس از تثبیت در FAA و گذراندن مراحل آگیری، قالب‌گیری در پارافین با میکروتوم برش‌گیری و با هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مراحل تکوین اندام زایشی با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی و عکس‌برداری شد.

نتایج: نتایج نشان داد که پس از تحول مریستم رویشی به زایشی، برگه و کاسبرگ‌ها به سرعت تشکیل می‌شوند. ایجاد پریموردیوم‌های گلبرگی و پرچمی تقریباً هم‌زمان است، تحول توده مریستمی هاگ‌زای به مادگی در مرحله پایانی انجام می‌شود. تخمدان، تخمک‌ها، خامه و کلاله مراحل تکوینی سریعی دارند. بساک پرچم‌ها از نوع چهار حجره‌ای (تتراسپورانژی) است. تترادهای میکروسپوری چهار وجهی و دانه‌های گرده بالغ بیضی شکل و سه شیاری هستند. سلول‌های لایه پرستار پایداری طولانی دارند و اغلب یک هسته‌ای می‌باشند. تترادهای مگاسپوری آرایش خطی دارند. تخمک‌ها واژگون و تمکن محوری است.

نتیجه‌گیری: بررسی نشان داد که هر گل دارای ۵ کاسبرگ، ۵ گلبرگ پیوسته، ۴ پرچم و مادگی دو برچه‌ای است. دانه‌های گرده سه شیاری، بیضی شکل و از نظر اندازه از نوع متوسط هستند. نمو کیسه رویانی از تیپ پلی‌گونوم است.

واژگان کلیدی: تکوین، تخمک، دانه گرده، *Scrophularia striata*

مقدمه

S.cinerascens و *S.lucida*, *S.libanotica*, که در نواحی شمال شرقی ترکیه جمع آوری شده بود مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص گردید که شکل برگ و برگچه‌های فرعی، ساقه، برگه‌ها و جام گل از مهم‌ترین خصوصیات ریختی تاکسون‌ها است و قطر دسته‌های آوندی، اسکلرانسیم در غلاف آوندی و متوسط تعداد روزنه‌ها از مهم‌ترین ویژگی‌های تشریحی بین وارسته‌های مطالعه شده می‌باشد (۸).

در مورد بررسی ساختارهای ترش‌جی گونه‌های سرده *Scrophularia* مطالعات قابل توجهی انجام شده و در اغلب آن‌ها وجود ایدیوبلاست‌ها در گونه‌های این جنس مورد تایید قرار گرفته است، به طوری که تحقیقات انجام شده *Lersten* و همکاران (۹ و ۱۰) نشان داده که از ۸۹ گونه از سرده اسکروفولاریا مورد مطالعه ۶۲ گونه دارای ساختار ترش‌جی ایدیوبلاست می‌باشند که در سطح رویی و زیرین برگ‌ها و ساقه‌ها مشاهده می‌شوند و این سلول‌ها دارای موادی مثل رزین‌ها و ترکیب‌های فرآر هستند.

مطالعات جدید بر روی ساختار دانه‌گرده هفت گونه متعلق به ۳ جنس *Scrophularia*, *Kickxia* و *Veronica* از تیره گل میمونی با میکروسکوپ نوری صورت گرفته است. دانه‌های گرده معمولا دارای تقارن شعاعی، ایزوپولار، سه شیاری و کروی یا گرد هستند از طرف دیگر دو نوع آرایش‌گزین شناسایی شد که در سرده *Scrophularia* از نوع *Scabrate Sculpturing* و در سرده *Veronica* از نوع *Psilate Sculpturing* گزارش شد (۱۱).

با توجه به اهمیت دارویی گیاه تشنه‌داری و خطر انقراض آن پژوهش حاضر صورت گرفت. هدف از این پژوهش، بررسی مراحل مختلف تکوین اندام‌های زایشی گیاه و خصوصیات ساختاری *S. striata* موجود در ایران با تاکید بر چگونگی تکوین دانه‌گرده و تخمک برای اولین بار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

غنچه‌ها و گل‌های گیاه *S. striata* در اوایل بهار از کوه‌های ایلام بخش صالح آباد جمع آوری و با نمونه هرباریومی موجود در هرباریوم دانشگاه ایلام (IUH) تطبیق داده شدند. غنچه‌ها و گل‌ها در مراحل مختلف تکوین با فیکساتور فرمالدئید ۳۷ درصد، اتانول ۹۶ درصد و استیک اسید خالص با نسبت ۲، ۱۷، ۰/۵

زیست‌شناسی تکوینی گل که بررسی مراحل مختلف تکوین اندام‌های رویشی و زایشی گل‌ها را شامل می‌شود، در سال‌های اخیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. توسعه دانش زیست‌شناسی تکوینی و بررسی چگونگی انجام مراحل تکوین اندام‌های تولید مثلی، برای حفظ گیاهان، به‌ویژه گیاهان نادر و در حال انقراض و نیز مهم در بخش دارویی و کشاورزی ضروری است (۱). چرخه زندگی گیاهان گل‌دار شامل یک مرحله دیپلوئید اسپوروفیت و یک مرحله هاپلوئید گامتوفیت می‌باشد. طی فرایند تولید مثل جنسی، گامتوفیت نر (دانه‌های گرده) و ماده (کیسه رویانی) تشکیل می‌شوند و سرانجام پس از لقاح موفق میوه و دانه به وجود می‌آید (۲).

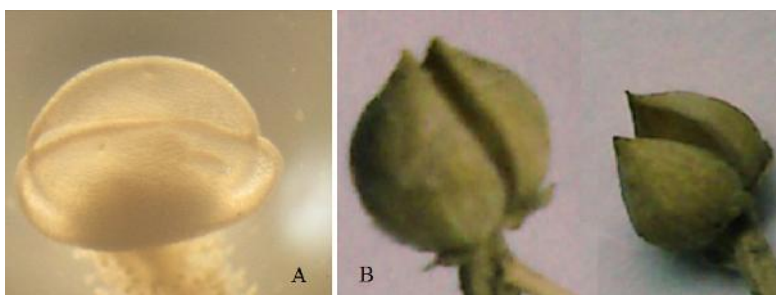
گیاه تشنه‌داری *Scrophularia striata* از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده‌ی گل میمونی است، این تیره دارای سه زیر خانواده و ۲۲۲ جنس و ۴۴۸۰ گونه در جهان است. سرده اسکروفولاریا در ایران دارای ۶۰ گونه و زیر گونه یک ساله، دو ساله و چند ساله است که ۲۸ گونه آن انحصاری ایران هستند (۳).

در ایران گیاه تشنه‌داری بیشتر در مناطق سردسیر و کوهستانی زاگرس رشد می‌کند. خواص ضد میکروبی (۴)، درمان و بهبود بخشی زخم‌های حاصل از سوختگی و عفونت‌های شایع باکتریایی آن گزارش شده است (۵). گونه‌ی اسکروفولاریا در طب سنتی برای معالجه ناخوشی‌های معده‌ای، تنفسی و کبدی کاربرد داشته و به‌عنوان داروی ضد التهاب استفاده می‌شود. در هند از این گیاه برای معالجه دیابت استفاده می‌شود و مردم نپال از گونه *S. ningpoensis* در درمان سرما خوردگی، تب، سردرد، بیماری‌های چشمی، ناخوشی‌ها و اختلالات گوارشی و ضدسرطان بهره می‌برند (۶).

از سرده‌های مهم این خانواده *Linaria*, *Verbascum*, *Digitalis*, *Antirrhinum*, *Calceolaria*, *veronica* و *Scrophularia* است. خانواده گل میمونی گیاهانی پایا، اغلب با گل‌هایی که گرایش شدید به نامنظم شدن دارند مشخص می‌شوند (۷).

در یک بررسی ساختار ریخت‌شناسی شش گونه از تیره گل میمونی به نام‌های *S.ilwensis*, *S.capillaris*, *S.nodosa*

هستند. تشکیل جام گل میمونی کم و بیش دو لبی است. لب زیرین به سمت داخل لوله برآمدگی ایجاد کرده و دهانه لوله را مسدود می‌کند و گل را به شکل کلاه خود در می‌آورد. سرده اسکروفولاریا گل آذین خوشه‌گرا با گل‌های پنج‌پر دارد. پرچم‌ها ۴ عدد که روی میله‌ی آنها کرک‌های زیادی با چهار سلول در راس وجود دارد. مادگی دوبرچه متصل به هم دارد و تخمدان دو خانه‌ای با تمکن محوری است. این گیاه دارای تخمک‌های فراوان از نوع واژگون واقع بر جفت‌های رشد یافته و حجیم‌اند، خامه ساده و معمولاً متصل به راس میله‌ای بلند و کمی خمیده است. میوه کپسول قهوه‌ای رنگ بدون کرک، نوک‌دار، ۲ تا ۳ میلی‌متر و با شکاف طولی، دو نیمه کپسول از هم باز می‌شوند (شکل ۱).



شکل ۱: پرچم با کرک‌های روی میله (A) و باز شدن کپسول با دو شکاف طولی (B)

برجستگی‌های کوچک مریستمی پرچم‌ها در زیر پوشش کاسبرگ‌ها به سرعت رشد و نمو می‌یابند. تشکیل و تکوین پرچم‌ها زودتر از تکوین مادگی است؛ به طوری که در زمان تشکیل پریموردیوم تخمکی، میله‌ها و بساک‌ها با کیسه‌های گرده قابل تشخیص هستند (شکل ۲، A و B).

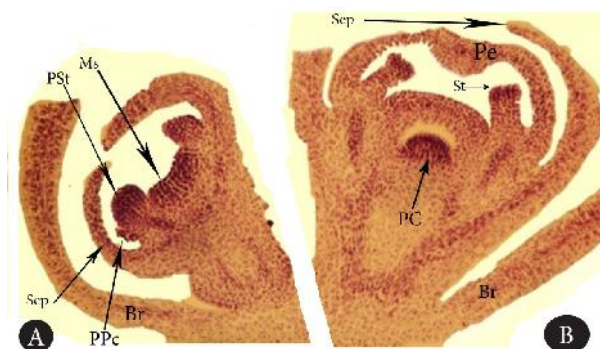
میلی‌لیتر تثبیت شدند. پس از شستشو به مدت کافی با آب جاری و عبور از الکل ۳۰ درصد و الکل ۵۰ درصد در الکل ۷۰ درصد ذخیره شدند. از نمونه‌ها پس از قالب‌گیری در پارافین با میکروتوم به ضخامت ۸ تا ۱۰ میکرون برش‌گیری صورت گرفت (۱۲). شفاف‌سازی نمونه‌ها و رنگ‌آمیزی آن‌ها با هماتوکسیلین و انوزین صورت گرفت (۱۳). نمونه‌های مورد آزمایش با میکروسکوپ نوری Olympus بررسی شدند و از نمونه‌های مناسب با دوربین دیجیتال مدل Canon Pc 1049 عکس‌برداری انجام گرفت.

نتایج

گل‌های گیاه *S. striata* از نظر ساختار ظاهری دارای ۵ کاسبرگ سبز رنگ و ۵ گلبرگ پیوسته به رنگ بنفش یا قرمز

تکوین پرچم

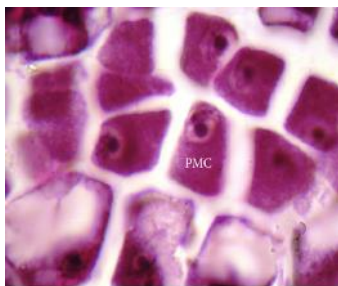
گل‌های گیاه دارای چهار پرچم به صورت برآمدگی‌های کوچکی جدا از هم، روی نهنج پدیدار می‌شوند که بعد از باز شدن گل دو پرچم بلند و دو تا کوتاه Didynamous هستند، که به سمت محور گل باز می‌شوند (Introse).



شکل ۲: برش طولی از غنچه گل *S. striata* A غنچه بسیار جوان که در آن براکت‌ها، کاسبرگ‌ها، اثری از پریموردیوم گلبرگی، پریموردیوم پرچمی و توده مریستم سازنده مادگی دیده می‌شوند. B غنچه جوان که در آن براکت‌ها، کاسبرگ‌ها، گلبرگی، پرچم‌های بسیار جوان و پریموردیوم مادگی مشخص است. Br: براکت‌ها، Sep: کاسبرگ، PPe اثری از پریموردیوم یکی از گلبرگ‌ها، PSt: پریموردیوم پرچمی، Ms: توده مریستم سازنده مادگی، Pe: گلبرگ، St: پرچم، PC: پریموردیوم مادگی (بخش تخمدان و توده اولیه سازنده تخمک‌ها) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x)

تکوین بساک

سلول‌های آرکتوسپور با تقسیم مماسی، لایه سلول حاشیه‌ای زیر اپیدرمی و لایه سلول هاگزای که درونی‌تر است را به وجود می‌آورند. سلول‌های حاشیه‌ای اولیه با تقسیم مماسی و شعاعی دیواره بساک را ایجاد می‌کنند. سلول‌های هاگزا از طریق تقسیم میتوزی تکثیر شده، توده سلول مادری گرده (Pollen Mother Cell) را به وجود می‌آورد (شکل ۴) که در ابتدای تشکیل به شکل چند وجهی گوشه‌دار و به هم فشرده هستند (شکل‌های ۵ و ۶).



شکل ۵: برش عرضی بخشی از بساک جوان، PMC سلول‌های مادر گرده با هسته حجیم، سیتوپلاسم بسیار رنگ پذیر و شکل چند وجهی گوشه‌دار هستند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۱۰۰x).



شکل ۶: برش عرضی بخشی از بساک جوان: لایه‌های دیواره بساک PMC سلول‌های مادر گرده (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x).

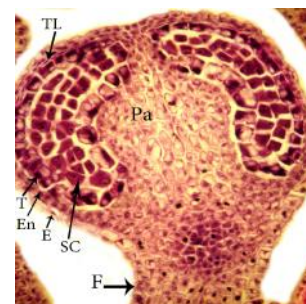
به تدریج با افزایش اندازه بساک، واکوئلی و کروی شکل شده از هم فاصله می‌گیرند (شکل ۷، A و B)

در مرحله ابتدایی نمو بساک *S. striata* پریموردیوم‌های کوچک پرچم‌ها در زیر کاسبرگ‌ها به سرعت رشد و نمو می‌یابند. هر پریموردیوم پرچمی از توده‌ای از سلول‌های مریستمی یکنواخت تشکیل شده که اپیدرم آن‌ها را احاطه کرده است (P.St, شکل ۷A). هم‌زمان با نمو بساک، این توده سلول‌های مریستمی در جهت‌های مختلف تقسیم شده و میکروسپورانژیوم را به وجود می‌آورد.

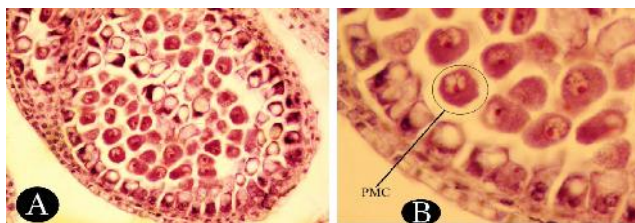
در مرحله اولیه نمو، سلول‌های هیپودرمی در هر لب از نظر اندازه به‌طور شعاعی طویل می‌شوند و هسته آن‌ها بیش از پیش رنگ‌پذیر (کروموفیل) می‌گردد. این سلول‌های شاخص، آرکتوسپور Archosporium را تشکیل می‌دهند (شکل ۳ و ۴).



شکل ۳: برش طولی گل *S. striata*: میله و بساک یکی از پرچم‌ها همراه با بساک پرچم دیگر در زیر اندام‌های پوششی مشخص هستند. P.O پریموردیوم تخمک، OW دیواره تخمدان، Pe گلبرگ، Sep کاسبرگ، St خامه، F میله پرچم و An بساک (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۱۰۰x).



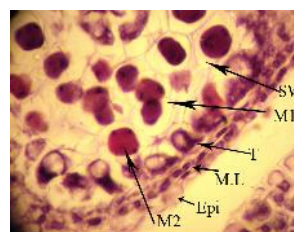
شکل ۴: برش طولی یک پرچم جوان نشان دهنده سلول‌های دیواره بساک و توده سلولی هاگزای E اپیدرم، En لایه مکانیکی، TL لایه گذر، T لایه پرستار(تایی)، SC سلول‌های هاگزای، Pa پارانشیم زمینه و F میله پرچم (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x).



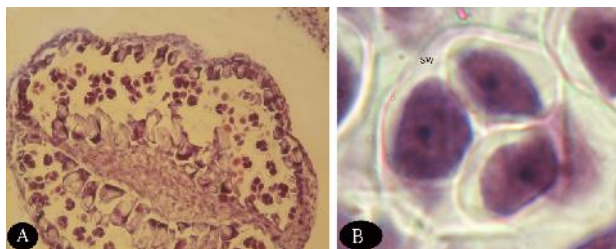
شکل ۷: (A) سلول‌های مادر گرده آماده تقسیم میوز (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x) و (B) سلول‌های مادر گرده که واکوتولی، کمری و حجیم شده‌اند (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰۰x).

هر سلول مادر گرده با گذراندن میوز I و تشکیل دیاد (شکل ۸)، چهار میکروسپور را به وجود می‌آورد. در طول میوز اطراف سلول‌های مادر گرده با دیواره ویژه (S.W، شکل ۱۱، A و B) پوشیده می‌شود. تفکیک تتراده‌ها از نوع هم‌زمان یا Simultaneous است (شکل ۱۰ و ۱۱، B) و آرایش تتراده‌ها از نوع چهار وجهی (تتراهدرال) است (شکل ۱۱، B).

شکل ۸: سلول‌های مادر گرده در میوز I و تشکیل دیاد (شکل ۸).



شکل ۸: سلول‌های مادر گرده در میوز I: سلول مادر گرده‌ای که میوز I را گذرانده، M2: سلول مادر گرده‌ای که میوز II را گذرانده، Epi: اپیدرم، M.L لایه مکانیکی، T سلول پرستار (در لایه تاپی)، SW دیواره ویژه (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x).



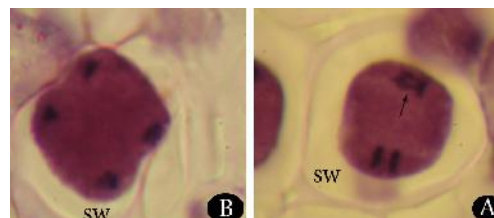
شکل ۱۱: (A) برش طولی بخشی از بساک نشان دهنده مرحله تتراد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۲۰۰x) و (B) یکی از تترادهای حاصل از تقسیم میوز سلول مادر گرده. SW دیواره ویژه (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰۰x).

سپس میوز II (شکل‌های ۹ و ۱۰) و تشکیل تتراد (شکل ۱۱)

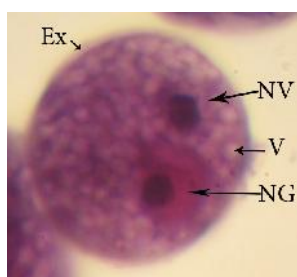


شکل ۹: دو سلول مادر گرده که با پیکان مشخص شده‌اند. (A) مرحله تولوفاز میوز I، (B) مرحله آنافاز میوز II (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x).

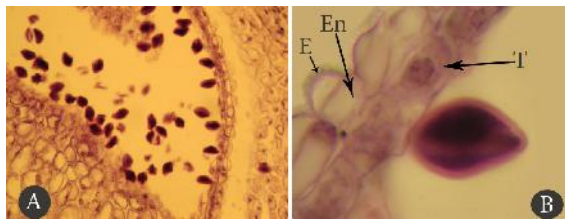
هر میکروسپور به سرعت مراحل رشد و نمو را می‌گذراند و با تقسیم میتوزی خود، دو هسته (رویشی و زایشی) را به وجود می‌آورد (شکل ۱۲)



شکل ۱۰: سلول‌های مادر گرده. (A) آنافاز میوز II و (B) تولوفاز میوز II. SW دیواره ویژه و فلش تقسیم هسته را نشان می‌دهد (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰۰x).

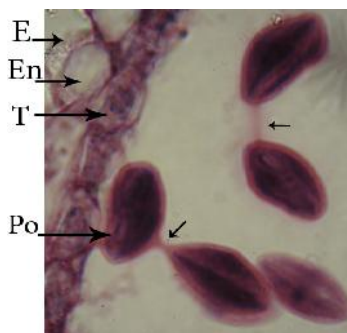


شکل ۱۲: دانه‌ی گرده با دو هسته. NG: سلول زایشی، NV: سلول رویشی، V: واکوتل و Ex: اگزین (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰۰x).



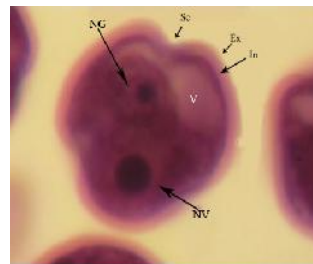
شکل ۱۴: (A) برش بساک رسیده (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x). (B) ارتباط دانه‌گرده در حال نمو با لایه پرستار در مرحله دانه‌گرده بالغ دو سلولی. E: اپیدرم در حال تخریب و تحلیل رفتن، En: لایه مکانیکی و T: لایه پرستار (تاپی) (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰۰x).

با اتمام میوز، دیواره کالوزی اطراف این یاخته‌ها به صورت هم‌زمان شروع به تجزیه سریع می‌کند و سرانجام میکروسپورهای جوان هر تتراد از یکدیگر جدا می‌شوند. رشد محسوس میکروسپورها بلافاصله پس از رهایی آن‌ها از پوشش کالوزی به خوبی قابل مشاهده است (شکل ۱۲) که همراه با آبگیری و واکوئلی شدن سیتوپلاسم است. نمو میکروسپور با انجام یک تقسیم میتوز دنبال می‌شود؛ بدین ترتیب که تقسیم میتوز نامساوی موجب تشکیل دو هسته متفاوت از نظر عمل‌کردی و ریخت شناختی می‌شود که هسته رویشی و زایشی هستند. اطراف هر میکروسپور رها شده از پوشش کالوزی آگزین اولیه تشکیل می‌شود. دیواره پکتوسلولزی دیگری نیز به نام انتین، در مجاورت سیتوپلاسم تشکیل می‌شود که در محل شیارها ضخیم‌تر است (شکل ۱۳). با تشکیل ذخایر گرده‌ای و تشکیل دانه‌های گرده دو سلولی، گرده‌های بالغ تشکیل می‌شوند. در گونه *S. striata*، دانه‌های گرده بالغ آزاد شده از بساک، بیضی شکل (شکل ۱۶، A و B و C) بوده و سه شیار هستند (شکل ۱۳).



شکل ۱۵: بخشی از بساک مسن، ارتباط موقت دانه‌های گرده بالغ با یکدیگر. E: بقایای اپیدرم، En: لایه مکانیکی، PO: دانه‌گرده، T: لایه پرستار (تاپی) و پیکان‌های مضاعف محل پیوستگی موقت دانه‌های گرده (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰۰x).

و به این ترتیب دانه‌های گرده دو هسته‌ای و سپس دو سلولی ایجاد می‌شوند (شکل ۱۳).

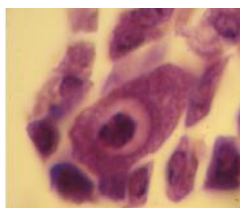
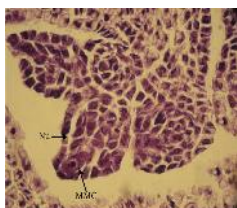


شکل ۱۳: دانه‌ی گرده بالغ دارای سلول رویشی و زایشی. GC: سلول زایشی، VC: سلول رویشی، Ex: آگزین، In: آگزین، V: واکوئل بزرگ و SC: اثر پکی از سه شیار (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، بزرگنمایی ۱۰۰۰x).

در مراحل پیشرفته‌تر اسپوردوم ضخیمی که شامل آگزین و انتین است اطراف دانه‌های گرده را می‌پوشاند، دانه‌های گرده در این مرحله تقریباً کروی شکل و سه شیار هستند، هسته زایشی کوچک‌تر و هسته رویشی حجیم‌تر است (شکل‌های ۱۲ و ۱۳). در مرحله پایانی تکوین، دانه‌های گرده‌ها بیضی شکل هستند (شکل‌های ۱۴ و ۱۶).

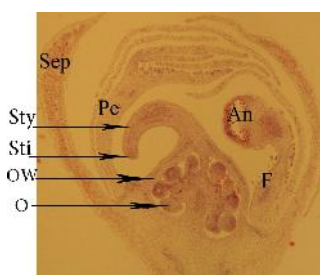
سلول‌های لایه پرستار (Tapetum) تا مرحله نهایی تکوین گرده‌ها در جدار بساک باقی می‌مانند (شکل ۱۴) و در مواردی برخی دانه‌های گرده با تماس مستقیم با این سلول‌ها، پیام‌ها و مواد مورد نیاز برای رشد و نمو خود را از آنها دریافت می‌کنند، بنابراین سلول‌های لایه پرستار از نوع ترش‌چی می‌باشند (شکل ۱۵). در تعدادی از تصاویر به هم چسبندگی موقت برخی از دانه‌های گرده را که به احتمال از راه ترکیبات چسبنده سطح گرده (تریپن) است نشان می‌دهند (شکل ۱۴).

تمایز و تخصص یافتگی بیشتر یاخته‌های لایه‌های دیواره میکروسپورانژ هم‌زمان با میوز رخ می‌دهد. یاخته‌های لایه پرستار (تاپی) که نقش اصلی آن‌ها رساندن مواد مغذی به میکروسپورهای در حال نمو است در مرحله تتراد به حداکثر اندازه می‌رسند. یاخته‌های تاپی در گونه *S. striata* یک هسته‌ای و هسته‌ها بزرگ و کاملاً مشخصند. همچنین یاخته‌های پرستار به علت نقش مغذی، بیشترین رنگ‌پذیری را نسبت به سایر یاخته‌های دیواره بساک دارند (شکل‌های ۱۴، A و ۱۵).

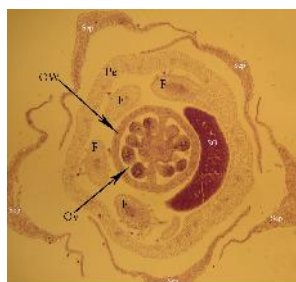


شکل ۱۸: برش طولی گل *S. striata* در مراحل تشکیل تخمک‌ها. *O*: تخمک، *OW*: دیواره تخمدان، *Sti*: کلانه، *Sty*: خامه، *Sep*: کاسبرگ، *Pe*: گلبرگ، *F*: میله پرچم، *An*: بساک (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x).

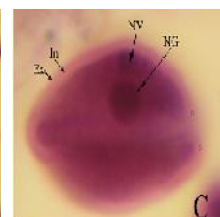
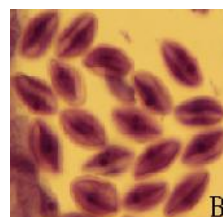
در مرحله پیشرفته‌تر خامه و سپس کلانه تشکیل می‌شود و در هر خانه تخمدان پریموردیوم‌های تخمکی زیادی چسبیده به محور میانی تشکیل می‌شوند و تمکن محوری شکل می‌گیرد (شکل‌های ۱۹ و ۲۰ و ۲۱)



شکل ۱۹: برش عرضی گل *S. striata* که در آن علاوه بر اندام‌های پوششی، میله پرچم‌ها، تخمدان دو خانه‌ای و تمکن محوری نیز دیده می‌شود. *Sep*: کاسبرگ، *Pe*: گلبرگ، *F*: میله‌های پرچم، *OW*: دیواره تخمدان، *OV*: فضای درون یکی از تخمدان‌ها و *SG*: غده ترشحی (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x).



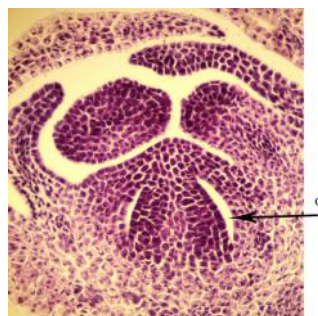
شکل ۲۰: برش بخش از گل *S. striata* که تکامل تدریجی تخمدان، تخمک‌های روی آن، خامه و کلانه مشخص است. *Br*: براکته *Sep*: کاسبرگ، *Pe*: گلبرگ، *O*: تخمک، *F*: میله پرچم، *An*: بساک، *Sti*: کلانه، *Sty*: خامه، *OW*: دیواره تخمدان، *OV*: فضای درون تخمدان و *O*: یکی از تخمک (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x).



شکل ۱۶: دانه‌های گرده بالغ. (A) بدون رنگ آمیزی (بزرگنمایی ۴۰۰x)، (B) دانه‌های گرده بالغ بیضوی و دو سلولی (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین، بزرگنمایی ۲۰۰x) و (C) یک دانه گرده بالغ. *NG*: هسته سلول زایشی، *NV*: هسته سلول رویشی، *Ex*: اگزین و *In*: انتین (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین، بزرگنمایی ۱۰۰۰x).

تکوین مادگی (برچه)

مادگی در گیاه *S. striata* از سه بخش مشخص ریخت شناسی و عمل کردی شامل: تخمدان، خامه و کلانه تشکیل شده است. مادگی دارای دو برچه پیوسته به هم می‌باشد. در برش طولی کلانه ساده با سلول‌های رنگ پذیر تر و خامه به شکل خمیده مشاهده می‌شود، تخمدان‌ها دو خانه‌ای هستند (شکل ۱۸). در هر خانه تعداد زیادی تخمک با تمکن محوری وجود دارد (شکل ۱۷).



شکل ۱۷: برش طولی گل *S. striata* در مراحل اولیه تمایز برچه‌ها (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین، بزرگنمایی ۴۰۰x).

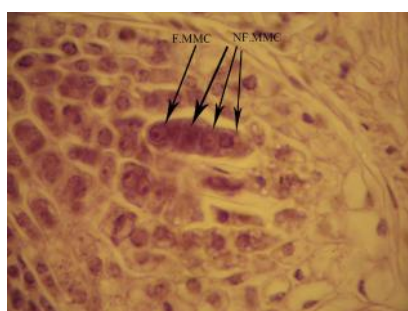
پس از ایجاد پریموردیوم پرچم‌ها، سلول‌های توده مریستمی تشکیل دهنده مادگی با تقسیمات میتوزی خود تکثیر می‌شوند و پریموردیوم‌های دو برچه با حالتی پیوسته به هم رشد می‌کنند و محفظه تخمدان که دو خانه‌ای است شکل می‌گیرد، سلول‌های سازنده پریموردیوم تخمکی در هر خانه تخمدان با تراکم سیتوپلاسمی و رنگ پذیری شدید خود از سلول‌های محور میانی که جایگاه اتصال تخمک‌ها است قابل تشخیص هستند (شکل‌های ۱۷ و ۱۸).

یکی از سلول‌های بافت خورش با افزایش حجم، هسته حجیم و سیتوپلاسم به‌شدت رنگ پذیر خود از بقیه سلول‌ها متمایز می‌شود و سلول مادر مگاسپوری (سلول مگاسپوری) را به‌وجود می‌آورد (شکل‌های B ۲۱ و ۲۲)؛ این سلول با تقسیم میوزی خود ابتدا دیاد (شکل‌های ۲۳ و ۲۴)



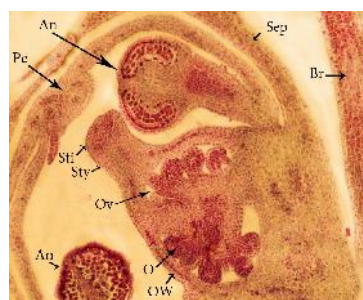
شکل ۲۴: برش تخمک *S. striata* و تشکیل دیاد. *Nu*: بافت خورش، *D*: دیاد و *TG*: بخشی از پوسته تخمک (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی $100\times$).

سپس تتراد را به‌وجود می‌آورد. تتراد در گونه *S. striata* از نوع خطی است (شکل ۲۵).



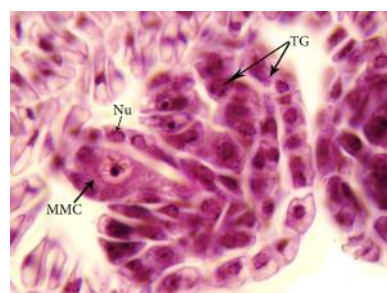
شکل ۲۵: تتراد در *S. striata*. *F.MMC*: مگاسپور عمل‌کردی و *NF.MMC*: غیرعمل‌کردی را نشان می‌دهد (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی $100\times$).

سه سلول خارجی (مگاسپورهای غیر عمل‌کردی) از سلول‌های تتراد تحلیل می‌روند و سلول درونی (به سمت شالاز) با تقسیمات و تحولات خود کیسه رویانی را به‌وجود می‌آورد که احتمالاً از نوع پولی‌گونوم است (شکل ۲۶). در کیسه رویانی گونه *S. striata* می‌توان دو سلول هم‌تا، سلول تخم‌زا، هسته‌های قطبی (در وسط کیسه رویانی) و سه هسته سلول‌های پابنی را مشاهده کرد (شکل ۲۶). بررسی مراحل پیشرفته‌تر تکوینی تا تشکیل رویان و تحول تخمک به دانه از اهداف پژوهش‌های آینده و در حال انجام است.

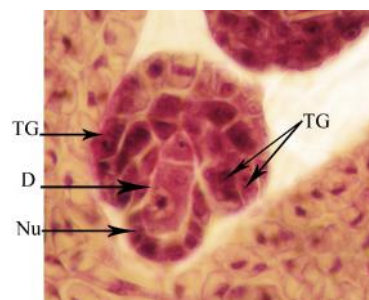


شکل ۲۱: برش عرضی بخشی از تخمدان *S. striata*. در برخی پریموردیوم‌های تخمکی سلول مادر مگاسپور متمایز شده است (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی $400\times$) و *B*: سلول مادر مگاسپور با هسته حجیم و سیتوپلاسم رنگ پذیر (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی $100\times$). *OP*: پریموردیوم تخمکی، *MMC*: سلول مادر مگاسپور و *Nu*: بافت خورش

در مراحل تکوینی هر تخمک پس از تشکیل پایه و جسم تخمکی به تدریج آثار پوسته‌های تخمکی و بافت خورش مشخص می‌شوند (شکل‌های ۲۲ و ۲۳ و ۲۴).



شکل ۲۲: برش عرضی بخشی از تخمدان *S. striata*. سلول مادر مگاسپور *MMC* با هسته حجیم و سیتوپلاسم رنگ پذیر، *Nu*: سلول‌های بافت خورش و *TG*: پوسته‌های تخمک (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی $100\times$).



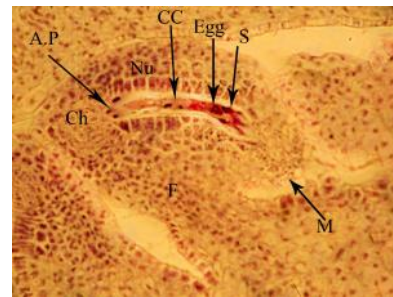
شکل ۲۳: برش عرضی از تخمدان *S. striata*: سلول مادر مگاسپور دارای هسته حجیم و سیتوپلاسم رنگ پذیر با تقسیم میوزی خود دیاد را به‌وجود آورده است. *Nu*: بافت خورش، *D*: دیاد و *TG*: پوسته‌های تخمک (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی $400\times$).

آخرین مراحل تتراد میکروسپور باقی می‌ماند و یک ویژگی کمتر معمول است که در عده خاصی از گیاهان نهان دانه مانند لگوم‌ها دیده می‌شود درحالی‌که در نهان‌دانگان دیگر، مثلاً در تیره Cabombaceae لایه پرستار حتی در مرحله سلول‌های مادری میکروسپور تحلیل می‌روند و آرایش تتراد چهار وجهی است که در این مورد با نتایج (۲ و ۲۳) مطابقت دارد.

نمو دانه‌های گرده نشان داد که میکروسپورزایی از نوع هم‌زمان یا Simultaneous است (شکل ۱۰). بنابراین در جریان میوز I تقسیم سیتوپلاسم انجام نمی‌شود و در پایان میوز II، پس از تشکیل سلول چهار هسته‌ای جدار بندی ایجاد می‌شود که با گزارش‌های مجد و همکاران (۲۰) هم سویی دارد. بررسی‌های میکروسکوپی در گونه *S. striata* نشان داد که دانه‌های گرده بالغ سه شیاری است و این صفت از خصوصیات دولپه‌ای‌های پیشرفته است که با مطالعات (۲۴ و ۲۵) در مورد مورفولوژی دانه گرده بعضی از جنس‌های تیره Scrophulariaceae تطابق دارد.

بررسی نتایج نشان داد که در گونه *S. striata* مادگی متشکل از برچه‌های پیوسته به هم با تخمدان دو خانه‌ای که هر خانه دارای ۲۰ تا ۳۰ تخمک واژگون است و خمیدگی برجستگی بافت خورش که در مرحله تتراد مگاسپور مشاهده می‌گردد، منجر به تولید آرایش تخمک واژگون می‌شود. تکوین کیسه رویانی گیاه *S. striata* از تیپ پلی‌گونوم پیروی می‌کند و هسته ثانویه قبل از لقاح تشکیل می‌شود که با نتایج Yadegari و همکاران (۲)، Cabi و همکاران (۲۶) همخوانی دارد.

بررسی میکروسکوپی مگاسپوروزنر گونه *S. striata* نشان داد که تقسیمات میوزی یاخته مگاگامتوسیت منجر به تشکیل تترادی می‌شود که اغلب خطی است، که با گزارشات Huang و همکاران (۲۷) مطابقت دارد. مگاسپور عمل کردی، کیسه رویانی هشت هسته‌ای، هفت سلولی را به وجود می‌آورد و سپس به کیسه رویانی بالغ تمایز می‌یابد که با پژوهش‌های Rodriguez-Riano و همکاران (۲۸) و Mohsenzadeh و همکاران (۲۹) و Haig (۳۰) در مورد گیاهان تیره علف هفت بند هم‌خوانی دارد. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش‌های ما گونه تشنه‌داری را می‌توان از نظر تکوین کیسه رویانی احتمالاً در گروه علف هفت بند در نظر گرفت.



شکل ۲۶: برش طولی تخمک واژگون و کیسه جنینی درون در *S. striata* A.P: ۳ متقاطرها، S: سلول‌های هسته‌ای، Egg: سلول تخم‌زا، CC: هسته‌های سلول مرکزی، Nu: بافت خورش، Ch: شالاز، M: سفت، F: پایه تخمک (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین، بزرگنمایی ۱۰۰x).

بحث

تکامل گل‌های تیره اسکروفولاریاسه در جهت سهولت گرده افشانی توسط عوامل گرده افشان مانند حشرات، نگه‌داری دانه‌های گرده و کمک به بقای گونه صورت پذیرفته است که منجر به تشکیل انواع جام گل‌های میمونی، تشکیل رنگیزه‌های آنتوسیانین در جام گل، وجود کرک‌های زیاد در میله پرچم‌ها و ساختارهای ترشچی در نافه گل گردیده است (۱۴ و ۱۵).

گونه *Scrophularia striata* نیز از نظر تکاملی دارای صفات پیشرفته مانند گل‌های متناوب، گلبرگ‌های پیوسته، تخمک واژگون، گل‌های نامنظم، و تعداد کم اجزای گل می‌باشد (۱۶). به نظر می‌رسد که زنبورهای بزرگ، گرده افشان‌های اصلی گل‌های نامنظم باشند (۱۷) همه این تحولات در جهت حفاظت بیشتر از قسمتی است که بقای نسل آینده را به عهده دارد و تکامل برای حفاظت بهتر از رویان درون تخمدان است و با یافته‌های (۱۸ و ۱۹) همسو است.

بررسی‌های تصاویر میکروسکوپی نشان داد که هنگام تحول مریستم رویشی به مریستم زایشی، ابعاد مریستم و رنگ‌پذیری آن افزایش یافته و مریستم ضمن مراحل تکوین به گل تغییرات ریختی پیدا می‌کند (شکل ۲A) که با پژوهش‌های مجد و همکاران (۲۰) همخوانی دارد.

بر اساس نتایج این پژوهش در گونه *S. striata* پرچم‌ها ناجور شکل بودند یعنی میله‌های آن‌ها بلند و کوتاه است که در گیاهان دیگر توسط (۲۱ و ۲۲) گزارش شده است. لایه پرستار بساک در مرحله تتراد با سلول‌های تک هسته‌ای مشخص می‌شود که تا

(بیضوی) و تترادهای مگاسپوری خطی با تعدادی از گیاهان این تیره متفاوت است

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از ریاست محترم دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایلام که اینجانب را مورد حمایت‌های ارزشمند خود قرار داده‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Chehregani rad A, Hajisadeghian S, Mohsenzadeh F. [Study on the developmental stages of ovule and pollen grains of *Inula aucheriana* DC]. *Journal of Plant Biology*. 2010; 2nd Year, 33(6): 859-873. Persian.
2. Yadegari R, Drews GN. [Female Gametophyte Development]. *The Plant Cell*. 2004; 16(1): S133-S141. Persian.
3. Attar F. Notes on the genus *Scrophularia* L. (*Scrophulariaceae*) In Iran Iran. *J. Bot.* 2006; 12(2): 136-143. Tehran.
4. Abbasi N, Abdi M, Azizi Jalilian F, Seifmanesh M. [Antimicrobial effect of extracts of *Scrophularia striata* on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* and comparison with selective effective antibiotics]. MD thesis. Ilam University of Med Sci 2004. Persian.
5. Giner RM, Villalba ML. Anti-inflammatory glycoterpenoids from *Scrophularia auriculata*. *European J of Pharmacology*. 2000; 389(2-3): 243-52.
6. Miyazawa M, Okuno Y. Volatile components from the root of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. *Flavour and Fragrance journal*. 2003; 18(5): 398-400.
7. Attar F, Keshvari F, Ghahreman A, Zarre Sh. Micromorphological studies on *Verbascum* (*Scrophulariaceae*) in Iran with emphasis on seed surface, capsule ornamentation and trichomes. *Flora*. 2006; 202: 169-175.
8. Makbul S, Coskunçelebi K, Türkmen Z, Beyazoglu O. Morphology and Anatomy of *Scrophularia* L. (*Scrophulariaceae*) Taxa from NE Anatolia. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 2006; 48/1: 33-43.
9. Lersten NR, Curtis JD. Anatomy and distribution of foliar idioblasts in *Scrophularia* and *Verbascum* (*Scrophulariaceae*). *American Journal of Botany*. 1997; 84(12): 1638-1645.

تیپ پلی‌گونوم که ابتدا در گونه *Polygonum divaricatum* شرح داده شد در ۷۰ درصد گونه‌های مطالعه شده وجود دارد و تصور می‌شود که تیپ اجدادی باشد، زمان ترکیب هسته‌های قطبی با توجه به الگوی کیسه رویانی می‌تواند متفاوت باشد (۲۷ و ۳۱). تصاویر میکروسکوپی ما نشان داد که در گونه *S. striata* هسته‌های قطبی، قبل از لقاح جدا از هم هستند.

در کیسه رویانی بالغ سه یاخته در مجاورت مجرای سفت تمایز می‌یابند که شامل یک تخم‌زا و دو یاخته قرینه است. دو هسته آزاد و قطبی در بخش میانی کیسه رویانی قرار دارند و تلفیق آن‌ها قبل از لقاح صورت می‌گیرد و هسته ثانویه را تشکیل می‌دهند که با گزارش‌های Chehregani rad A و همکاران (۳۲) و Xiao و همکاران (۳۳) در مورد برخی از اعضای تیره گل میمونی هم‌سو است.

بر اساس مطالعات مرجع شناختی ما، اگرچه گونه‌هایی از گیاهان تیره گل میمونی از نظر تکوین تخمک و پرچم مورد مطالعه بوده‌اند. ولی گزارش حاضر اولین گزارش در مورد، توصیف مراحل تکوین پرچم و تخمک در گونه *Scrophularia striata* می‌باشد.

نتیجه‌گیری

گل‌های گیاه *S. striata* از نظر ساختار ظاهری دارای پنج کاسبرگ سبز رنگ و ۵ گلبرگ پیوسته هستند. گلبرگ‌ها تشکیل جام گل میمونی یا کلاه‌خودی را می‌دهند. گل آذین خوشه‌-گزن با گل‌های پنج پر است. پرچم‌ها ۴ عدد که دوتا بلند و دو تا کوتاه (دیدپنم) می‌باشند و مادگی دوبرچه متصل به هم و تخمدان دو خانه‌ای است. تمکن محوری و تخمدان زیرین دارد. این گیاه دارای تخمک‌های واژگون فراوان واقع بر جفت‌های رشد یافته و حجیم است. خصوصیات خامه ساده و معمولاً متصل به راس میله‌ای بلند و کمی خمیده است. میوه کپسول قهوه‌ای رنگ بدون کرک، نوک دار، ۲ تا ۳ میلی‌متر و معمولاً با شکاف طولی، دو نیمه کپسول از هم باز می‌شود. دانه‌ها به تعداد زیاد حدود ۲۰ تا ۳۰ عدد و حاوی آندوسپرم و رویان

است. ویژگی‌های تکوین دانه‌گرده و مادگی گرچه شباهت‌های زیادی با سایر گیاهان تیره اسکروفولاریاسه دارد اما از نظر نوع سلول‌های لایه پرستار (نوع ترش‌حی)، شکل دانه‌های گرده

10. Lersten NR, Curtis JD. Idioblasts and other unusual internal foliar secretory structures in Scrophulariaceae. *Plant Systematic and Evolution*. 2001; 227: 63-73.
11. Asmat T, et al. Studies on the Pollen Morphology of the Genus *Kickxia*, *Scrophularia* and *Veronica* (Scrophulariaceae) from Dir Valley, Pakistan. *International Journal of Life Science and Medical Science*. 2011; Vol. 1 Iss.1: PP. 9-12.
12. Xue CY, Li DZ. Embryology of *Megacodon stylophorus* and *Veratrilla baillonii* (Gentianaceae): descriptions and systematic implications. *Bot. J. Linn. Soc.* 2005; 147: 317-331.
13. Yeung E.C. Histological and histochemical staining procedures. In: Vasil, I. K. (eds) *Cell culture and somatic cell genetics of plants*. Orlando. Florida : Academics Press. 1984; 689-697.
14. Etcheverry AV. Role of staminal growth in delayed self-pollination of *Crotalaria stipularia* (Fabaceae: Papilionoideae) *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*. 2001; 72: 215-228.
15. Ghahreman A. *Iranian Chormophytes (Plant Systematic)*. University Publishing Center, Tehran. 1992; 4: 514-589.
16. Batygina TB. Embryology of flowering of plants: Terminology and concepts. Edenbrig limited, Germany. 2002; 253-458.
17. Feng Z, et al. Control of petal shape and floral zygomorphy in *Lotus japonicas*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006; 103: 4970-4975.
18. Maheshwari P. *An Introduction to the Embryology of Angiosperms*. (New York: McGraw-Hill). 1950; 18:117-144.
19. Khoshrang S, Kazempour Osaloo S, Saeidi-Mehrvarz S. [Phylogeny of the Tribe Rhinanthae (Scrophulariaceae) based on Morphology]. *Journal of Biology* 2005; 18(4), 323-331.
20. Majd A, et al. Air pollution effects on microsporogenesis, pollen development and pollen soluble in *Spartium junceum* L. (Fabaceae). *Pajouhesh and Sazandeghi*. 2004; 62: 10-17.
21. Mansano VF, Teixeira SP. Floral anatomy of the *Lecointea* clade (Leguminosae, Papilionoideae, Swartzieae sensu lato). *Plant Systematic Evolution*. 2008; 273: 201-209.
22. Tucker SC. Floral Development in Legumes 1. *Plant Physiology*. 2003; 131: 911-926.
23. Moco MCC, Mariath JEA. Female gametophyte development in *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. (Leguminosae- Papilionoideae). *RBB*. 2004; 2: 241-248.
24. Cabi E, et al. Scanning electron microscope (SEM) and light microscope (LM) studies on the seed morphology of *Verbascum* taxa (Scrophulariaceae) and their systematic implications. *AJCS* 2011; 5(6): 660-667.
25. Asmat T. Pollen morphology of selected species of Scrophulariaceae of District Dir Upper, Pakistan. *JMPR*, 2011; Vol.5(28), pp: 6423-6428.
26. Kapil RN, Bhatnagar AK. Ultrastructure and biology of female gametophyte in flowering plants. *Cytology*, 1981; 70: 291-337.
27. Huang BQ, Russell SD. Female germ Unit: Organization, isolation and function. *International Review of Cytology*. 1992; 140: 233-292.
28. Rodriguez-Riano T, Ortega-Olivencia FJA. Megasporogenesis, Megagametogenesis and Ontogeny of the Aril in *Cytisus striatus* and *C. multiflorus*. *Annals of Botany*. 2006; 98(4): 777-791.
29. Mohsenzadeh F, Chehregani Rad A, Ekhtari S. Study on Developmental Stage of Gynoecium and Megagametophyte in *Ranunculus arvensis* L. *Journal of Cell & Tissue (JCT)* Autumn 2012; 3(3): 201-210.
30. Haig D. New perspective on the angiosperm female gametophyte. *Botanical Review* 1990; 56: 236-274.
31. Chehregani rad A, Hosseini N, Nazemi M, Lari Yazdi H. [Study on pollen grain and ovule developmental properties in *Centaurea iberica* Trevir]. ex Spreng. *IJPB*. 2010; 2(5) :63-74. Persian.
32. Chehregani rad A, Hajisadeghian S, Mohsenzadeh F. [Study on the developmental stages of ovule and pollen grains of *Inula aucheriana* DC]. *IJPB*. 2011; 2(6) :15-28. Persian.
33. Xiao DX, Yuan Z. Embryogenesis and seed development in *Sinomanglietia glauca* (Magnoliaceae). *J. Plant Res*. 2006; 119(2): 163-166.

The Study of Reproductive Organs Development in *Scrophularia striata* *Boiss*

Majd A. Ph.D, Rangin A. Ph.D *, Tajadod G. Ph.D, Mehrabian S. Ph.D, Mirzai M. Ph.D

- Departement of Biology, Faculty of Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* Email corresponding author: alireza1121sar@gmail.com

Received: 28 Aug. 2013

Accepted: 3 Nov. 2013

Abstract

Aim: Flower development is a mystery which provides a useful means for understanding cell differentiation and genetic mechanisms needed for organogenesis. In this study, the development of reproductive organs of *Scrophularia striata* was investigated.

Material and Methods: The flowers were collected at different developmental stages, fixed in FAA, embedding in the paraffin wax and sliced using microtome after dehydration and then stained. Developmental stages of generative organs were studied and photographed using a light monitoring microscope.

Results: The results indicated that after evolution of vegetative meristem to reproductive meristem, bract and sepals primordium quickly formed. Primordium formation and evolution of petals and staminal were simultaneous. Evolution of sporogenesis meristematic mass is done at the final stage. Ovaries, eggs, style and stigma had a rapid developmental stage. The anthers wall development was of tetrasporangiate type. The microspore's tetrads had tetrahedral ornamentations and mature pollen grains were of ellipse shape and tricolpate. Nurse's cells have a long stability layer and are often mononuclear. The megaspore's tetrads had liner ornamentations. The ovules were of anatropous and placentation axis.

Conclusion: Investigation showed that each flower has five sepals, five gamopetalus, four stamens, and dilocular gamocarpous pistil. The embryo sac development is of polygonum type.

Keywords: Development, Ovule, Pollen Grain, *Scrophularia striata*