فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال چهاردهم، شماره ۳، تابستان ۱۴۰۱ ص.۴۶-۳۵

مقاله پژوهشی

بررسی مراحل تکوین دانه گرده در گیاه زبان گنجشک (*Fraxinus excelsior*L.)

مریم شریف شوشتری[۱]، احمد مجد[۲*]، مصطفی معین[۳]، غلامعلی کاردر[۳]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

[۲] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

[۳] مرکز تحقیقات ایمونولوژی، آسم و آلرژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[*] (نویسنده مسئول مکاتبات): Majda. iautnb@gmail. com

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۰

چکیده

گیاه زبان گنجشک با نام علمی *Fraxinus excelsior* متعلق به خانواده زیتون (Oleaceae) است که به طور معمول در پوشش گیاهی بیشتر استان‌های ایران خصوصاً استان تهران مشاهده می‌شود. با توجه به گزارش‌های آلرژی‌زایی خانواده زیتون و همولوژی بین جنس‌ها و گونه‌های این تیره و درصد بالای حساسیت فصلی به گرده‌های زبان گنجشک، شناخت دقیق دانه‌های گرده اهمیت دارد. اهداف این پژوهش بر مبنای بررسی گرده‌های زبان گنجشک پایه نردر مراحل نموی است. ابتدا گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در FAA_{70} تثبیت و سپس درالکل ٪۷۰ نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از آماده سازی و قالب‌گیری در پارافین، با میکروتوم برش‌گیری گردید. رنگ آمیزی با پریودیك اسید شیف و نیز با هماتوکسیلین انجام شد. بررسی دقیق ساختار دانه گرده با میکروسکپ الکترونی نگاره صورت گرفت. نتایج نشان داد که در این گیاه بساك‌ها دارای چهارکیسه گرده بوده و تکوین گرده‌ها در بساك ناهمزمان است. دانه‌های گرده در زمان انتشار دو یاخته ای، دارای سه شکاف رویشی و با تزیینات رگه دار- شبکه‌ای شکل همراه با اوربیکول‌هایی بااندازه متفاوت در سطح مشاهده می‌شوند. تترادهای میکروسپوری از نوع تترا هدرال (هرمی) و کوبیک (چهارضلعی) است. سلول‌های لایه تاپی به صورت دو هسته‌ای درشت بوده و هر دو حالت ترشحی و آمیبی وجود دارد. شناخت دقیق سلول- بافت شناسی دانه‌های گرده می‌تواند در کاربردهای آئروبیولوژی و بررسی آلرژن‌ها به انجام تحقیقات دقیق‌تر در این زمینه کمک کند.

کلیدواژه‌ها: *F. excelsior* L. ،میکروسپورزایی،دانه گرده، Oleaceae.

مقدمه

جنس *Fraxinus* با نام فارسی زبان گنجشک یا ون یکی از جنس‌های خانواده زیتون (Oleaceae) با تنوع گونه‌ها و واریته‌های بسیار است. لینه در سال ۱۷۵۳ به معرفی و توصیف جنس *Fraxinus* L. و ارائه بیش از ۴۵۰ آرایه برای آن پرداخت [۱]. قسمت‌های هوایی این جنس زیست و سازگاری در بیوم‌های متنوعی از جمله محیط‌های نیمه بیابانی تا نیمه استوایی معتدل و ارتفاعات سطح دریا تا زیر آلپاین را دارد [۲]. تنوع زیادی در مورفولوژی برگ (شکل، بافت، تعداد برگچه‌ها، حاشیه برگچه‌ها، طول دمبرگچه، پوشش کرک) و همچنین سیستم تولید مثلی و

گرده افشانی را نیز داراست که نشان از سازگاری بالای این جنس در محیط‌های گوناگون است [۲،۳]. آزادی در فلور فارسی ایران (۱۳۸۳) و کاوه و همکاران (۱۳۹۳) دو گونه *F. excelsior* و *F. angustifolia* از این جنس را در در نواحی شمالی ایران در میان گلستان، نور و کجور، آستارا، ارسباران، خراسان (شمالی، جنوبی و رضوی) تهران، کرج، اراک، قزوین، کرمانشاه و بلوچستان معرفی کرده‌اند [۱].

Fraxinus به دلیل داشتن چوب سخت الواریش از منظر اقتصادی بسیار مورد توجه است. گونه *F. excelsior*، دارای چوب مقاوم و انعطاف پذیری است که، آن را برای حمل وزن و تحمل فشار، بیشتر از هر چوب دیگری ارزشمند می‌کند. برگ‌های هردو گونه از جنس *Fraxinus* (تازه و خشک) حاوی مواد غذایی است و مورد مصرف علوفه‌ای برای حیوانات قرار می‌گیرد، تا آنجا که در اروپای جنوبی توسط جمعیت‌های گوزن مورد آسیب قرار گرفته است [۴]. این گیاه در اروپای مرکزی و جنوبی بیشتر به عنوان درختان زینتی در طول معابر و جاده‌های اصلی کاشته می‌شود. همچنین این گیاه در صنایع دارویی و پزشکی نیز ارزشمند است. از مهمترین خواص دارویی آن می‌توان به عصاره‌ای که از ساقه آن برای درمان مالاریا که برای اولین بار در اروپا شایع شده بود، اشاره کرد. از موارد دیگر گزارش شده در ارتباط با زبان گنجشک می‌توان فعالیت ضد التهابی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد ویروسی را نام برد [۵]. سیستم طبقه‌بندی فنوتیپی این گیاه، بر اساس شرایط مورفولوژیکی و تحت عنوان پلی گاموس[1] ارائه می‌شود. درختان تک پایه نر (فقط دارای پرچم)، درختان دوپایه دارای پرچم و مادگی و درختان تک پایه فقط دارای اندام ماده (بدون پرچم) که قابلیت تولید دانه را دارد، از مهمترین فنوتیپ‌های این گیاه هستند[۲،۶]. از آنجاییکه توسعه دانش زیست شناسی سلولی- تکوینی و بررسی مراحل نموی اندام‌های تولید مثلی،به خصوص دانه گرده به عنوان یکی از نشانگرهای مهم در شناخت تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی به منظورضامن بقای گونه‌ها ضروری و حائز اهمیت است و بر اساس مطالعات مرجع‌شناسی صورت گرفته، در ارتباط با تکوین میکروگامتوفیت گل نر زبان گنجشک تا کنون بررسی‌های سلول- بافت شناسی آن انجام نشده است. در تحقیق حاضر به بررسی دانه‌های گرده این گیاه که از مهمترین ذخایر زیستی محسوب می‌شوند، پرداخته شده است. ذکر این نکته لازم است که در بررسی‌های دقیق گرده شناسی و برای استخراج و آنالیز مواد و ترکیبات آنها و شناسایی آلرژن‌ها لازم است، ابتدا شناخت دقیقی از مراحل نموی دانه‌های گرده داشته باشیم.

مواد و روش‌ها

برای بررسی مراحل نموی دانه گرده، گیاهان پایه‌های نر زبان گنجشک از زیستگاه‌های طبیعی در شهر تهران جمع‌آوری شده، در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در تثبیت کننده FAA70 تثبیت و در الکل ٪۷۰ نگهداری شدند. از نمونه‌ها پس از قالب‌گیری در پارافین برش‌های عرضی و طولی به ضخامت ۸ تا ۱۲ میکرومتر به وسیله میکروتوم مدل Leica تهیه شد. [۷] رنگ آمیزی با پریودیک اسید شیف و نیز با هماتوکسیلین انجام شد [۸]. هر یک از مراحل تکوین دانه‌های گرده در چندین برش به وسیله میکروسکوپ نوری (Zeiss Axiostar Plus Germany) مجهز به دوربین دیجیتال بررسی شدند. برش‌گیری از نمونه‌های متعددی صورت گرفت و بعد از بررسی برش‌ها مناسب‌ترین آنها انتخاب و عکس برداری شد. به منظور مشاهده مستقیم میکروسکوپی دانه گرده از روش استولیز (ارتمن ۱۹۶۰) استفاده شد و با میکروسکپ نوری از دانه گرده تصویربرداری صورت گرفت [۹]. در مرحله بعد برای تهیه برش‌های نیمه نازک پس از تثبیت با گلوتار آلدئید و تثبیت تکمیلی با اسمیوم در بافر فسفات ۰. ۲ مولار،۷. ۳: pH و اعمال مراحل آبگیری با استن به کمک پرو پیلن اکسید انجام و با رزین (۸۱۲ TAAB، ۴۸ گرم، ۲- دسیل سوکسینیک آنهیدرید ۱۹ گرم، متیل تادیک آنهیدرید ۳۳ گرم، ۶، ۴، ۲ تری - دی متیل آمینو متیل فنل ۲ گرم) اشباع کرده و در همین رزین قالب‌گیری گردید. برشهای نیمه نازک نمونه‌ها با اولترا میکروتوم مدل Leica تهیه و با آبی تولوئیدین رنگ‌آمیزی شدند [۱۰]. برش‌ها با میکروسکوپ نوری مشاهده و از آنها عکس‌برداری شد. برای بررسی دانه‌های گرده با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) استپ‌های حاوی دانه گرده را به دستگاه Putter Coater انتقال داده و با لایه نازکی از طلا پوشانده تا هادی جریان الکتریسیته شود. این نمونه‌ها به کمک چسب مخصوص به پایه کوچک فلزی چسبانده شدند و با

[1] Polygamous

استفاده از روش P. V. D نشاندن طلا روی آنها انجام شد. به منظور بررسی سطح دانه گرده با دقت بیشتر از میکروسکپ FESEM مدل JSM-7900F استفاده شد. مشاهده و عکسبرداری با میکروسکوپ الکترونی نگاره ازبساک و دانه‌های گرده در مراحل نموی با بزرگنمایی متفاوت به وسیله میکروسکپ الکترونی مدل FILIPS - XL30 انجام شدند [۱۱].

نتایج

تشکیل دیواره بساک در *F. excelsior*

اندام زایشی نر در *F. excelsior* دارای دو پرچم می‌باشد و بساک آنها پیوسته و دارای چهار لوب است (تصویر ۱-۱ و ۲). در پایه نر گیاه زبان گنجشک همه گل‌ها دو پرچمی هستند و مادگی ناقص و تحلیل رفته است که به آن مادگی غیر عملکردی[1] گفته می‌شود (تصویر۱-۲). در بررسی دیواره بساک مشاهده می‌شود که سلول‌ها و بافت‌های بساك، از سه لایه زاینده اولیه در پریموردیوم بساك منشأ می‌گیرند که از بیرون به درون عبارتند از: L1، L2 و L3 (تصویر۳-۱). لایه L1به اپیدرم تمایز می‌یابد. لایه L2 منشأ تشکیل سلول‌های زیر اپیدرمی (آرکئوسپور یا آرکسپوریال) می‌شودوسلول‌های لایه L3 سیستم آوندی و بافت رابط بساك را تشکیل می‌دهند. بساک جوان متشکل از توده‌ای هموژن از سلول‌های مریستمی است که توسط یک لایه اپیدرمی پوشیده می‌شود (تصویر ۴-۱). در مراحل اولیه نمو بساک در هر کیسه گرده (میکروسپورانژ) یک گروه از سلول‌های آرکئوسپوری که سیتوپلاسم متراکم و هسته حجیم دارند تمایز یافته (تصویر ۳-۱) و با تقسیمات مماسی خود به سمت درون بافت هاگزا (داخلی) و به سمت بیرون لایه‌های جداری (بیرونی) را تولید می‌کنند (تصویر ۱-۵). سلول‌های این بافت در اثر تقسیمات میتوزی پی درپی و در نهایت در اثر تمایز به سلول‌های مادر میکروسپور تبدیل می‌شوند (تصویر ۱-۵). سلول‌های مادر میکروسپور هسته‌ای حجیم با یک هستک واضح و سیتوپلاسم متراکم دارند که آمادگی آنها برای شروع تقسیم میوز بمنظور تولید میکروسپورها را نشان می‌دهد (تصویر ۱-۶). دیواره بساک از تقسیم سلول جداری تمایز می‌یابد که نتیجه این تقسیمات تشکیل لایه‌های دیواره کیسه گرده است که این لایه‌ها از بیرون به درون به ترتیب عبارتند از: اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی و لایه مغذی (تاپی) (تصویر ۱-۵ و تصویر۲-۱ و ۲). لایه اپیدرمی یا اگزوتسیوم معمولاً در طی نمو بساك متحمل تقسیمات شعاعی می‌شود (تصویر۲-۲ و ۳) و اغلب قبل از بلوغ بساك گسسته می‌شود. خارجی ترین لایه حاصل از تقسیم سلول جداری که بلافاصله زیر اپیدرم بساك قرار می‌گیرد، لایه مکانیکی یا آندوتسیوم نام دارد (تصویر۲-۲ و ۳). سلول‌های این لایه در اواخر نمو‌واجد دیواره هایی با رشته‌های شعاعی ضخیم می‌باشند که در مکانیسم شکوفایی بساك شرکت می‌کنند. لازم به ذکر است که در این مرحله دانه‌های بسیار کوچکی به صورت پراکنده در سلول‌های اپیدرمی وآندوتسیومی و در اندازه‌های نسبتاً بزرگ‌تر در سلول‌های بافت رابط بساك مشاهده می‌شوند که با انجام تست سیتوشیمیایی با پریودیک اسید شیف (PAS) مشخص شد که این دانه‌ها از نوع نشاسته می‌باشند (تصویر ۲-۱). در زیر لایه مکانیکی یک تا دو لایه سلول پارانشیمی با دیواره نازك به نام لایه یا لایه‌های میانی مشاهده می‌شود (تصویر ۲-۳) که به تدریج همراه با نمو بساک و گرده تجزیه می‌شود به طوری که بقایای آن در اواسط تمایزگرده قابل مشاهده است (تصویر۲-۵ و ۶). لایه مکانیکی در F. excelsior نیز مشابه اغلب دولپه ای‌ها ضخیم شدگی‌های فیبری و U شکل دارد که این ضخیم شدگی‌های فیبری لایه مکانیکی در مرحله پایانی نمو دانه‌های گرده دوسلولی، صورت می‌گیرد (تصویر ۲-۶). درونیترین لایه سلولی احاطه کننده فضای داخلی بساك،لایه مغذی یا تپتوم نام دارد که نقش اساسی در نمو دانه گرده دارد (تصویر ۲-۳ و ۴). از آنجایی که یاخته‌های لایه تاپی در مراحل ابتدایی نمو بساک و دانه‌های گرده در جای خود ثابت باقی مانده، تحلیل نمی روندو وقتی که میکروسپورها در حال نمو به دانه گرده بالغ هستند، ضمایمی از یاخته‌های تاپی به سمت حفره بساک تشکیل می‌شود (تصویر ۲-۳و۴)، بنابراین، می‌توان گفت لایه تاپی در *F. excelsior*، ابتدا ترشحی است و در مرحله شکوفایی بساک به فرم پلاسمدی یا آمیبی می‌باشد (تصویر ۳-۳). سلول‌های لایه تاپی در ابتدا تک هسته‌ای هستند (تصویر ۲-۴) اما در مرحله تقسیم اول میوز (سلول دو هسته‌ای)، اندازه این سلول‌ها افزایش می‌یابد و دو هسته‌ای می‌شوند (تصویر ۲-۴). با رسیدن به اواسط بلوغ، لایه مغذی بصورت تحلیل رفته و کوچک مشاهده می‌شود (تصویر

[1] Non-functional pistil

۲-۶ و تصویر ۳-۱ و ۲) و سرانجام در مرحله دانه گرده بالغ تجزیه شده و از بین می‌روند، اگر چه هنوز اثری از بقایای آن‌ها دیده می‌شوند (تصویر ۳-۲ و ۳). در زیر تپتوم سلول‌های مادر دانه گرده به شکل چندوجهی و درشت مشاهده می‌شوند که ۲n کروموزومی هستند (تصویر ۲-۲). وقایع اصلی که طی فرآیند شکوفایی بساك در زبان گنجشک روی می‌دهد ،شامل از بین رفتن تپتوم و لایه میانی، توسعه لایه آندوتسیومی وتشکیل نوارهای رشته‌ای در این سلول‌ها جهت افزایش ضخامت دیواره (تصویر ۲-۶)، از بین رفتن سپتوم و الحاق دوکیسه گرده در هر لوب است (تصویر ۳-۱ و ۲). پارانشیم جداگر بین دو کیسه گرده در مرحله شکوفایی بساک همه فضا را پر کرده و وقتی بساک کاملا رسید، پارانشیم جداگر تحلیل می‌رود (تصویر ۳-۱ و ۲) وبا شکاف طولی از محل استمیوم دانه‌های گرده از فضای کیسه گرده خارج می‌شوند (تصویر۳ -۳).

میکروسپورزایی و گامتوفیت نر در *F. excelsior*

در *F. excelsior* سلول‌های بافت هاگزای اولیه به وجود آمده از یاخته‌های آرکئوسپور مستقیما به میکروسپوروسیت (سلول‌های مادر دانه گرده) تمایز می‌یابند. میکروسپوروسیت‌ها با سیتوپلاسم متراکم، اندازه بزرگ و هسته‌های مشخص با یاخته‌های بافت احاطه کننده متفاوتند (تصویر ۴-۱). این سلول‌ها شروع به ساخت دیواره کالوزی ویژه می‌کنند و همزمان با ورود به میوز توسط دیواره کالوزی احاطه می‌شوند (تصویر ۴-۱و۲) و در پایان میوز که سلول دو هسته‌ای ایجاد می‌شود این دیواره ضخیم می‌شود (تصویر۴-۳ و ۴و۵). سلول‌های هاپلوییید حاصل از میوز I سلول‌های مادر دانه گرده (تصویر۴-۳ و ۴) بلافاصله وارد تقسیم دوم میوز می‌شوند و پس از تکمیل میوز II تقسیم سیتوپلاسم به طور همزمان صورت گرفته (سیتوکینز از نوع همزمان)، دو سلول دیاد و چهار سلول میکروسپور (تتراد) به وجود می‌آید (تصویر۵-۱ تا ۵). در این مرحله، دیواره کالوزی در اطراف تترادها و لابه‌لای مونادها به خوبی مشخص است (تصویر ۵-۲ و ۳ و ۵). تترادها از نوع چهاروجهی یا تتراهدرال[1] و چهارضلعی یا کوبیک[2] هستند (تصویر ۵-۴ و ۵). سلول‌های لایه مغذی در مرحله تتراد میکروسپور و اوایل مرحله میکروسپور آزاد در جای خود باقی می‌مانند. سپس دیواره‌ی این سلول‌ها تخریب شده، پروتوروپلاست به حفره بساک وارد می‌شود و تاپی آمیبی اطراف دانه‌های گرده مشاهده می‌شود (تصویر ۴-۶). در ابتدای میکروگامتوفیت زایی، میکروسپورها با جذب و ذخیره آب در واکوئل توسعه می‌یابند. این توسعه یافتگی به همراه نمو کیسه‌های گرده و بساك رخ می‌دهد. هنگامی که واکوئل‌های میکروسپوربه جذب آب و حجیم شدن ادامه می‌دهند، دیواره میکروسپور نیز به ضخیم شدگی ادامه می‌دهد. در اوایل مرحله میکروسپور واکوئله، یک یا چند واکوئل کوچک در سیتوپلاسم میکروسپور تشکیل می‌شود و هسته در موقعیت تقریباً مرکزی باقی می‌ماند (تصویر۶-۱). همچنین میکروسپورها به طور قابل توجهی دارای دیواره ضخیم‌تری هستند به طوریکه تزئینات لایه اگزین در آنها کاملاً مشخص می‌باشد (تصویر۶-۲) و می‌توان بخش‌های سگزین و نگزین را در آن تشخیص داد (تصویر۶-۱). اواخر مرحله میکروسپور واکوئله، واکوئل‌های کوچک یک میکروسپور به یکدیگر می‌پیوندند و یک واکوئل بزرگ را تشکیل می‌دهند که بخش اعظم سیتوپلاسم دانه گرده را اشغال می‌کند (تصویر۶-۴). هسته به همراه بقیه سیتوپلاسم در موقعیت جانبی قرارمی‌گیرد (تصویر۶-۳). رخداد قابل توجه دیگر در این مرحله، آغاز شکل‌گیری دیواره انتین دانه گرده است که به صورت لایه نازك پیوسته بین اگزین و غشای پلاسمایی قابل روءیت است و ضخامت آن در مراحل بعدی نمو افزایش می‌یابد (تصویر۶-۳ و ۴). میکروسپور یک تقسیم میتوزی نامتقارن انجام می‌دهد که نتیجه این تقسیم تشکیل یک سلول رویشی واکوئلی بزرگ و یک سلول زایشی کوچک است که به غشای سلول رویشی متصل است و توسط یک دیواره نازك کالوزی از آن جدا می‌شود (تصویر۶-۵). به عبارت دیگر در این مرحله دانه گرده دو سلولی واکوئله تشکیل می‌گردد. سلول زایشی پس از انحلال دیواره کالوزی، از دیواره دانه گرده جدا شده و درسیتوپلاسم سلول رویشی قرار می‌گیرد و شکل آن به تدریج تغییر می‌کند (تصویر۶-۶ و ۷). واکوئل بزرگ سلول رویشی به واکوئل‌های کوچکتر تقسیم می‌شود که به تدریج در مراحل بعدی نمو تحلیل می‌رود (تصویر۶-۴). سیتوپلاسم سلول رویشی نیز متراکمتر می‌گردد و بر ذخایر آن که شامل لیپید و نشاسته است افزوده می‌شود. در این مرحله دیواره انتین دانه گرده به طور قابل توجهی

[1] Tetrahedral tetrads
[2] Cubic

ضخیمتر است (تصویر۶-۶و۷). در انتها دانه گرده بالغ در *F. excelsior* دارای دو هسته نابرابر است که یکی هسته بزرگ رویشی و دیگری هسته کوچک زایشی است که به تشکیل دانه گرده دو هسته‌ای و نهایتا دو سلولی منجر می‌شود. (تصویر۶-۸).

بررسی ساختار و فراساختاردانه گرده *F. excelsior* به کمک میکروسکپ نوری و الکترونی

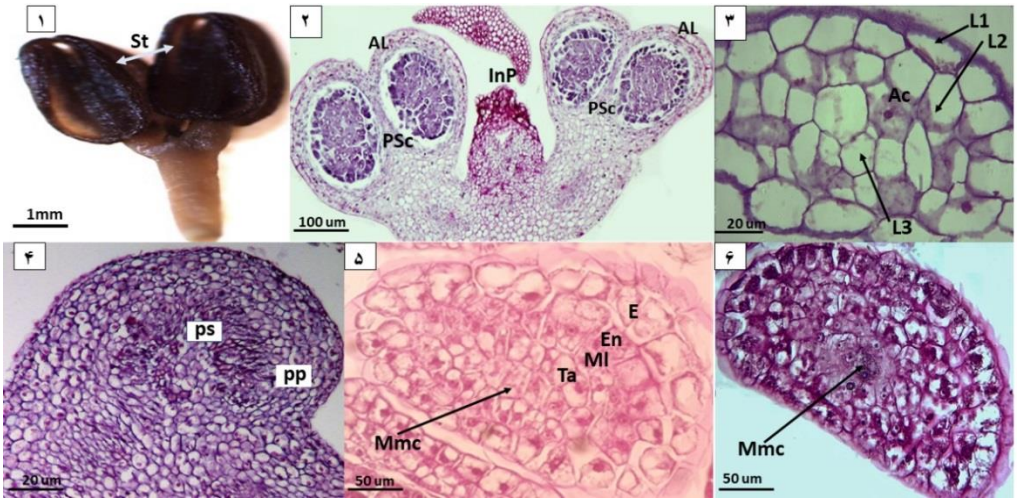
در بررسی گرده‌های *F. excelsior* به روش استولیز که نوعی فسیل سازی مصنوعی است و هدف این روش حذف محتویات داخلی گرده‌ها (تصویر۷-۱) و بررسی دیواره، منافذ و شیارهای آن است، پوشش سطح گرده و سه شیار-منفذ مشاهده شد. تصویر گرفته شده از دید قطبی می‌باشد که در آن گرده بالغ دیده می‌شود و سه شیار وسه منفذ رویشی بر روی دیواره گرده وجود دارد. (تصویر۷-۲). در بررسی دانه‌های گرده در مراحل مختلف نموی با میکروسکوپ الکترونی نگاره ابتدا مشاهده می‌شود که در گونه *F. excelsior* در ابتدا دانه گرده حالت بیضی شکل و کشیده دارد اما بعد از مدتی حجم آن افزایش یافته و رفته رفته کروی شکل و منظم می‌شود (تصویر ۸-۱ و ۲و۳). همچنین در تصویر ۸-۳ و ۴ چسبیدن دانه‌های گرده به لایه تاپی ترشحی مشاهده می‌شود که این لایه نقش اساسی را در سازماندهی بخش‌هایی از اگزین به عهده دارد. چسبیدن دانه‌های گرده به یکدیگر مشاهده می‌شود که بواسطه پوشش گرده‌ای است که شامل پولن کیت و تیریفین می‌باشد (تصویر ۸-۵). همچنین در ادامه بررسی مراحل نموی مشاهده می‌شود که سلول‌های تپتومی بتدریج تمام محتویات خود را از دست داده و متلاشی می‌شوند و مواد حاصل از آن بر روی دیواره اگزین دانه گرده قرار می‌گیرند (تصویر۸-۳و۴). تپتوم به طور کامل دژنره شده و تنها بقایایی از این سلول‌ها مشاهده می‌شود (تصویر۸-۵) و در نتیجه دیواره دانه گرده کامل می‌گردد (تصویر ۸-۶). در ادامه بترتیب شکل‌گیری شیارها بر سطح اگزین مشاهده می‌شود که بتدریج سه شیار وسه منفذ در دانه گرده شکل می‌گیرد (تصویر ۸-۷ تا ۱۲). شیارها از نوع ساده و کوتاه هستند (تصویر ۸-۷ تا ۹). نوع گرده در *F. excelsior* سه شیار منفذی یا تری کلپیت[1] است (تصویر ۸-۱۱ و ۱۲). گرده‌ها جور قطب[2] و تزئینات سطح گرده ازنوع مشبک[3] است (تصویر ۸-۶ و ۱۲). شکل دیدقطبی گرد و سه وجهی است (تصویر ۸-۸ و ۱۲). شکل دید استوایی بیضی شکل است (تصویر ۸-۸). طول محور قطبی در ریز نگاره‌های الکترونی دانه‌های گرده زبان گنجشک ۲۹. ۵۶ میکرومتر و طول محور استوایی ۳۸. ۸۰ میکرومتر و بزرگتر از محور قطبی است (تصویر ۸-۸). شکل دانه گرده براساس نسبت محور قطبی به استوایی دانه‌های گرده P / E=۷۶ .۰ µm است. گرده و بلوغ دانه‌های گرده با شکل‌گیری تزئینات اگزین اتمام می‌رسد. در بررسی فراساختار اگزین دانه گرده زبان گنجشک با میکروسکپ FESEM امکان مشاهده دقیقتر سطح اگزین را فراهم کرد. میکروکانال‌ها در سطح اگزین مشاهده می‌شوند و آراستار مشبک که روی میکروکانال‌ها اوربیکول‌ها در سطح خارجی و داخلی با اندازه‌های کوچک و بزرگ مشاهده می‌شوند (تصویر ۹-۱ و ۲).

بحث و نتیجه گیری

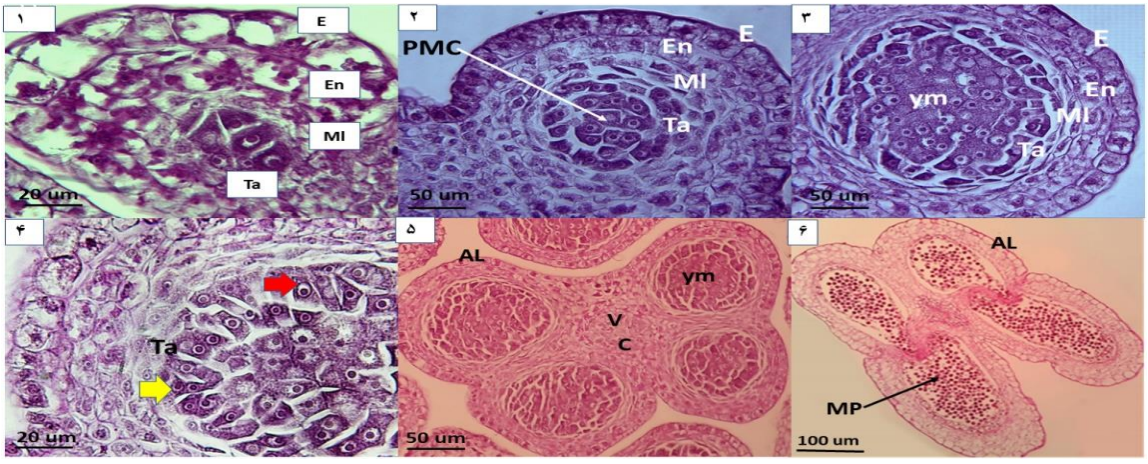
بررسی نتایج حاصل از تشکیل دیواره بساک در F .excelsior

نمو بساك و تكوين دانه گرده درپایه نر گیاه زبان گنجشک را می‌توان به دو مرحله کلی تقسیم کرد:طی مرحله یک مورفولوژی بساك شكل می‌گیرد، تمایز سلول و بافت رخ می‌دهد و سلول‌های مادر میکروسپور متحمل میوز می‌شوند و تتراد میکروسپورها را به وجود می‌آورند. بنابراین در پایان مرحله یک، بساك بیشترین بافت‌ها و سلول‌های تخصص یافته را شامل می‌شود. طی مرحله دو بساك توسعه می‌یابد، دانه‌های گرده تمایز حاصل می‌کنند و دژنره شدن بافت، شکوفایی بساك و آزاد شدن دانه‌های گرده رخ می‌دهد. بر اساس نتایج ما در گونه مورد مطالعه، بساك یک ساختار چهار لوبی با تقارن دوجانبه یا از نوع تتراسپورنجیایت است و نمو دیواره آن از نوع اولیه می‌باشد که شامل اپیدرم، آندوتسیوم، دو لایه میانی و تپتوم می‌باشد [۵] در بررسی نمو لایه‌های بساک مشاهده می‌شود که اپیدرم پریموردیوم بساک بطور مستقیم به اپیدرم دیواره بساک تبدیل می‌شود. از طرفی سلول‌های لایه مغذی بطور قابل‌ملاحظه‌ای از مرحله سلول مادر میکروسپور به بعد بزرگ و طویل می‌شوند و رنگ بیشتری نسبت به سلول‌های مادر میکروسپور بخود می‌گیرند. در اغلب گونه‌های گیاهی دولپه‌ای مشاهده می‌شود که ضمن پیشروی مراحل تکوین میکروسپورها،

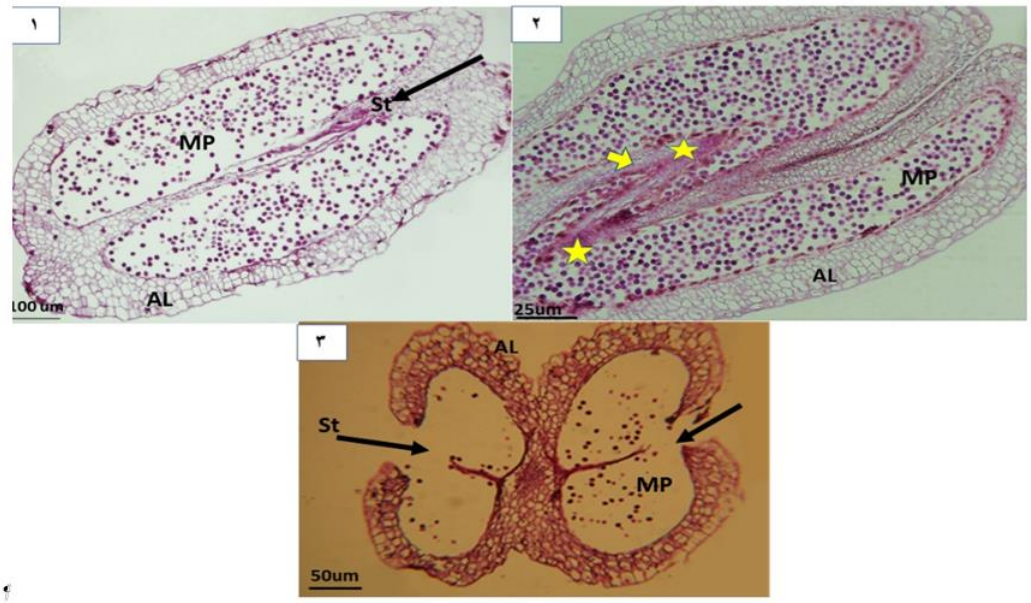
[1] Tricolporate/Tricolporoidate
[2] Isopolar
[3] Reticulate



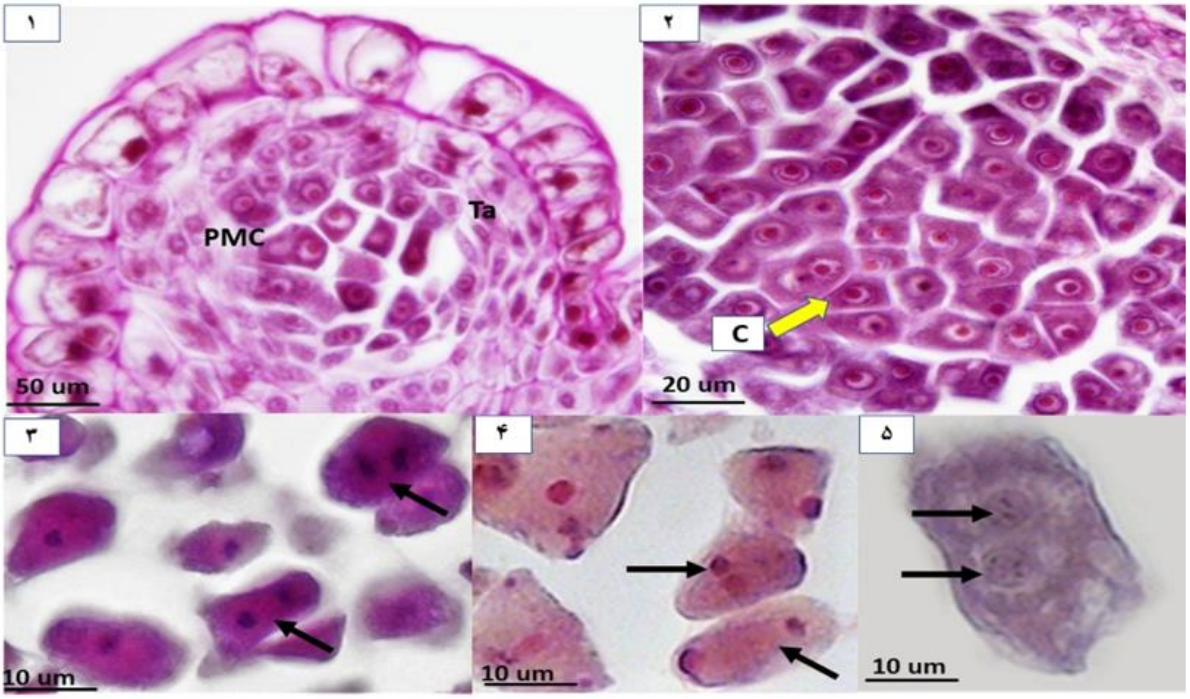
تصویر ۱. بررسی اندام زایشی نر در *F. excelsior* . ۱) گل با دو پرچم پیوسته و مادگی ناقص (غیرعملکردی) ۲) برش طولی از گل که در آن بساک‌ها و چهار کیسه گرده مشاهده می‌شوند. ۳) سلول‌ها و بافت‌های بساک، از سه لایه زاینده اولیه در پریموردیوم بساک منشأ می‌گیرند که از بیرون به درون شامل: L1,L2,L3 می‌باشند. سلول‌های آرکسپوریال از لایه دوم منشا می‌گیرند. ۴) شکل‌گیری یک لوب بساک جوان که متشکل از توده‌ای هموژن از سلول‌های مریستمی است. در این شکل سلول کناری اولیه (pp) که حاصل تقسیمات پریکلینال آرکسپوریال است به سمت بیرون و سلول اسپورزای اولیه به سمت درون(ps) (تشکیل می‌شود ۵) سلول اسپورزای اولیه به میکروسپوروسیت (سلول مادر دانه گرده) نمو می‌یابد و سلول‌های کناری اولیه به صورت آنتی کلینال و پری کلینال تقسیم شده که نتیجه این تقسیمات تولید لایه‌های دیواره بساک است. ۶) نمو بیشتر سلول‌های بساک و شکل‌گیری ابتدایی لایه‌های بساک به همراه تمایز سلولی برای شکل‌گیری سلول‌های مادر دانه گرده مشاهده می‌شود. شاخص برای تصاویرمعادل: ۱) ۱میلیمتر. ۲)۱۰۰ میکرومتر. ۳و۴)۲۰ میکرومتر. ۵و۶)۵۰ میکرومتر است. St: پرچم؛ AL: لایه‌های بساک؛ PSc: کیسه گرده؛ Inp: مادگی غیرعملکردی(ناقص) ؛ L1, L2, L3: سه لایه اولیه پریموردیوم بساک؛ Ac: سلول آرکسپوریال ؛ pp: سلول کناری اولیه؛ ps: سلول اسپورزای اولیه؛ E: اپیدرم؛ En: لایه مکانیکی؛ Ml: لایه میانی؛ Ta: لایه مغذی (تاپی) ؛ Mmc: سلول مادر میکروسپور.



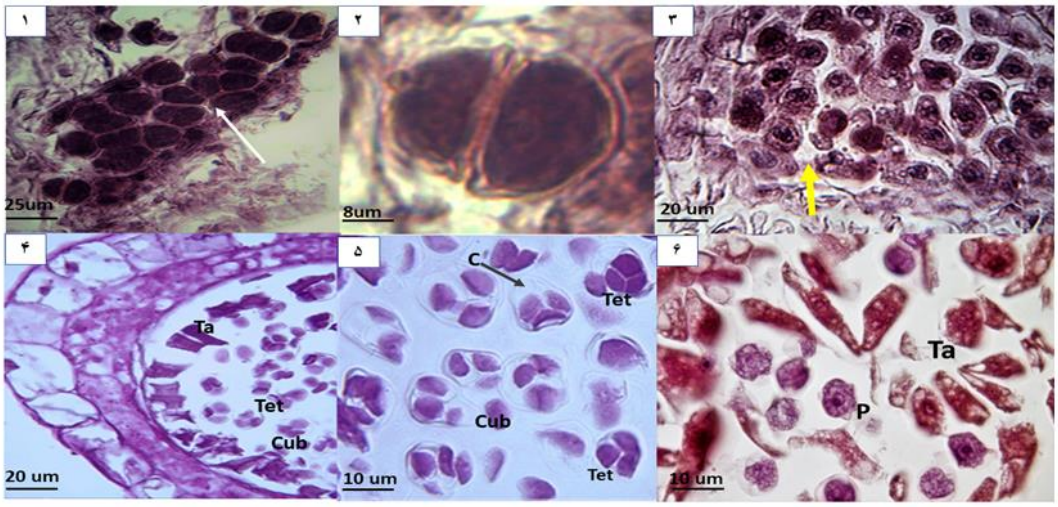
تصویر۲. بررسی لایه‌های بساک در *F. excelsior* . ۱) نمو لایه‌های بساک به ترتیب از خارج به داخل شامل: اپیدرم –لایه مکانیکی - لایه میانی و لایه مغذی نشان داده شده است. تقسیمات میتوزی در سطوح مختلف در سلول‌های مادر میکروسپور و تقسیمات آنتی کلینال و تمایزدر سلول‌های تپتومی و اپیدرمی مشاهده می‌شود. آغاز تجمع دانه‌های نشاسته در سلول‌های اپیدرمی و آندوتسیومی قابل روءیت است. ۲) نمو بیشتر لایه‌های بساک و مشاهده سلول‌های مادر دانه گرده که دارای دیواره کالوزی هستند. ۳) تکوین لایه‌های بساک و مشاهده میکروسپورهای جوان . ۴) لایه تاپی با سلول‌های دو هسته ای(فلش زرد رنگ) و تک هسته‌ای (فلش قرمز رنگ) نشان داده شده است. ۵) برش عرضی بساک جوان حاوی میکروسپورهای ابتدایی۶) نمایی از بلوغ دانه‌های گرده و آمادگی بساک برای رسیدن به مرحله شکوفایی. شاخص برای تصاویرمعادل: ۱و۴)۲۰ میکرومتر. ۲و۳و۵)۵۰ میکرومتر. ۶) ۱۰۰ میکرومتر است. E: اپیدرم؛ En: لایه مکانیکی؛ Ml: لایه میانی؛ Ta: لایه مغذی یا تاپی ؛ PMC: سلول مادر دانه گرده ؛ ym: میکروسپورهای جوان؛ AL: لایه‌های بساک؛ V: دستجات آوندی؛ C: رابط؛ MP: گرده بالغ.



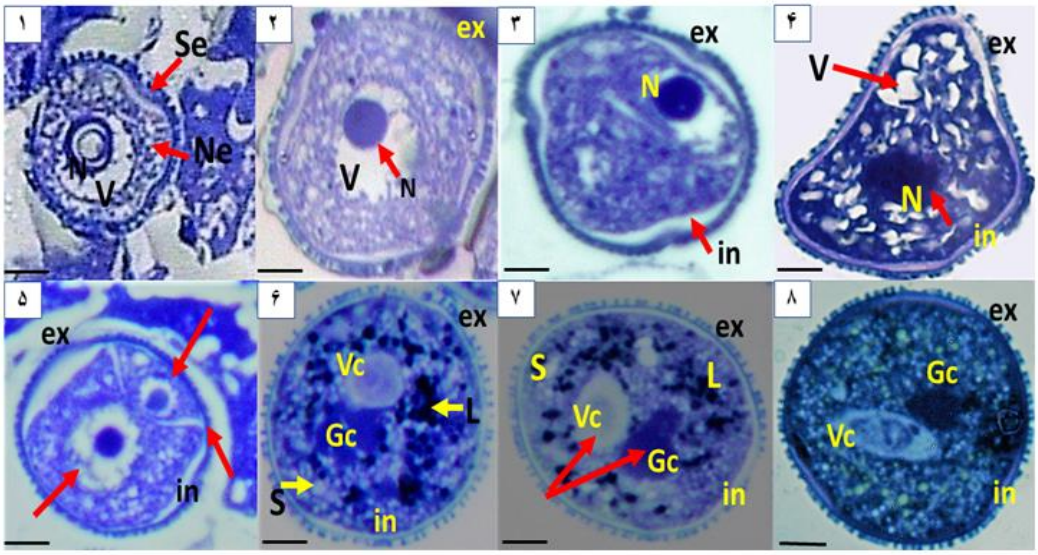
تصویر ۳. مرحله شکوفایی بساک در *F. excelsior* . ۱) برش طولی بساک بالغ که در آن تحلیل رفتن لایه تاپی مشاهده می‌شود. ۲) آمادگی تیغه‌های بین دو خانه گرده برای باز شدن به روش شکاف طولی (با فلش زردرنگ و علامت ستاره نشان داده شده است)و شکوفایی کامل بساك. ۳) نمایی از شکفته شدن بساک و خروج دانه‌های گرده بالغ و تغییر فرم لایه تاپی و بقایای آن با فلش مشاهده می‌شود. شاخص برای تصاویرمعادل: ۱) ۱۰۰میکرومتر ۲) ۲۵ میکرومتر ۳)۵۰ میکرومتر است. AL: لایه‌های بساک؛ St: استومیوم ؛ MP: گرده بالغ.



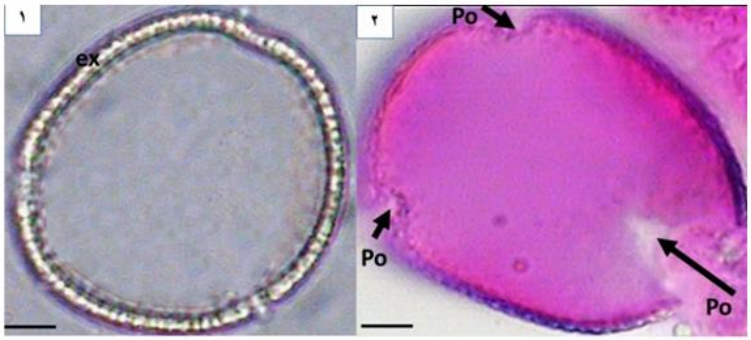
تصویر ۴. **برش عرضی از بساک و کیسه گرده در** *F. excelsior*. ۱) سلول‌های مادر دانه گرده که دارای دیواره کالوزی هستند. ۲)نمایی نزدیک تر از دیواره کالوزی در اطراف میکروسپوروسیت‌ها و شروع مرحله پروفاز. ۳) بخشی از برش کیسه گرده که در آن سلول‌های مادر گرده در مرحله متافاز میوز می‌باشند. در این مرحله هنوز لایه کالوزی قابل روءیت است. ۴) سلول‌های مادر گرده در مراحل آنافاز و تلوفاز ۵)سلول‌های مادر دانه گرده در حال گذراندن تقسیم دوم میوز . شاخص برای تصاویرمعادل: ۱) ۵۰میکرومتر ۲) ۲۰ میکرومتر ۳و۴و۵)۱۰ میکرومتر است. C: دیواره کالوزی؛ PMC: سلول مادر دانه گرده.



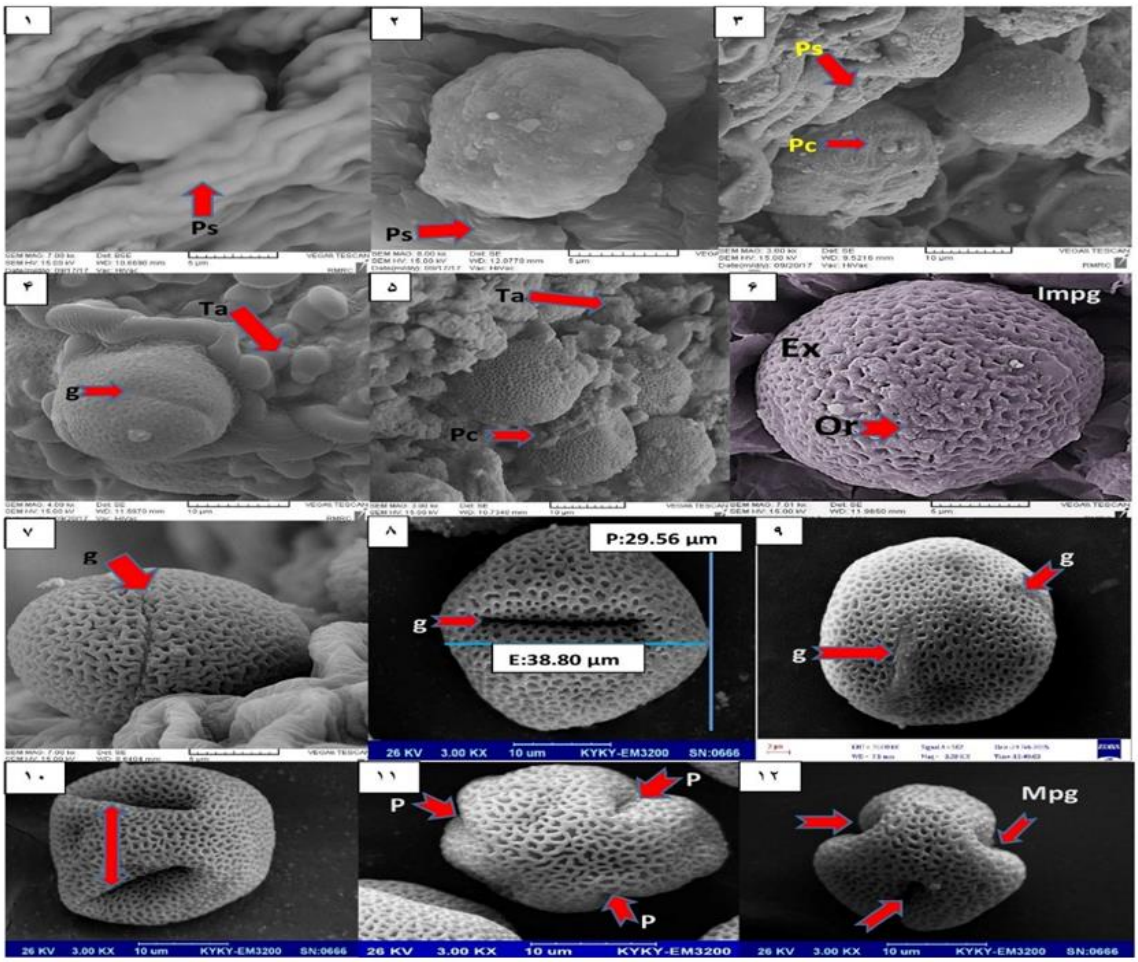
تصویر ۵. برش عرضی از بساک و کیسه‌های گرده *F. excelsior*. ۱) بخشی از کیسه گرده در مرحله دیاد. ۲) یک سلول در مرحله دیاد از نمای نزدیک‌تر. ۳) بخشی از کیسه گرده در مراحل ابتدایی تشکیل تتراسپورها که دیواره کالوزی در اطراف آنها مشاهده می‌شود. ۴) بخشی از کیسه گرده در مرحله تتراد مشاهده می‌شود. سلول‌های لایه تاپی در مرحله تتراد هنوز در جای خود قرار دارند. ۵) تترادها به دو فرم تتراهدرال و کوبیک هستند و و در ابتدا به صورت به هم چسبیده با دیواره کالوزی مشاهده می‌شوند که به تدریج مجزا می‌شوند. ۶) تجزیه و متلاشی شدن لایه تاپی مشاهده می‌شود. در این مرحله میکروسپورهای تشکیل شده در حال تغذیه از سلول‌های تاپی و کامل شدن هستند. شاخص برای تصاویرمعادل: ۱) ۲۵میکرومتر۲) ۸ میکرومتر ۳و۴) ۲۰ میکرومتر ۵ و ۶) ۱۰ میکرومتر است. C: دیواره کالوزی؛ Ta: لایه تاپی؛ Tet:تتراهدرال؛Cub:کوبیک ؛P:دانه گرده.



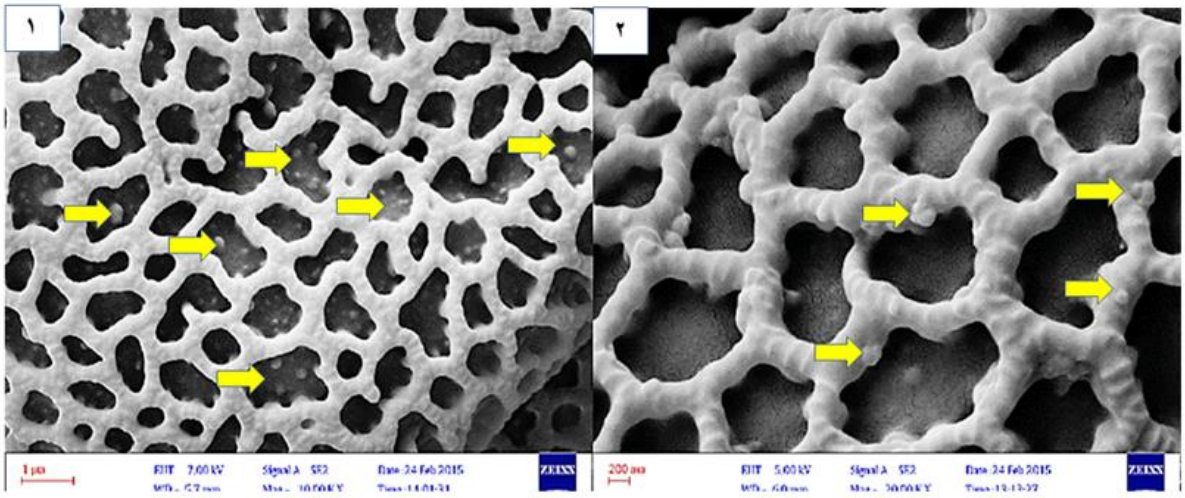
تصویر ۶. برش‌های نیمه نازک از دانه‌های گرده *F. excelsior*. در مراحل مختلف نمو. ۱) تشکیل واکوئل‌ها در میکروسپور، افزایش ضخامت دیواره اگزین و مشخص شدن بخش‌های سگزین و نگزین در آن و شروع ناپدید شدن محتویات سیتوپلاسم در سلول‌های تپتومی. ۲) اوخر مرحله میکروسپور واکوئله. ۳) مهاجرت هسته به همراه بقیه سیتوپلاسم به موقعیت کناری و آغاز شکل‌گیری دیواره انتین دانه گرده بین اگزین و غشای پلاسمایی میکروسپور. ۴) تشکیل واکوئل‌های بزرگ و حالت دهیدراته در دانه گرده با دیواره اگزین و انتین. ۵) تقسیم میتوزی نامتقارن میکروسپور و تشکیل یک سلول رویشی واکوئله بزرگ و یک سلول زایشی عدسی شکل کوچک که بین آنها صفحه سلولی مشاهده می‌شود (تمامی موارد با فلش قرمز رنگ نشان داده شده است). ۶) تشکیل سلول رویشی بزرگ و سلول زایشی کوچک متصل به غشای سلول رویشی. دو لایه اگزین و انتین نمو بیشتر پیدا کرده و با توجه به رنگ آمیزی برش‌های نیمه نازک دانه‌های سیاه در تصویر تجمع چربی و نقاط شفاف نشاسته را نشان می‌دهند. ۷) جداشدگی سلول زایشی از غشای سلول رویشی و تغییر تدریجی شکل آن و ضخیم شدگی قابل توجه دیواره انتین و افزایش تراکم سیتوپلاسمی سلول رویشی. ۸) دانه گرده بالغ با دو هسته رویشی بزرگ و هسته زایشی کوچک . شاخص برای همه تصاویر معادل ۵ میکرومتر است. N:هسته؛ V: واکوئل؛Se:سگزین؛ Ne:نگزین؛ex:اگزین؛ in:انتین؛ L:لیپید؛S:نشاسته؛ Vc:سلول رویشی ؛ Gc:سلول زایشی.



تصویر۷. استولیز دانه گرده *F. excelsior* . ۱) لایه اگزین ۲)دانه گرده رنگ آمیزی شده با پریودیک اسید شیف که سه شیار و سه منفذ در آن مشاهده می‌شود. شاخص برای همه تصاویر معادل ۵ میکرومتر است. Po: منفذ ؛ ex: اگزین



تصویر ۸. بررسی مراحل نموی دانه گرده *F. excelsior*. با میکروسکپ الکترونی نگاره SEM. ۱) میکروسپور آزاد درفضای کیسه گرده. ۲) دانه گرده در مراحل ابتدایی که حالت بیضی شکل و کشیده دارد اما بعد از مدتی حجم آن افزایش یافته و رفته رفته کروی شکل و منظم می‌شود. ۳) پوشش گرده‌ای که بیشتر از نوع پولن کیت است در اطراف دانه‌های گرده نابالغ مشاهده می‌شود. ۴) بخشی از دانه گرده نابالغ که در اطراف آن لایه تاپی مشاهده می‌شود و شکل‌گیری اولین شکاف در دیواره دانه گرده و عدم تشکیل اگزین در محل شکاف. ۵) بقایای لایه تاپی در اطراف دانه‌های گرده نابالغ و پوشش گرده در اطراف آنها. ۶)دانه گرده نابالغ که آراستار سطح اگزین در آن تشکیل شده و برروی سطح اگزین اوربیکول‌های پراکنده مشاهده می‌شوند. ۷) دانه گرده نابالغ تک شیاری. ۸) کشیدگی دانه گرده در مرحله تک شیاری . ۹) دانه گرده نابالغ که دومین شکاف دردیواره گرده شکل گرفته و در محل شکاف اگزین تشکیل نشده است. ۱۰) دانه گرده با دوشیار و نمو بیشتر دیواره اگزین . ۱۱) دانه گرده بالغ که حالت سه وجهی دارد وتکوین دیواره اگزین با شکل‌گیری شیار سوم و منافذ کامل شده است. ۱۲) گرده بالغ *F. excelsior* با سه شیار و سه منفذ (Tricolporate/Tricolporoidate).



تصویر ۹. بررسی فراساختار دیواره اگزین در *F. excelsior* با میکروسکپ FESEM. ۱) آراستار سطح اگزین از نوع مشبک است و محل فلش‌های زرد رنگ در شکل اوربیکول‌های منتشر شده در داخل و خارج سطح اگزین را نشان می‌دهد. ۲) نمایی نزدیک‌تر از سطح اگزین که در آن میکروکانال‌ها مشاهده می‌شوند. اوربیکول‌های خارجی روی میکروکانال‌ها قرار دارند و با فلش زرد رنگ محل اوربیکول‌ها نشان داده شده است.

تاپی ترشحی به تاپی آمیبی تغییر شکل می‌یابد [۱۲-۱۴]. بدین ترتیب که دیواره‌های این سلول‌ها به تدریج تحلیل رفته، تجزیه می‌گردد و مواد مغذی درون آنها به درون حفره بساک که میکروسپورها در آن در حال تکوین هستند، آزاد می‌شود. از این نظر یافته‌ها در *F. excelsior* مشابه گزارشات سایر محققان در ارتباط با گیاهان دولپه‌ای است [۱۵،۱۶]. همزمان با تکوین دانه گرده، دیواره بساک به ویژه لایه مکانیکی متحمل تغییراتی می‌گردد، بدین ترتیب که لایه مکانیکی تکامل می‌یابد و ضخیم شدگی فیبری در دیواره سلول‌های آن بخوبی مشهود است.این حالت در گزارش‌های سایر محققان در دیگر گیاهان نهاندانه عالی ذکر شده است [۱۷،۱۸]. یکی از رخدادهای مهم سیتوشیمیایی دربررسی لایه‌های بساک درپایه نر زبان گنجشک، تشکیل دانه‌های نشاسته در سلول‌های اپیدرمی، آندوتسیومی و بافت رابط بساك در اوایل نمو و سپس ناپدید شدن آن‌ها در مراحل بعدی نمو می‌باشد. دانه‌های نشاسته از مراحل ابتدایی نمو لایه‌های بساک، در این سلول‌ها ظاهر شده و در اوایل مرحله تتراد به حداکثر اندازه خود می‌رسند. از مرحله میکروسپور آزاد اندازه و تعداد این دانه‌ها به تدریج کاهش می‌یابد و کم کم تحلیل رفته و ناپدید می‌شوند. از آنجایی که انطباق زمانی نزدیکی بین ناپدید شدن دانه‌های نشاسته و تشکیل دیواره‌ای توسعه یافته در سلول‌های آندوتسیومی و سپس تشکیل ضخیم شدگی‌های رشته‌ای دیواره در این سلول‌ها وجود دارد، تصور می‌شود که این دانه‌ها درجهت ضخیم شدن دیواره‌های سلول‌های آندوتسیوم به مصرف می‌رسد.نتایج ما در این زمینه با نتایج Sehr, ۲۰۰۹ در ارتباط با دیگر گونه‌های خانواده زیتون مطابقت دارد [۳]. یک ویژگی جنین شناسی مهم در نهاندانگان که اغلب به عنوان یک ویژگی مورفولوژیکی متعارف تلقی می‌شود، تعداد کیسه‌های گرده هر بساك است. در بساک‌های پایه نر زبان گنجشک کیسه‌های گرده به صورت تپیک لوله‌ای شکل می‌باشند و در دوجفت قرار می‌گیرند که به دنبال فروپاشی سپتوم طی فرآیند شکوفایی، ادغام می‌شوند. از آنجایی‌که هر جفت کیسه گرده یک تکا نامیده می‌شود، در گونه مورد مطالعه مانند اکثریت گونه‌های نهاندانگان بساک‌هایی متشکل از دو تکا مشاهده می‌شوند [۱۵]. همچنین یک نکته مهم دیگر در ارتباط با بافت شناسی لایه‌های بساک در *F. excelsior* وضعیت دیواره کالوزی است. ترشح کالوز ممکن است همزمان با میوز یا قبل از شروع میوز صورت گیرد و معمولاً به صورت یکنواخت اطراف هر سلول مادر گرده رسوب می‌کند [۱۶]. بطور کلی یکی از عملکردهای مهم بیولوژیکی که برای دیواره کالوزی مطرح شده است، جلوگیری از اتصالات سلولی بین میکروسپورهای در حال نمو است ومطالعات بافت شناسی در بساك زبان گنجشک نشان داد که کالوز در این گیاه قبل از میوز و به طور تقریباً یکنواخت بین غشای پلاسمایی و دیواره اولیه

میکروسپوروسیت‌ها رسوب می‌کند و ضخامت آن نسبتاً زیاد می‌باشد.نتایج ما در این زمینه با گزارش‌های اربابیان در ارتباط با بررسی گیاه *Capparis spinosa* و حسینی بساک‌های گیاه *Pistacia vera* مطابقت و همسویی دارد [۱۴،۱۶].

بررسی نتایج حاصل از میکروسپورزایی و گامتوفیت نر و مطالعه ساختار و فراساختار دانه گرده با میکروسکپ الکترونی در *F.excelsior*

نتایج بدست آمده از بررسی مراحل نموی دانه گرده زبان گنجشک نشان می‌دهد که به تدریج اگزین بر روی میکروسپورها تشکیل می‌شود و بعد از شکل‌گیری اگزین، انتین به سمت سیتوپلاسم شروع به تشکیل می‌کند [۱۱]. تزیینات اگزین بر روی میکروسپورها به وجود می‌آید. این تزیینات از نوع مشبک است و تمام سطح دانه گرده را می‌پوشاند. در مرحله نهایی، زمانی که دانه‌های گرده کاملا بالغ شده و آماده رها شدن هستند، تمام لایه‌های تاپی و میانی تحلیل رفته و فقط لایه مکانیکی باقی مانده است. این حالت با گزارش‌های بیشتر محققان دربررسی دانه‌های گرده گیاهان گلدار مطابقت دارد [۱۶]. در واقع میوز، شروع فاز هاپلوئید را نشان می‌دهد و مرحله مهمی از تکوین دانه‌های گرده است که در طی آن قطبیت و استقرار اولیه الگوی سطحی میکروسپور اتفاق می‌افتد. بنابراین تنوع مورفولوژیکی بسیار زیاد دانه‌های گرده طی میوز شروع به شکل‌گیری می‌کند. میوز در سلول‌های مادر میکروسپور با سیتوکینز همزمان دنبال می‌شود و بنابراین طی میوز I تقسیم سیتوپلاسم انجام نشده و در پایان میوز II و پس از تشکیل سلول تترادی جداربندی صورت می‌گیرد. نتایج بدست آمده با گزارش‌های تجدد در بررسی دانه گرده گیاه آویشن تفلیسی و جعفری در بررسی پیچك صحرایی مطابقت دارد [۱۷،۱۸]. کمی بعد از نخستین تقسیم میتوزی دانه گرده، سلول‌های تپتومی متحمل‌های مرگ سلولی برنامه ریزی شده سلول می‌شوند و محتویاتشان را به داخل محفظه بساك رها می‌کنند. این بقایای سلول‌های تپتومی پوشش گرده را که شامل پولن کیت و تریفین می‌باشد،تشکیل می‌دهند که در اگزین دانه گرده قرار می‌گیرند [۱۵]. سرانجام گسستگی و دژنره شدن کامل تپتوم رخ می‌دهد و همه بقایای سلولی آزاد می‌شوندکه برای کامل شدن تزئینات دیواره اگزین دانه گرده ضروری می‌باشند [۸]. بنابراین سلول‌های تپتومی قبل ازمرگشان تمام ترکیبات پوشش دانه گرده لازم برای بلوغ دانه گرده را ترشح می‌کنند. در ادامه مراحل نموی دانه‌های گرده مشاهده می‌شود که هسته‌ها با روش میتوز تقسیم شده و دو هسته نابرابر را به وجود می‌آورند که هسته بزرگتر رویشی و هسته کوچک‌تر زایشی است. بنابراین، دانه گرده F.excelsior دو هسته‌ای تشکیل می‌شود. دانه‌های گرده بالغ، دارای ذرات نشاسته و لیپیدی هستند. نتایج بدست آمده از بررسی گرده بالغ زبان گنجشک با نتایج اربابیان و خواجویی همسویی دارد [۷،۸]. بطور کلی می‌توان گفت که بررسی ریخت شناسی دانه ی گرده همراه با خصوصیات اگزین از مهم ترین صفاتی است که در بررسی تکاملی دانه‌های گرده مورد بحث قرار می‌گیرد.(۹) برخی محققان شکل نهایی دانه‌های گرده در زبان گنجشک به صورت سه شکاف منفذی، جور قطب و سه وجهی شکل یا کروی و با اندازه ۲۱ میکرومترگزارش کرده‌اند [۴،۳]. در حالی که .Wallander, Eدرسال ۲۰۰۸، آن را سه شکاف منفذی، جور قطب، نیمه‌کروی[1] یا کروی و با اندازه ۱۹-۲۱ میکرومتر توصیف کرده است [۲]. کاوه و توسلی دانه گرده این گونه را سه شیار منفذی و کروی تا بیضوی گزارش کرده‌اند [۱]. نتایج این پژوهش در مورد وضعیت و تعداد منافذ با شیارها با نتایج Albert Sehr, [۴،۳] و Wallander [۲] و کاوه و توسلی هماهنگ است [۱]. در مقابل، بررسی شکل دانه‌های گرده نشان داد که گرده‌های بالغ سه وجهی و در مراحل نموی به شکل کروی تا بیضی شکل در زمان تشکیل شیارهای رویشی مشاهده می‌شوند. همچنین در بررسی اندازه دانه گرده، نتایج ما اندازه دانه‌های گرده ۱۸ میکرومتر را ثبت کرد که به نظر می‌رسد این اختلاف جزءی در اندازه دانه گرده به شرایط محیطی یا نوع واریته در اندازه گرده بستگی داشته باشد. بر اساس طبقه بندی پیشنهادی ارتمن (۱۹۶۰)، دانه‌های گرده به کلاسه‌های بسیار کوچک (μ≤۱۰)، کوچک (μ ۱۰-۲۵)، متوسط (μ ۲۵-۵۰)، بزرگ (μ۵۰-۱۰۰)، خیلی بزرگ (μ۲۰۰ ≤) و فرا بزرگ تقسیم می‌شوند.دانه گرده زبان گنجشک درگروه گرده‌های کوچک قرار می‌گیرد و جز گرده‌های باد پسند می‌باشد. به طور کلی، حدود ۳۰ دانه گرده بر مترمکعب هوا باعث ایجاد یک واکنش آلرژی زا می‌شود. از آنجایی‌که گرده‌های زبان گنجشک اندازه کوچکی دارند، قادرند حدود ۳۰۰ تا ۵۰۰ دانه گرده را در یک روز وارد ریه افراد کرده و به عنوان یک آلرژن اسنشاقی قوی مطرح

[1] hemispherical

باشند [۶]. از طرفی بررسی دقیق تر فراساختار دانه گرده *F.excelsior* بامیکروسکپ الکترونی نشان داد که دانه‌های گرده در سطح اگزین دارای اوربیکول هایی با اندازه کوچک و بزرگ هستند که در هردولایه داخلی و خارجی اگزین مشاهده می‌شوند.خاستگاه اوربیکول‌ها در ارتباط با شبکه آندوپلاسمی سلول‌های تاپی می‌باشد [۳]. قطر اوربیکول‌ها در ابتدای مراحل نموی از حدود ۰/۱ میکرومتر شروع شده و در مرحله بلوغ دانه گرده حداکثر ۰/۸ میکرومتر هستند. مدل اوربیکول‌ها در دانه‌های گرده زبان گنجشک با گزارش‌های Naryshkina در بررسی گرده‌های گونه‌های بلوط مطابقت دارد [۱۱].در یک نتیجه‌گیری کلی از بررسی گرده‌های پایه نر گیاه زبان گنجشک می‌توان تصور کرد که این تیپ گرده‌ها قدرت پراکنش بالایی در اتمسفر داشته و از گرده‌های مهم مسبب آلرژن‌های استنشاقی هستند. در پژوهش‌های آینده بررسی دقیق‌تر فراساختار دانه گرده با میکروسکپ الکترونی گذاره (TEM) و بررسی مرگ برنامه ریزی شده در سلول‌های تپتومی و رابطه آن با افزایش قدرت آلرژی‌زایی در *F.excelsior* پیشنهاد می‌شود.

منابع

[1] Kaveh M, Tavassoli A, Azadi R, Memariani F. Morphology and micromorphology of the genus Fraxinus L. in Iran. The Iranian Journal of Botany. 2014 Dec 22;20(2):188-200.

[2] Wallander E. Systematics of Fraxinus (Oleaceae) and evolution of dioecy. Plant Systematics and Evolution. 2008 Jun; 273(1): 25-49.

[3] Sehr EM, Weber A. Floral ontogeny of Oleaceae and its systematic implications. International journal of plant sciences. 2009 Sep; 170(7): 845-59.

[4] Albert B, Morand-Prieur MÉ, Brachet S, Gouyon PH, Frascaria-Lacoste N, Raquin C. Sex expression and reproductive biology in a tree species, Fraxinus excelsior L. Comptes rendus biologies. 2013 Oct 1;336(10):479-85.

[5] Shoushtari MS, Majd A, Nejadsattari T, Moin M, Kardar GA. Novel report of the phytochemical composition from Fraxinus excelsior pollen grains. Journal of Applied Botany and Food Quality. 2018 Jan 1; 91:310-20.

[6] Shoushtari MS, Majd A, Assarehzadegan MA, Fanuel S, Moin M, Nejadsattari T, Shoormasti RS, Badalzadeh M, Tajik S, Fazlollahi MR, Tayebi B. Identification of a 53 kDa protein, as a new high molecular weight allergen from Fraxinus excelsior (Ash) pollen. Allergo Journal International. 2020 Nov; 29(7): 233-9.

[7] Arbabian S, Jafari Marandi S, Majd A, Khosravi N. Structure of generative meristem and ontogeny of flower in *Capparis spinose* L. Journal of sciences. 2011. 20(78/1): 53-60

[8] Chehregani A, Ramezani H. The study of anther and pollen developmental stages inPetunia hybrida juss. Plant researches. 2008. 1(29): 65-79

[9] khajooi A.,Rezanejad F. Study on the developmental stages of Alcea aucheri (Boiss) Alef. Journal of developmental biology. 2015 7(4): 45-53

[10] Sharifshoushtari M., Majd A. Study Of Inflorescence, Development& Genesis Of Shastadaisy Ornamental Plant (Chrysanthemum Maximum Ramond) As A Patern Of Head Flowers In Asteraceae Family. The Iranian Journal of biology. 2010. 23(1): 47-61.

[11] Naryshkina NN, Evstigneeva TA. Sculpture of pollen grains of Quercus L. from the Holocene of the south of the Sea of Japan. Paleontological Journal. 2009 Dec; 43(10): 1309-15.

[12] 12.Hosseini, N., Zamanibahramabadi, E., Rezanejad, F. Study of morphological and anatomical traits of male flower, development stages of anther and pollen grain of pistachio (Pistacia vera L.). Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 2015; 28(1): 116-125.

[13] Baghaaefar Z. Microgametophyte development in Leucantemum vulgare L. Journal of developmental biology. 2017. 9(1): 79-94

[14] Arbabian S, Majd A, Salaripour S. The Effects Of Electromagnetic Field (Emf) On Vegetative Organs, Pollen Development, Pollen Germination And Pollen Tube Growth Of Glycine Max L. Journal of cell & tissue 2010, 1 (1): 35 - 42.

[15] Goldberg RB, Beals TP, Sanders PM. Anther development: basic principles and practical applications. The Plant Cell. 1993 Oct; 5(10): 1217.

[16] Fadón E, Herrero M, Rodrigo J. Anther and pollen development in sweet cherry (Prunus avium L.) in relation to winter dormancy. Protoplasma. 2019 May; 256(3): 733-44.

[17] 17.T, G., M, A., R, R. Study on Development of Stamen and Comparison of Pollen Proteins Thymus transcaucasicus in Two RegionsAbali and Roodbar. Journal of Cell and Tissue, 2015; 5(4): 369-378.

[18] 18..JafariMarandi S., Salimpour F. shamloo Sh. Developmental stages of reproductive meristem, flower and pollen of Convolvulus arvensis L.Plant researches. 2008. 3(29):484-493.

Journal of Developmental Biology
Vol. 14, No. 3, Summer 2022

Developmental stages of the pollen grains in Ash tree (Fraxinus *excelsior* L.)

Sharif Shoushtari M.[1], Majd A.[2*], Moin M.[3], Kardar Gh.[3]

[1] Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2] Department of Plant Biology, Faculty of Biology Science, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.
[3] Immunology, Asthma and Allergy Research Institute, Children's Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

* (Corresponding author): Majda.iautnb@gmail.com

Received: September 2021 Accepted: December 2021

Abstract

Fraxinus excelsior is a common tree belongs to the Oleaceae family which is commonly found in the vegetation of most areas of Iran, especially Tehran province. According to the reports of allergenicity of olive family and homology between genera and species of this genus and high level of seasonal sensitivity to ash pollens, accurate knowledge of pollen grains is essential. In this research we investigated the pollen grains developmental characteristics of pure male flowers *F. excelsior*. The flowers and buds, in different developmental stages, were removed, fixed in FAA70, stored in 70% ethanol, and following dehydration and embedding in paraffin, the specimens were sliced by a rotary microtome. Staining was carried out with PAS and contrasted with Hematoxylin and prepared specimens were studied under a light microscope. Also, to be observed pollen structure was examined by SEM and FESEM electron microscopy. The results indicated that consist of two stamens and anthers were four pollen sacs and pollen tetrads types were tetragonal and cubic. Pollen grains, when shed had three colpes and Striped-mesh ornaments and/or be observed along with orbicules of different sizes on the surface. The pollen grains, in this plant, are spherical in polar view and fusiform in equatorial view; mature pollens are prolate, tricolporate/tricolporoidate with furrows disposed along polar axis. The pollen grains are 2-celled when shed. Tapetum layer cells are large dual nuclei and have both secretory and amoebic states. Scrutiny cell and tissue of pollen grains can help in more thorough investigation on applications of aerobiology and identification of pollen allergens.

Keywords: *F.excelsior* L., Microsporogenese, Pollen grain،Oleaceae.