فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال دهم، شماره ۲، بهار ۱۳۹۷

بررسی مراحل تکوین دانه گرده و تخمک گونه *Salvia verticillata* L. جمع‌آوری شده از سه رویشگاه در ایران

مریم کاملی[*۱]، احمد مجد[۲]، سید محسن حسام زاده حجازی[۳]، مهدی میرزا [۳]، طاهر نژاد ستاری[۱]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، تهران، ایران

[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

[۳] موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران

[*] Email: Maryam.kameli7278@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۹/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۰۲

چکیده

مطالعات تکوینی و رویان شناختی جایگاه ویژه‌ای در علم گیاهشناسی و تاکسونومی گیاهی دارد. در این پژوهش مراحل و چگونگی تکوین تخمک و دانه گرده در گیاه *Salvia verticillata* L. از خانواده نعنا (Lamiaceae) بررسی شد. گل و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در فیکساتور FAA تثبیت ودر الکل ۷۰٪ نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از قالب گیری در پارافین ،با میکروتوم برش‌گیری شدند، رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین انجام گرفت. لام‌های تهیه شده از مراحل مختلف تکوینی با میکروسکوپ نوری مدل Zeiss Axiostar plus (Germany) بررسی گردیدند. براساس نتایج حاصل از این بررسی برای سه جمعیت مورد مطالعه، تخمک به شکل واژگون، دو پوسته‌ای و کم خورش بوده و تکوین کیسه رویانی از طرح تک اسپوری و تیپ‌پلی گونوم پیروی می‌کند. پس از تقسیم میوز تترادهای مگاسپور آرایشی خطی دارند. کیسه رویانی ابتدا بسیار کوچک است به طوری که هسته‌های آن آرایش خطی فشرده را به خود می گیرند، اما در جریان بلوغ،کیسه رویانی رشد طولی قابل توجهی پیدا می‌کند. بساک بصورت دو کیسه‌ای است. در *Salvia verticillata* لایه تاپی ابتدا از نوع ترشحی و در نهایت پلاسمودی است و برخی یاخته‌های آن دو تا چهار هسته‌ای هستند. آرایش تترادهای میکروسپور در این گونه بصورت تترا هدرال و تتراگونال است.

کلیدواژه‌ها: تخمک، دانه گرده، کیسه رویانی، میکروسپور، مگاسپور، *Salvia verticillata*.

مقدمه

تیره نعنا (Lamiaceae) با بیش از ۲۸۲ جنس و ۱۸۹۳ گونه در دنیا [۲۳]یکی از مهم ترین تیره‌های گیاهان گلدار به شمار می‌آید [۲٤،۲٦،۳۰]. جنس *Salvia* یکی از جنس‌های مهم خانواده نعنا است. مریم گلی گیاهی است علفی، و در ایران ٦۱ گونه گیاه

علفی یکساله و چند ساله دارد که۱۷ گونه آن انحصاری می‌باشند[۱۰]. گیاهان این جنس پایا، بوته‌های چوبی، دوساله و بندرت یکساله و اغلب معطرند [۷]. برگ‌های گونه‌های *Salvia* به‌عنوان گیاهان دارویی شهرت دارند. مشهورترین آنها در دنیا *S. officinalis* L است که برگ‌های آن به عنوان داروهای گیاهی نیروبخش به کار می‌روند [۲۰،۲۱]. گونه‌های مختلف جنس *Salvia* دارای خواص ضد میکروبی، ضد توموری و ضد التهابی هستند ودر طب سنتی برای درمان برونشیت، اختلالات گوارشی وسل مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲۵،۱۲]. جنس *Salvia* در هر دو بخش نیمه‌گرمسیری و معتدل جهان یافت می‌شود. مراکز اصلی تنوع این جنس نواحی مدیترانه-ای، آسیای مرکزی، آمریکا و جنوب آفریقاست [۸]. آناتولی در ترکیه مرکز عمده *Salvia*در آسیا می‌باشد [۳۱].زیست شناسی تکوینی اندام‌های زایشی، که بررسی مراحل مختلف تکوین گل یعنی اندام‌زایی و تکوین پرچم ،دانه گرده، مادگی، تخمک و گامتوفیت را شامل می‌شود، اخیرا به طور چشمگیری مورد توجه قرار گرفته است [۱].مطالعات متعدد ریخت‌شناسی، تشریحی، سلول‌شناسی و فیتوشیمی برای گونه مورد آزمایش صورت گرفته است [۲۸،۳۲،۲۹،۲۷،۱۱،۶]. با این حال، بررسی‌های تکوینی و رویان شناختی محدودی برای این گونه انجام شده است بنابراین انجام مطالعات تکوینی جدید جهت شناخت هر چه بیشتر این گونه ضروری است. هدف پژوهش حاضر بررسی مراحل تکوین گامتوفیت نر و ماده *Salvia verticillata* جمع‌آوری شده از سه رویشگاه طبیعی چالوس، تهران – لواسان و فیروزکوه – تنگه واشی در ایران، می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور مطالعه رویان شناختی و مقایسه بین جمعیت‌ها از لحاظ مراحل تکوینی در *Salvia verticillata*، نمونه‌های مورد بررسی از زیستگاه طبیعی خود در چالوس ،تهران – لواسان و فیروزکوه – تنگه واشی در استان‌های مازندران و تهران جمع‌آوری و برای شناسایی و تعیین جایگاه آرایه‌شناسی، در هرباریوم موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور نگهداری شدند (جدول ۱). غنچه‌ها در مراحل مختلف نموی در محلول تثبیت کننده FAA [فرمالدئید ۳۷٪ (۱۰میلی‌لیتر)، اسید استیک ۱۰۰٪ (۵ میلی‌لیتر) و اتانول ۹۶٪ (۸۵ میلی‌لیتر)] تثبیت گردیدند. نمونه‌ها پس از ۱۸ ساعت تثبیت ،با آب شستشو داده شدند تا محلول تثبیت کننده از نمونه‌ها خارج گردد، سپس نمونه‌ها در الکل ۷۰٪ نگهداری شدند. به منظور آماده کردن نمونه‌ها برای برش‌گیری، نمونه‌ها از الکل اتانول با درجات افزایشی (۳۰،۵۰ ، ۷۰، ۹۶ و ۱۰۰) عبور داده شدند تا آب‌گیری شوند.

جدول ۱- تعداد جمعیت‌ها و افراد *S. verticillata* L

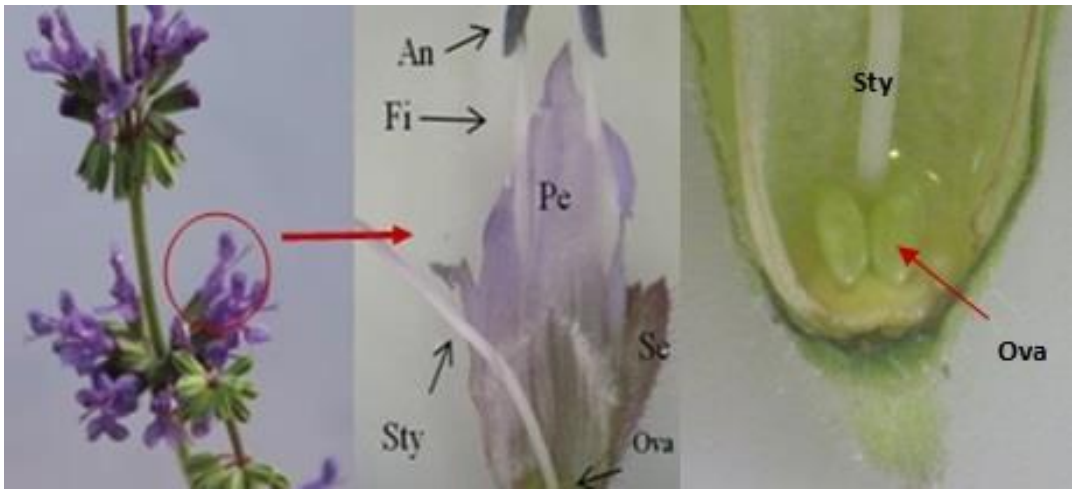
گونه	شماره جمعیت	کد جمعیت	نام جمعیت	شماره افراد	تعداد افراد
S. verticillata L	۱	۳۲۳-۳۲۶	چالوس	۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۳۱	٦
	۲	۳٤۹	تهران– لواسان	۲٤، ۲۵، ۲٦	۳
	۳	۳۵۳	فیروزکوه–تنگه واشی	۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰	٤
جمع	۳ جمعیت				۱۳ فرد

سپس نمونه‌ها به ترتیب در محلول‌های ۲ حجم الکل، ۱ حجم تولوئن، حجم‌های مساوی الکل و تولوئن، ۱ حجم الکل، ۲ حجم تولوئن و تولوئن خالص قرار داده شدند تا تولوئن جایگزین الکل گردد.در نهایت نمونه‌ها دو بار در پارافین قرار داده شدند تا پارافین جایگزین تولوئن گردد و نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری شدند. پس از قالب‌گیری و آماده کردن قطعات پارافین حاوی نمونه‌ها با میکروتوم دستی با ضخامت ۸ میکرومتر برش‌گیری گردیدند. به منظور رنگ‌آمیزی برش‌ها، لام‌های مورد نظر پارافین-زدایی و سپس لام‌ها با عبور از الکل‌هایی با درجات کاهشی آبدهی گردیدند. پس از آن با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند و با عبور از الکل‌های ۹۰ و ۱۰۰ آبگیری و در نهایت ۳ دقیقه داخل تولوئن قرار داده شدند، سپس لام‌ها به وسیله چسب انتالن لامل‌گذاری و در هوای آزاد خشک شدند. لام‌های آماده شده توسط میکروسکوپ نوری دوربین‌دار (Germany) Zeiss Axiostar plus با بزرگنمایی‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند و از نمونه‌های مناسب عکسبرداری انجام شد.

نتایج

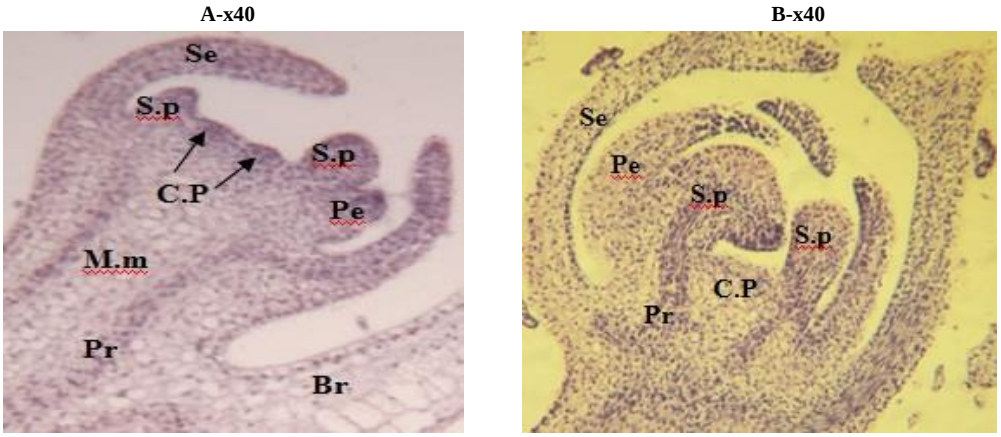
تکوین گل

تعداد پرچم‌های گونه موردآزمایش چهار عدداست که بصورت دی دینام قرار گرفته‌اند. دو پرچم زایا و دو پرچم نازا که تحلیل رفته است پرچم‌های زایا متصل به جام گل با میله‌های صاف، موازی وسفید رنگ و متصل به دو بساک بیضی شکل می‌باشد (شکل ۱-).



شکل ۱: ساختار و نوع پرچم در جمعیت‌های گونه *salvia verticillata* مورد آزمایش، تصویر گرفته شده با استریو میکروسکوپ :An بساک، Fi میله، Pe گلبرگ، Se کاسبرگ، Ova تخمدان، Sty خامه.

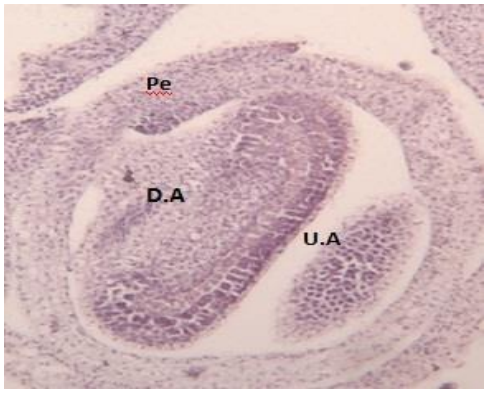
تکوین پرچم‌ها بصورت ظاهر شدن توده‌های کوچکی بر روی مریستم زایشی شروع می‌شود که متشکل از سلول‌های مشابهی هستند و به سرعت رشد و نمو می‌یابند ظهور و تکوین پرچم‌ها زودتر از مادگی است (شکل ۲-B, A).



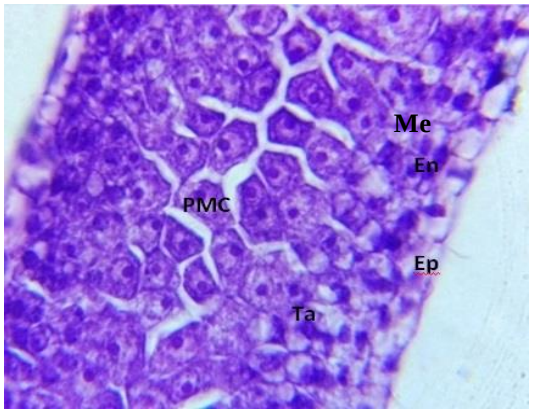
شکل ۲: مریستم زایشی *Salvia*spp رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین: A) برش طولی غنچه بسیار جوان، پریموردیوم پرچمی و برچه‌ای در کنار پریموردیوم گلبرگ و کاسبرگ B) برش طولی گلبسیار جوان در مراحل اولیه تشکیل اندام‌های گل: Br براکته، Se کاسبرگ، Pe پریموردیوم گلبرگ، S.p پریموردیوم پرچمی، C.p پریموردیوم برچه، Pr طناب پروکامبیومی، M.m مریستم مغزی.

بساک‌های تمایز نیافته تخم مرغی شکل می‌باشند (شکل ۳- A). در مراحل اولیه نمو بساک، در هر کیسه گرده[1] یک گروه از سلول‌های زیر اپیدرمی به نام آرکئوسپور[2] تمایز یافته و با تقسیمات مماسی خود به سمت درون، بافت هاگزا (داخلی) و بسمت بیرون، لایه‌های جداری (بیرونی) را تولید می‌کنند. دیواره بساک از تقسیم سلول جداری تمایز می‌یابد که چهار لایه و از بیرون به داخل شامل اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی و لایه مغذی (تاپی) است. هرکدام از لایه-های ذکر شده از یک ردیف سلول تشکیل شده‌اند (شکل ۳-B). بساک‌ها از نوع یکپارچه [3] (یک لبی) با دو کیسه گرده[4] هستند (شکل ۳-D,C). اپیدرم[5] از یک ردیف سلول‌های مستطیل شکل صاف و مرتب تشکیل شده است (Ep در شکل ٤-A) که در طی تکوین تا زمان بلوغ و شکوفایی کیسه گرده، شکل خود را از دست می‌دهند و چروکیده می‌شوند (Ep در شکل ٤-B). لایه مکانیکی[6] از یک ردیف سلول‌های مستطیلی شکل تشکیل شده است و ضمن تکوین بساک دارای تزئینات چوبی می‌شود (En در شکل ٤-B). لایه میانی[7] متشکل از سلول‌های مسطح است (شکل Me در ٤- C) این لایه ناپایدار می‌باشد و همزمان با میوز در سلول‌های مادر دانه گرده به فرایند آتروفی وارد می‌شود (شکل٤- B). تپتوم تک لایه است سلول‌های آن با داشتن حجم زیاد، سیتوپلاسم غلیظ و هسته کروی بزرگ، از دیگر سلول‌ها قابل تشخیص می‌باشند. در مراحل ابتدایی رشد، سلول‌های تپتوم بصورت تک هسته ای هستند. همزمان با تقسیم میوز در سلول‌های مادر دانه گرده، سلول‌های تپتوم بصورت شعاعی گسترش می‌یابند علاوه بر این در ادامه تقسیم میوز در سلول‌های مادر گرده، در تعدادی از سلول‌های تپتوم تقسیم میتوزی بدون سیتوکینز انجام می‌شود و سلول‌های تپتوم با هسته دو تا چهار تایی دیده می‌شوند (شکل٤-D).

[1] microsporangia
[2] Archesporial cell
[3] monothecous
[4] bisporangia
[5] Epidermis
[6] Endothecium
[7] middle

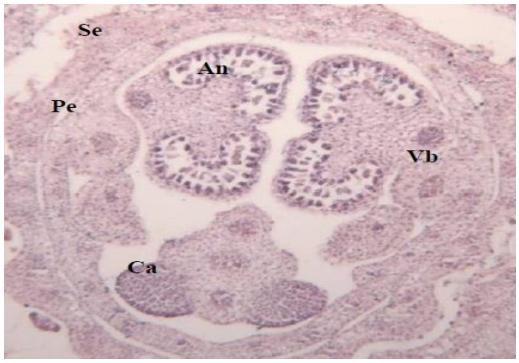


A



B

C



D

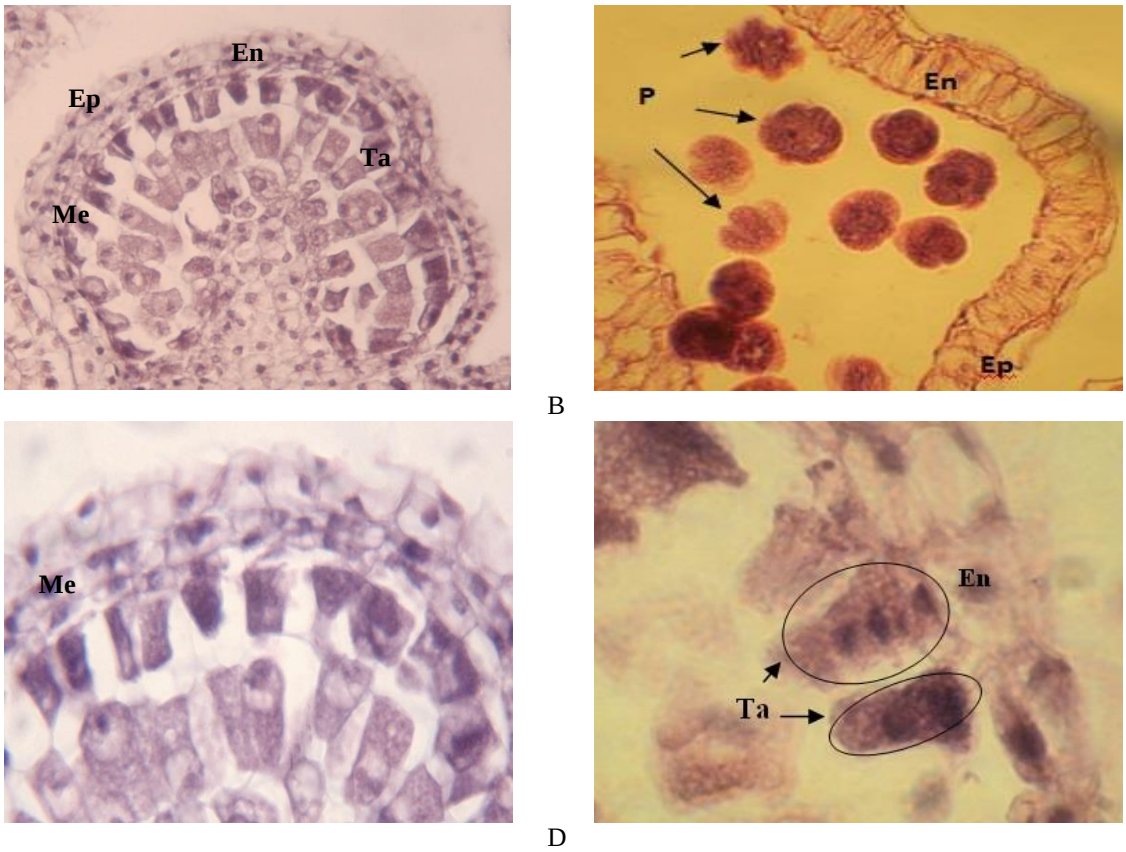
شکل۳: تکوین پرچم در A*Salvia verticillata* X10) بساک تمایز یافته پرچم زایا حاوی لایه های جداری و سلول های هاگزا در کنار بساک تمایز نیافته B) سلول های مادر دانه گرده و چهار لایه دیواره بساک از خارج به داخل شامل اپیدرم،لایه مکانیکی،لایه میانی و لایه تاپیاست C) بساک Bisporangia (دو کیسه گرده) جوان یکپارچه (Monothecous) D) برش عرضی غنچه گل و نمایش اجزا گل شامل کاسبرگ، گلبرگ، پرچم‌های زایا و برچه های در حال تکوین: An بساک، (undifferantiated Anther) UA بساک در مراحل ابتدایی تکوین Se کاسبرگ، Pe گلبرگ، Ca برچه‌های در حال تکوین، DA بساک تمایزیافته، Ep اپیدرم، En لایه‌مکانیکی، Me لایه میانی، Ta تاپی، PMCیاخته مادر گرده.

بعد از تشکیل تترادها سلول‌های تپتوم کم کم تجزیه می‌شوند بطوریکه بعد از ظاهر شدن دانه‌های گرده تک سلولی بطور کامل از بین می‌روند (شکل ٤-B).

میکروسپورزایی و تشکیل گامتوفیت نر

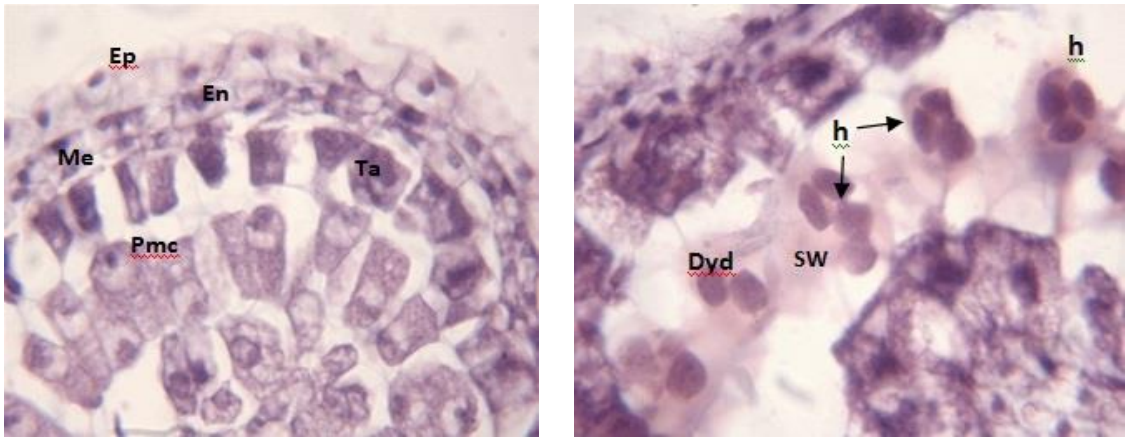
به دنبال تقسیمات میتوزی در توده سلول‌های هاگزای به وجود آمده از سلول‌های آرکئوسپور این سلول‌ها مستقیما به میکروسپورسیت یا سلول‌های مادر دانه گرده تمایز می‌یابند. میکروسپورسیت‌ها (PMC) با سیتوپلاسم متراکم، اندازه بزرگ، هسته درشت با رنگ‌پذیری بالا از سلول‌های مجاور متفاوت می‌شوند (PMC در شکل ٥-A). طی فرایند میکروسپورزایی، میوز در هر سلول مادر میکروسپور آغاز می‌شود که ابتدا منجر به تشکیل دیاد (شکل ٥- B) و تترادهای میکروسپوری از نوع تترادهای هدرال (چهار وجهی) و گونال (لوزی شکل) می‌گردد (شکل ٥-B,C). تترادهای هدرال بیشتر از انواع دیگر تترادها دیده می‌شوند. دیواره ویژه (SW) اطراف تترادها و سلول‌های دانه گرده رسیده به وضوح قابل تشخیص است (شکل ٤-B). همزمان با تحلیل رفتن دیواره ویژه، سلول‌های تشکیل دهنده تترادها از هم جدا می‌شوند و

میکروسپورهای جوان (Ym) آزاد می‌گردند که در زمان آزاد شدن هنوز واکوئله نبوده و دارای سیتوپلاسم متراکم وشکل منظم هستند و تغذیه آنها توسط لایه تاپی انجام می‌گیرد (شکل ۵- D).

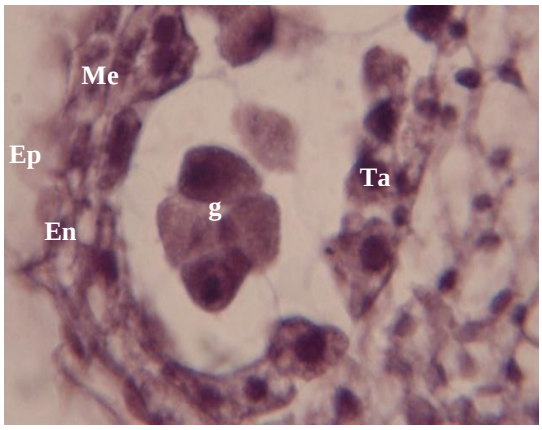


A B C D

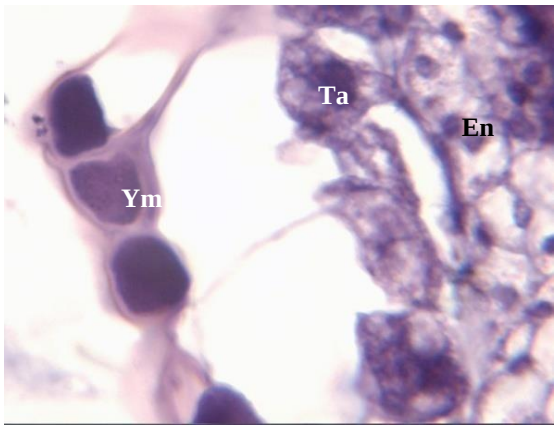
شکل۴:تکوین دانه گرده (میکروسپور) و دیواره بساکA x100) سلول های مادر دانه گرده و چهار لایه دیواره بساک از خارج به داخل شامل اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی و لایه تاپی، لایه تاپی از نوع ترشحی دارای یک هسته B) برش طولی بساک با سلول‌های دانه گرده جوان C) لایه میانی D) سلول‌های لایه تاپی دو و چهار هسته‌ای: Me لایه میانی، Ta تاپی، En لایه مکانیکی، Ep اپیدرم، P دانه گرده بالغ.



A B



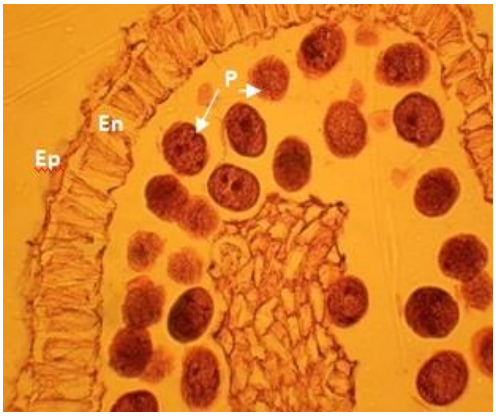
C



D

شکل ۵: تکوین دانه گرده (میکروسپور) و دیواره بساک A x100) سلول‌های مادر گرده و چهار لایه دیواره بساک از خارج به داخل شامل اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی و لایه تاپی، لایه تاپی از نوع ترشحی دارای یک هسته B) دانه گرده در مرحله دیاد با دیواره ویژه در اطراف و تتراد های نوع هدرال با لایه تاپی ترشحی در حال از بین رفتن C) تترادهای گونالو چهار لایه دیواره بساک D) میکروسپورهای جوان با دیواره ویژه: PMC یاخته مادر گرده، g تترادگونال، h تترادهدرال، Me لایه میانی، Ta تاپی، En لایه مکانیکی، Ep اپیدرم، Dyd دیاد، Ym میکروسپور جوان، Sw دیواره ویژه.

با توسعه واکوئل مرکزی، هسته دانه گرده بـه کنـار سلول رانده می‌شود. نمـو میکروسـپور بـا انجـام یـک تقسیم میتوز کامل می‌شود به این صـورت کـه تقسـیم نامساوی موجـب تشـکیل دو سـلول متفـاوت از نظـر عملکردی و ریختی می‌شود یک هسته بزرگ رویشـی و یک هسته کوچک زایشی که منجر بـه تشـکیل دانـه گرده بالغ می‌شود (شکل ٦).

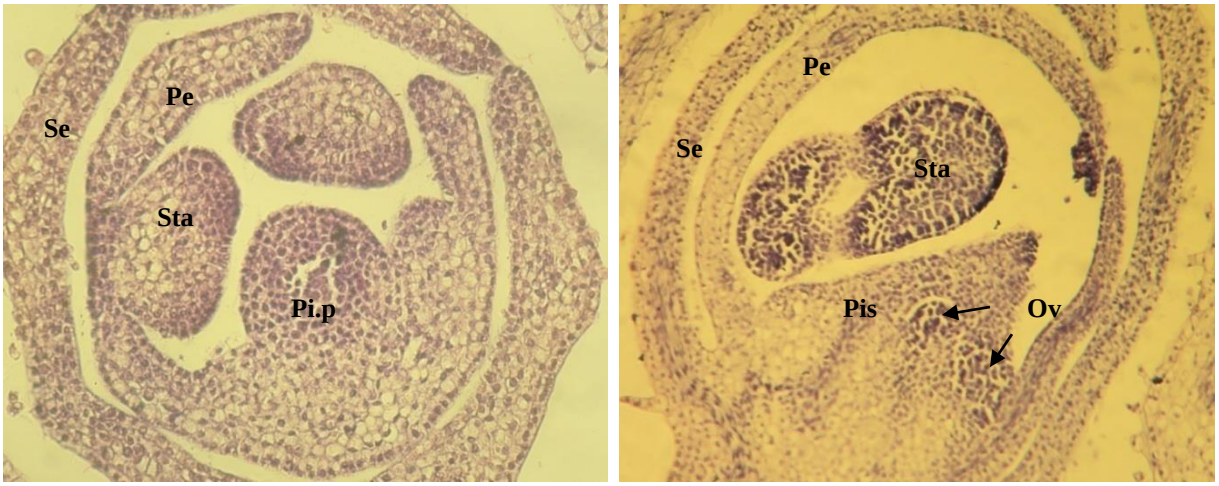


شکل ٦ : برش طولی از بساک با سلول های دانه گرده جوان (هسته رویشی و زایشی) x100: Ep اپیدرم، En لایه مکانیکی، P دانه گرده جوان.

تکوین مادگی وتخمک

کمی بعد از تشکیل پریموردیوم پرچم، توده مریستمی جهت تشکیل مادگی شکل می گیرد. مراحل تکوین پرچم سریع‌تر از مادگی رخ می‌دهد بطوریکه قبل از اتمام تکوین پرچم، پریموردیوم برچه‌ای به صورت توده‌ای کوچک دیده می‌شود (شکل۷– A). ضمن تکوین مادگی و همزمان با تمایز و رشد تخمدان، اولین آثار تشکیل تخمک‌ها به صورت

برجستگی‌های کوچک کم وبیش کروی در جدار تخمدان پدیدار می‌شوند (شکل۷-B).



A B

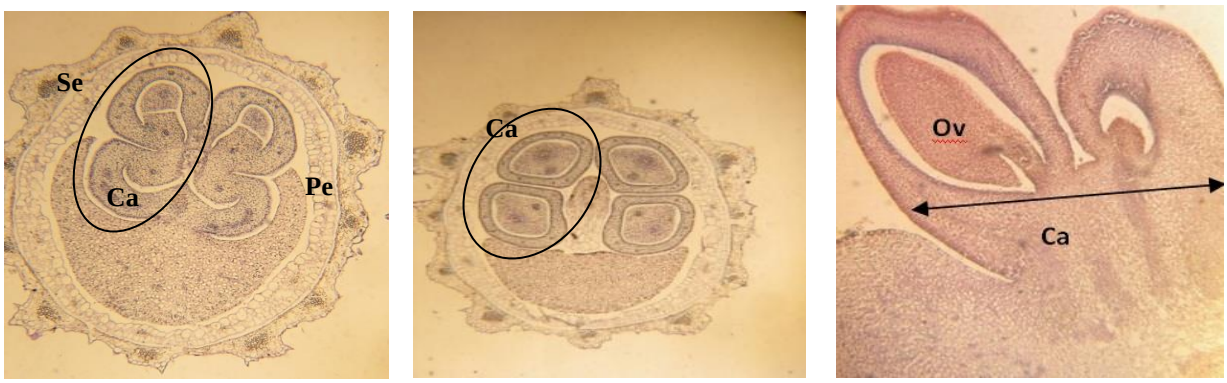
شکل ۷ : تکوین مادگی *Salviaverticillata*ابژکتیو x40 A) برش عرضی غنچه، پریموردیوم مادگی بصورت برجستگی در بخش مرکزی و مجاور پرچم‌های جوان B) برش طولی غنچه، برچه جوان شامل پریموردیوم تخمکی متشکل از توده کوچکی از سلول‌های مشابه در کنار پرچم‌های تمایز یافته: Se کاسبرگ، Pe گلبرگ، Pi.p (Pistil primordium) پریموردیوم مادگی،Sta پرچم،Ov تخمک، Ova تخمدان، Pis(Pistil)مادگی.

هر گل دارای یک مادگی دو برچه‌ای است که هر برچه دارای دو تخمک است که هریک به سرعت به دو خانه محتوی یک تخمک تقسیم می شود در برش عرضی تخمدان چهار خانه با چهار تخمک دیده می‌شود (شکل ۸). جفت‌بندی در گونه مورد آزمایش، محوری[1] است (شکل ۸-A,B). تخمک‌ها واژگون[2] می‌باشند (شکل ۸- C).داخل تخمک نابالغ بافت مغذی متشکل از سلول‌های پارانشیمی (بافت خورش) قرار گرفته است (شکل ۹-A).

مگاسپورزایی و تکوین گامتوفیت ماده

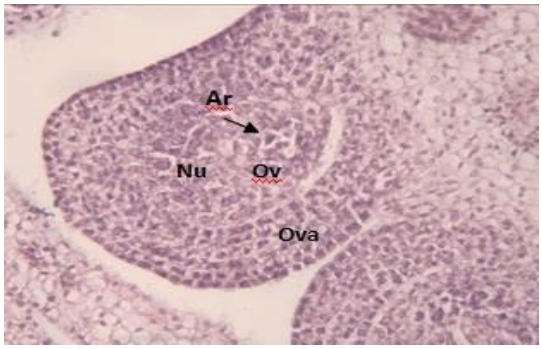
به دنبال رشد سریع یکی از سلول‌های خورش (شکل ۹- A) سلولی به نام آرکئوسپور[3] تمایز می‌یابد. یابد. این سلول، دارای اندازه بزرگ‌تر و سیتوپلاسم فشرده است (شکل ۹- B). سلول آرکئوسپور در گونه مورد آزمایش به سلول مادر مگاسپور (مگاسپورسیت) تمایز می‌یابد (شکل ۹- C). سلول مادر مگاسپور رشد می‌کند و متحمل تقسیم میوزی می‌گردد که حاصل اولین تقسیم میوزی تشکیل دو سلول دیاد است (شکل ۹- D) دومین تقسیم میوزی موجب تشکیل چهار سلول تتراد از نوع خطی می‌شود (شکل ۹- E). از چهار سلول حاصل از میوز، سه سلول تحلیل رفته و سلول باقی مانده مگاسپور عملکردی یا مادر کیسه رویانی نامیده می‌شود که آغازگر تکوین مگاگامتوفیت است و اولین مرحله از تولید کیسه رویانی است (شکل ۹- F).

[1]- Axil placentation
[2]-Anatrope
[3]Archesporial

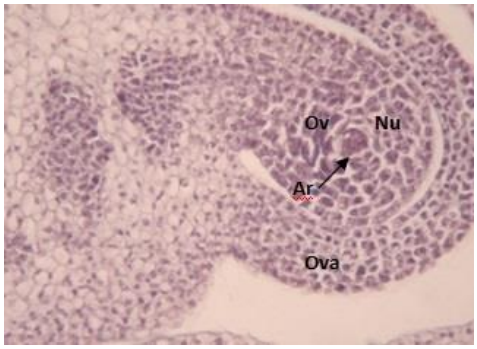


A B C

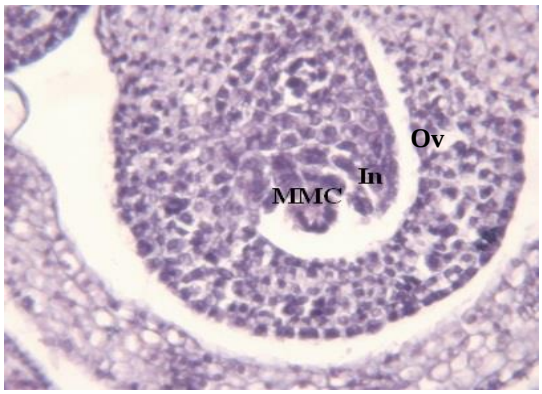
شکل ۸- A, B برش عرضی تخمدان گونه مورد آزمایش ابژکتیو X10، C برش طولی تخمدان و تخمک واژگون، Ov تخمک، Loc (Loculus) حفره، Ca برچه Se ، کاسبرگ، Pe گلبرگ.



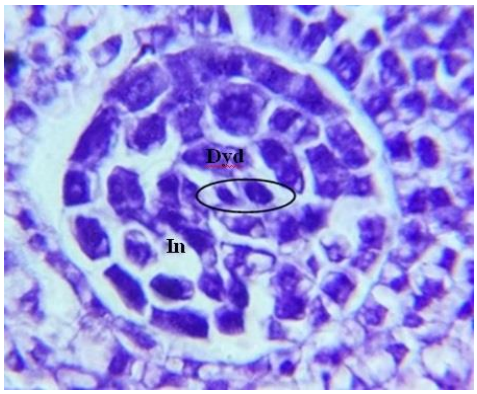
A-X40



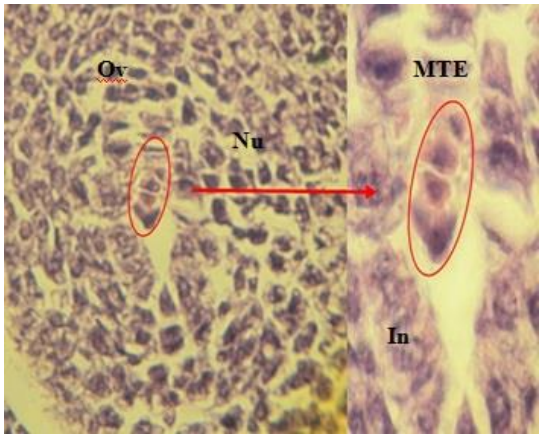
B-X40



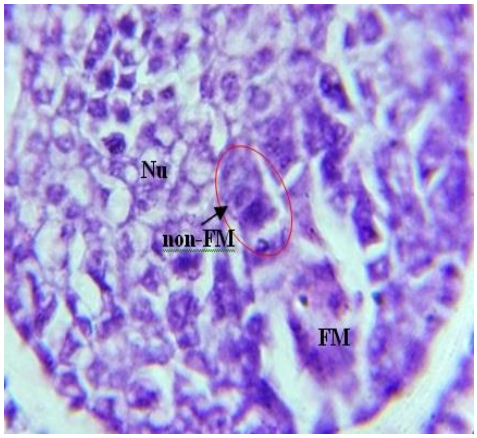
C-X40



D-X100



E-X40-x100

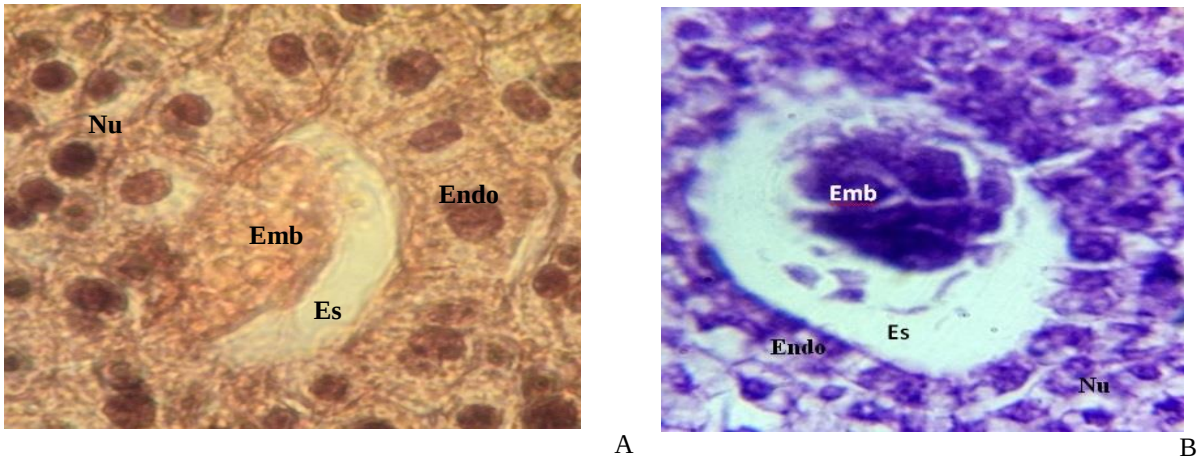


F-X100

شکل ۹: تکوین تخمک *Salviaverticillata* ابژکتیو x40 و X100: A) تخمک نابالغ متشکل از سلول های خورش B) برش طولی تخمک در مرحله سلول آرکئوسپوری C) برش طولی از تخمک جوان با سلول مادر مگاسپور و پوسته در حال تشکیل D) برش طولی تخمک و دیاد E) برش طولی تخمک همراه با تتراد خطی F) برش طولی تخمک با مگاسپور عملکردی و سلول‌های مگاسپور غیر عملکردی: In پوسته تخمک، MMC سلول مادر مگاسپور، Ar سلول آرکئوسپور، Nu سلول خورش، Dyd دیاد، FM مگاسپور عملکردی، non-FM مگاسپور غیر عملکردی، MTE مگاسپورتتراد .

نمو کیسه رویانی

اولین مرحله برای تبدیل مگاسپور زایا به کیسه رویانی افزایش حجم این سلول می‌باشد. به این ترتیب حجم این سلول تا چندین برابر سلول‌های بافت خورش افزایش می‌یابد ،شکل کیسه مانندی پیدا می‌کند و به‌تدریج بین سلول مادر کیسه رویانی و سلول‌های خورش مجاور، فضای روشنی شکل می‌گیرد که می‌تواند نتیجه تحلیل رفتن سلول‌های مگاسپور غیر عملکردی باشد (شکل ۱۰-A). هسته سلول بنیادی کیسه رویانی سه تقسیم میتوزی متوالی را انجام می‌دهد. اولین تقسیم موجب تشکیل کیسه رویانی دو هسته‌ای و دومین تقسیم میتوزی کیسه رویانی چهار هسته ای را بوجود می‌آورد (شکل ۱۰-B).

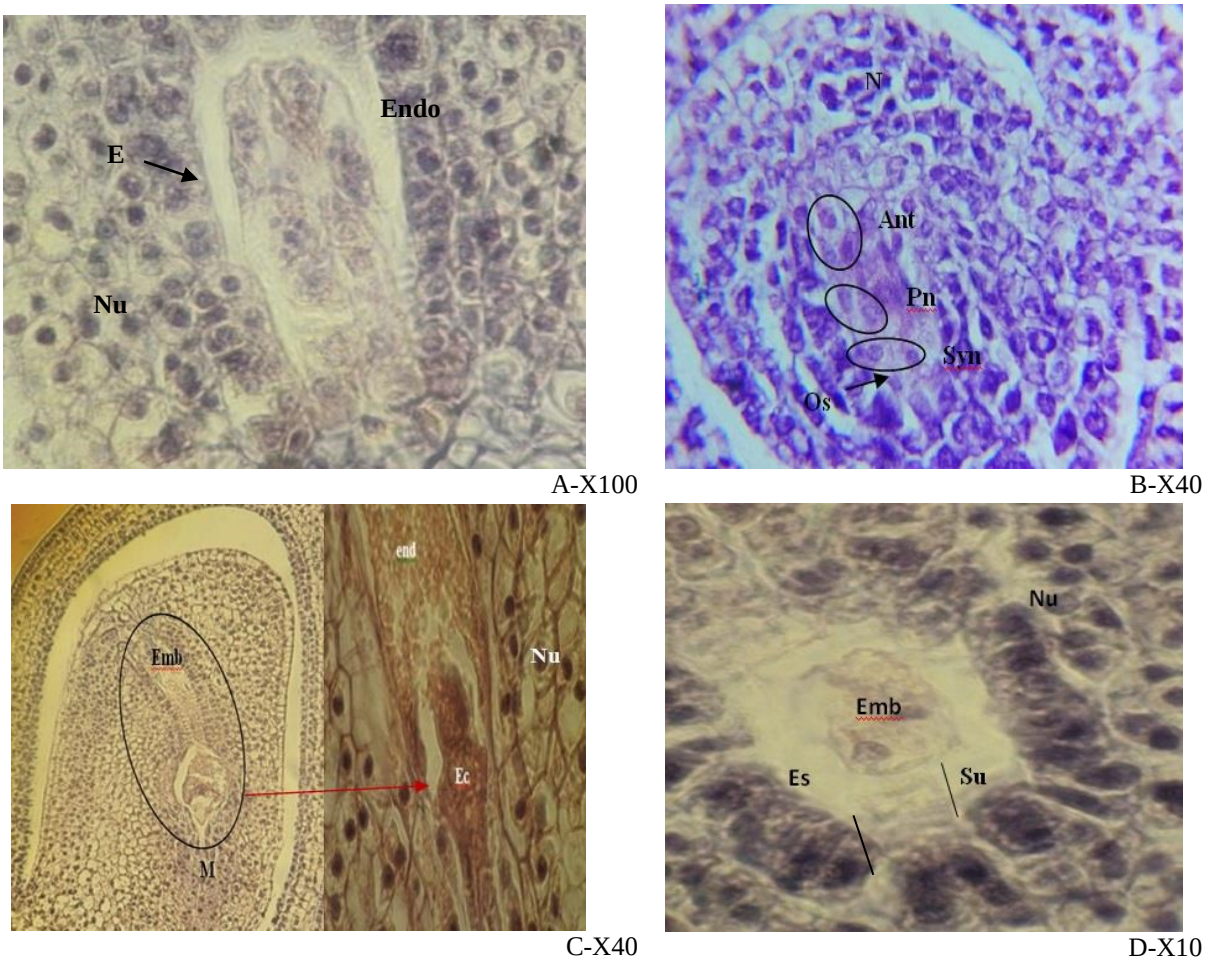


شکل۱۰: تکوین کیسه رویانی ابژکتیو A x100)برش طولی تخمک با کیسه رویانی یک هسته ای همراه با نوسل B) برش طولی تخمک با کیسه رویانی ٤ هسته‌ای Es کیسه رویانی، Emb رویان، Nu نوسل، Endo اندوتلیوم.

سپس در پایان تقسیم میتوز سوم، کیسه رویانی هشت هسته‌ای بوجود می‌آید واکوئلی شدن کیسه رویانی موجب حجیم شدن و جابجایی هسته‌های درون کیسه رویانی در موقعیت‌های مختلف می‌شود (شکل ۱۱-A) در نهایت کیسه رویانی بالغ بوجود می‌آید که در مجاورت مجرای سفت سلول‌های همسان (قرینه[1]) و تخم زا[2] مشاهده می‌شوند. و در قطب مقابل سه سلول پابنی[3] مشخص هستند (تیپ پلی‌گونوم) (شکل ۱۱-B). در این مرحله کیسه رویانی به اندازه کافی رشد نکرده است بنابراین هسته‌های کیسه رویانی نزدیک به هم قرار دارند وفضای کمی

[1] Synerjed
[2] Oospher
[3] Antipodal

بین آنها وجود دارد.عمل لقاح منجر به ایجاد سلول تخم و آندوسپرم می‌گردد (شکل ۱۱–C). با تقسیمات متوالی و به دنبال آن تمایز سلول تخم، رویان کروی شکل ایجاد می‌شود و شروع به تکوین می‌کند (شکل ۱۱–D).



شکل۱۱: تکوین کیسه رویانی A) برش طولی کیسه رویانی زمان واکوئله شدن آن ومهاجرت هسته‌ها B) برش طولی کیسه رویانی که سلول تخمزا وسلول‌های قرینه همراه آن و هسته های قطبی و آنتی پود ها بخوبی مشاهده می‌شوند C) سلول‌های تخم در کیسه رویانی همراه با آندوسپرم سنوسیتی D)برش طولی از مراحل اولیه رویان کروی شکل: Es کیسه رویانی، Ant سلول‌های پابنی، Emb رویان، Ec سلول تخم، end آندوسپرم سلولی، Nu نوسل، Endo اندوتلیوم،Pn هسته قطبی، Su سوسپانسو، Syn سینرژید، Os تخمزا

بحث

پرچم‌ها در هر سه جمعیت مورد آزمایش، بصورت توده‌ای از برجستگی‌های سلولی روی مریستم زایشی پدیدار می‌شوند. در گونه مورد مطالعه نمو بساک بر اساس تیپ دو لپه‌ای انجام می‌گیرد. در بیشتر نمونه‌های مورد آزمایش در بساک ،سلول‌های لایه تاپی در جای خود ثابت مانده و تحلیل نمی‌روند بنابراین با توجه به شکل‌ها،از ابتدا و تا زمانی که سلول‌های تاپی در کنار دیواره بساک دیده می‌شوند، ترشحی هستند. این سلول‌ها در مراحل انتهایی نمو بساک شروع به حرکت به داخل حفره بساک می‌کنند و در آنجا با سلول‌های در حال تقسیم و نمو تماس مستقیم پیدا می‌کنند بنابراین می‌توان گفت لایه تاپی در این گونه در نهایت از نوع پلاسمدی می‌شود. با

تکمیل تکوین دانه‌های گرده در دیواره بساک فقط لایه‌های اپیدرم و مکانیکی باقی می‌ماند. 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. بنیان‌گذاری کاسبرگ قبل از گلبرگ‌ها و بنیان‌گذاری گلبرگ‌ها قبل از پرچم‌ها است و مادگی در نهایت بوجود می‌آید این یافته‌ها با نتایج چهرگانی، مجد و جعفری همسویی دارد [۹،٤،۳]. نوع جام گل در هر سه جمعیت مورد آزمایش *S. verticillata*، نامنظم[1]، و بصورت سنبله مجتمع به نام ورتیسل است[۲]. نتایج پژوهش حاضر نشان داد گرچه تشکیل پریموردیوم پرچمی و برچه ای همزمان است ولی نمو تخمک دیرتر از پرچم‌ها انجام می‌شود به‌طوریکه زمانی که میکروسپورها تشکیل می‌شوند پریموردیوم تخمک از جدار قاعده تخمدان شکل می‌گیرد. پرچم‌ها متصل به جام گل، به تعداد چهار عدد که دو به دو[2] (دی دینام) در کنار هم قرار گرفته‌اند، دو تا از پرچم، تحلیل رفته و عقیم هستند. رشد نهایی پرچم در این گونه و جمعیت‌های مورد آزمایش، پیش از باز شدن گل اتفاق می‌افتد. بطوری که گل‌های باز شده مرحله نهایی تکوین پرچم و دستگاه زایشی را نشان می‌دهند. و در تخمک ها هنوز کیسه رویانی کامل تشکیل نشده است.هر بساک دارای دو لوب و در هر لوب یک میکروسپورانژیوم (کیسه گرده) دیده می‌شود که در این حالت به وسیله رابطی بلند به یکدیگر ارتباط پیدا می‌کنند. لایه‌های تشکیل دهنده بساک از خارج به داخل شامل یک لایه اپیدرم، لایه مکانیکی، یک لایه میانی و یک لایه تغذیه کننده (تاپی) است. با تکوین دانه گرده در دیواره بساک، فقط لایه‌های اپیدرم و مکانیکی باقی می‌مانند. هم زمان با تکوین دانه گرده دیواره بساک به ویژه لایه مکانیکی تکامل می‌یابد و ضخیم شدگی‌های فیبری در دیواره سلول‌های آن بخوبی مشهود است دانه‌های گرده بالغ دو هسته‌ای درون کیسه گرده دیده می‌شوند. در مرحله دانه گرده دو سلولی، سلول‌های لایه تاپی تقریبا تحلیل می‌روند. نتایج Walker در رابطه با ساختار گل و گرده افشانی، با داده‌های حاصل از این پژوهش همسویی دارد [۳۲]. مادگی در هر سه جمعیت مورد آزمایش این گونه، زبرین[3] ومرکب از دو برچهٔ متصل به هم و مجموعاً دارای چهارخانه است و هر خانه در برش عرضی دارای یک تخمک واژگون[4] است. Daskalova در گیاه *Salvia nemorosa* ویژگی تخمک واژگون با دیواره نازک و یک لایه پوشش را گزارش نمود[۱۸]. نمو رویان تا تشکیل دانه در تمامی جمعیت‌ها و افراد مورد آزمایش، تیپ پلی گونوم است [۱۷،۱٦،۱۵،۱٤،۳]. خامه معمولاًساده وبه قاعدهٔتخمدان متصل است ودارای کلالهٔدوشاخه وتمکن محوری[5] است که با مطالعات انجام شده توسط Gehring، چهرگانی، رضانژاد و مجد، Cetinbas و Daskalova بر روی گیاه *Salvia* و بعضی از جنس‌های خانواده نعناعیان (Ajuga) و خانواده Asteraceae، همسویی دارد [۲۲،٤،۵،۱۳،۱۹]. آندوسپرم برای اشغال فضای بیشتر کیسه رویانی و تغذیه رویان اولیه تکثیر می‌شود [۲۲]. بعد از لقاح در اثر تقسیم نامتقارن، سلول تخم تقسیم می‌شود و به یک سلول راسی کوچک[6] که از آن رویان کروی شکل توسعه پیدا می‌کند ویک سلول

[1] zygomorphe
[2] Didyname
[3] Hypogynous
[4] Anatropeovul
[5] Axile Placentation
[6] Embryo Proper

قاعده‌ای بزرگ که سوسپانسور (آویز) را بوجود می‌آورد تبدیل می‌شود [۳۳].

منابع

[۱] باتی گینا، تی .بی. ۱۳۸۷. رویان شناختی گیاهان گل‌دار. ترجمه رضانژاد، ف. و چهرگانی، ع. انتشارات دانشگاه شهید باهنر،کرمان.

[۲] بخشی خانیکی. ۱۳۸٦. درختان و درختچه‌های ایران. انتشارات دانشگاه پیام نور. ۱۵۹–۱٦۰.

[۳] جعفری،س و شرعی، فائزه. ۱۳۹٤. بررسی تکوین گامتوفیت ماده و اثر تنش کلرور سدیم در تکوین اجزاء گل در گیاه پونه معطر (*Menthapulegium*L.). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) جلد ۲۸، شماره ۲.

[٤] چهرگانی راد، ع.، محسن زاده، ف و صالحی ۱۳۹۰. مطالعه تکوین اندام‌های زایشی (پرچم و تخمک) در*AchilleabieberestiniiAfan* فصلنامه علمی پژوهشی. زیست‌شناسی تکوینی. سال سوم، شماره ۱۰.

[۵] رضانژاد، فرخنده و مجد، احمد.۱۳۹۰. تکوین گل‌آذین، گل و گرده در گل جعفری (*Tajetespatula*) (Asteraceae) ویژگی‌های ساختاری گل درارتباط با گرده افشانی. زیست-شناسی گیاهی، سال چهارم، شماره دوازدهم، ٦٦–۵۱.

[٦] قائمی، مریم؛ گلناز تجدد؛ احمد مجد و مریم پیوندی، ۱۳۹٤، بررسی ویژگی‌های تشریحی و کشت درون شیشه‌ای گیاه مریم گلی (*Salvia nemorosa* L)، دومین همایش ملی تازه‌های سلولی و مولکولی، شهر جدید پرند، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند.

[۷] قهرمان، احمد. ۱۳۵۳. کورموفیت‌های ایران (سیستاتیک گیاهی) جلد سوم. نشر دانشگاهی تهران.

[۸] هرمان، احمد. ۱۳۷۳. کورموفیت‌های ایران (سیستاتیک گیاهی) جلد سوم. نشر دانشگاهی تهران.

[۹] مجد، احمد. ۱۳۸۰. بررسی ساختارتشریحی – تکوینی و مطالعه سیتوژنتیکی دوگونه از سرده مریم گلی و برخی ازخواص ضدمیکروبی آنها. مجموعه مقالات دهمین کنفرانس سراسری زیست شناسی ایران .

[۱۰]مظفریان، و. ۱۳۷۵. فرهنگ نام‌های گیاهان. ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، ص ۷٤۰ .

[۱۱]نژادحبیب وش، فاطمه و حسینی سرقین، سیاوش. ۱۳۸۹. مطالعات آناتومیکی ۱۸ گونه از جنس *Salvia* (مریم گلی) در استان آذربایجان غربی. مجله زیست شناسی، جلد۲۳، شماره ۵.

[12] AŞKUN, Tulin., BAŞER, K., Husnu, Can., TUMEN, Gulendam., KURKCUOĞLU, Mine.2010.Characterization of essential oils of some *Salvia* species and their antimycobacterial activities. Turk J Biol, 34 , 89-95.

[13] ÇetinbasGENÇ, aslihan and Ünal, meral. 2017. FLOWER ONTOGENY AND REPRODUCTIVE BIOLOGY OF *Salvia viridis*L. Pak. J. Bot., 49(3): 891-896 .

[14] Daskalova, T. z. 1993. A cytoembriological study of malesterile forms in *Salviasclarea* L. III. Microsporogenesis.Fitologiya, 44: 56-60.

[15] Daskalova, C .1997. Seed production in malesterile plants in *Salvia scalrea* L. (Lamiaceae) In: Chlodwig, F. & al. (eds). Essential Oil Symp.Proc. pp. 87-89.

[16] Daskalova, T. C. 1999 .Cytoembryological study on the male generative organs in

Salvia nemorosa L. (Lamiaceae). P:15. 5-8p.

[17] Daskalova, T. C. 2002. Macrosporogenesis and development of the female gametophyte in *Salvia pratensis* L. Phytol.Balcan.,8(2): 205-209.

[18] Daskalova, Tzvetana. 2004. On some specifi cities of seed formation in *Salvia nemorosa* (Lamiaceae). PHYTOLOGIA BALCANICA 10 (1): 79–84, Sofia.

[19] Daskalova, T. 2004. Histological structure of the microsporangia,microsporogenesis and development of the malegametophyte in *Nepetacataria (Lamiaceae)*. PHYTOLOGIA BALCANICA 10 (2-3): 241–246.

[20] Duke, JA. 1989. Handbook of medicinal herbs, Boca Raton. CRC PreccInc. P:420-432.

[21] Ebadi, M .2002. Pharmacodinamic basis of herbal medicine. Boca Raton, CRC Press.

[22] Gehring, M., Choi, Y., and Fischer, R. L. 2004. Imprinting and seed development. Plant Cell 16 : S203–S213.

[23] IPNI .www. Plant systematics .org.

[24] Jamzad, Z 2012. Lamiaceae: In: Flora of Iran. Research Institute for Forest and Rangelands, Tehran (in Persian).vol. 74.

[25] Kelen and B. Tepe. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. Bioresour Technol. 99, 4096–4104.

[26] Kharazian, N. 2009. Taxonomy and morphology of *Salviaspinosa* L. (Lamiaceae) in Iran. Taxonomy and Biosystematics 1(1): 9-20.

[27] Krstic, L,. Malencic, D. J,. Anackov, G. 2006. Structural investigations of trichomes and essential oil composition of *Salviaverticillata*. Bot. Helv. 116: 159 – 168.

[28] Marianna Erbano 1, Guilherme Schnell e Schühli 2 and Élide Pereira dos Santos . 2015.

[29] Salimpour, Fahimeh., Sharifnia, Fariba., Ebrahymiyan, Mahdie. 2014. Nutlet micromorphology in selected species of *Salvia* (Lamiaceae) in Iran. Scholarly Journal of Agricultural Science Vol. 4(2), pp. 97-102.

[30] Stevens, P. F .2001. Angiosperm phylogeny website. version 12.

[31] Vural, M. Adiguzel, N. 1996. A new species from central Anatolia :*Salviaaytachii* M. Vural ,M. Adiguzel (Labiateae). Turkish J. Bot. 20:531-534.

[32] Walker JB, Sytsma KJ, Treutlein J and Wink M. 2004. .*Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation and ecological specialization of *Salvia* and Tribe Menthae. Am. J. Bot. 91: 1115-1125.

[33] Yeung, E. C., and Meinke, D. W.1993. Embryogenesis inangiosperms: Development of the suspensor. Plant Cell 5, 1371-1381.