مراحل تکوین تخمک و کیسهٔ رویانی در *Consolida orientalis* Schrödinger از تیرهٔ آلاله‌ایان

عبدالکریم چهرگانی راد*، فریبا محسن زاده و سولماز اخطاری

دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۰/ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱

گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان
*مسئول مکاتبات: chehregani@basu.ac.ir

چکیده. ساختار گل و رویان‌شناسی در تیرهٔ آلاله‌ایان موضوع مطالعات مختلف بوده است، اما پراکنش مطالعات تکوینی در این تیره ناموزون است؛ به‌طوری‌که مطالعهٔ برخی از جنس‌ها به طور محدود انجام شده یا اصلاً مطالعه نشده‌اند. در این پژوهش مراحل و چگونگی تکوین تخمک در گیاه *Consolida orientalis* بررسی شد. گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت، تثبیت و نگهداری شد. سپس با میکروتوم برش‌گیری و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین انجام گرفت. لام‌های تهیه‌شده از مراحل مختلف تکوینی با دقت با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی شد. براساس نتایج حاصل از این بررسی، در گونهٔ تحت مطالعه، تخمک از نوع دو-پوششی، نسبتاً پرخورش و واژگون است. پس‌از تقسیم میوز تترادهای مگاسپور آرایش خطی یا غیرخطی دارند. تکوین کیسهٔ رویانی از طرح تک‌اسپوری و تیپ پلی‌گونوم پیروی می‌کند، درحالی‌که وجود تیپ آلیوم نیز در این تیره رایج است. یاخته‌های آنتی‌پود برخلاف تیپ متداول پلی‌گونوم شدیداً پلی‌پلوئید و نیز پایا هستند، اما تک‌هسته‌ای باقی می‌مانند و با فشار پوستامنت به وسط کیسهٔ رویانی پیش‌روی می‌کنند. تحلیل آنها با تأخیر قابل توجه و در مرحلهٔ آندوسپرم سلولی صورت می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی. آنتی‌پود، تیرهٔ آلاله‌ایان، *Consolida orientalis*، مگاگامتوفیت

Developmental stages of ovule and embryo sac in *Consolida orientalis* Schrödinger (Ranunculaceae)

Abdolkarim Chehregani Rad*, Fariba Mohsenzadeh and Soulmaz Ekhtari

Received 30.01.2014/ Accepted 20.02.2015

Department of Biology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
*Correspondent author: chehregani@basu.ac.ir

Abstract. Although there is extensive literature on different aspects of floral structure and embryology in Ranunculaceae, the distribution of developmental studies on the family is inharmonic. Studies on some genera are extensive, but others have been less extensively investigated or some may have remained unstudied. This research is an attempt to study the developmental stages of ovule in *Consolida orientalis*. The flowers and buds in different developmental stages were sectioned at 7-10 µm with a microtome. Staining was performed with hematoxylin and eusine. The sections were studied by means of a light microscope. Results indicated that ovules are anatropous, bitegumic and crassinucellate. The megaspore tetrads are linear or nonlinear. The development of embryo sac belongs to the *Polygonum* type, but the presence of *Allium* type was also abundant in other species of this family. On the contrary to the common *Polygonum* type, the antipodal cells are large, persistent, and highly polyploid and remain uninucleate. They penetrate the embryo sac under the pressure provided by postament degenerate in the cellular stage of endosperm.

Keywords. antipodals, *Consolida orientalis*, megagametphyte, Ranunculaceae

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.7.9]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.67]

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.7.9]

[DOI: 10.29252/nbr.1.2.67]

مقدمه

در راستهٔ آلاله‌سانان (Ranunculales) تیرهٔ آلاله‌ایان موقعیت فیلوژنتیک برجسته‌ای داشته و به نظر می‌رسد پایه و اساس یودایکت‌ها باشد. این تیره یک تیرهٔ بزرگ با پراکنش جهانی است (Soltis *et al.*, 2005; Simpson, 2006; Heywood *et al.*, 2007). این تیره تنوع وسیعی در ویژگی‌های ریختی به‌ویژه در نوع میوه و سازمان‌یابی گل نشان می‌دهد و به همین دلیل طبقه‌بندی‌های متعددی براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی (Hutchinson, 1923; Janchen, 1949; Tamura, 1995)، ویژگی‌های ملکولی (Jensen *et al.*, 1995; Ro *et al.*, 1997) و ترکیبی از ویژگی‌های ریخت‌شناختی و ملکولی انجام شده است (Wang *et al.,* 2005). این تیره به‌کوشش Tamura (۱۹۹۵) به سه زیر تیره و یازده طایفه تقسیم شده است. این تقسیم‌بندی براساس عدد کروموزومی، برچه و نوع میوه انجام شده است اما در این مورد هنوز اتفاق نظر وجود ندارد.

گیاهان تیرهٔ آلاله‌ایان شامل ویژگی‌های متعدد ابتدایی و پیشرفتهٔ ریخت‌شناختی و رویان‌شناختی است: گل‌های منظم یا نامنظم دو یا تک‌جنسی، برچه‌های آزاد یا پیوسته، فولیکول‌های چندبرچه‌ای یا فندقه‌های تک‌برچه‌ای، تخمک‌های کم یا پرخورش تک یا دوپوسته ای، تکوین کیسه رویانی از نوع Polygonum یا Allium و آنتی‌پدهای پایدار یا ناپایدار ازآن‌جمله است، اما از یک گونه به گونهٔ دیگر تنوع قابل توجهی در ویژگی‌های فوق وجود دارد (Vijayaraghavan & Bhandari, 1970; Johri *et al.*, 1992). وجود پلی‌پلوئیدی مکرراً در انواع سلول‌های کیسهٔ رویانی نظیر آنتی‌پودها، سینرژیدها، آندوسپرم و سوسپانسور گزارش شده است (Kozierradzka-Kiszkurno & Bohdanwicz, 2003; Greilhuber *et al.*, 2005, Ghahremaninejad *et al.,* 2013).

وجود پلی‌پلوئیدی مکرراً در انواع سلول‌های کیسهٔ رویانی نظیر آنتی‌پودها، سینرژیدها، آندوسپرم و سوسپانسور گزارش شده است (Kozierradzka-Kiszkurno & Bohdanwicz, 2003; Greilhuber *et al.,* 2005; Ghahremaninejad *et al.,* 2013) و ارتباط آشکاری بین درجهٔ پلی‌پلوئیدی این سلول‌ها و طول مدت زمان زندگی آنها وجود دارد که نقش تغذیه‌ای آنها را پیشنهاد می‌کند (Raghavan, 1997). وقوع آندوپلوئیدی در اعضای این خانواده بسیار شاخص است (Turala-Szybowska *et al.,* 1981; Turala-Szybowska & Wolanska, 1989).

هدف این مقاله مطالعهٔ مراحل تکوین تخمک و کیسهٔ رویانی در گونهٔ *C. orientalis* به‌منظور توسعهٔ دانش رویان‌شناسی این تیره است. براساس مطالعات مرجع‌شناختی ما این جنس و گونه ازنظر تکوینی تحت مطالعه قرار نگرفته است. به‌علاوه، آشکارساختن خصوصیات تکوینی تخمک وگامتوفیت ماده سبب فهم بهتری از مسائل آرایه‌شناختی تیرهٔ آلاله می‌شود.

مواد و روش‌ها

گل‌ها و جوانه‌های گونهٔ تحت مطالعه در اوایل تابستان از زیستگاه‌های طبیعی دراطراف شهر همدان جمع‌آوری شد. گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف تکوین جهت تثبیت در FAA_{70} (Formalin, Acetic acid, Ethanol) قرار داده شد، سپس ذخیره‌سازی در الکل ۷۰ درصد صورت گرفت. پس‌از قالب‌گیری، برش‌گیری نمونه‌ها در قالب‌های پارافین با میکروتوم (Microm DC, Dideh Sabz, Iran) با ضخامت ۷-۱۰µm صورت گرفت (Xue & Li, 2005). رنگ‌آمیزی برش‌های تهیه‌شده پس‌از پارافین‌زدایی و آبدهی با روش رنگ‌آمیزی مضاعف هسته و سیتوپلاسم توسط هماتوکسیلین و ائوزین صورت گرفت (Yeung, 1984). نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری Zeiss Axiostar Plus (Germany) بررسی شد و عکس‌برداری به کمک دوربین دیجیتال مدل Canon G_{11} (Japan) انجام گرفت.

نتایج

تشکیل مادگی و تخمک

تخمک‌ها به صورت برجستگی‌های کوچک کم‌وبیش کروی تا بیضی‌شکل در جدار تخمدان پدیدار می‌شود (شکل ۱A). تخمدان از نوع فوقانی و دوخانه‌ای است و هر حفره دو ردیف تخمکی دارد (شکل ۱B). برچه شامل تعداد زیادی تخمک است. تخمک‌ها در تخمدان به طور واژگون و آویخته در دو

ستون قرار دارند. جایگزینی تخمک‌ها در تخمدان از نوع جداری است. پریموردیوم تخمک دارای ۷-۴ ردیف سلولی است (شکل ۱A). در *C.orientalis* چندین سلول آرکئوسپوری وجود دارد (شکل ۱C) و تنها یکی از این سلول‌ها به طور مستقیم به مگاسپوروسیت تمایز می‌یابد. سلول مادر مگاسپور در نمونهٔ تحت مطالعه، در لایهٔ چهارم است (شکل ۱D). پریموردیوم تخمک خمیدگی را از همان مراحل اولیه آغاز می‌کند. هنگامی که پریموردیوم تخمکی کشیده می‌شود، در بخش میانی آن ابتدا پوسته خارجی بنیان‌گذاری می‌شود (شکل ۱F). بعد از مدتی، با توسعهٔ پوستهٔ خارجی، پوستهٔ درونی در بخش درونی پوستهٔ خارجی تشکیل می‌شود (شکل ۱ E). در نمونهٔ مورد مطالعه، تخمک از نوع دوپوششی، پرخورش و واژگون است (شکل ۳B). میکروپیل بوسیلهٔ پوستهٔ داخلی که متشکل از ۲ لایه است شکل می‌گیرد و از نوع خطی صاف است (شکل‌های ۴B و ۴A). پوستهٔ خارجی ضخیم و متشکل از ۴ تا ۵ لایه سلولی است. از درونی‌ترین لایهٔ پوستهٔ درونی، لایهٔ اندوتلیوم تشکیل می‌شود. سلول‌های این لایه به صورت شعاعی امتدادیافته و دارای هستهٔ کاملاً واضح و سیتوپلاسمی متراکم هستند (شکل‌های ۴B و ۴A). در *C. orientalis* تشکیل مادگی پس‌از پرچم‌ها صورت می‌گیرد. مادگی تک‌برچه و دارای پایک و کرک است (شکل‌های ۴F و ۴G).

مگاسپورزایی و نمو گامتوفیت ماده

سلول مادر مگاسپور را چندین لایه از سلول‌های خورش احاطه می‌کنند، بنابراین تخمک از نوع پرخورش است. سلول مادر مگاسپور ازنظر اندازه رشد می‌کند و با حجم زیاد، هستهٔ درشت، سیتوپلاسم متراکم و شکل چندوجهی خود از سایر سلول‌های خورش قابل تشخیص است (شکل ۱D). حضور کلاهک خورشی از این مرحله دیده می‌شود که بین دو تا چهار لایه است. مگاسپوروسیت با انجام میوز مگاسپورها را تشکیل می‌دهد که ضمن رشد گامتوفیت ماده یا کیسهٔ رویانی را تولید می‌کنند. اولین تقسیم میوزی مگاسپوروسیت، موجب تشکیل دو هستهٔ هاپلوئید (شکل۱E) و پس‌از سیتوکینز دو سلول دیاد هاپلوئید می‌شود (شکل۱F). در نمونه لام‌های تهیه‌شده از مراحل تکوین تخمک در این گیاه هم دیاد طولی (شکل ۱F) و هم دیاد عرضی مشاهده شد (شکل ۱G). دومین تقسیم میوزی موجب تشکیل چهار سلول تتراد می‌شود. انواع تترادها را در این نمونه می‌توان مشاهده کرد. ازجمله نوع خطی طولی، خطی عرضی (۴ سلول کنار هم)، T شکل و چهار وجهی (شکل‌های ۲A-۲D). از چهار سلول حاصل از میوز، سه سلول تحلیل می‌روند و فقط یک سلول (مگاسپور عملکردی) باقی می‌ماند. در این نمونه، موقعیت سلول باقی‌مانده یا مگاسپور عملکردی سفتی (میکروپیلی) است.

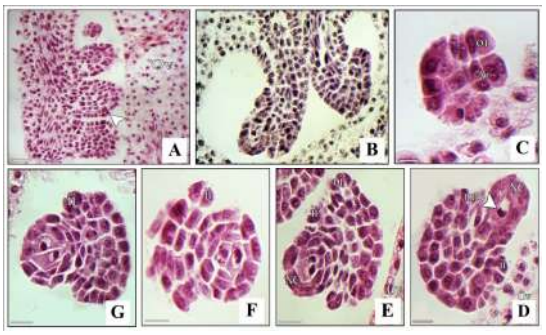
در *C.orientalis* وقتی میوز با تشکیل تتراد به پایان می‌رسد، پوستهٔ تخمک حدوداً ۳/۴ جسم تخمک را می‌پوشاند (شکل ۳A). مگاسپور عملکردی سه تقسیم میتوزی متوالی انجام می‌دهد و درنهایت کیسهٔ رویانی هشت هسته‌ای و هفت‌سلولی را به وجود می‌آورد. طی تشکیل کیسهٔ رویانی ساختارهای هیپوستاز و پوستامنت شکل می‌گیرند (شکل ۴A). سه سلول در قطب مجاور سفت استقرار می‌یابند و دستگاه تخم‌زا را به وجود می‌آورند. دستگاه تخم‌زا شامل یک سلول تخم‌زای بزرگ و گلابی شکل است و به واسطهٔ داشتن یک هستهٔ درشت و یک واکوئل بزرگ قابل تشخیص است، و دو سلول کناری آن "سینرژیدها" است. در قطب بنی، سلول‌های آنتی‌پود به وجود می‌آید که آنها نیز آرایشی مثلثی‌شکل دارند. در نمونهٔ مورد-بررسی این سلول‌ها غول‌پیکر بوده، از قدرت رنگ‌پذیری بالایی برخوردارند و به سمت مرکز کیسهٔ رویانی مهاجرت می‌کنند. سلول‌های آنتی‌پودی روی پوستامنت واقع شده‌اند. پوستامنت برجسته می‌شود و آنتی‌پودها را به طرف مرکز کیسهٔ‌رویانی می‌راند.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.7.9]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.67]

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-16]

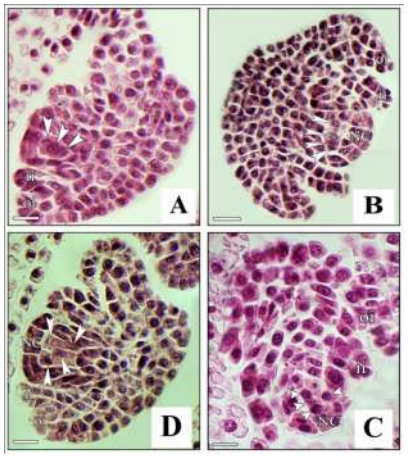
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.7.9]

[DOI: 10.29252/nbr.1.2.67]



شکل ۱- مراحل اولیهٔ تکوین تخمک و تشکیل مگاسپوروسیت در *C.orientalis*. A) پریموردیوم‌های تخمکی در سطح شکمی دیوارهٔ تخمدان (Ov) تشکیل می‌شوند و خمیدگی را از همان مراحل اولیه آغاز می‌کنند. بنیان‌گذاری پوسته (▲) نیز در همین زمان رخ می‌دهد؛ B) تخمک‌ها در دو ردیف در داخل برچه مستقر هستند؛ C) چندین سلول آرکئوسپوری در رأس خورش وجود دارد؛ D) یکی از سلول‌های آرکئوسپور به‌عنوان مگاسپوروسیت (mmc) عمل می‌کند، مگاسپوروسیت در لایهٔ چهارم است. شکل‌گیری کلاهک خورش (NC) در این مرحله مشهود است. پوستهٔ داخلی (ii) تخمک در این شکل و شکل‌های بعدی دیده می‌شود؛ E) با تقسیم سلول مگاسپوروسیت دو سلول دیاد هاپلوئید شکل می‌گیرد. در این شکل دیاد بدون سیتوکینز دیده می‌شود؛ F) دیاد خطی طولی؛ G) دیاد خطی عرضی. شاخص ۲۰µm است.

Fig. 1. Early stages of ovule development and megasporocyte formation in *C.orientalis*. A) Ovular primordia are firmed on abaxial side of ovary wall (Ov) and begin to curve at the early stages. Initiation of integuments (▲) starts simultaneously; B) Ovules are located in two rows; C) Several archeosporial cells are formed at the top of nucellus; D) One of the archeoporial cells acts as a megasporocyte (mmc) which is situated in the fourth layer. Formation of the nucellar cap (NC) is visible at this stage. Inner integument of ovule (ii) is visible in this figure and later ones; E) Division of megasporocyte results in the formation of two haploid cells. Dyad formation is not accompanied by cytokinesis; F) Linear dyad; G) Horizontal dyad. Scale bar equals 20 µm.



شکل ۲- تشکیل تتراد در طی مگاسپوروژنز در *C.orientalis*. لایه‌های کلاهک خورشی افزایش یافته و پوسته‌ها حدوداً به ۳/۴ جسم تخمک می‌رسند. انواع تتراد به شرح زیر در نمونهٔ تحت بررسی دیده شد: تتراد خطی طولی(A)، تتراد خطی عرضی (B)، تتراد T شکل (C) و تترادها از نوع تتراهدرال (D) مشاهده شد. شاخص ۲۰µm است.

Fig. 2. Tetrad formation during megarporogenesis in *C.orientalis*. The layers of nucellar cap increased and integuments approaches 3/4 ovular body. Various tetrads are observed in this species including linear (A), horizontal (B), T-shaped (C) and tetrahedral tetrads (D). Scale bar equals 20 µm.

سلول‌های آنتی‌پود، بزرگ‌ترین سلول‌های کیسهٔ رویانی هستند. سیتوپلاسم آنها متراکم است و هستهٔ کروی یا بیضی‌شکل دارند. شمار این سلول‌ها و تعداد هستهٔ آنها طی تکوین افزایش نمی‌یابد اما به‌طورقابل ملاحظه‌ای بزرگ می‌شوند و دارای هستهٔ حجیمی هستند که نمایانگر وجود پلی‌پلوئیدی در آنها است. یک یا دو عدد از سلول‌های آنتی‌پودی بعد از لقاح همچنان حضور دارند و درواقع پایا هستند. توسعهٔ آنتی‌پودها همراه با واکوئل‌سازی در سیتوپلاسم و افزایش در ابعاد هستهٔ و هستک است (شکل‌های ۳C-۴E).

هسته‌های قطبی در کیسهٔ رویانی در رأس سلول‌های آنتی‌پودی قرار گرفته (شکل ۳E) و به‌زودی به هم ملحق می‌شوند تا هستهٔ ثانویه و سلول مرکزی (شکل ۴A) را تشکیل دهند. سلول مرکزی "هستهٔ ثانویه" ارتباطات سیتوپلاسمی با آنتی‌پودها برقرار می‌کند، در واقع این ارتباطات سیتوپلاسمی بین کلیهٔ سلول‌های کیسهٔرویانی برقرار است. سپس سلول مرکزی مهاجرت می‌کند و در زیر دستگاه تخم‌زا قرار می‌گیرد. در *C.orientalis* هستهٔ ثانویه قبل از لقاح تشکیل می‌شود. به دنبال ورود لولهٔ گرده به تخمک (شکل ۴B) و انجام لقاح مضاعف، سلول تخم و سلول مادر آندوسپرم تشکیل می‌شود. زیگوت نسبت به سلول تخم‌زا متراکم‌تر است (شکل ۴C). یک یا دو عدد از آنتی‌پودهای پلی‌پلوئید بعد از لقاح تا مدتی پایا می‌مانند (شکل‌های ۴E و ۴C) و احتمالاً در مرحلهٔ اندوسپرم سلولی تحلیل می‌روند. با اولین تقسیم سلول تخم، سلول رأسی و قاعده-ای شکل می‌گیرد (شکل ۴E). ادامه تقسیمات، رویان را ایجاد می‌کند (شکل ۴D). با تشکیل کیسهٔرویانی و سلول‌هایی که قابلیت لقاح را دارند، یعنی تخم‌زا (هاپلوئید) و هسته‌دوتایی (دیپلوئید)، تکوین تخمک به پایان می‌رسد. طی بلوغ کیسهٔ-رویانی کلاهک خورشی تحلیل می‌رود. در این گونه تکوین کیسهٔرویانی از تیپ پلی‌گونوم پیروی می‌کند. کیسه رویانی در طی بلوغ گلابی‌شکل شده و بسیار عریض می‌گردد (شکل‌های ۳C-۴E). در *C.orientalis* دستجات آوندی در خورش و پوسته‌ها مشاهده شد (شکل ۳B).

بحث

در تیرهٔ آلاله‌ایان توالی بنیان‌گذاری مارپیچی اندام‌های گل یک الگو است (Ren *et al.*, 2009) و یک سطح سیستماتیکی پایین را نشان می‌دهد (Endress *et al.,* 1995). در بازال آنژیوسپرم‌ها تخمک‌های پرخورش غالب هستند (Ren *et al.*, 2004) و تیرهٔ آلاله در بین تاکسون‌های ابتدایی دولپه‌ای، حجیم‌ترین خورش را دارد. وضعیت دوپوسته‌ای و میکروپیل آندوستومیک ویژگی‌های ابتدایی هستند و میکروپیل bistomic و تخمک تک‌پوسته‌ای ویژگی‌های اشتقاق‌یافته هستند (Wang & Ren, 2007). در نمونهٔ تحت مطالعه تخمک دوپوسته‌ای است و ابتدا پوستهٔ درونی و سپس پوستهٔ بیرونی بنیان‌گذاری می‌شود. به‌علاوه، پوستهٔ بیرونی از رشد زیادی برخوردار است و تعداد لایه‌های آن بیش از دو عدد است، درحالی‌که پوستهٔ درونی دولایه است. در پوسته‌های چند-لایه‌ای، اپیدرم و پارانشیم دیده می‌شود (رضانژاد و چهرگانی،۱۳۸۷).

در تشکیل میکروپیل فقط پوستهٔ درونی دخالت دارد. به‌عبارتی؛ میکروپیل اندوستومیک است که نوعی ویژگی ابتدایی محسوب می‌شود. در تیرهٔ آلاله تقسیمات مماسی سلول‌های اپیدرمی به تشکیل کلاهک خورشی منجر می‌شود. درجهٔ نمو کلاهک، یک ویژگی مخصوص گونه است. کلاهک خورشی در *C.orientalis* دو تا چهار لایه است. در خانوادهٔ آلاله کلاهک خورشی می‌تواند موجب تشکیل اپیستاز شود که بافتی با دیوارهٔ سلولی ضخیم است و در دانه‌های نیز بالغ پایدار می‌ماند (Ren *et al.,* 2009). ساختارهای هیپوستاز و پوستامنت در گونهٔ *C.orientalis* مشاهده شد. درواقع در تخمک‌های پرخورش، سلول‌های بخش نزدیک (به سلول‌های آرکئوسپوری) به پوستامنت، سلول‌های ناحیهٔ دور به دسته آوندی و سلول‌های ناحیهٔ میانی (منطقه مرکزی) به پودیوم و هیپوستاز نمو می‌یابند. همهٔ این ساختارها درحالی‌که عملکردهای مشابهی انجام می-دهند ازنظر الگوی تشکیل متفاوت هستند. پوستامنت بافتی با خاستگاه خورشی است که به صورت یک ستون از سلول‌های طویل مستقر در بخش زیرین انتهای آنتی‌پودی کیسهٔرویانی قرار گرفته است. سلول‌های پوستامنت از سلول‌های اطراف به-

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.7.9]
[DOI: 10.29252/nbr.1.2.67]

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.7.9]

[DOI: 10.29252/nbr.1.2.67]

وسیلهٔ سیتوپلاسم متراکم‌تر و دیواره‌های رنگ پذیرتر قابل-تشخیص هستند. پوستامنت در تیرهٔ آلاله از لایه‌های محدودی تشکیل شده است و به سمت هیپوستاز توسعه یافته‌است و از نظر ساختاری با سلول‌های پروکامبیومی قابل مقایسه است (Joshi & Venkateswarlu, 1935; Mück, 1980; Kamelina & Proskurina, 1987a,b; Alimova, 1990; Shamrov & Nikiticheva, 1992).

وجود چندین آرکئوسپو، از ویژگی‌های تیرهٔ آلاله و به طور کلی از خصوصیات تخمک‌های با خورش حجیم و چندلایه‌ای است. اما فقط یکی از آنها به سلول مادر مگاسپور (mmc) تمایز می-یابد. مگاسپوروژنز با الگوی رایج در نهان‌دانگان دولپه انجام می‌شود. مطالعهٔ روند مگاسپورانژ نشان می‌دهد که شکل تترادها در این تیره تنوع بسیار زیادی دارد که با گزارش‌های پیشین همسو است (Kozieradzka-Kiszkurno & Bohdanwicz, 2003).

در *C.orientalis* مگاسپور پس از تشکیل به کیسهٔرویانی نمو می کند و الگوی تکوین کیسهٔ رویانی از تیپ پلی‌گونوم پیروی می کند که تیپ رایج در اکثر نهان‌دانگان است (Kordyum, 1959). انواع دیگر تکوین کیسهٔرویانی در این تیره گزارش شده است. Adonis تکوین از نوع Allium را نشان داده است (Uluce & Ünal, 1962; Bhandari, 1996). در *Trollius acaulis* Lindl. تیپ دو اسپوری و در *T. europeus* تیپ مونواسپوری گزارش شده است (Bhandari & Kaplin, 1964)؛ درحالی‌که در *Thalictrum angustifolium* L. var. flavum کیسهٔ رویانی تتراسپوری ۱۶ هسته‌ای منطبق بر تیپ ethrumPyr گزارش شده است (Picci, 1964)، اما در *T. javanicum* Grun. تکوین گامتوفیت ماده از نوع مونواسپوری ۸ هسته‌ای و تیپ پلی‌گونوم است که با گزارش ما دربارهٔ *C.orientalis* همسویی دارد.

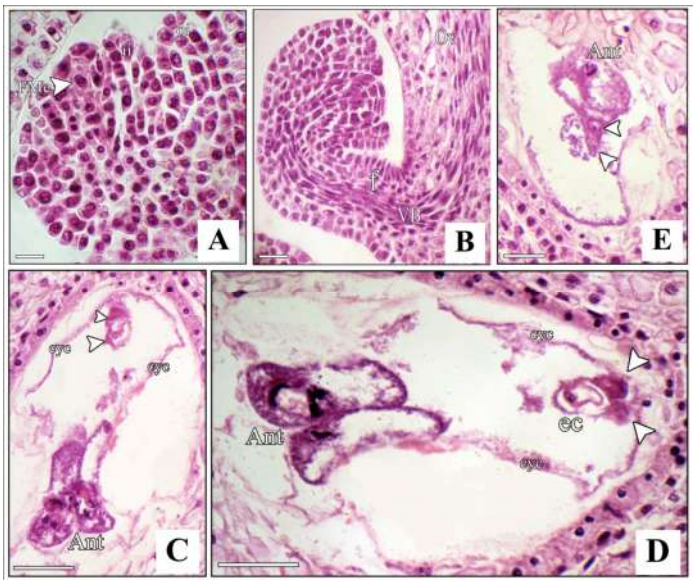
براساس نتایج، در *C.orientalis* سلول‌های آنتی‌پود در رأس پوستامنت قرار می‌گیرند که با گزارش‌های در *C.regalis* L. همسویی دارد (Unal & Vardar, 2006). در دو گونهٔ اخیر همانند دیگر تخمک‌های پرخورش، سلول‌های ناحیهٔ پروکسیمال به پوستامنت نمو می‌یابد که نشان ویژهٔ ساختاری تیرهٔ آلاله است (Batygina & Shamrov, 1999). پوستامنت رشد می‌کند و سلول‌های آنتی‌پود را به مرکز کیسهٔ رویانی می‌راند و ورود لولهٔ گرده درحالی صورت می‌گیرد که آنتی‌پودها کاملاً به وسط کیسهٔ رویانی پیش‌روی کرده‌اند. طول عمر آنتی‌پودها در گیاهان مختلف متفاوت است و با تکوین عملکرد ساختارهای خورشی دیگر در ارتباط است. در بین سلول‌های کیسهٔرویانی میزان پایداری آنتی‌پودها بیشترین تنوع را نشان می‌دهد. به طور بسیار رایج آنها مدت کوتاهی پس‌از لقاح تحلیل می‌روند، اما می-توانند تا مدت طولانی حتی بعد از لقاح نیز باقی بمانند (Hasitschka- Jenschke, 1962; Ünal *et al.,* 1997). در این خانواده با توجه به اندازه‌گیری ابعاد هسته وجود سلول‌های آنتی‌پود و وجود تیپ‌های متنوعی از پلی‌پلوئیدی در سلول‌های آنتی‌پود گزارش شده است. پدیدهٔ پلی‌پلوئیدی ممکن است در-نتیجهٔ اختلال در میتوز باشد؛ برای مثال در برخی از گونه‌های *Anemon* (Hasitscheka-Jenschke, 1959; Trela, 1963; Ünal, 1978) یا حاصل از اندومیتوز باشد، مثلاً در *Ranunculus peltatus* (Turala-Szybowska, 1980) و *Aconitum* (Tschermak-Woess, 1956).

پدیدهٔ درون‌همانندسازی در ۴ گونه از گیاهان تیرهٔ آلاله مانند *Aconitum* (Tschermak-Woess, 1956)، در *Helleborus niger* (Hasitscheka-Jenschke, 1959)، *Ranunculus peltatus* (Turala-Szybowska, 1980) و *R.baudotii* (Wedzony, 1982) گزارش شده است. در گونهٔ *C.orientalis* آنتی‌پودها از نظر اندازه مساوی هستند و سیتوپلاسم متراکم و هستهٔ هم‌اندازه دارند و در واقع درجهٔ پلوئیدی یکسانی دارند. توسعهٔ این سلول‌ها در نتیجهٔ ایجاد واکوئل در سیتوپلاسم آنها و نیز افزایش ابعاد هسته‌ها و هستک‌های آنهاست. در *C.regalis* درنتیجهٔ درون‌همانندسازی آنتی‌پودها رشد طولانی مدت را نشان می‌دهند (Unal & Vardar, 2006). در نمونهٔ تحت مطالعه تعدادی از آنتی‌پودها تا مدتی پس از لقاح پایا می‌مانند. طبق گزارش‌ها در *C.regalis* آنتی‌پودهای پایا بیشترین تغییرات را به نمایش گذاشتند. حضور دستجات آوندی در پوسته‌ها یک ویژگی ابتدایی است (Öztürk & Ünal, 2003). این دستجات همان تراکئیدها هستند. در نمونهٔ تحت مطالعه دستجات آوندی به‌خوبی در پوسته‌های تخمک قابل رؤیت است.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.7.9]

[DOI: 10.29252/nbr.1.2.67]



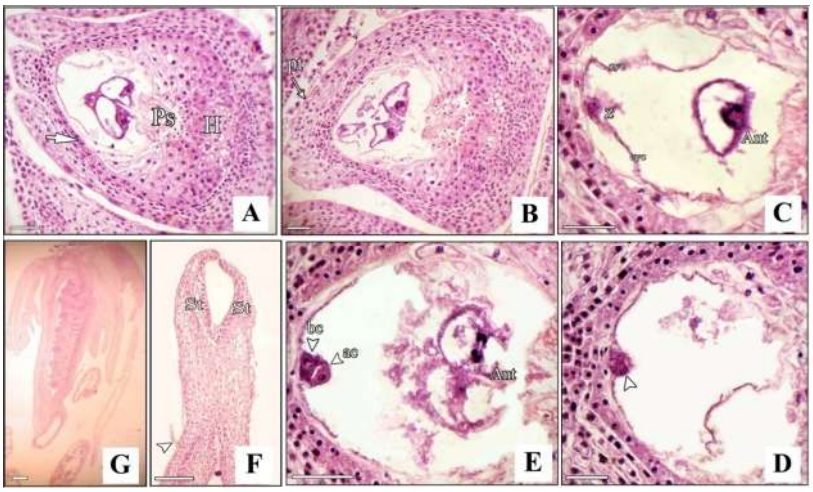
شکل ۳- تکوین تخمک و گامتوفیت ماده در *C.orientalis*. **A**) سلول مگاسپور عملکردی (FMe) در برش طولی تخمک؛ **B**) چرخش تخمک و معکوس شدن آن و ورود دستجات آوندی به تخمک نمایان است؛ **C**) یاختهٔ تخم‌زای واکوئله (▲ بزرگ‌تر) و یکی از یاخته‌های سینرژید (▲ کوچک‌تر) در قطب سفتی، یاخته-های آنتی‌پود (Ant) غول‌پیکر در قطب شالازی و ارتباطات سیتوپلاسمی (cyc) بین یاخته‌ها دیده می‌شود؛ **D**) دستگاه تخم‌زا با آرایش مثلثی شامل سلول تخم‌زای (ec) واکوئله و دو سلول سینرژید (▲)؛ **E**) هسته‌های قطبی (▲) در مرکز کیسهٔ‌رویانی در حال نزدیک‌شدن به یکدیگر هستند. شاخص ۲۰µm است.

Fig. 3. Ovule and megagametophyte development in *C. orientalis*. A) Functional megaspore (FMe) in longitudinal section; B) Rotation and inversion of ovule and entrance of vascular bundle; C) Vacuolated oosphere cell (large ▲) and one of the synergid cells (small ▲) at the micropylar pole. Giant antipodal cells (Ant) at the chalazal pole (note the cytoplasmic connections (cyc) between the cells); D) Ovular apparatus with triangle arrangement of an egg cell (ec) and two synergids (▲); E) Polar nuclei (▲) are joining together at the center of embryo sac. Scale bar equals 20 µm.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.7.9]

[DOI: 10.29252/nbr.1.2.67]



شکل ۴- تکوین گامتوفیت ماده و لقاح در *C.orientalis*. A) برش طولی از کیسهٔرویانی بالغ گلابی‌شکل. شکل‌گیری میکروپیل توسط پوستهٔ داخلی مشهود است. لایهٔ اندوتلیال (↑) در سرتاسر کیسهٔرویانی امتداد یافته است؛ ساختارهای هیپوستاز (H) و پوستامنت (Ps) نیز دیده می‌شوند؛ B) کیسهٔرویانی گلابی‌شکل، به وضوح دیده می‌شود که تنها پوستهٔ داخلی در شکل‌گیری میکروپیل دخالت دارد. در حالی‌که آنتی‌پودها در مرکز کیسهٔرویانی قرارگرفته‌اند، لولهٔ گرده (pt) در حال ورود به کیسهٔرویانی است؛ C) تشکیل سلول تخم (Z) به همراه زوائد سیتوپلاسمی (cyc)، یکی از یاخته‌های آنتی‌پود (Ant) دیده می‌شود به عبارتی آنتی‌پودها پایا هستند و بعد از لقاح مضاعف همچنان پابرجا می‌مانند و سپس تحلیل می‌روند؛ D)پیش رویان (▲)؛ E) سلول‌های راسی (ac) و قاعده‌ای(bc) پیش رویان و حرکت آنتی‌پودها به وسط کیسهٔرویانی دیده می‌شود؛ F) نمای نزدیکی از کلالهٔ (St)، حضور کرک تک‌سلولی بلندی (▲) بر دیوارهٔ خارجی تخمدان؛ G) تخمدان همراه با تخمک‌ها، کلاله و بساک‌ها. شاخص ۲۰µm است.

Fig. 4. Female gametophyte development in *C. orientalis*. A) Longitudinal section of pear-shaped embryo sac. Note the formation of micropyle by inner integument. Endothelial layer (↑) is stretched along the whole embryo sac. Pay attention to hypostase (H) and posthament (Ps); B) Pear-shaped embryo sac. Inner integument is involved in the formation of micropyle. Pollen tube (pt) enters the embryo sac when antipodal cells are located at its center; C) Formation of zygote (Z) together with cytoplasmic inclusions (cyc). Antipodal cells are permanent and remain after double fertilization and then degenerate; E) Apical cell (ac) and basal cell (bc) of proembryo and movement of antipodal cells toward the center of embryo sac; F) Close view of stigma (st) with presence of one-celled trichomes (▲) on the outer surface of ovary; G) Ovary showing ovules and stigma. Anthers are also visible. Scale bar equals 20 µm.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.7.9]

[DOI: 10.29252/nbr.1.2.67]

References/منابع

رضانژاد، ف. و چهرگانی، ع. ۱۳۸۷. – رویان‌شناسی گیاهان گل‌دار (ترجمه. جلد ۱و۲). مؤلف: تی.بی.باتی گینا. انتشارات دانشگاه باهنر کرمان.

Alimova, G.K. 1990. – Family Alstroemeriaceae, In T.B. Batygina and M.S. Yakovlev. (eds). Comparative Embryology of Flowering Plants. Butomaceae-Lemnaceae. Nauka, Leningrad, Russia. 74-76.

Batygina, T.B. and Shamrov, I.I. 1999. New approach to interpreting the ovular basic structures. – Phytomorphology 49: 223-231.

Bhandari, N.N. 1962. Studies in the family Ranunculaceae III. Development of the female gametophyte in *Adonis annua* L. – Phytomorphology 12: 70-74.

Bhandari, N.N. 1963. Studies in the family Ranunculaceae V. The female gametophyte of *Adonis aestivalis* L. A reinvestigation. – Phytomorphology 13: 317-320.

Bhandari, N.N. and Kaplin, R.N. 1964. Studies in the family Ranunculaceae VII. Two types of embryo sacs in *Trollius*, Linn. – Beitrage Zur Biologie Pflanzen 40: 113-120.

Endress, P.K. 1995. Floral structure and evolution in *Ranunculanae*. – Plant Systematic and Evolution, Suppl. 9: 47-61.

Ghahremaninejad F., Nejad Falatoury, A., Mahmoodi, M., Fereidounfar, S. and Hoseini, E. 2013. – Plant chromosome book of Iran. Biology Home Press, Tehran, Iran.

Greilhuber, J., Dolezel, J., Lysak, M.A. and Bennett, M.D. 2005. The origin, evolution and proposed stabilization of the terms 'genome size' and 'C-value' to describe nuclear DNA contents. – Annals of Botany 95: 255-260.

Hasitschka-Janschke, G. 1959. Vergleichende karyologische Untersuchungen an Antipoden. – *Chromosoma* 15: 229-267.

Jensen, U., Hoot, S.B., Johansson, J.T. and Kosuge, K. 1995. Systematics and phylogeny of the Ranunculaceae – a revised family concept on the basis of molecular data. – Plant Systematics and Evolution 9: 273-280.

Johri, B.M. Ambegaokar, K.B. and Srivastava, P.S. 1992. – Comparative embryology of angiosperms. Berlin: Springer-Verlag. Vols. 1 and 2.

Joshi, A.C. and Venkateswarlu, J. 1935. Embryological studies in the Lythraceae. I. – Lawsonia inermis. Proc. Indian Acad. Science. Setion B, Biological Sciences (Bangalore, Lndia) 2: 481-493.

Kamelina, O.P. and Proskurina, O.B. 1987. – Family Elaeagnaceae, In T.B. Batygina and M.S. Yakovlev (eds.). Comparative of Flowering Plant Davidiaceae-Asteraceae. Nauka, Leningrad, Russia 105-110.

Kamelina, O.P. and Proskurina, O.B. 1987. Anther and pollen grain development in Elaeagnaceae family. – Bot. Zh. SSSR. 72: 909-917.

Kordyum, E.L. 1959. On the modes of reproduction of endosperm nuclei in *Nigella sativa*. – Ukrainskyi Botanichnyi Zhurnal 14: 40-46.

Kozieradzka-Kiszkurno, M. and Bohdanwicz, J. 2003. *Sedum acre* embryogenesis: Polyploidization in the suspensor. – Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 45: 153-157.

Mück, M. 1980. Über den Bau und die Entwicklung der Früchte und über die Herkunft von Acorus calamus L. Bot. Zeitung. 66: 1-23.

Öztürk, R. and Ünal, M. 2003. Cytoembryological studies on *Paeonia peregrina* L. – Journal of Cell and Molecular Biology 2: 85-89.

Picci, V. 1964. Ricerche embryiologiche sul genere *Talictrum*. Embryologia di *Thalictrum angustifolium* L. *v. flavum* L. – Giardino Botanica Hal. 71: 258-267.

Raghavan, V. 1997. – Molecular embryology of flowering plants. Cambridge University Press, Cambridge.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1393.1.2.7.9]

[DOI: 10.29252/nbr.1.2.67]

Ren, Y., Chang, H.L., Tian, X.H., Song, P. and Endress, P.K. 2009. Floral development in *Adonideae* (*Ranunculaceae*). – Flora 204: 506-517.

Ren, Y., Li, Z.J., Chang, H.L., Lei, Y.J. and Lu, A.M. 2004. Floral development of *Kingdonia* (Ranunculaceae, Ranunculales). – Plant Systematic and Evolution 247: 145-153.

Ro, K.E., Keener, C.S. and Mcpheron, B.A. 1997. Molecular phylogenetic study of the Ranunculaceae: utility of the nuclear 26S Ribosomal DNA in inferring intrafamilial relationships. – Molecular Phylogenetics and Evolution 8: 117-127.

Shamrov, I.I. and Nikiticheva, Z.I. 1992. The ovule and seed morphogenesis in *Gymnadenia conopsea* (Orchidaceae): structural and histochemical investigation. – Bot. Zhurnal. 77: 45-60.

Trela, Z. 1963. Embryological studies in *Anemone nemorosa* L. – Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 6: 1-14.

Tschermak-Woess, E. 1956. Notizen uber die Riesenkerne und "Riesenchromosomen" in den Antipoden von *Aconitum.* – Chromosoma 8: 114-134.

Turala-Szybowskak, A. and Wedzony, M. 1981. Endopolyploidy in the antipodals of *Ranunculus subgenus Batrachium.* – Acta Societatis Botanicorum Poloniae 50: 161-164.

Turala-Szybowskak, A. and Wolanska, J. 1989. Two mechanisms of polyploidization of the antipodals in *Aquilegia vulgaris* L. – Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 31: 63-74.

Turala-Szybowskak, A. 1980. Endopolyploidy in the antipodals of *Ranunculus peltatus* Schrank. and *R. penicillatus* (Dumort.) Bab. – Acta Biologica Cracoviensia 22: 163-173.

Uluce, N. and Ünal, M. 1996. – Embryological studies in *Adonis microcarpa* DC. XIII National Biology Congress. Istanbul, Turkey.

Unal, M. 1978. Cytological and embryological studies on *Anemone pavonina* Lam. – Istanbul Universitesi Fen Fakültesi Mecmuasi. 43: 185-208.

Unal, M. 1984. Embryological studies on *Anemone coronaria.* – Istanbul Universitesi Fen Fakültesi Mecmuasi. 49: 89-97.

Unal, M. and Vardar, F. 2006. Embryological Analysis of *Consolida Regalis* L. (Ranunculaceae). – Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 48: 27-32.

Vijayaraghavan, M.R. and Bhandari, N.N. 1970. Studies in the family Ranunculaceae: embryology of *Thalictrum javanicum* Bl. – Flora 159: 450-458

Wang, W., Li, R.Q. and Chen, Z.D. 2005. Systematic position of *Asteropyrum* (Ranunculaceae) inferred from chloroplast and nuclear sequences. – Plant Systematics and Evolution 255: 41-54.

Wang, Z. and Ren, Y. 2007. Ovule morphogenesis in Ranunculaceae and its systematic significance. – Oxford Journals 101: 447-464.

Wedzony, M. 1982. Endopolyploidy and structure of nuclei in the antipodals and synergids of *Ranunculus baudotii* Godr. – Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 24: 43-62.

Xue, C.Y. and Li, D.Z. 2005. Embryology of *Megacodon stylophorus* and *Veratrilla baillonii* (Gentianaceae): description and systematic implication. – Bot. J. Linnean Society 147: 317-331.

Yeung, E.C. 1984. – Histological and histochemical staining procedures. In: Vasil, IK. (ed.) Cell culture and somatic cell genetics of plants. Orlando, Florida: Academics Press. 689-697.