https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en
IRANIAN JOURNAL OF PLANT BIOLOGY
E-ISSN: 2322-2204
Vol. 14, Issue, No. 4, Winter 2022
Document Type: Research Paper
Received: 05/04/2023 Accepted: 04/09/2023

Development of Male and Female Reproduction Organs in Moldavian Dragonhead, *Dracocephalum moldavica* L. (Lamiaceae)

Masoumeh Mahootforoshha[1], Sayeh Jafari Marandi[1*], Golnaz Tajadod[1], Maryam Peyvandi[1]

[1.] Biology Department, College of Bioscience, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran

Abstract
Due to its great medicinal value, the Moldavian dragonhead, belonging to Lamiaceae, is naturally distributed in Europe, Siberia, and Central Asia and planted in different Iranian provinces. This research studied the development of male/female reproductive organs. Flowers and buds in different stages of development were fixed and preserved in order to prepare microtome sections using appropriate solutions and embed them in paraffin. Hematoxylin-eosin was used to stain the slices. Based on the results, despite the relative simultaneity of the formation of stamen primordium and carpel, stamens develop faster than ovules. Nurses' cells in secretory and plasmodium types are rectangular, spindle-shaped, and often mononuclear or more. The microspore's tetrads had tetrahedral ornamentations, and mature pollen grains were hexacolpate with reticulate ornamentation of the exine. The ovules were anatropous, unitegmic, and tenuinucellate. The functional megaspore has a micropillar position, and the embryo sac development belongs to the Polygonum type.

Introduction
The origin of *Dracocephalum Moldavica* L., known as "Zarrin Giah" in Persian, is in the mountainous regions of Central Asia (Botanica, 2009). This plant is mostly perennial and rarely annual or semi-shrub (Dastmalchi et al., 2007). The *Dracocephalum* species, which naturally grows in Europe, Siberia, and Central Asia, is cultivated in Iran in western and eastern provinces, Mazandaran, Yazd, and Tehran (Mozaffarian, 2013; Dastmalchi et al., 2007). The *Lamiaceae* family, commonly known as the mint family, has always been of interest to researchers due to its significant medicinal properties. The formation of the male and female reproductive structures, pollen grain formation, and various stages of embryo formation in plants of this family

* Corresponding Author: s_jafari@iau-tnb.ac.ir

2322- 2204/ © University of Isfahan
This is an open access article under the CC-BY-NC-ND 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses BY-NC-ND 4.0)

DOI. 10.22108/IJPB.2023.137260.1316

have been studied by various researchers (Daskalova, 2004; Tajadod et al., 2015; Jafari Marandi et al., 2017). The anatomical structure of vegetative organs, secretory tissue structure, trichomes, and the nectary tissue structure of *D. Moldavica* have been studied by some researchers (Dmitruk et al., 2019, 2018; Liapunova, 1975). However, to date, no information has been provided regarding the anatomical structure of the male reproductive organs and their development. Considering the importance of developmental studies in biological, agricultural, horticultural, and botanical sciences, studying the development of this valuable medicinal plant can contribute to the advancement of biological knowledge and increased productivity.

Materials and Methods

After the plants grew to the flowering stage, samples were collected from the buds and flowers at different stages and at the appropriate time. The samples were fixed in FAA70 solution, which contained formalin, glacial acetic acid, and 70% ethanol in a 5:5:90 ratio for 16 hours to preserve the buds and flowers. Then, dehydration of the samples was performed with different concentrations of ethanol. The samples were embedded in paraffin and sectioned with a thickness of 8 micrometers using a microtome (Cut 4040, Co., Mainz, Germany) for studying the developmental stages. Staining was carried out using hematoxylin-eosin based on the Yeung's method (1984). More than 10 samples were studied for each developmental stage, and examination of the samples and preparation of images was conducted using a Nikon light microscope (Nikon, Tokyo, Japan).

Results and Discussion

According to the results, despite the relative simultaneity of primordium formation and the cotyledon, cotyledon growth occurs more rapidly than ovule development. The growth of cotyledons and petals occurs closely spaced, and pollen grains mature before the flower blooms, while the ovules are still in the ovule sac formation stage. Unlike plants such as mango (Jonoubi et al., 2015; Mohsenzadeh et al., 2012), where the epidermal layer of cotyledons disintegrates during maturation, in *D. Moldavica*, as in other members of the mint family like basil, thyme, catnip, and marjoram (Kameli et al., 2018; Jafari Marandi et al., 2017; Tahmasebi et al., 2016; Tajadod et al., 2015), the mechanical layer, along with the epidermal layer, remains until the end of flowering and the maturation of pollen grains. Pollen sacs exist in four-pollinium and various shapes, including rectangular, double, single-core, or more, and are of exine secretion or plasmoid type. Contrary to plants such as mint (Jafari Marandi et al., 2017), catnip (Daskalova, 2004), and species of *Brassicaceae* like *Brassica jordanoffri* (Yankova-Tsvetkoya et al., 2016) and *Arabidopsis thaliana* (Basiri et al., 2021), where two-nucleate cells of the middle layer are reported, in this medicinal plant, the middle layer cells are polygenomic. The type of ovule in this plant is anatropous, bitegmic, and with a thin integument. The functional megaspore is of the monosporic type and ultimately becomes a megaspore mother cell. The structural features of the hypostase, androecium, and the nectary conductor tissue, as well as the pollen tube conductive tissue, are observed in this plant.

Conclusion

Pollen grains of *D. Moldavica* reach maturity before flowering. The middle layer that exists until the formation of immature pollen grains is lost before the formation of the

top layer. During flowering, cotyledonary and mechanical layers remain intact. The top layer is of secretory and amoeboid type and exists as mononucleate, binucleate, or more. Ovaries in this plant have four pollen sacs with various shapes. Pollen grains are hexacolpate and exine is reticulate. The ovule is anatropous, bitegmic, and with a thin integument. The functional megaspore is monosporic, and eventually, the megaspore mother cell becomes a pollen sac. The structure of the hypostase, androecium, and the nectary conductor tissue, as well as the pollen tube conductive tissue, are present in this plant.

Keywords: Moldavian Dragonhead, Development, Ovule, Pollen Grain, Pistil

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال چهاردهم، شمارهٔ پنجاه و چهارم، زمستان ۱۴۰۱، صفحهٔ ۳۸-۲۱
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۱/۱۶
تاریخ بررسی مجدد: ۱۴۰۲/۰۷/۰۴
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۶/۱۳
مقاله پژوهشی

مطالعهٔ تکوین اندام زایشی نر و ماده در گیاه بادرشبو *Dracocephalum moldavica* L. (تیرهٔ نعنائیان)

معصومه ماهوت‌فروش‌ها[۱]، سایه جعفری مرندی[*۱]، گلناز تجدد[۱]، مریم پیوندی[۱]
[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

چکیده
گیاه بادرشبو (متعلق به تیرهٔ نعنائیان) به‌طور طبیعی در اروپا، سیبری و آسیای مرکزی پراکنش دارد و به‌علت داشتن ارزش دارویی فراوان، در استان‌های مختلف ایران کاشته می‌شود. در پژوهش حاضر، تکوین اندام زایشی نر و مادهٔ گیاه بادرشبو مطالعه شد. غنچه‌ها و گل‌ها در مراحل مختلف نمو به‌منظور تهیهٔ برش‌های میکروتومی با محلول‌های مناسب تثبیت، نگهداری و در پارافین قالب‌گیری شدند. از هماتوکسیلین- ائوزین برای رنگ‌آمیزی برش‌ها استفاده شد. بر اساس نتایج، باوجود هم‌زمانی نسبی تشکیل پریموردیوم پرچمی و برچه، نمو پرچم‌ها سریع‌تر از تخمک انجام می‌شود. بساک‌ها چهارکیسه‌گرده‌ای هستند و لایهٔ تاپی به شکل‌های مستطیلی، دوکی‌شکل، تک‌هسته‌ای یا بیشتر و به دو حالت ترشحی و پلاسمودیومی وجود دارد. تترادهای میکروسپوری از نوع تتراهیدرال هستند، دانهٔ گرده شش‌شیاره و اگزین دارای تزئینات مشبک است. تخمک از نوع واژگون، تک‌پوششی با دیوارهٔ نازک است. سلول عملکردی با موقعیت سُفتی و کیسهٔ رویانی تیپ پلی‌گونوم از دیگر ویژگی‌های این گونه است.

واژه‌های کلیدی: بادرشبو، تکوین، تخمک، دانهٔ گرده، مادگی

[*] نگارندهٔ مسؤول: نشانی پست الکترونیک: s_jafari@iau-tnb.ac.ir، شمارهٔ تماس: ۰۲۱۷۷۰۰۹۸۰۰

2322- 2204/ © University of Isfahan
This is an open access article under the CC-BY-NC-ND 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses BY-NC-ND 4.0)

DOI. 10.22108/IJPB.2023.137260.1316

مقدمه

تیرهٔ نعنائیان (Lamiaceae) با ۵۹ سرده و ۵۳۷ گونه، یکی از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهان گل‌دار است و اعضای آن در محدودهٔ فلات ایران رویش دارند (Rechinger, 1982). سردهٔ *Dracocephalum* L. که لینه آن را در سال ۱۷۵۳ معرفی کرد، به زیرقبیلهٔ Nepetinae، قبیلهٔ Mentheae و زیرتیرهٔ Nepetoideae تعلق دارد (Jamzad, 2012). حدود ۴۰ گونهٔ پذیرفته‌شده در سردهٔ بادرشبو که با نام فارسی زرین‌گیاه نیز شناخته می‌شود، وجود دارند که منشأ بسیاری از آنها، کوهستان‌های آسیای مرکزی است؛ بیشترین تعداد گونه‌های این سرده در چین یافت می‌شوند (Botanica, 2009). این گیاهان اغلب چندساله، به‌ندرت یک‌ساله یا نیمه‌درختچه‌ای هستند (Dastmalchi et al., 2007). سردهٔ بادرشبو در ایران به‌طور عمده در بخش‌های شمالی و مرکزی کشور پراکنده شده است و به ناحیهٔ ایرانی-تورانی تعلق دارد (Jamzad, 2012). گونهٔ بادرشبو که در اروپا، سیبری و آسیای مرکزی به‌طور طبیعی پراکنش دارد، در ایران به‌شکل کاشته‌شده در استان‌های غربی و شرقی، مازندران، یزد و تهران وجود دارد (Dastmalchi et al., 2007; Mozaffarian, 2013)؛ گونهٔ گیاهی یادشده به‌شکل علفی، یک‌ساله، بسیار معطر با عطر لیموی مطبوع به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ متر است. برگ‌های پایینی دمبرگ‌دار با حاشیهٔ سینوسی- کنگره‌ای و برگ‌های بالایی بدون دمبرگ با لبه‌های دندانه اره‌ای- سیخک‌دار هستند. گل‌ها بزرگ با تاج گل به طول ۲۰ تا ۲۵ میلی‌متر، اغلب به رنگ آبی- ارغوانی و بسیار به‌ندرت آبی کم‌رنگ یا سفید هستند (Dmitruk et al., 2018). از ویژگی‌های این گیاه دارویی ارزشمند که اهمیت زینتی نیز دارد، می‌توان به کاهش تب و سرماخوردگی، مسکن و آرام‌بخش، ضددردهای روماتیسمی، بادشکن و مقوی، رفع اسپاسم‌های معدی و کلیوی، قابض و التیام‌دهندهٔ زخم و جراحت‌ها، سردرد، ضدتومور و آنتی‌اکسیدان، استفاده برای شستشوی دهان و در دندان‌دردها اشاره کرد. اسانس این گیاه در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی و عطرسازی کاربردهای فراوانی دارد (Dastmalchi et al., 2007; Mozaffarian, 2013). گیاهان تیرهٔ نعنائیان (Lamiaceae) به دلیل داشتن اهمیت دارویی فراوان همواره مدنظر پژوهشگران قرار گرفته‌اند و پژوهشگران مختلف تکوین ساختار زایشی نر و ماده، تکوین دانهٔ گرده و مراحل مختلف تشکیل جنین گیاهان این تیره را بررسی کرده‌اند (Daskalova, 2004; Tajadod et al., 2015; Jafari Marandi et al., 2017; Kameli et al., 2018). اگرچه پژوهشگران مختلف ساختار تشریحی اندام‌های رویشی، ساختار بافت ترشحی و کرک‌ها و همچنین ساختار تشریحی بافت شهدزای گیاه بادرشبو را مطالعه کرده‌اند (Liapunova, 1975; Dmitruk, 2018; 2019)، تاکنون اطلاعاتی در زمینهٔ ساختار زایشی مادگی و اندام نر گیاه و تکوین آنها ارائه نشده است. باتوجه‌به اهمیت مطالعه‌های تکوینی در علوم زیستی، کشاورزی، زراعی و باغبانی، مطالعهٔ تکوین این گیاه دارویی بسیار ارزشمند می‌تواند به توسعهٔ دانش زیست‌شناسی و افزایش بهره‌وری درست از آن کمک کند.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه بادرشبو از شرکت پاکان‌بذر اصفهان (ایران) تهیه و تا رسیدن به مرحلهٔ گل‌دهی در گلدان‌های پلاستیکی پرورش داده شد. غنچه و گل در سن‌های مختلف و در زمان مساعد گل‌دهی جمع‌آوری شدند و از محلول FAA70 به‌مدت ۱۶ ساعت برای تثبیت غنچه‌ها و گل‌ها استفاده شد؛ محلول یادشده از فرمالین، استیک‌اسید گلاسیال و اتانول ۷۰ درصد با نسبت حجمی ۵:۵:۹۰ تهیه شد. پس از مرحلهٔ تثبیت، نمونه‌ها در اتانول ۷۰ درصد نگهداری شدند. آب‌گیری نمونه‌ها با قراردادن آنها در رقت‌های مختلف اتانول انجام شد. نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری و سپس از میکروتوم (Cut DC 4040, Co., Mainz, Germany) به‌منظور تهیهٔ برش‌هایی به ضخامت ۸ میکرومتر برای مطالعهٔ مراحل تکوینی استفاده شد. رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین و بر اساس روش Yeung (1984) انجام شد. بیش از ۱۰ نمونه برای هر مرحلهٔ تکاملی مطالعه شد. میکروسکوپ نوری نیکون (Nikon, Tokyo, Japan) برای بررسی و تهیهٔ عکس از نمونه‌ها استفاده شد.

نتایج

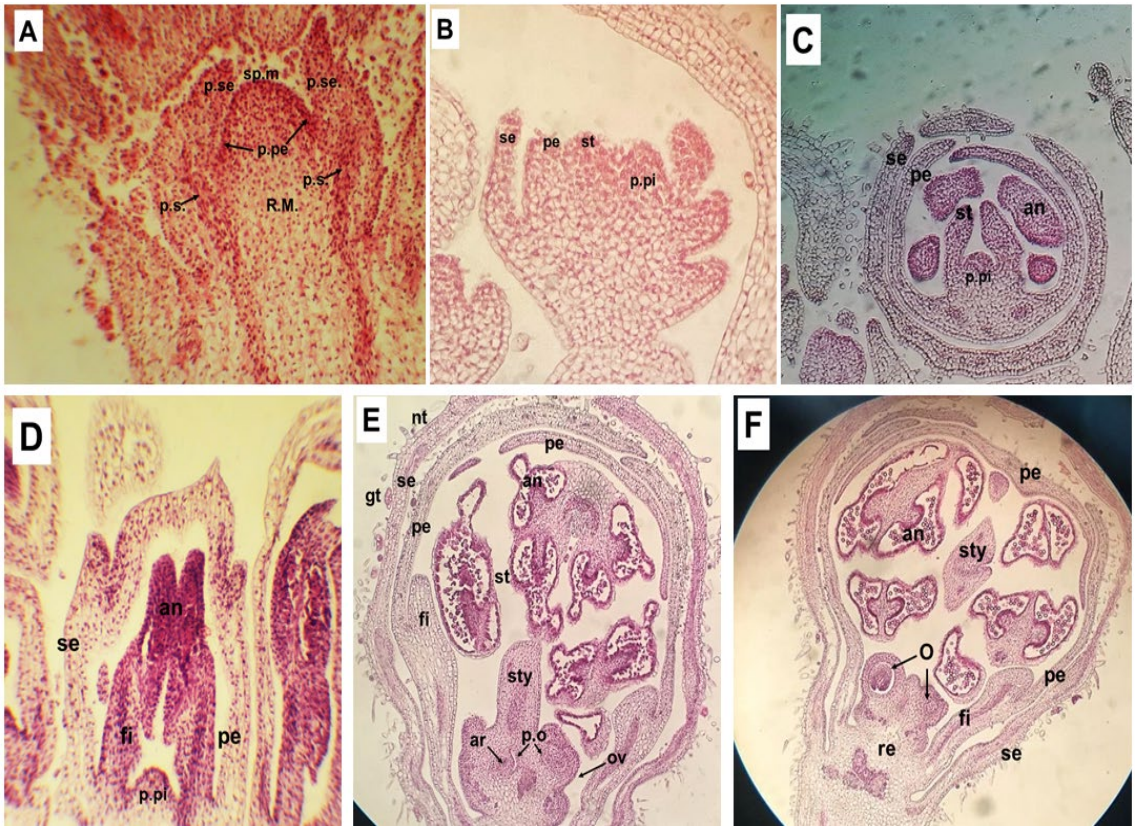
تشکیل گل: گذر از مریستم رویشی به مریستم زایشی به‌طور تدریجی اتفاق می‌افتد که مرحلهٔ پیش‌گل‌دهی نامیده می‌شود و با کاهش شدید فعالیت حلقهٔ بنیادی، تمایز مریستم منتظر و تکثیر سلولی فراوان همراه است؛ در این مرحله، مریستم حجیم‌تر و گنبدی‌شکل می‌شود و سلول‌ها رنگ‌پذیری بیشتری نشان می‌دهند (شکل ۱D). فعالیت محدود حلقهٔ بنیادی سبب تشکیل غلاف‌های پوشانندهٔ گل می‌شود. پیش‌مریستم هاگ‌زا و نهنج‌زا درنهایت مسئول ایجاد اندام‌های گل هستند (شکل‌های ۱A و ۱B). شکل ۱A-C، ایجاد مریستم‌های هاگ‌زا، شکل‌گیری پریموردیوم‌های کاسبرگی، گلبرگی، پرچمی و مادگی در مراحل مختلف تا تشکیل پرچم‌ها و بساک‌ها را نشان می‌دهد. افزایش رنگ‌پذیری در نواحی جانبی رأس گنبدی‌شکل و زیر پریموردیوم کاسبرگ، شکل‌گیری پریموردیوم گلبرگی را نشان می‌دهد. دو جفت پرچم در این گیاه مشاهده می‌شود که جفت بالایی کمی بلندتر از جفت پایینی است (شکل ۱C). پریموردیوم مادگی در مراحل آخر تکوین مریستم زایشی ایجاد می‌شود. تکوین تدریجی اندام‌های گلی در شکل ۱A-F مشاهده می‌شود. در برش طولی غنچه (شکل‌های ۱E و۱F)، تخمدان، خامه و پریموردیوم تخمک مشاهده می‌شود. کاسبرگ‌ها و گلبرگ‌ها اطراف اندام‌های گل را محصور کرده‌اند. پرچم‌ها حجیم شده‌اند و بساک‌ها مراحل آخر تکوین خود را سپری می‌کنند، اما آزادسازی گرده‌های بالغ هنوز رخ نداده است. درون تخمدان‌ها، تخمک‌های درحال بلوغ به چشم می‌خورند و خامه به‌شکل ستونی در بخش میانی جوانه دیده می‌شود (شکل ۱A)، تخمدان برجسته می‌شود و تخمک‌ها درون آن ایجاد می‌شوند. در شکل ۱F، دانه‌های گردهٔ بالغ درحال شکل‌گیری هستند.

تکوین پرچم و دانهٔ گرده: بساک‌ها به‌شکل چهارکیسه‌گرده‌ای (تتراسپورانژی) مجزا از هم و بساک‌های نابالغ تخم‌مرغی‌شکل هستند (شکل ۱C). تقسیم‌های مماسی آرکئوسپورها، بافت هاگ‌زا (به‌سمت درون) و لایه‌های جداری (به‌سمت بیرون) را ایجاد می‌کنند. شکل ۲A، مراحل اولیهٔ تمایز

بساک و ایجاد لایه‌های جداری و بافت هاگ‌زا را نشان می‌دهد. لایهٔ جداری با تقسیم‌های خود سبب تشکیل دیوارهٔ بساک می‌شود. همان‌طور که در شکل‌های ۲B و ۲D مشاهده می‌شود، چهار لایهٔ دیوارهٔ بساک جوان به‌ترتیب از بیرون به درون عبارتند از: لایه‌های اپیدرم، لایهٔ آندوتسیوم (مکانیکی)، میانی (موقت) و مغذی (تاپی)؛ هریک از لایه‌های یادشده از یک ردیف سلول تشکیل شده‌اند که طی فرایند بلوغ کیسهٔ گرده و شکوفایی، سرنوشت متفاوتی خواهد داشت. اپیدرم که در ابتدا شامل یک ردیف سلول‌های منظم مستطیلی است، طی فرایند بلوغ به‌تدریج چروکیده می‌شود و شکل نامنظمی پیدا می‌کند (شکل‌های ۲D و ۲F). لایهٔ مکانیکی زیر لایهٔ اپیدرم قرار دارد و شامل یک ردیف سلول‌های مستطیلی‌شکل است. دیوارهٔ سلول‌های این لایه طی بلوغ بساک و تکوین دانهٔ گرده ضخیم‌تر می‌شوند (شکل ۳A). لایهٔ میانی با سلول‌های بسیار باریک و کشیده زیر لایهٔ مکانیکی قرار گرفته است و همانند لایهٔ تاپی در فرایند تغذیه نقش دارد و در بساک بالغ ناپدید می‌شود (شکل ۲D و شکل ۳A). لایهٔ تاپی که بافت هاگ‌زای بساک را احاطه می‌کند، سلول‌های حجیم با سیتوپلاسم غلیظ و هسته‌های بزرگ با رنگ‌پذیری زیاد دارد که به شکل‌های مختلفی ازجمله مستطیلی، دوکی‌شکل، تک‌هسته‌ای یا بیشتر دیده می‌شوند (شکل ۲D-F). در برخی سلول‌ها، انجام تقسیم میتوز بدون سیتوکینز سبب ایجاد سلول‌های دوهسته‌ای یا بیشتر می‌شود (شکل ۲D-F)؛ این سلول‌ها ابتدا به‌شکل ترشحی و در مراحل انتهایی به‌طور پلاسمودیومی وجود دارند.

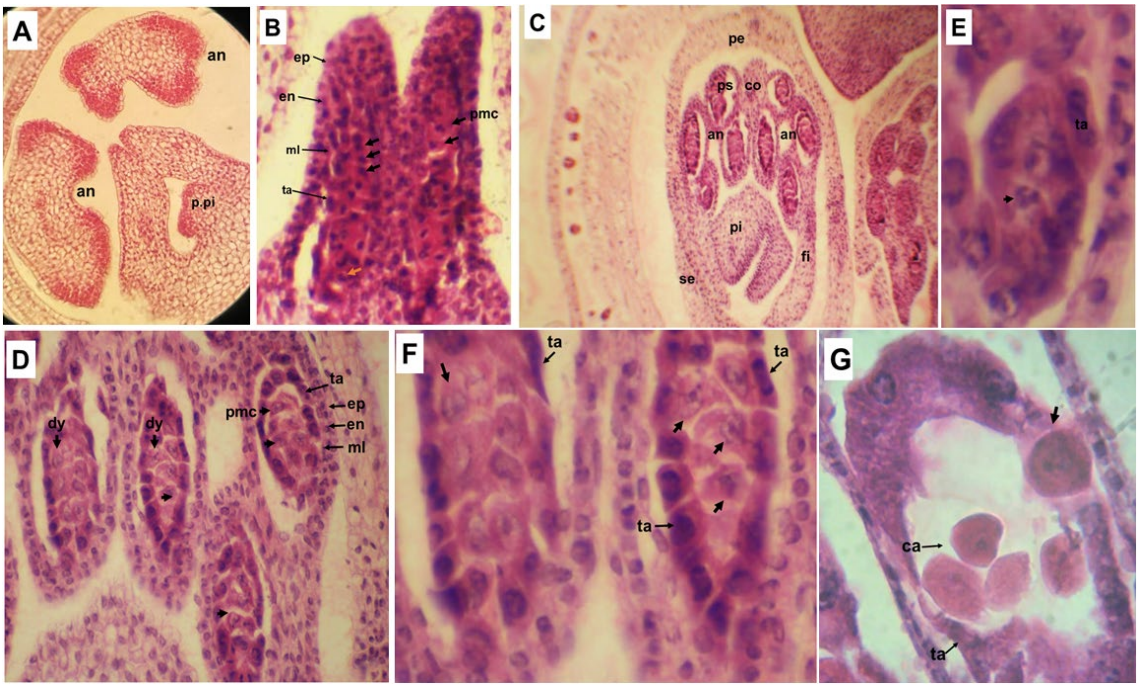
هم‌زمان با تقسیم میوز در سلول‌های مادر گرده، این سلول‌ها به‌طور شعاعی گسترش می‌یابند. سلول‌های هاگ‌زا که در نتیجهٔ تقسیم‌های آرکئوسپور به‌سمت درون تشکیل می‌شوند، با تقسیم‌های میتوزی خود به سلول‌های مادر گرده (PMC) یا میکروسپورسیت تمایز می‌یابند (شکل ۲B)؛ این سلول‌ها که در چند ردیف وجود دارند، با اندازهٔ بزرگ و حجیم، سیتوپلاسم متراکم و هستهٔ درشت و رنگ‌پذیری زیاد تشخیص داده می‌شوند و درون کیسه‌های گرده با دیواره‌ها احاطه می‌شوند. با شروع میوز، کالوز به‌شکل لایه‌ای ضخیم و درخور توجه در اطراف میکروسپوروسیت‌ها و تترادها دیده می‌شود (شکل ۲E-G).

سلول‌های مادر گرده طی فرایند میکروسپورزایی پس از تقسیم میوز I و II (شکل ۲E-G)، ابتدا سبب تشکیل دیاد (شکل ۲D) و سپس تتراد می‌شوند و درنهایت، میکروسپورهای آزاد را تشکیل می‌دهند. در شکل ۲G، دانهٔ گردهٔ درحال تغذیه از سلول‌های تاپی به‌وضوح دیده می‌شود. سلول‌های لایهٔ تاپی تا ایجاد تتراد و کمی پس از آن نیز مشاهده می‌شوند، اما پس از ظاهرشدن دانهٔ گردهٔ بالغ به‌طور کامل مصرف می‌شوند یا اثر ناچیزی از آنها باقی می‌ماند (شکل ۳B-G). هنگام شکوفایی کیسهٔ گرده در بساک بالغ، تنها لایه‌های اپیدرم و مکانیکی باقی می‌مانند (شکل ۳C-F). این میکروسپورهای جوان رهاشده، سیتوپلاسم متراکم و شکل منظم دارند و به‌تدریج با مصرف سلول‌های تاپی به‌عنوان منبع مغذی، واکوئل مرکزی گسترش می‌یابد و هستهٔ دانهٔ گرده به کنار سلول رانده می‌شود.



شکل ۱- مراحل تکوین مریستم زایشی بادرشبو (رنگ آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین). A) برش طولی مریستم زایشی در مراحل ابتدایی (۱۰×)، طناب پروکامبیومی مشهود است، B) برجستگی‌های پریموردیوم کاسبرگی، گلبرگی، پرچمی و مادگی (۴۰×)، C) تشکیل گلبرگ و کاسبرگ، پرچم‌ها و بساک‌های نابالغ (۱۰×)، D) برش طولی غنچهٔ جوان، میله‌های پرچم، بساک نابالغ، پیوستگی گلبرگ‌ها و کاسبرگ‌ها (۴۰×)، E و F) برش طولی غنچه (۱۰×)، بساک‌ها و گرده‌ها و مراحل ابتدایی شکل‌گیری مادگی. se: کاسبرگ، pe: گلبرگ، st: پرچم، p.pi: پریموردیوم مادگی، p.st: پریموردیوم پرچمی، p.se: پریموردیوم کاسبرگی، p.pe: پریموردیوم گلبرگی، sp.m: مریستم هاگ‌زا، R,M: مریستم نهنجی، an: بساک، fi: میلهٔ پرچم، p.o.: پریموردیوم تخمک، re: نهنج، sty: خامه، ov: تخمدان، o: تخمک، ar: آرکئوسپور، gt: کرک غده‌ای، nt: کرک غیرغده‌ای

Figure 1- Developmental stages of reproductive meristem in Moldavian dragonhead stained with hematoxylin-eosin. (A) Longitudinal incision of reproductive meristem at initial formation stage (×10). Procambial strands are observable. (B) sepal, petal, stamen and pistil projections (×40). (C) forming of sepal, petal, stamen, and immature anthers (×10). (D) Longitudinal incision of young bud. filaments, immature anthers, and fusion of petals and sepals (×40). (E, F) Longitudinal incision of bud (×10). Anthers and pollens in associating with initiation steps of pistil forming. Se: sepal; pe: petal; st: stamen; p.pi: primordium of pistil; p.st: primordium of stamen; p.se; primordium of sepal; p.pe: primordium of petal; sp.m: sporophyte meristem; R.M: receptacle meristem; an: Anther; fi: filament; p.o: primordium of ovule; re: receptacle; sty: style; ov: ovary; o: ovule; ar: archespores; gt: glandular trichome; nt: nonglandular tichome



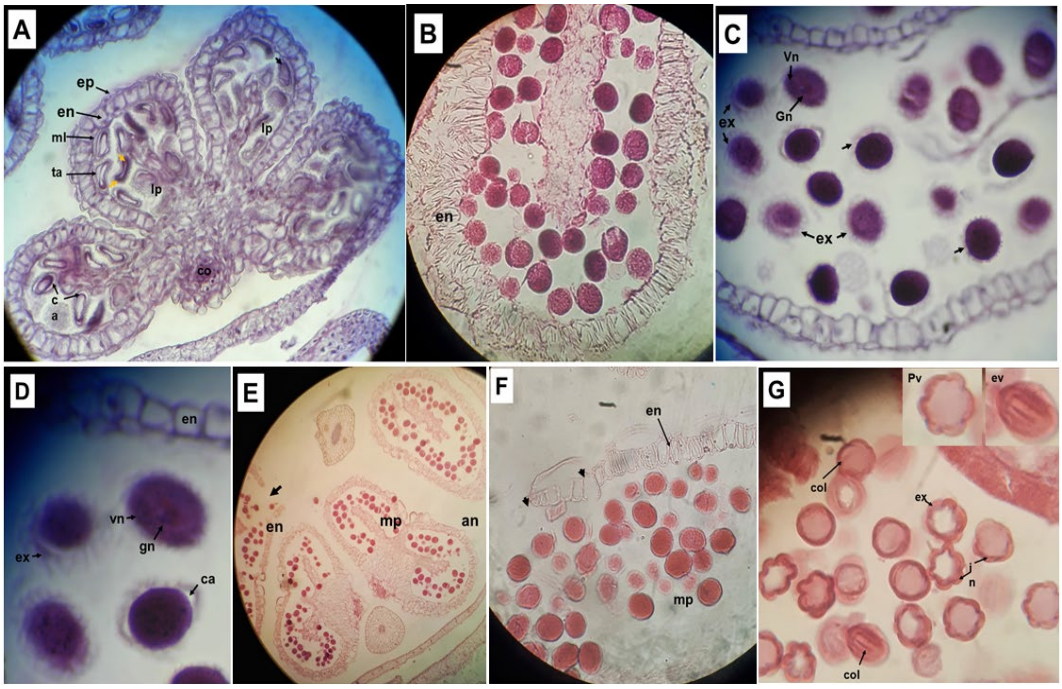
شکل ۲- مراحل تکوین بساک گیاه بادرشبو (رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین). A) برش طولی غنچهٔ جوان، شکل‌گیری مراحل اولیهٔ بساک، تشکیل لایه‌های جداری و هاگ‌زا (×۱۰)، B) برش طولی بساک جوان، دیواره‌های بساک، سلول‌های مادر گرده (×۴۰)، C) برش عرضی غنچهٔ جوان، بساک‌های چهارکیسه‌گرده‌ای (×۴۰)، D تا F) برش عرضی غنچهٔ جوان (×۴۰)، تقسیم‌های سلول مادر گرده و شکل‌گیری دیاد، تتراد تتراهدرال، G) دانهٔ گرده درحال بلوغ (×۱۰۰). se: کاسبرگ، pe: گلبرگ، p.pi: پریموردیوم مادگی، an: بساک، fi: میلهٔ پرچم، ep: اپیدرم، en: اندوتسویم، ml: لایهٔ میانی، ta: لایهٔ تاپی، PMC: سلول مادر گرده، ps: کیسهٔ گرده، co: رابط

Figure 2- Developmental stages of anther in Moldavian dragonhead stained with hematoxylin-eosin. (A) Longitudinal incision of young bud, initial formation stage of anther, parietal layers (×10) (B) Longitudinal incision of young anther with anther walls, pollen mother cells (×40). (C) cross section of young bud with obvious four pollen (×40). (D-F) cross section of young bud (×40), pollen mother cell divisions and formation of dyad, tetrahydral tetrad (×40). (G) Pollen grain maturation (×100). Se: sepal; pe: petal; st: stamen; p.pi: primordium of pistil; an: Anther; fi: filament; ep: epiderm; en: endothecium; ml: middle layer; ta: tapetum; PMC: pollen mother cells; ps: pollen sac; co: connective

پس از آن، میکروسپور با انجام‌شدن یک تقسیم میتوز نامساوی دارای دو هستهٔ رویشی (بزرگ) و زایشی (کوچک) می‌شود که از نظر عملکردی با یکدیگر تفاوت دارند (شکل‌های ۳C، ۳D). هستهٔ رویشی در رشد لولهٔ گرده و هستهٔ زایشی در ایجاد دو آنتروزوئید دانهٔ گردهٔ بالغ نقش دارند. میکروسپورها به‌شکل کروی تا بیضی هستند (شکل ۳C-G). بلوغ دانه‌های گرده با احاطهٔ میکروسپورها توسط دیوارهٔ اگزین و ایجاد تزئینات روی سطح آن کامل می‌شود و از سمت داخلی نیز دیوارهٔ پکتوسلولزی انتین در مجاورت سیتوپلاسم تشکیل می‌شود (شکل‌های ۳C، ۳F و ۳G). دانه‌های گرده در نماهای مختلف قطبی و استوایی به اشکال کروی و بیضوی مشاهده می‌شوند. دانهٔ گردهٔ بالغ شش‌شیاره است و در محل شیارها، دیواره‌های انتین ضخیم‌تر هستند (۳G).

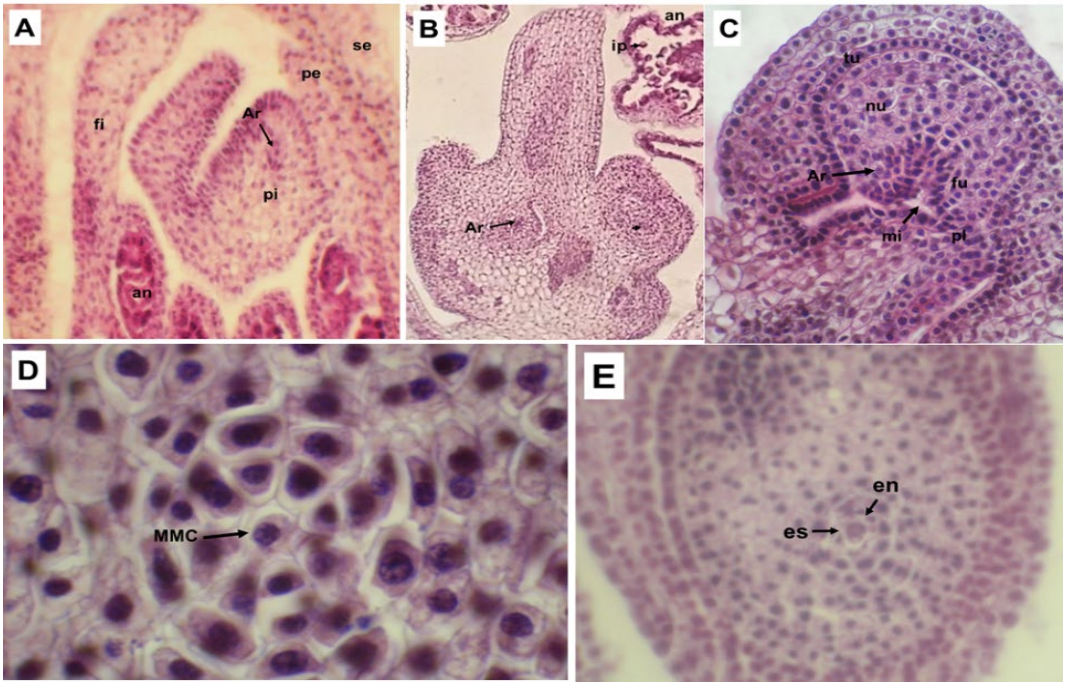
تکوین تخمک و کیسهٔ رویانی: تخمدان در گیاه بادرشبو از نوع فوقانی است و برچه‌ها دو عدد و چهارخانه‌ای هستند. در این گیاه همانند دیگر اعضای تیرهٔ نعنائیان (Lamiaceae)، پیدایش

پرچم‌ها سریع‌تر از مادگی رخ می‌دهد (شکل‌های ۴A و ۴B). پس از پدیدارشدن آثار پرچم‌ها و خارج‌شدن آنها از تودهٔ مریستمی هاگ‌زا، بخش باقیماندهٔ تودهٔ مریستمی، پریموردیوم مادگی و طرح اولیهٔ آن را تشکیل می‌دهد (شکل ۴A). پریموردیوم برچه‌ای تا پیش از پایان‌یافتن تکوین پرچم به‌شکل توده‌ای کوچک دیده می‌شود (شکل ۴A)؛ این پریموردیوم با رشد و طویل‌شدن سریع، سه بخش تخمدان، خامه و کلاله را ایجاد می‌کند (شکل ۱D). با رشد تخمدان، نخستین آثار تشکیل تخمک‌ها پدیدار می‌شوند. همان‌طور که در شکل ۴B دیده می‌شود، ایجاد پریموردیوم تخمک تقریباً با رشد گرده‌های نابالغ و تمایز آنها منطبق است. پریموردیوم تخمک‌ها در جدار تخمدان و به‌شکل برآمدگی‌های کوچک کروی- بیضوی ایجاد می‌شود. تخمک‌ها در این گونه از نوع واژگون هستند (شکل ۴C). در تخمک‌های نابالغ، سلول‌های پارانشیمی بافتی مغذی به نام بافت خورش را ایجاد می‌کنند که با رشد سریع یکی از آنها در مراحل بعدی تکوین، سلول مادر مگاسپور تمایز می‌یابد (شکل ۴C-E)؛ پس از انجام تقسیم میوز در این سلول و حذف سلول‌های غیرعملکردی، یکی از سلول‌ها (سلول مادر کیسه رویانی) باقی می‌ماند و با رشد سریع سبب تشکیل کیسهٔ رویانی می‌شود (شکل‌های ۴D و ۴E). این سلول به اندازهٔ چندین برابر سلول‌های بافت خورش، حجیم شده است و هستهٔ آن به‌خوبی تشخیص داده می‌شود. در ادامهٔ فرایند یادشده، فضایی روشن بین سلول مادر کیسهٔ رویانی و سایر بخش‌ها ایجاد می‌شود که همچنان آثار بخش‌های تحلیل‌رفته از سلول‌های خورش را می‌توان در آن دید (شکل ۵A-C). سلول مادر کیسهٔ رویانی با تقسیم‌های میتوز متوالی (شکل‌های ۵B و ۵C)، کیسهٔ رویانی هشت‌هسته‌ای را ایجاد می‌کند که در شکل ۵D-H مشاهده می‌شود؛ ابتدا هشت هسته به‌طور متراکم و نامنظم قرار دارند و با بقایای سلول‌های درحال تخریب بافت خورش احاطه می‌شوند (شکل‌های ۵D و ۵E)؛ هشت هستهٔ ایجادشده به‌مرور در دو دستهٔ سه‌تایی و یک دستهٔ دوتایی قرار می‌گیرند و پس از جداربندی در فواصل معینی از هم واقع می‌شوند (شکل ۵F-H)؛ به این شکل در کیسهٔ رویانی بالغ، سه هسته‌ای که در قطب مقابل میکروپیل یا سُفت (mi) قرار می‌گیرند، سریع‌تر از سایر سلول‌های کیسهٔ رویانی، ساختمان سلولی می‌یابند و سلول‌های پابُنی یا آنتی‌پودال (ant) را می‌سازند (شکل‌های ۵F و ۵H). مجموعهٔ سه‌تایی که در مجاورت سُفت قرار دارد، از دو سلول همسان یا سینرژید (syn) و یک سلول بزرگ‌تر تخم‌زا (Oo) تشکیل شده است؛ یک سلول دوهسته‌ای نیز در فضای میانی این دو سلول قرار گرفته است (شکل‌های ۵F و ۵H). پس از رشد لولهٔ گرده درون خامه و انجام لقاح، یکی از سلول‌های نر با سلول تخم‌زا آمیخته می‌شود و سلول تخم را ایجاد می‌کند و سلول دیگر با سلول ثانویه ترکیب می‌شود و آندوسپرم تریپلوئید را تشکیل می‌دهد که در مراحل رشد رویان به‌عنوان مادهٔ مغذی آن عمل می‌کند (شکل ۴H). بافت هدایت‌کنندهٔ لولهٔ گرده در قطب سُفت مشاهده می‌شود. همان‌طور که در شکل ۴E مشاهده می‌شود، محفظهٔ یکی از خانه‌های تخمدان بدون تخمک یا تخمک تحلیل‌رفته طی مراحل تکوین است.



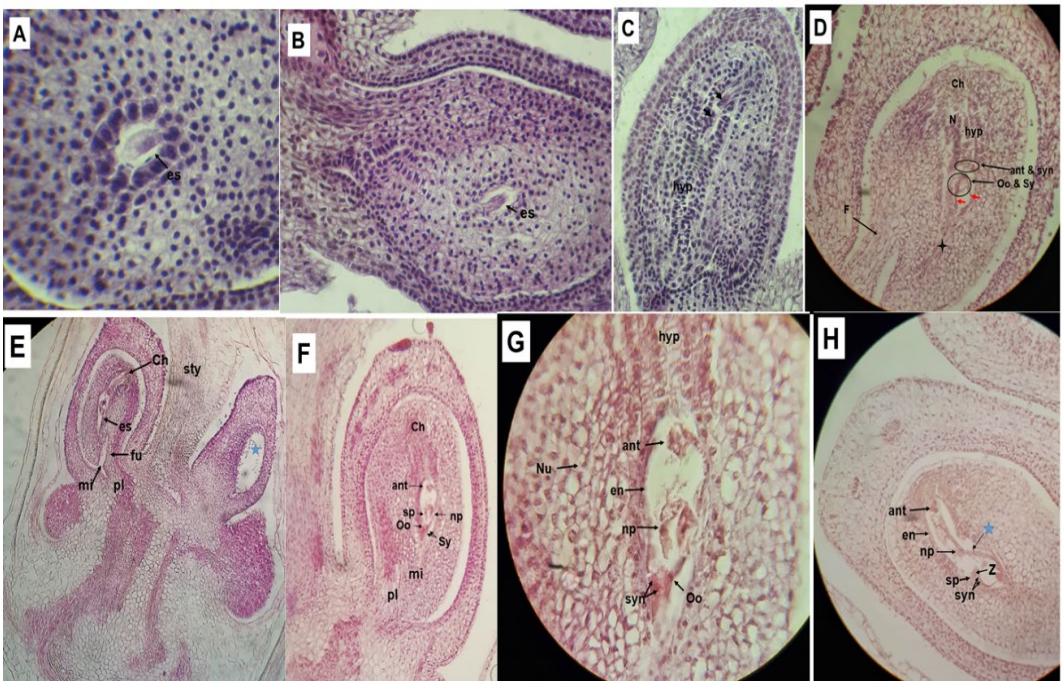
شکل ۳- مراحل تکوین و تمایز دانهٔ گردهٔ گیاه بادرشبو (رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین). A) برش عرضی بساک بالغ (۴۰ ×)، لایهٔ کالوز اطراف دانهٔ گرده هنوز مشاهده می‌شود، B) مراحل انتهایی تکوین دانه‌های گرده (۴۰×)، فروپاشی لایهٔ اندوتسیوم در برخی نقاط مشهود است، C و D) دانه‌های گرده بالغ، هسته‌های رویشی، زایشی مشاهده می‌شوند. تزئینات دیوارهٔ اگزین به‌خوبی دیده می شوند. لایهٔ کالوز در برخی دانه‌ها هنوز مشاهده می‌شود، E و F) دانه‌های گردهٔ رسیده و شکوفایی بساک (۴۰×)، G) دانه‌های گرده بالغ در نماهای قطبی و استوایی. ep: اپیدرم، en: اندوتسیوم، ml: لایهٔ میانی، ta: لایهٔ تاپی، an: بساک، mp: گردهٔ بالغ، ex: اگزین، in: اینتین، col: شیار، vn: هستهٔ رویشی، gn: هستهٔ زایشی، ca: کالوز، ev: نمای استوایی، pv: نمای قطبی

Fig.3. Developmental stages of pollen grains in Moldavian dragonhead stained with hematoxylin-eosin. (A) cross section of mature anther (×40). Calluse layer is still visible around pollen grain (B) final stages of pollen grain development (×40). Decomposition of endothecium is obvious in some points. (C, D) mature pollen grains, vegetative and regenerative nuclei, exine ornamentation are observed. calluse layer is still seen in some grains. (E, F) mature pollen grains and dehiscence of anther (×40). (G) polar and equatorial view of mature pollen grains. ep: epiderm; en: endothecium; ml: middle layer; ta: tapetum; an: anther; mp: mature pollen; ex: exine; in: intine; col: colpus; vn: vegetative nucleus; gn: generative nucleus; ca: calluse; ev: equatorial view; pv: polar view



شکل ۴- مراحل تکوین تخمک تا مراحل ابتدایی تشکیل کیسهٔ رویانی در گیاه بادرشبو (رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین). A) برش عرضی گل جوان گیاه بادرشبو (۱۰۰×)، تقارن تشکیل بساک جوان و تمایز سلول‌های مادر گرده با ایجاد پریموردیوم تخمک و تشکیل تخمدان، B) برش طولی غنچه (۱۰×)، بساک‌های جوان به همراه مراحل ابتدایی شکل‌گیری مگاسپوروفیت، تکوین مادگی و تمایز تخمدان و خامه، C) تخمک جوان که به حالت واژگون قرار دارد (۱۰۰×)، ایجاد سُفت، شکل‌گیری آرکئوسپور و مگاسپوروفیت، D و E) برش طولی تخمک جوان (۱۰۰× و ۱۰۰×). Se: کاسبرگ، pe: گلبرگ، an: بساک، fi: میلهٔ پرچم، pi: مادگی، ip: گردهٔ نابالغ، ar: سلول آرکئوسپور، tu: پوستهٔ تخمک، pl: جُفت، mi: سُفت، nu: خورش، fu: بند، MMC: سلول مادر مگاسپور

Figure 4- Developmental stages of ovule to initial stages of embryo sac formation in Moldavian dragonhead stained with hematoxylin-eosin. (A) cross section of young flower (×40). Coincidence of young anther and PMC differentiation formation with formation of ovule primordium and ovary. (B) Longitudinal incision of bud (×10). Young anthers and initial stages of megasporophyte formation. development of ovary, style, and pistil. (C) young anatropous ovule (×40). Formation of microspore, archespore, and megasporophyte. (D, E) Longitudinal incision of young ovule (×40, ×100). Se: sepal; pe: petal; an: Anther; fi: filament; pi: pistil; ip: immature pollen; ar: archespore cell; tu: tunicate; pl: placenta; mi: micropyle; nu: nucellus; fu: funicule; MMC: megaspore mother cells



شکل ۵- مراحل تکوین کیسهٔ رویانی در گیاه بادرشبو (رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین). A) برش طولی تخمک (۴۰×)، B) برش طولی تخمک (۱۰۰×)، تشکیل کیسهٔ رویانی، شکل‌گیری بافت هیپوستاسیز، C) کشیده‌شدن کیسهٔ رویانی درون بافت خورش در مرحلهٔ دو و چهار هسته ای (۴۰×)، بافت هیپوستاسیر مشاهده می‌شود، D) برش طولی تخمک به همراه کیسهٔ رویانی (۴۰×)، تشکیل کیسهٔ رویانی هشت‌هسته‌ای، تشکیل بافت هدایت کنندهٔ گرده (ستاره)، E) برش طولی مادگی (۴۰×)، ستارهٔ آبی حفرهٔ خالی از تخمک را نشان می‌دهد، F) برش طولی تخمک (۱۰۰×)، G) کیسهٔ رویانی (۱۰۰×)، H) ورود آنتروزوئیدها و تشکیل سلول تخم (۱۰۰×). an: بساک، fi: میلهٔ پرچم، pi: مادگی، ip: گردهٔ نابالغ، ar: سلول آرکئوسپور، tu: پوستهٔ تخمک، pl: جُفت، mi: سُفت، nu: خورش، fu: بند، MMC: سلول مادر مگاسپور، Oo: سلول تخم‌زا، ch: شالاز یا بُن، hyp: هیپوستاسیز، syn: سلول‌های سینرژید، Ant: سلول های پایُنی یا آنتی‌پودال، sp: آنتروزوئید یا اسپرم، np: سلول دوهسته‌ای، en: آندوتلیوم

Figure 5- Developmental stages of embryo sac formation in Moldavian dragonhead stained with hematoxylin-eosin. (A) Longitudinal incision of ovule (×40). (B) Longitudinal incision of ovule (×100). Formation of embryo sac, formation of hypostasis tissue. (C) Stretching of the embryo sac inside nucleus tissue during two and four nuclei (×40). hypostasis tissue is obvious. (D) Longitudinal incision of ovule with embryo sac (×40). Formation of eight cells embryo sac. Forming of pollen-directing (asterisk). (E): Longitudinal incision of pistil (×40). Blue star indicates empty chamber lack of ovary. (F) Longitudinal incision of ovule (×100), (G) embryo sac (×100). (H) insertion of sperms and zygote formation (×100). An: anther; fi: filament; pi: pistil; ip: immature pollen; ar: archespore cell; tu: tunicate; pl: placenta; mi: micropyle; nu: nucellus; fu: funicule; MMC: megaspore mother cells; Oo: oosphore; ch: chalaza; hyp: hypostasis; syn: synergid cells; ant: antipods; sp: sperms; np: nucleus polar; en: endothelium

بحث

تشکیل گل: رشد پرچم‌ها و گلبرگ‌ها درگیاه بادرشبو با فاصلهٔ کمی از یکدیگر اتفاق می‌افتد که در گونه‌های مختلف این تیره گزارش شده است؛ مانند چند گونه از سردهٔ مریم‌گلی (Kameli et al., 218)، گیاه ریحان (Jafari Marandi et al., 2017) و مرزنجوش وحشی (Tahmasebi et al.,

2016)، دانه‌های گردهٔ گیاه بادرشبو نیز پیش از شکوفایی گل به بلوغ می‌رسند؛ این در حالیست که در تخمک هنوز کیسهٔ رویانی تشکیل نشده است.

تکوین پرچم و دانهٔ گرده: تکوین پرچم‌ها مانند سایر اعضای تیره از الگوی رایج دولپه‌ای‌ها تبعیت می‌کند (Davis, 1962; Kai-Yu et al., 1997) که

در آن، لایهٔ میانی دیوارهٔ بساک به‌طور موقت و در یک ردیف وجود دارد و معمولاً پیش از ناپدیدشدن لایهٔ تاپی متلاشی می‌شود. در گیاه بادرشبو، لایهٔ میانی پس از شکل‌گیری تتراد و تا ایجاد گردهٔ نابالغ وجود دارد، اما پیش از تجزیهٔ لایهٔ تاپی از بین می‌رود. متلاشی‌شدن لایهٔ میانی در مراحل اولیهٔ تکوین دانه‌های گرده، علاوه‌بر گیاهان این تیره در گیاهان تیره‌های دیگر مانند تیرهٔ باقلائیان (Fabaceae) نیز گزارش شده است (*Ebenus stellata*: Tanaomi et al., 2018). در مطالعه‌ای که در زمینهٔ گیاه *Arabidopsis thaliana* انجام شده است، لایهٔ میانی تا مراحل انتهایی دانهٔ گردهٔ بالغ باقی می‌ماند و مشاهده می‌شود (Basiri et al., 2021).

لایهٔ اپیدرمی که در بیرونی‌ترین بخش بساک قرار دارد، در تنظیم آب، دفاع و جذب گرده‌افشان‌ها نقش دارد (Sheikhbahaei et al., 2014). برخلاف گیاهانی مانند انبه (Mohsenzadeh et al., 2012; Jonoubi et al., 2015) که لایهٔ اپیدرم در مرحلهٔ بلوغ متلاشی می‌شود، در گیاه بادرشبو، این لایه به همراه لایهٔ مکانیکی تا انتهای شکوفایی بساک‌ها و رسیدن دانه‌های گرده بالغ باقی می‌ماند؛ باوجوداین، لایهٔ یادشده در مراحل انتهایی و شکوفایی بساک به‌شکل بسیار چروکیده و نامنظم روی لایهٔ مکانیکی قرار دارد. باقی‌ماندن دو لایهٔ اپیدرمی و مکانیکی تا انتهای شکوفایی بساک در دیگر گیاهان این تیره مانند ریحان، آویشن، مریم‌گلی و مرزنجوش نیز گزارش شده است (Tajadod et al., 2015; Tahmasebi et al., 2016; Jafari Marandi et al., 2017; Kameli et al., 2018). رفتار لایهٔ تاپی در گیاهان مختلف متفاوت است؛ درحالی‌که این لایه در اغلب گیاهان تیرهٔ نعنائیان و تیره‌های دیگر مانند باقلائیان (*Alhaji pseudoalhai*: Hashemi & Rezanejad, 2013) تا پس از تتراد و پیش از رهاسازی آنها مشاهده می‌شود، در برخی تیره‌ها (شبدر ترشکیان، Oxalidaceae) طی مراحل تتراد و در برخی مانند تیرهٔ Cabombaceae حتی پیش‌تر از آن و در مراحل ابتدایی تقسیم‌های سلول مادر گرده از بین می‌رود (Moco & Mariath, 2004). در گیاه *Ebenus stellata* نیز لایهٔ تاپی تا زمان آزادشدن گرده‌ها از کالوز وجود دارد و در مراحل انتهایی به‌تدریج محو می‌شود (Tanaomi et al., 2018). بر اساس نتایج مطالعهٔ حاضر، لایهٔ تاپی در گیاه بادرشبو همانند سایر اعضای این تیره از نوع ترشحی و آمیبی است. در این گیاه، سلول‌های تاپی دوهسته‌ای یا بیشتر، علاوه‌بر سلول‌های تک‌هسته‌ای دیده می‌شوند. سلول‌های دوهسته‌ای لایهٔ تاپی در گونه‌های گیاهی مختلف این تیره مانند ریحان (Jafari Marandi et al., 2017) و *Nepeta cataria* (Daskalova, 2004) و برخی گونه‌های گیاهی تیرهٔ کلمیان (Brassicaceae) مانند *Brassica jordanoffri* (Yankova-Tsvetkova et al., 2016) و *Arabidopsis thaliana* (Basiri et al., 2021) نیز گزارش شده است. افزایش حجم لایهٔ تاپی با تمایز سلول‌های اسپوروژن همراه است که با تقسیم‌های خود، سلول‌های مادر گرده را ایجاد می‌کنند و شروع میوز در آنها سبب جدایی سلول‌های این لایه از یکدیگر و از لایهٔ میانی می‌شود. پس از تشکیل دانه‌های گرده نابالغ، تجزیهٔ این سلول‌ها آغاز می‌شود و در مراحل نمو و بلوغ دانهٔ گرده به‌شکل سلول‌های آمیبی مصرف

می‌شوند؛ باوجوداین در برخی موارد، آثار این سلول‌ها تا پیش از شکوفایی بساک در کنار دانه‌های گرده مشاهده می‌شود. حضور لایهٔ تاپی تا آخرین مراحل تتراد، ویژگی کمتر رایجی است که در تعداد کمی از نهاندانگان مانند تیره باقلائیان (Chehregani Rad et al., 2011; Tanaomi et al., 2016) و برخی اعضای تیرهٔ گل میمونیان (Scrophulariaceae) (Majd et al., 2014) گزارش شده است. لایهٔ تاپی در دو نوع ترشحی و آمیبی در دیگر گیاهان تیرهٔ نعنائیان مانند مرزنجوش (Tahmasebi et al., 2016) و ریحان (Jafari Marandi et al., 2017) و گیاهان برخی تیره‌های دیگر مانند *Arabidopsis thaliana* از تیرهٔ کلمیان (Basiri et al., 2021) نیز مشاهده شده است که با نتایج مطالعهٔ حاضر مطابقت دارد؛ این در حالیست که لایهٔ تاپی در برخی گونه‌های گیاهی تیرهٔ باقلائیان مانند *Onobrychis* sp. (Chehregani Rad et al., 2011; Tanaomi et al., 2016) و گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) (Majd et al., 2014) از تیرهٔ گل میمونیان، ترشحی است. تغذیهٔ میکروسپورها و ترشح آنزیم کالاز به‌منظور حل‌کردن دیوارهٔ کالوزی تتراد ازجمله نقش‌های لایهٔ تاپی به شمار می‌آیند؛ همچنین این لایه به شکل‌گیری پیش‌ساخت‌های اگزین کمک می‌کند (Batygina, 2002). لایهٔ مکانیکی که نقش مهمی تا آخرین مراحل شکوفایی بساک دارد، هم‌گام با تشکیل و بلوغ دانه‌های گرده، فرایند چوبی‌شدن را آغاز می‌کند. تتراد در گونهٔ مطالعه‌شده از نوع تتراهیدرال است و نوع تتراهگزال در برش‌های مطالعه‌شده مشاهده نشد. نوع تتراهیدرال در بیشتر گونه‌های گیاهی این تیره رایج است و با گزارش Jafari Marandi et al. (2017) مطابقت دارد و در تیره‌های دیگر مانند تیرهٔ کلمیان (Yankova-Tsvetkova et al., 2016; Basiri et al., 2021) و تیرهٔ آلاله‌ایان (Ranunculaceae) (Yang et al., 2020) نیز گزارش شده است. در گونهٔ *Fritillaria stribrnyl* از تیرهٔ سوسنیان (Liliaceae)، تتراد نوع ایزوبایلترال مشاهده شده است (Kartal, 2015). واکوئله‌شدن دانهٔ گرده، رانده‌شدن هسته به یک سمت و تقسیم میوز در آن سبب تشکیل یک هستهٔ رویشی بزرگ و یک هستهٔ زایشی کوچک می‌شود. هستهٔ زایشی طی مرحله‌ای به دو هستهٔ آنتروزوئید تقسیم می‌شود و لولهٔ گرده آن را به‌سمت تخمک حمل می‌کند (Batygina, 2002). دانهٔ گردهٔ گیاه بادرشبو همانند سایر اعضای زیرتیرهٔ نپتوئیده، شش‌شیاره است. بر اساس Erdman (1945)، اعضای این زیرتیره دانهٔ گرده شش‌شیاره و به‌ندرت هشت تا دوازده شیاره دارند. اگزین در این گونه همانند مریم‌گلی و مرزنجوش (Ozler et al., 2011; Tahmasebi et al., 2016) از نوع مشبک است و شیارها تقارن شعاعی دارند.

تکوین تخمک و کیسهٔ رویانی: تخمدان گیاه بادرشبو از نوع فوقانی، دوبرچه‌ای، چهارحجره‌ای و تخمک با تمکن محوری است که از ویژگی‌های رایج گیاهان این تیره به شمار می‌آید و در مطالعه‌های پیشین نیز تأیید شده است (Fortunato & Ruta, 1996; Toma et al., 2003; Tahmasebi et al., 2016; Jafari Marandi et al., 2017; Kameli et al., 2018). در گیاه بادرشبو، تخمک از نوع واژگون، تک‌پوششی یا دیواره‌نازک است که در بسیاری از اعضای این تیره رایج است (Kamellina & Dzevaltovsky,

(1996، اما تخمک‌های واژگون دوپوششی تیز در گونه‌هایی از این تیره مانند مرزنجوش و مریم‌گلی گزارش شده‌اند (Fortunato & Ruta, 1996; Toma et al., 2003; Tahmasebi et al., 2016). علاوه‌بر تیرهٔ نعنائیان، تخمک‌های واژگون تک‌پوششی در تیره‌های دیگر ازجمله تیرهٔ آلاله‌ایان (*Rannunculus arvensis* L.: Mohsenzadeh et al., 2012) و تیره پسته‌ایان (Anacardiaceae) (*Mangifera indic*a L.: Jonoubi et al., 2015) نیز یافت می‌شوند. در گیاه بادرشبو، دو سلول آرکئوسپوری با فاصلهٔ یک لایه زیر سلول‌های اپیدرمی تشکیل می‌شوند که از این نظر مشابه گیاه ریحان (Jafari Marandi et al., 2017) است؛ با تمایز سلول‌های آرکئوسپوری به سلول مادر مگاسپور و تقسیم میوز، چهار سلول ایجاد می‌شوند که تنها یکی از آنها به‌عنوان مگاسپور عملکردی باقی می‌ماند و سبب تشکیل کیسهٔ رویانی می‌شود. تتراد در گیاه بادرشبو از نوع تتراهیدرال است. بسیاری از اعضای تیرهٔ نعنائیان آرایش خطی یا T–شکل دارند (Daskalova, 2004; Tahmasebi et al., 2016; Jafari Marandi et al., 2017). در برخی گیاهان تک‌لپه‌ای مانند ارکیده‌ها، انجام سیتوکینز پس از میوز I در دیاد سُفتی سبب می‌شود میوز II تنها در دیاد بُنی انجام شود و درنتیجه به‌جای تتراد، مگاسپورها با آرایش تریاد قرار می‌گیرند (Kolomeitseva et al., 2021). در برخی گونه‌های گیاهی، سلول عملکردی باقیمانده در موقعیت بُنی و در برخی دیگر، در موقعیت سُفتی تخمک قرار دارد. در بادرشبو، مگاسپور سُفتی باقی می‌ماند و به مگاسپور عملکردی و سپس سلول مادر کیسهٔ رویانی تبدیل می‌شود که مطابق با مطالعه‌های Jafari Marandi et al. (2017) و Kai-Yu et al. (1997) روی برخی گونه‌های گیاهی این تیره و تیره‌های دیگر مانند تیرهٔ کلمیان (Chehregani Rad et al., 2009) است. سلول عملکردی با منشأ بُنی در گیاهان بسیاری مانند تبار Hedysareae از تیرهٔ باقلائیان (Chehregani Rad et al., 2011; Salinas-Gamboa et al., 2016)، ارکیده (Kolomeitseva et al., 2021)، آلاله‌ایان (Yang et al., 2020) و عنابیان (Shao et al., 2019) مشاهده شده است. کیسهٔ رویانی گیاه بادرشبو همانند سایر اعضای تیره و بسیاری از گیاهان گل‌دار از نوع پلی‌گونوم یا هفت‌بند است که نوع اجدادی و صفتی ابتدایی به شمار می‌آید (Davis, 1966). سلول‌های آنتی‌پودال (پابنی‌ها) در مراحل اولیهٔ تشکیل، ارتباط‌های سیتوپلاسمی با هسته‌های قطبی نشان می‌دهند. در بادرشبو نیز همانند ریحان (Chehregani rad et al., 2009)، ساختارهای هیپوستاز (مرحلهٔ کیسهٔ رویانی ۲ تا ۴ هسته‌ای) و پوستامنت (به‌شکل ستونی از سلول‌های طویل) در قطب بُنی مشاهده می‌شوند و نقش حفاظتی و تغذیه‌ای دارند و عامل ارتباط آوندی کیسهٔ رویانی با سیستم آوندی تخمک هستند (Rao, 1963; Sun et al., 2004). در گیاهی مانند ریحان، ساختار هیپوستاز به‌عنوان ویژگی این گونه یاد شده است (Jafari Marandi et al., 2017). در تخمک‌های با دیوارهٔ نازک مانند اعضای تیرهٔ نعنائیان، هیپوستاز بلافاصله زیر کیسهٔ رویانی قرار دارد و اعتقاد بر این است که بین طول این بافت و الگوی تشکیل هسته، پوسته و کیسهٔ رویانی ارتباط وجود دارد. در تخمک، معمولاً پس از مرحلهٔ کیسهٔ رویانی ۲ تا ۴ هسته‌ای، سلول هیپوستازی در ناحیهٔ بُن ایجاد

می‌شود (Shamrov, 2002; Basiri et al., 2021). مشابه با برخی گونه‌های دیگر (Basiri et al., 2021)، سلول‌های آنتی‌پودال در همان مراحل ابتدایی پیش از لقاح از بین می‌روند؛ این سلول‌ها در لقاح و جنین‌زایی نقشی ندارند، اما در تغذیهٔ کیسهٔ رویانی مفید هستند (Diboll, 1968). در گیاه بادرشبو نیز همانند ریحان (Jafari Marandi et al., 2017)، بافت هدایت‌کنندهٔ لولهٔ گرده دیده می‌شود؛ این بافت پریفرال از سلول‌های آرکئوسپوری اولیه نمو می‌یابد و در ناحیهٔ سفتی متمایز می‌شود. تعداد این لایه‌ها از ۱ تا ۲۰ لایه متغیر است و بین سُفت و تخم‌زا، رشته‌ای از سلول‌ها به‌شکل کشیده‌شده وجود دارد (Jafari Marandi et al., 2017).

جمع‌بندی

دانه‌های گردهٔ گیاه بادرشبو پیش از شکوفایی گل به بلوغ می‌رسند. لایهٔ میانی که تا ایجاد گردهٔ نابالغ وجود دارد، پیش از تجزیهٔ لایهٔ تاپی از بین می‌رود. هنگام شکوفایی بساک، لایهٔ اپیدرمی و لایهٔ مکانیکی باقی می‌مانند. لایهٔ تاپی از نوع ترشحی و آمیبی و به‌شکل تک‌هسته‌ای، دوهسته‌ای یا بیشتر وجود دارد. تتراد در این گیاه از نوع تتراهیدرال است. دانهٔ‌گرده شش‌شیاره و اگزین از نوع مشبک است. تخمک از نوع واژگون، تک‌پوششی یا دیوارهٔ نازک است. تتراد از نوع تتراهیدرال است. مگاسپور سُفتی به مگاسپور عملکردی و درنهایت، کیسهٔ رویانی نوع پلی‌گونوم تبدیل می‌شود. ساختارهای هیپوستاز و پوستامنت و همچنین بافت هدایت‌کنندهٔ لولهٔ گرده در این گیاه دیده می‌شود.

References

Basiri, E., Jafari Marandi, S., Arbabian, S., Majd, A., & Malboobi, M. A. (2021). Development of male and female gametophytes and embryogenesis in the *Arabidopsis thaliana*. *Biologia 76*(3), 853-863. https://doi.org/10.1007/s11756-021-00682-4.

Batygina, T. B. (2002). *Plates in embryology of flowering plants: Terminology and Concepts*. CRC Press.

Botanica, A. B. (2009). Micromorphological studies of *Lallemantia* L. (Lamiaceae) species growing in Turkey. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, *51*(1), 45-54.

Chehregani Rad, A., Mohsenzadeh, F., & Tanaomi, N. (2011). Comparative study of gametophyte development in some species of the genus *Onobrychis*: Systematic significance of gametophyte futures. *Biologia*, *66*(2), 229-237. https://doi.org/10.2478/s11756-011-0007-4.

Chehregani Rad, A., & Sedaghat, M. A. (2009). Pollen grain and ovule development in *Lepidium vesicarium* (Brassicaceae). *International Journal of Agriculture and Biology, 11*(5), 1560-8530.

Daskalova, T. (2004). Histological structure of the microsporangia, microsporogenesis and development of the male gametophyte in *Nepeta cataria* (Lamiaceae). *Phytologia Balcanica*, *10*(2-3), 241-246.

Dastmalchi, K., Dorman, H. D., Laakso, I., & Hiltunen, R. (2007). Chemical composition and antioxidative activity of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts. *LWT-Food Science and Technology, 40*(9), 1655-1663.

Davis, G. (1966). *Systematic embryology of the angiosperms*. Hoboken: Willey.

Davis, G. L. (1962). Embryological studies in the compositae, I. sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Cotula australis* (less.) hook. F. *Australian Journal of Botany*, *10*(1), 1-2.

Diboll, A. G. (1968). Fine structural development of the megagametophyte of *Zea mays* following fertilization. *American Journal of Botany, 55*(7), 787-806.

Dmitruk, M., Sulborska, A., Żuraw, B., Stawiarz, E., & Weryszko-Chmielewska. E. (2019). Sites of secretion of bioactive compounds in leaves of *Dracocephalum moldavica* L.: anatomical, histochemical, and essential oil study. *Brazilian Journal of Botany*, *42*(4), 701-715. https://doi.org/10.1007/s40415-019-00559-6.

Dmitruk, M., Weryszko-Chmielewska, E., & Sulborska, A. (2018). Flowering and nectar secretion in two forms of the Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.)-a plant with extraordinary apicultural potential. *Journal of Apicultural Science*, *62*(1), 97-110. https://doi.org/10.2478/jas-2018-0010.

Erdman, G. (1945). Pollen morphology and plant taxonomy IV. Labiatae, Verbenaceae and Aviceniaceae. *Svensk. Bot. Tidskr, 39*, 276-285.

Fortunato, I. M., & Ruta, C. (1996). Flower biology in *Origanum majorana* L. *Proceeding of the IPGRI international workshop on Oregano*. 8-12 May 1996. Ciheam, Valenzano, Bari, Italy.

Hashemi, Z., & Rezanejad, F. (2013). Morphologcal and developmental study of *Alhaji pseudoalhaji* (M. B.) Desv. flower and anatomical features. *Iranian Journal of Plant Biology*, *5*(15), 31-44.

Jafari Marandi, S., Arbabian, S., & Musavi, M. (2017). Structure and development of male and female gametophyte in *Ocimum basilicum* L. *Caryologia*, *70*(2), 102-111. https://doi.org/10.1080/00087114.2017.1286125.

Jamzad, Z. (2012). Lamiaceae, In: Assadi, M., Massoumi, A., and Mozaffarian V. (Eds). *Flora of Iran*. Vol. 76. Tehran: Research Institute of Forests and Rangelands [In Persian].

Jonoubi, P., Majd, A., Mehrabian, S., & Rashidi, F. (2015). Investigating the structure of vegetative organs and development if generative organs in *Mangifera indica* L. *Journal of Cell and Tissue (JCT), 5*(4), 417-427.

Kai-yu, P., Jie, W., & Shi-liang, Z. (1997). Embryological study on *Mosla chinensis* (Lamiaceae). *Journal of Integrative Plant Biology, 39*(2).

Kamellina, O., & Dzevaltovsky, A. (1996). Lamiaceae. In: Batygina, M., and Yakovlev, T. B. (Eds). *Comparative Embryology of Flowering Plants*. Pp. 225-36.

Kameli, M., Majd, A., Hesamzadeh Hejazi, S. M., & Nejadsattari, T. (2018). Study on pollen grain and ovule developmental properties in *Salvia verticulata* L. collected from different regions of Iran. *Journal of Developmental Biology, 10*(2), 43-56 [in Persian].

Kartal, C. (2015). Microsporogenesis, microgametogenesis and in vitro pollen germination in the endangered species *Fritillaria stribrnyi* (Liliaceae). *Caryologia, 68*(1), 36-43.

Kolomeitseva, G. L, Babosha, A. V., Ryabchenko, A. S., & Tsavkelova, E. A. (2021). Megasporogenesis, megagametogenesis, and embryogenesis in *Dendrobium nobile* (Orchidaceae). *Protoplasma*, *8*(2), 301-317. https://doi.org/10.1007/s00709-020-01573-2.

Liapunova, P. N., Salo, N. D., & Sergienko, T. A. (1975). Anatomical study of the Moldavian dragon's head herb

(*Dracocephalum moldavica* L). *Farmatsiia, 24*(5), 15-20.

Majd, A., Rangin, A., Tajadod, G., Mehrabian S., & Mizai, M. (2014). The study of reproductive organs development in *Scrophularia striata* Bioss. *Journal of Cell and Tissue (JCT)*, *5*(3), 233-243 [in Persian].

Mohsenzadeh, F., Chehregani Rad, A., & Ekhtari, S. (2012). Study on developmental stage of gynoecium and megagametophyte in *Ranunculus arvensis* L. *Journal of Cell and Tissue (JCT)*, *3*(3), 201-210 [in Persian].

Moço, M. C., & Mariath, J. E. (2004). Female gametophyte development in *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. (Leguminosae-Papilionoideae). *Brazilian Journal of Botany*, *27*, 241-248.

Mozaffarian, V. (2013). *Identification of medicinal and aromatic plants of Iran*. Tehran: Farhang Moaser Publication [in Persian].

Özler, H., Pehlivan, S., Kahraman, A., Doğan, M., Celep, F., Başer, B., ... & Bagherpour, S. (2011). Pollen morphology of the genus Salvia L.(Lamiaceae) in Turkey. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, *206*(4), 316-327.

Rao, C. V. (1963). Studies in the Proteaceae. Tribe Oriteae. *Proceedings of the National Institute of Sciences of India, Calcutta*, *29*, 489-510.

Rechinger, K. H. (1982). Dracocephalum. In: Rexhinger, Kh. (ed.) *Flora Iranica*. Vol. 50. Akademische Druck-u Verlafsanstalt, Graz, pp. 218-230.

Salinas-Gamboa, R., Johnson, S. D, Sánchez-León, N., Koltunow, A. M, & Vielle-Calzada, J. P. (2016). New observations on gametogenic development and reproductive experimental tools to support seed yield improvement in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Plant Reproduction, 29*, 165-177.

Shamrov, I. I. (2002). Ovule and seed morphogenesis in *Capsella bursapastoris* (Brassicaceae) in connection with peculiar mode of endothelium formation. *Botanicheskij Zhurnal (St. Petersburg)*, *87*(2), 1-18.

Shao, F., Wang, S., Chen, J., & Hong, R. (2019). Megasporogenesis, microsporogenesis, and development of female and male gametophytes of *Ziziphus jujuba* Mill. 'Zhongqiusucui'. *HortScience, 54*(10), 1686-1693.

Sun, K., Kimberly, H., & Bernard, A. H. (2004). Ovule abortion in Arabidopsis triggered by stress. *Journal of Plant Physiology, 135*(4), 2358-2367.

Sheikhbahaei, N., Rezanejad, F., & Mirtadzadini, M. (2014). The morphological and anatomical studies of inflorescence and male flower in *Pycnocycla nodiflora* Decne. ex Boiss. (Apiaceae). *Iranian Journal of Plant Biology*, *6*(19), 73-96.

Tahmasebi, S., Majd, A., Mehrafarin, A., & Jonoubi, P. (2016). Comparative study on the developmental stages of reproductive organs (ovule and pollen grains) of *Origanum vulgare* L. *Quarterly Journal of Developmental Biology*, *8*(2), 41-56.

Tajadod, G., Majd, A., & Ranjbar, R. (2015). Study on development of stamen and comparison of pollen proteins *Thymus transcaucasicus* in two regions of Abali and Roodbar. *Journal of Cell and Tissue (JCT)*, *5*(4), 369-378.

Tanaomi, N., Jonoubi, P., Chehregani Rad, A., Majd, A., & Ranjbar, M. (2016). Embryology of *Onobrychis persica* Sirj. and Rech. f.(Fabaceae) and its systematic implications. *Caryologia*, *69*(3), 256-266. https://doi.org/10.1080/00087114.2016.1179460.

Tanaomi, N., Jonoubi, P., Chehregani Rad, A., Majd, A., & Ranjbar, M. (2018). The study of structural and developmental characters of pollen grain, ovule and seed in *Ebenus stellata* Boiss. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, *31*(2), 278-291.

Toma, I., Toma, C., & Zamfirache, M. M. (2003). *Flora; morphogenesis of Salvia officinalis L. (Lamiaceae)*. Lucrari Stiintifice.

Yang, Y., Sun, J., Guo, X., Wang, K., Liu, Q., & Liu, Q. (2020). Anther and ovule development of *Clematis serratifolia* (Ranunculaceae)–with new formation types in megaspore and nucellus. *PlosOne, 15*(10), e0240432. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240432.

Yankova-Tsvetkova, E., Yurukova-Grancharova, P., & Vladimirov, V. (2016). On the embryology of *Brassica jordanoffii* (Brassicaceae)–an endemic species in the Bulgarian flora. *Phytologia Balcanica*, *22*(2), 149-153.

Yeung, E. C. (1984). Histological and histochemical staining procedures. In: Vasil, I. K. (Ed). *Cell culture and somatic cell genetics of plants*. Orlando, Florida: Academics Press.