



میکروسپوروزنز در *Calendula officinalis* L.

زهرا بقایی فر^۱، فاطمه غدیرپور^{۱*}

^{۱*} گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، همدان

Ghfatemeh12@yahoo.com

چکیده

Calendula officinalis L. یک گیاه چند ساله می باشد که دارای گل‌های دو جنسی و ماده است. این گل ها به عنوان گیاه زینتی کاربرد دارند اما بیشترین استفاده آنها ، استفاده های دارویی و پزشکی می باشد. گل آذین کلاپرک و شامل گلچه های زایا و نازا می باشد. در گلچه های نازا ، گل های زبانه ای وجود دارند که در آنها سیستم تولید مثلی تحلیل رفته است. در گلچه های زایا ، گلچه های دوجنسی و گلچه های ماده دیده می شوند. در گلچه های دو جنسی، دیواره بساک جوان از اپی درم، اندوتسیوم، لایه میانی و تاپی تشکیل شده است، در این گل لایه میانی تنها در مراحل اولیه دیده می شود. تاپی اکثرا تیپ ترشخی دارد. گلچه های دو جنسی اغلب تخمک فاقد عملکرد داشته و عملا نر هستند. ضمن فرآیند میوز میکروسپوروسیت ها در گلچه های دوجنسی، سیتوکینز همزمان اتفاق می افتد و تترادهای تتراهدراال ایجاد می شوند.

کلمات کلیدی: تیره آفتابگردان، دانه گرده، میکروسپوروزایی، *Calendula officinalis* L.

مقدمه

Calendula officinalis L. گیاهی علفی چند ساله است که از نظر سیستماتیکی متعلق به قبیله Calenduleae. خانواده Asteraceae است. تیره مرکبان یا کاسنی یکی از تیره های بزرگ گیاهان دو لپه ای و پیشرفته ترین تیره این گروه به شمار می آید (۱۷). بسیاری از گیاهان این تیره از جمله (*Calendula officinalis* L.) تا مدتها به عنوان گیاهی زینتی کشت می شدند، تا اینکه خواص دارویی آن شناخته شد و به عنوان گیاه دارویی مورد استفاده قرار گرفت (۵). اثرات دارویی عصاره این گیاه شامل اثر ضد التهابی در درمان خشکی و التهاب پوست ، درمان سلولیت، دیابت، کاهش کلسترول و خواص آنتی‌باکتریال می‌باشد (۶). *Calendula officinalis* L. بومی نواحی مرکزی، شرقی و جنوبی اروپاست، امروزه *Calendula officinalis* L. در ایران رشد وسیعی دارد و انواع خودروی آن در مزارع متروکه، چمنزارها، کنار جاده‌ها و گودال‌ها می روید. اهمیت اقتصادی این گیاه بیش از همه به دلیل روغنی است که در دانه‌های آن وجود دارند که ۶۰٪ آن کاندولیک اسید است (۱۱)

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه تکوین بساک در *Calendula officinalis* L. ، غنچه‌ها در مراحل مختلف نموی از پارک‌ها و فضای سبز شهر همدان جمع آوری و بلافاصله در محلول تثبیت کننده FAA برای مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت تثبیت و سپس در الکل ۷۰٪ نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از آماده‌سازی، در پارافین قالب گیری شدند و در نهایت، با میکروتوم مدل DS 4055 به ضخامت ۵ الی ۷ میکرومتر برش گیری گردیدند. رنگ آمیزی برش‌های بافتی تهیه شده، با رنگ هماتوکسیلین و ائوزین الکلی انجام شد. هر یک از مراحل تکوین بساک در چندین برش بوسیله میکروسکوپ نوری Labomed FX5500 مجهز به دوربین دیجیتال بررسی شد. برای هر مرحله حداقل ۵۰ الی ۷۰ غنچه برش گیری و سپس از بهترین آنها عکس برداری شد.

نتایج

Calendula officinalis L. گیاهی علفی و چندساله است که به عنوان گیاه ماده تک پایه (Gynomonoecious) شناخته شده و بوسیله حشرات بویژه زنبورها گرده افشانی می کند. این گل همانند سایر گیاهان تیره Asteraceae ، دارای گل آذین کپه

است (تصویر ۱). کلاپرک شامل گلچه‌های لوله‌ای دوجنسی و گلچه‌های زبانه‌ای ماده است. بخش زیادی گل آذین گلچه‌های ماده هستند و گلچه‌های دوجنسی در واقع عملاً نر هستند و حفره تخمدان خالی و فاقد تخمک می باشد (تصاویر ۱۳-۱۶). در گلچه‌های شعاعی، جام گل تحلیل رفته است و تنها شامل یک گلبرگ می باشد. در حالیکه در گلچه ای دیسکی شامل ۷-۴ گلبرگ می باشد که به ترتیب ۷-۴ پرچم دارند (تصاویر ۱۲، ۱۷، ۱۸ و ۱۹). تمام قسمت‌های هوایی این گیاه شامل برگ‌ها، کاسبرگ‌ها، ساقه و حتی قاعده گلچه‌های لوله ای و زبانه‌ای با کرک‌های بسیار نرم و ظریفی پوشیده شده است (تصاویر ۲ تا ۶). روند تکوینی این گیاه در تصاویر ۷ تا ۱۰ به نمایش درآمده است. دانه‌های گرده در این گل پیش از باز شدن غنچه‌ها کامل شده اند و قابل مشاهده می‌باشد (تصاویر ۶ و ۱۱). در تصویر ۱۱ دو گلچه لوله‌ای دیده می شود که یکی به صورت مکانیکی و با دست باز شده است و دانه‌های گرده در آن قابل مشاهده اند، تعداد این دانه‌های گرده بسیار زیاد است و می‌توان این دانه‌های گرده را روی کلاله مشاهده کرد (تصویر سمت چپ). در تصویر سمت راست گلچه به صورت طبیعی باز شده است. تصور می شود لقاح در *Calendula officinalis* L. از نوع خودلقاحی باشد، اما با توجه به تعداد دانه‌های گرده زیادی که تولید می کند، بعد از شکفتن گلچه‌های لوله‌ای مابقی دانه‌های گرده توسط باد و حشرات پراکنده می شود. در تصویر ۱۲ گلچه‌های لوله ای در حال شکوفایی هستند.

بساک‌ها دارای چهار کیسه گرده (تتراسپورانژی) می باشند (تصاویر ۱۹ و ۲۰). سلول‌های آرکنوسپوری با تقسیمات متوالی پری کلین از یک طرف سلول‌های دیواره ای ابتدایی خارجی و از طرف دیگر سلول‌های اسپوروژن ابتدایی داخلی را به وجود می آورند (تصاویر ۱۸ و ۲۰). دیواره بساک از یک لایه سلولی کناری مشتق شده و شامل چهار لایه می باشد که از خارج شامل: اپیدرم، لایه مکانیکی (اندوتسیوم)، لایه میانی و لایه تاپی است (تصاویر ۱۸-۲۱). اپیدرم از یک لایه تک سلولی مکعبی شکل تشکیل شده است. سلول‌های لایه مغذی معمولاً به علت فعالیت‌های متابولیسمی خاصی که دارند چند تقسیم میتوزی انجام داده و به درجه بالایی از پلی پلوئیدی می رسند و دارای دو یا چند هسته می باشند و در مقایسه با سلول‌های لایه‌های دیگر از خاصیت رنگ پذیری بیشتری برخوردار هستند (تصویرهای ۲۰-۲۶) این سلول‌ها به سمت حفره داخل بساک ترشح می کنند، کار اصلی سلول‌های لایه مغذی یا تاپی رساندن مواد غذایی به میکروسپوره‌های در حال نمو است. سلول‌های لایه مغذی در کلیه مراحل نمو بساک و دانه‌های گرده در جای خود ثابت مانده و به تدریج تحلیل می روند، یعنی لایه تاپی از نوع ترشچی است و با گذشت زمان مواد غذایی خود را صرف رشد دانه‌های گرده می کنند و تحلیل می روند این حالت از شروع پروفاز II دیده می شود. زمانیکه دانه‌های گرده کاملاً رسیده اند اثری از لایه تاپی و سایر لایه‌های بساک جز اندوتسیوم و اپیدرم دیده نمی‌شود (تصویر ۲۷).

سلول‌های بافت هاگزای (اسپوروژن) مشتق شده از تمایز سلول‌های آرکنوسپور مستقیماً به عنوان میکروسپوروسیت (سلول‌های مادر گرده) عمل می‌کند (تصاویر ۱۹، ۲۰ و ۲۲). میوز در هر میکروسپوروسیت از طریق گذراندن پروفاز I (تصویر ۲۲)، متافاز I (تصویر ۲۳)، آنافاز I (تصویر ۲۴) و تلوفاز I (تصویر ۲۵) طی شده و دیادها تشکیل می‌شوند. در این مرحله سلول‌ها از هم جدا نمی‌شوند و مستقیماً وارد میوز II شده و پس از انجام میوز II تترادهای میکروسپوری تشکیل می‌گردند (تصویر ۲۶). بین هسته‌های تلوفاز I دیواره بوجود نمی‌آید. سیتوکینز هم از نوع همزمان است و پس از میوز II رخ می‌دهد. تترادها از نوع تتراهدرا (استقرار میکروسپورها در یک سطح نیست و آرایش تترادها حالت هرمی شکل دارد)، می‌باشد (تصویر ۲۶). دیواره کالوزی در بین تترادها و لایه مونادها به خوبی قابل تشخیص است. این دیواره تا زمان تشکیل تتراد قابل مشاهده نیست (تصاویر ۲۶ و ۲۵). میکروسپورها در دو اسپورانژ مجاور همدیگر از نظر نموی همزمان نیستند، مثلاً ممکن است یکی نسبت به دیگری دو تا چهار مرحله عقب‌تر باشد. اما آنهایی که در یک اسپورانژ هستند از نظر نموی هماهنگ هستند یا خیلی به هم نزدیکند. اطراف هر میکروسپور را دیواره اگزینی فرا گرفته که ساختار آن در ابتدا پلی ساکاریدی است، دانه‌های گرده بالغ کاملاً کروی بوده تریئینات سطحی اگزین از نوع خاردار می باشد (تصویر ۲۸ و ۲۹) سه منفذ رویشی بر روی دیواره دانه گرده قابل تشخیص می باشند که کارایی آنها به منظور خروج لوله گرده طی فرآیند لقاح می باشد (تصویر ۲۹).

بحث



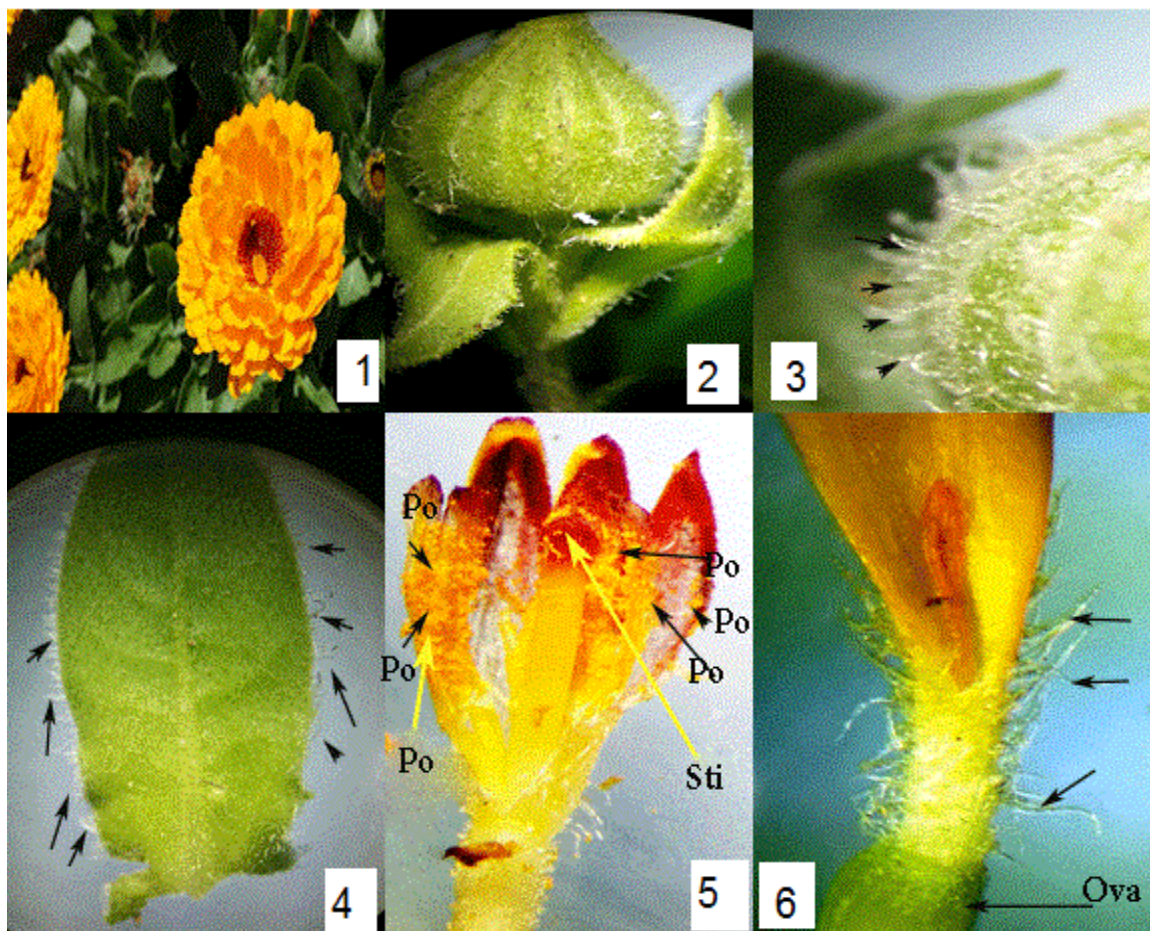
در *Calendula officinalis* L. همانطور که در گیاهان خانواده مرکبان شایع است، گل آذین کپه ای شامل گلچه های لوله ای و زبانه ای است. طی نمو بساک که در گلچه های لوله ای که زایا هستند صورت می گیرد (۴)، دیواره بساک به صورت لایه لایه تشکیل می شود که البته در مراحل اولیه چندان قابل تشخیص نیستند و به تدریج مجزا می گردند و این تمایز بر اساس تیپ دو لپه ایها صورت می گیرد (۲).

سلولهای میکروسپوروسیت (مادر دانه گرده) متمایز می شوند، متحمل تقسیم شده به تدریج در بخش پیرامونی بساک لایه تاپی پرستار که به عنوان تغذیه کننده میکروسپورها عمل خواهد، کرد تمایز می یابد. در اغلب گونه های گیاهی در این تیره مشاهده می شود که ضمن پیشروی مراحل تکوین میکروسپورها، تاپی ترشعی به تاپی آمیبی تغییر شکل می یابد (۱۰). بدین ترتیب که دیواره های این سلولها به تدریج تحلیل رفته تجزیه می گردد و مواد مغذی درون آنها به درون حفره بساک که میکروسپورها در آن در حال تکوین هستند آزاد می شود. از این نظر یافته ها در *Calendula officinalis* L. مغایر گزارشات سایر محققین است (۵، ۷، ۸، ۹) و با یافته های برخی دیگر که تنها تاپی ترشعی یا آمیبی را در اعضای دیگری از این تیره گزارش کرده اند مطابقت دارد (۱). در این مرحله است که به تدریج تشکیل لایه های دیواره ای دانه های گرده محسوس می گردد. این پوشش گرده ای اغلب شامل تزئینات خاردار ویژه اعضای خانواده مرکبان می باشد (۳) و در گیاه مورد مطالعه نیز به طور محسوس مشاهده شد.

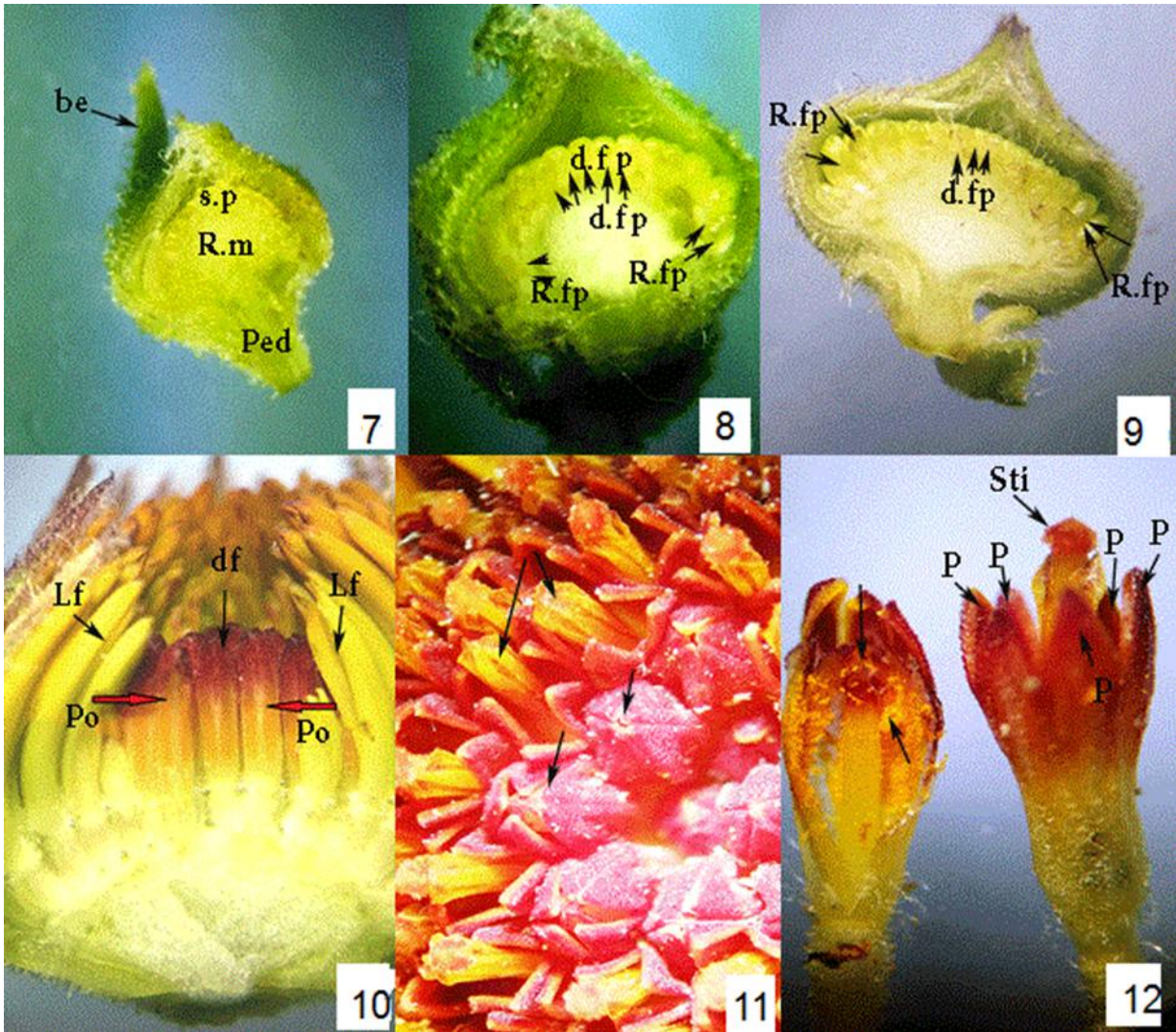
مسئله جالب در مورد سلولهای لایه تاپی در *Calendula officinalis* L.، رنگ پذیری بالای این سلولها بویژه هسته های درشت آنهاست که به دلیل درجه بالای پلوئیدی و فعالیت متابولیسمی بالای این سلولها می باشد (۶). در نمونه مورد مطالعه ما بساک چهار لایه ای است و لایه میانی نمو پیدا می کند، البته بسیار سریع و در مرحله پروفاز میوز تحلیل می رود، این نتایج با گزارش های قبلی همسو می باشد (۲).

یکی دیگر از لایه های بساک، لایه مکانیکی است که از نظر شکل ظاهری سلول های آن با داشتن فیبرهای تزئینی که ظاهر اشکل به این سلولها میدهند، مشخص می باشند (۱۶). میوز در میکروسپوروسیت ها به تشکیل تترادها می انجامد، تترادها در *Calendula officinalis* L. از تیپ تتراهدال هستند.

از این نظر مطابق برخی گیاهان این تیره که تاپی را از یک نوع گزارش کرده اند (۱۱). مسئله قابل توجه بعدی تقسیم سیتوکینز صورت گرفته در تترادهایی است که از تقسیم میوز در میکروسپوروسیتها حاصل شده اند، این سیتوکینز از نوع همزمان می باشد. تکوین میکروسپورها در کیسه های گرده مجاور یکدیگر همزمان است البته در مواردی هم در دو کیسه گرده مجاور مراحل مختلف نموی مشاهده گردید. زمانیکه این میکروسپورهای جوان از حالت تترادی خارج می شوند همچنان لایه کالوزی آنها را دربر گرفته و هسته درشت و سیتوپلاسم متراکم آنها جالب توجه می باشد. پس از گذراندن مراحل نموی این میکروسپورها با پوشش اگزین و انتین حاصل از لایه مغذی پوشیده شده بالغ می گردند و به دانه گرده تبدیل می شوند. آراستار سطحی دانه گرده شامل اگزین خاردار است که از مشخصات بارز اغلب گیاهان این تیره می باشد (۱۱).



تصاویر ۱-۶: گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) مشاهده شده توسط استریومیکروسکوپ:
 (۱) گل آذین کیه در گل همیشه بهار (۲) غنچه گل همیشه بهار، تمام بخش های غنچه گل با کرک پوشیده شده است. (۳) غنچه گل با بزرگنمایی بیشتر ، کرک ها کاملا مشخص هستند. (۴) برگ گل همیشه بهار پوشانده شده با کرکهای ظریف و مشخص (۵) کرک ها در قاعده گلچه زبانه ای (۶) کرک ها در قاعده گلچه لوله ای. Po: دانه گرده؛ Sti: کلاله کاذب؛ C: کرک؛ Ova: محل قرارگیری تخمدان که از نوع تحتانی است
 Po : دانه گرده . Sti: کلاله کاذب . Ova : تخمدان

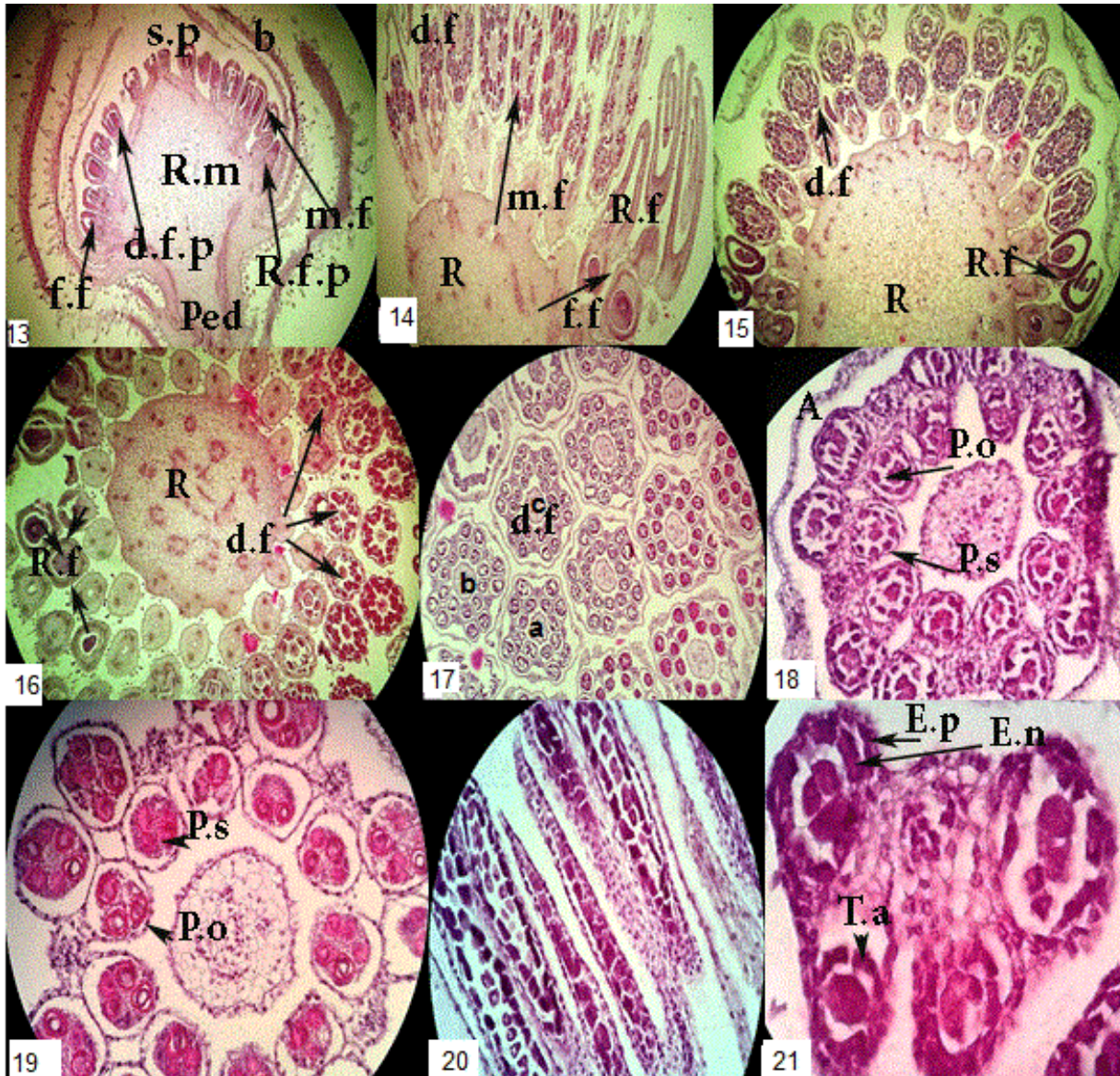


تصاویر ۷-۱۲: روند نموی غنچه های گل همیشه بهار (بزرگنمایی $\times 20$)

۷-۹) روند نموی گلچه های لوله ای (Lf) و زبانه ای (Lf) در غنچه گل. ۱۰) غنچه در حال باز شدن و گلچه های نمو یافته کاملاً مشخص هستند، دانه های گرده در گلچه های لوله ای تشکیل شده و با فلش مشخص شده اند (گلچه های نر). ۱۱) گلچه های لوله ای، بعضی از گلچه ها باز هستند و برخی بسته می باشند. ۱۲) گلچه های لوله ای که به صورت مصنوعی باز شده اند، دانه های گرده روی کلاله آن قابل مشاهده است (گلچه سمت چپ)، اما این گلچه عملاً نر است و خامه و کلاله کاذب می باشد. گلچه لوله ای که به صورت طبیعی باز شده است (سمت راست). جام گل در گلچه لوله ای از ۵-۶ گلبرگ بهم پیوسته تشکیل شده است

Se = دمگل، Ped = حلقه بنیادی، Ir = حلقه بنیادی، f.p. = پریموردیوم برگی، R.m. = مرستم هاگزا، Sp = مرستم هاگزا، f.d. = گلچه لوله ای، f.R. = گلچه زبانه ای، f.P. = پریموردیوم برگی، Ir = حلقه بنیادی، Ped = دمگل، Se = کاسبرگ، Pe = گلبرگ، R.m. = مرستم نهنجی، f.p. = پریموردیوم گلچه لوله ای، f.p.R. = پریموردیوم گلچه زبانه ای

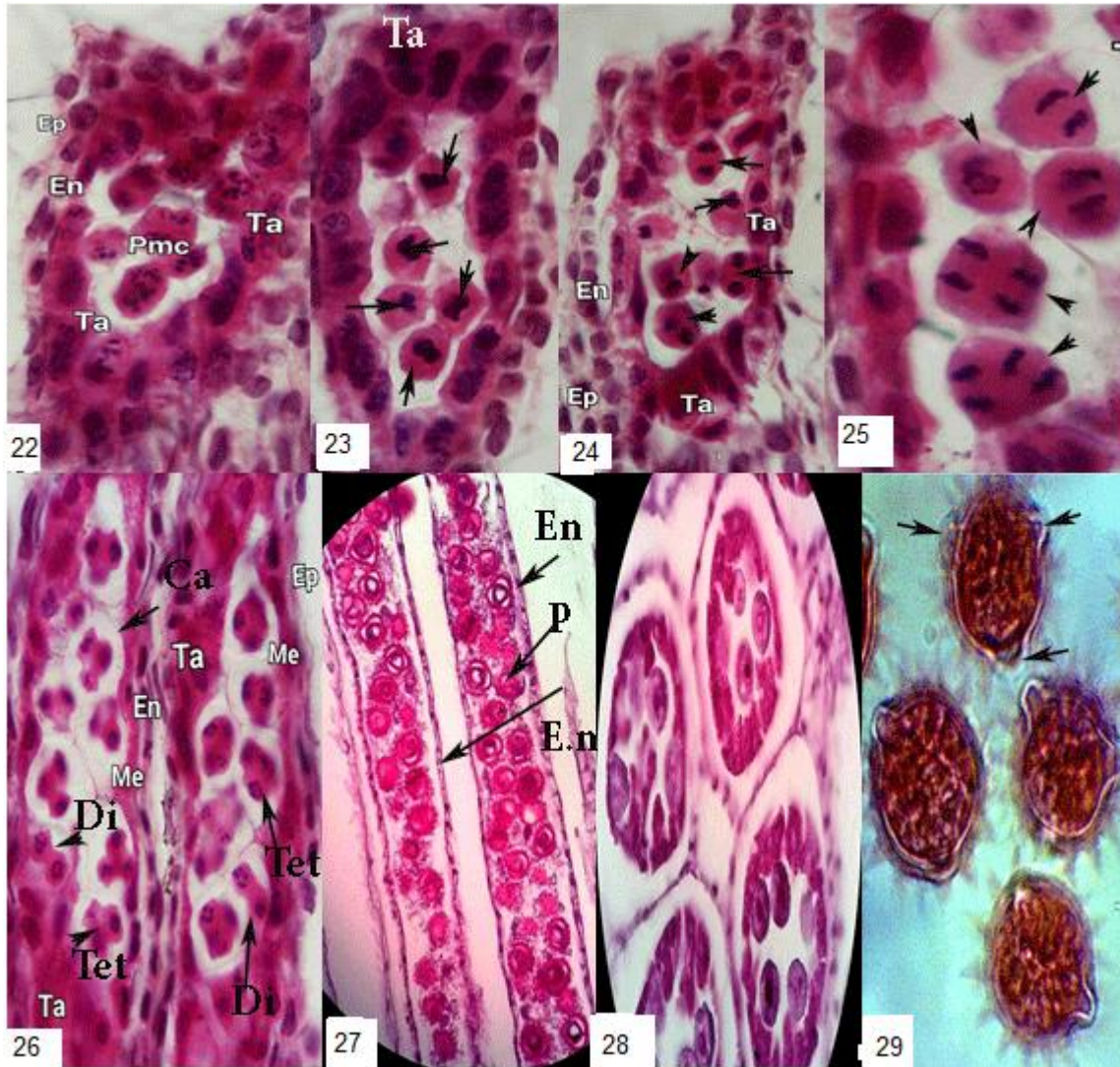
IrHC2019



تصاویر ۱۳ تا ۲۱: بساک و گلچه ها :

تصویر ۱۳- برش طولی گل آذین کپه، پریموردیوم گلچه ها در مراحل مختلف نموی قابل مشاهده اند. ۱۴- برش طولی بخشی از گل آذین کپه، گلچه های لوله ای نر ماده (عملانر)، تخمدان جامد و گلچه های لوله ای ماده با تخمدان حاوی تخمک در حال نمو قابل مشاهده اند. ۱۵- برش طولی بخشی از گل آذین کپه، شامل گلچه های دیسکی (df) و زبانه ای (Rf). گلچه های دیسکی شامل دو نوع نر و ماده هستند. در گلچه های نر ماده که عملانر هستند تخمدان توخالی یا جامد است و تنها گلچه ای ماده دارای تخمدان حاوی تخمک خواهند شد. ۱۶- برش عرضی بخشی از گل آذین کپه شامل گلچه های دیسکی (df) و گلچه های شعاعی زبانه ای (Rf). ۱۷- برش عرضی بخشی از گل آذین کپه که شامل گلچه های متعدد است. کیسه های گرده در گلچه های مختلف در سنین متفاوت بر اساس مرحله نموی از خارج به داخل شامل گلچه های اولیه با بساک در حال تشکیل تا گلچه های دارای بساک در مرحله میکروسپوروژنز و نهایتاً بساک های دارای گرده های رسیده قابل مشاهده اند. تنوع تعداد پرچم ها بر اساس تعداد بساک های قابل شمارش از ۴ تا ۶۵ عدد بساک در هر گلچه قابل مشاهده است. ۱۸- برش طولی کیسه های گرده، شامل لایه های اپیدرم، اندوتسیوم، تاپی و سلول های مادر دانه گرده (میکروسپوروسیت) که در مرحله پروفاز و قبل از شروع تقسیم قابل مشاهده اند. ۱۹- برش عرضی یک گلچه نر، با ۵ بساک نماینده ۵ پرچم، ۲۰- یکی از بساک های تصویر ۱۹ با بزرگنمایی بیشتر، لایه های اپیدرم، تاپی و سلول های مادر گرده (میکروسپوروسیت) در تصویر مشخص هستند. bract.b = برگک غشایی، d.f = گلچه لوله ای، R.f = گلچه زبانه ای، R = زهنج، P.f = پریموردیوم برگی، Ir = حلقه بنیادی، Ped = دمگل، Se = کاسبرگ، Pe = گلبرگ، Sp = مریستم هاگزا، R.m = مریستم نهنجی، d.f.p = پریموردیوم گلچه لوله ای، R.f.p = پریموردیوم گلچه زبانه ای، Pep = پریموردیوم گلبرگ، C.P = پریموردیوم برجهای، St.p = پریموردیوم پرچی، C = کپه گل

IrHC2019



تصاویر ۲۲ تا ۲۹: مراحل تقسیم

۲۲) مادر دانه گرده در کیسه گرده (۲۳) پروفاز و متافاز در این مرحله لایه تاپی دیده می شود. (۲۴) آنافاز کروموزوم ها به قطبین سلول مهاجرت کرده اند (۲۵) تلوفاز (۲۶) تلوفاز تتراد های تتراهدردال با لایه کالوزی احاطه کننده و سلول های لایه تاپی به سمت تترادها حرکت کرده اند و به آنها چسبیده اند و دیادها هم مشاهده می شوند. (۲۷) برش طولی بساک رسیده فقط لایه مکانیکی از دیواره بساک دیده می شود. (۲۸) موناها در کیسه گرده مشاهده می شوند. (۲۹) دانه گرده رسیده خاردار سه منفذی
Ep: اپیتلیوم، En: اندوتلیوم، pmc: مادر دانه گرده، Ta: لایه تاپی، Ca: لایه کالوز، Di: دیاد، Tet: تتراد، P: دانه گرده

منابع

- ۱- چهرگانی، ع.، حاجی صادقی، س.، محسن زاده، ف(۱۳۸۹). مطالعه مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Inula aucheriana*. زیست شناسی گیاهی، ۲۰، ۶، ۱۵-۲۸.
- ۲- چهرگانی، ع.، ۱۳۸۹، مطالعه مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Inula aucheriana* DC. زیست شناسی گیاهی، سال ۲، ۶، ۱۵-۲۸.
- ۳- صمصام شریعت، ه و معطر، ف. ۱۳۸۳. گیاهان و داروهای طبیعی. نشر روزبهان.
- ۴- مظفریان، ولی اله. ۱۳۹۰. رده بندی گیاهی، دلیله ای ها، جلد ۲، چاپ پنجم، انتشارات امیرکبیر تهران.



- ۵- محمودی، م، عظیمی، ا، شهیدی، س. ۱۳۹۳. تاثیر عصاره هیدروالکلی گل همیشه بهار بر روی گلوکز، LDL،HDL و کلسترول تام خون در موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، ارمان دانش، ۱۹(۴): ۲۸۳-۳۹۴
- ۶- میر حیدر، ح. ۱۳۸۲. معارف گیاهی. دفتر نشر فرهنگ اسلامی
- ۷- Bremer, K, 1994. Asteraceae: cladistics & classification, Timber Press, Portland OR
- ۸- Cameron, B.G., Prakash, N.M. 1994. Variation of the megagametophyte in the Papilionoideae. Advances in legume systematics 6. Struct. Bot. 97-115
- ۹- Deng, Y., Chen, S. and Teng, N. 2010. Flower morphologic anatomy and embryological characteristics in chrysanthemum multicaule. Scientia Horticulturae 124(4): 500-505
- ۱۰- Dickinson H. G. 2000. Pollen coating-chimaeric genetic and new function. Sex Plant Reprod. 12: 302-309
- ۱۱- Edward, F., Gilman, T. 1999. *Calendula officinalis*. University of Florida

Microsporogenes in *Calendula officinalis* L.

Abstract

Calendula officinalis is a perennial gynomonocious herb, often used for medicinal purpose and as ornamentation. The corolla consists of only one petal for ligulate florets, whereas it consists of four to seven petals for disk florets with four to seven stamens accordingly. The bisexual florets are functionally male and their ovaries are either solid or unilocular with no ovule. In contrast, the ovaries of female florets are always unilocular with an anatropous ovule. For bisexual florets, simultaneous cytokinesis in the microsporocyte meiosis leads to tetrahedral, also decussate tetrads. The mature pollen grain is of the three-cell type. The tapetum is mainly of secretory type, The young anther wall is composed of epidermis, endothecium, middle layer and tapetum, but the middle layer degenerates at the microspore tetrad stage. The mature anther wall comprises only endothecium, which develops fibrous thickenings.

Key words: Asteraceae, *Calendula officinalis* L., Microsporogenesis, Pollen grain.