

Paper Type: Original Article



Development of male and female reproductive organs in Moldavian dragonhead, *aTrachyspermum ammi* (L.) Sprague (Apiaceae)

Reyhaneh Saeidi¹ , Golnaz Tajado^{*1}, Sayeh Jafari Marandi¹, Maryam Peyvandi¹

¹ Biology Department, College of Bioscience, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran; reyhaneh.saeidi68@gmail.com; Tajadodg@gamil.com; s_jafari@iau-tnb.ac.ir; maryapeyvandi@gmail.com.

Citation:



Saeidi, R., Tajado, G., Jafari Marandi, S., & Peyvandi, M. (2024). Development of male and female reproductive organs in Moldavian dragonhead, *aTrachyspermum ammi* (L.) Sprague (Apiaceae). *The quarterly scientific journal of applied biology*, Volume (Issue), 1-9.

Received: 15/10/2022

Accepted: 17/09/2023

Abstract

Introduction: Ajowan, belonging to Apiaceae, is one of the most medicinal plants in Iran and is naturally distributed in Ethiopia, Egypt, and India. Despite the homogeneity of flower characteristics in the family, nevertheless, a high diversity of flower morphology can be seen in this genus. Given the pharmacological importance of Ajowan, the developmental stages of its male and female organs were examined.

Methods: Flower buds in different developmental stages were harvested, fixed in FAA, and maintained in 70% Ethanol. After performing various steps, including clarification and embedding in paraffin, microtomy sections were made. The Hematoxylin-eosin was used to stain the slices.

Results: Based on the results, the initiation pattern of floral organ development is acropetal, in which the sepals initiate first, followed by petals, and finally, stamens. Initiation of gynoecium occurs with delay to the stamen. Isostemonous stamens, secretory tapetum layer, tetrahedral microspore tetrad, spindle shape microspores, mature pollen with two-celled and three germinal furrows.

Conclusion: Asynchrony of microspore development was observed in the anthers of the same plant flowers and the pollen sacs of the same anther. Also, the development of male and female gametophytes was not synchronized in the same flower. Inferior ovary, anatropous ovules, the linear type of megaspore tetrad, polygonum type of functional megaspore formation, and embryo sac development are other characteristics of this plant.

Keywords: Anatropous ovule, Anther, Microspore, Pollen and embryo sac development, Tetrad.



Corresponding Author: darvishnia_h@pnu.ac.ir



Licensee. **The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology**. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).



مطالعه‌ی تکوین اندام زایشی نر و ماده در گیاه زنیان *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague (تیره‌ی کرفسیان: Apiaceae)

ریحانه سعیدی^۱، گلناز تجدد^{۱*}، سایه جعفری مرندی^۱، مریم پیوندی^۱
^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، شعبه تهران شمال، تهران، ایران.

چکیده

مقدمه: گیاه زنیان متعلق به تیره‌ی کرفسیان، یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی کاربردی در صنایع داروسازی ایران است که به طور طبیعی در اتیوپی، مصر و هندوستان پراکنش دارد. خصوصیات کلی گل‌ها در این تیره معمولاً یکنواخت است. با این وجود، تنوع بالای ریخت‌شناسی گل در این تیره دیده می‌شود. با توجه به اهمیت دارویی زنیان، تکوین اندام زایشی نر و ماده مورد مطالعه قرار گرفت.

روش‌ها: گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت و سپس در الکل ۷۰٪ نگهداری شدند و برش‌های میکروتومی از نمونه‌ها پس از انجام مراحل مختلف شفاف‌سازی و قالب‌گیری در پارافین صورت گرفت. از هماتوکسیلین-ائوزین برای رنگ‌آمیزی برش‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج، بنیان‌گذاری اندام‌های گل در گیاه زنیان به‌صورت مرکزگرا می‌باشد که در آن ابتدا کاسبرگ‌ها، سپس گلبرگ‌ها و در نهایت پرچم‌ها بنیان‌گذاری می‌شوند. تکوین مادگی با تاخیر نسبت به پرچم‌ها انجام می‌شود. پرچم‌ها ایزوستمون، لایه مغزی ترش‌حی، تتراد میکروسپورها از نوع تتراهدردال، میکروسپورها بیضی‌شکل و دانه‌های گرده دوسلولی و سه شیاره می‌باشند.

نتیجه‌گیری: ناهم‌زمانی تکوین میکروسپورها در بساک‌های گل‌های یک‌پایه و کیسه‌های گرده یک بساک مشاهده شد؛ همچنین تکوین گامتوفیت نر و ماده در یک گل هم‌زمان نمی‌باشد. تخمدان زیرین، دوبرچه‌ای، تخمک و ازگون، تتراد مگاسپور خطی، تشکیل مگاسپور عملکردی و کیسه رویانی نوع علف هفت‌بند از دیگر ویژگی‌های این گیاه می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: بساک، تکوین گرده و کیسه رویانی، تتراد، تخمک و ازگون، میکروسپور.

۱- مقدمه

گل‌ها در تیره‌ی کرفسیان (Apiaceae) معمولاً چندتقارنی (polysymmetric)، تتراسیکلیک (tetracyclic) و پنج‌پیری هستند و تخمدان به‌صورت زیرین و دوبرچه‌ای می‌باشد. بر اساس این یکنواختی، این طور انتظار می‌رود که تکوین گل‌ها در میان گونه‌ها همگن باشد. با این وجود مطالعات مختلف نشان داده است که برخلاف انتظار، تنوع بالای ریخت‌شناسی گل در این تیره دیده می‌شود [1]. تکوین گل در بسیاری از گونه‌ها و سرده‌های این تیره از سالیان دور مورد بررسی قرار گرفته است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به مطالعات ساتلر [2]، اربار [3]، پایر [4]، سوچارت [5] و جوخمان [6] اشاره کرد.

زنیان با نام علمی *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague متعلق به تیره چتریان (Apiaceae) می‌باشد که در کتب طب سنتی با نام‌های مختلف نانخواه، انیسون بری، بادیان رومی معرفی شده است [7]. زنیان که با اسامی انگلیسی Ajowan، Ajwain، Bishopweed و Carum شناخته می‌شود، گیاهی علفی، یک‌ساله، معطر، ایستاده و منشعب با گل‌آذین چتر است. چترها اغلب با شعاع‌های شش تا هشت‌تایی، برگ‌ها (bracts) و برگ‌ها (bracteoles) اغلب سه تا پنج‌تایی، خطی باریک و گاهی تقسیم شده هستند. اجزای گل پنج‌پیری، کاسه‌ی گل دندان‌دار و گلبرگ‌ها به رنگ سفید با نوک‌چالدار است که در راس به داخل خمیده می‌باشد. میوه زنیان خشک و شیزوکارپ است [7].

در سالیان اخیر ویژگی‌های تکوینی و تولیدمندی گونه‌های مختلف این تیره مورد توجه واقع شده‌اند. بررسی منابع نشان داد که ویژگی‌های تکوینی اندام زایشی گیاه زنیان تنها به‌صورت محدود در برخی پژوهش‌ها مورد توجه قرار گرفته است [8]؛ با این وجود پژوهش‌های متعددی در زمینه تکوین گامتوفیت نر و ماده و جنین‌زایی در گونه‌های مختلف این تیره مانند *Glehnia littoralis* [9]، *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch [10]، *Seseli resinosum* [11]، *Hausknechtia elymaitica* Boiss [12]، *Pycnocycla nodiflora* Decne. ex Boiss [13]، *Pimpinellaanisum* L [14]، *Angelica Dahurica* [15]، *Angelica sinensis* [16] انجام شده است.

بر اساس مطالعات پیشین، تکوین اندام‌های زایشی در گونه‌های مختلف این تیره مانند *Bupleurum chinense*، چند گونه از جنس *Angelica* و *Saposhnikovia divaricate* دارای ویژگی‌های مشابهی هستند که می‌توان به تکوین دیواره بساک از نوع دولپه‌ای، تتراد میکروسپور نوع تتراهدرا و تکوین کیسه رویانی از نوع علف هفت‌بند اشاره کرد [15-18]. به طور کلی گیاهان گل‌دار بر اساس تعداد لایه‌های میانی دیواره بساک به چهار نوع دیده می‌شوند که شامل نوع پایه، نوع دولپه‌ای، نوع تک‌لپه‌ای و نوع کاهش یافته هستند. در نوع دولپه‌ای که اعضای تیره کرفسیان نیز به آن تعلق دارند، دیواره بساک از لایه‌های اپیدرمی، مکانیکی، میانی (به تعداد یک عدد) و مغزی تشکیل شده است [19]. حدود ۷۰٪ نهان‌دانگان، دانه‌های گرده دو سلولی دارند، در درحالی‌که ۳۰٪ آن‌ها، دانه‌های گرده سه سلولی دارند. هر دو نوع دانه گرده، یک سلول رویشی واحد و یک سلول زایشی واحد دارند که در گروه دوم، سلول زایشی دو گامت نر را تولید می‌کند. تقسیم هسته‌ای در سلول زایشی امکان دارد تحت دو وضعیت اتفاق بیفتد. در وضعیت سه سلولی، تقسیم سلول زایشی زمانی صورت می‌گیرد که دانه‌های گرده هنوز درون بساک حضور دارند در درحالی‌که در وضعیت دو سلولی، تقسیم سلول زایشی پس از شکوفایی بساک و رها شدن دانه‌های گرده انجام می‌شود [20]. در دولپه‌ای‌ها، دانه‌های گرده دو سلولی را می‌توان در ۱۹۵ تیره مشاهده کرد در درحالی‌که در ۹۸ تیره، دانه‌های گرده به‌صورت سه سلولی رها می‌شوند [21].

سرده *Trachyspermum* دارای ۲۰ گونه معطر یک‌ساله است. اعضای این جنس در آفریقای شمالی و آسیای مرکزی، هند و غرب چین رویش دارند. منشأ زنیان را شبه‌قاره هند و منطقه مدیترانه دانسته‌اند [22]. این گونه در اتیوپی، مصر و هندوستان به‌صورت بومی و در ایران، افغانستان و پاکستان به‌صورت کاشته شده پراکنش دارد [7]. این گیاه در صنایع غذایی، بهداشتی و دارویی دارای اهمیت زیادی می‌باشد [22]؛ همچنین از مهمترین گیاهان دارویی کاربردی در صنایع داروسازی ایران می‌باشد که در تولید داروهای ضد سرطان، ضد ترومبولیت، آنتی باکتریال، کاهنده فشارخون، ضد سرفه و محافظ کبد کاربرد دارد [23]. قسمت مورد استفاده آن در طب سنتی دانه (بذر) آن است که به‌عنوان ضد تهوع، ضد نفخ، مدر، مقوی معده، کاهش‌دهنده کلسترول خون و تسکین‌دهنده اسپاسم به کار می‌رود [24]. با توجه به اهمیت دارویی زنیان، بررسی ساختار تولیدمندی و زایشی می‌تواند به افزایش دانش ما در ارتباط با اصلاح نژاد، زادآوری و تکثیر این گیاه ارزشمند کمک کند.

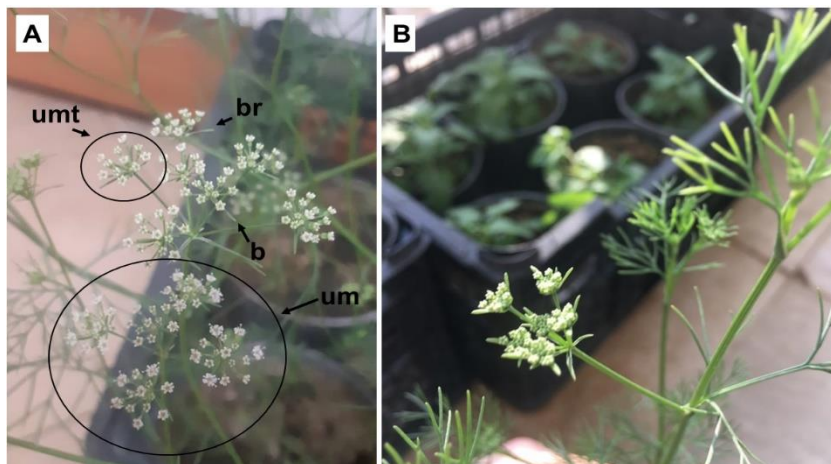
۲- مواد و روش‌ها

بذر گیاه زنیان از شرکت پاکان بذر اصفهان (ایران) تهیه و در گلدان‌های پلاستیکی در اردیبهشت ۱۳۹۹ کاشته شد. با شروع مرحله گل‌دهی گیاهان در اوایل تابستان و کمی قبل از آن، راس ساقه‌ی گل دهنده، غنچه و گل در سنن مختلف، جمع‌آوری گردید و در محلول FAA 70 با نسبت حجمی ۵:۵:۹۰ تثبیت شد. این محلول شامل فرمالین، اسید استیک گلاسیال و اتانل ۷۰٪ بود. به‌منظور بررسی‌های ریخت‌شناسی ویژگی‌های گل، نمونه‌های گل و گل‌آذین به‌صورت تازه با استفاده از استریومیکروسکوپ (Olympus) و همچنین با چشم غیرمسلح مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌های تثبیت‌شده در اتانل ۷۰٪، در وقت‌های مختلف و رو به افزایش اتانل گذاشته شدند. پس از آن به‌منظور شفاف‌سازی، از نسبت‌های مختلف گزین-تولون استفاده شد. به این صورت که این محلول موجب جانشین‌سازی اتانل توسط گزین می‌شود. پس از آن مراحل پارافین‌دهی توسط مخلوط‌های گزین-پارافین، قالب‌گیری در پارافین خالص و آرایش بلوک پارافینی انجام شد. از بلوک‌های پارافینی حاوی نمونه‌ها، برش‌های مناسب ۸-۱۰ میکرونی جهت مطالعه مراحل تکوینی تهیه شد. برای این منظور از میکروتوم DC (Cut Mainz و Germany، 4040، Co.) استفاده گردید. رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین-ئوزین و بر اساس روش ینگ [25] صورت گرفت. برای هر مرحله تکاملی بیش از ۱۰ نمونه مورد مطالعه قرار گرفت. برای بررسی و تهیه عکس از نمونه، میکروسکوپ نوری نیکون (Japan و Tokyo، Nikon) مورد استفاده قرار گرفت.

۳- نتایج

۳-۱- تکوین پرچم و دانه گرده

شکل ۱ گیاه زنیان در مرحله گل‌دهی را نشان می‌دهد که در آن گل‌آذین چتر و چترک‌ها قابل مشاهده می‌باشند. هر چتر مرکب از تجمع چند چترک ایجاد می‌شود؛ گل‌های هر چترک از لحاظ مرحله نمو یکسان نمی‌باشند. مریستم انتهایی گیاه در زمان مناسب گل‌دهی وارد فاز زایشی می‌شود (شکل ۲-۱A). پریموردیوم‌ها بر روی مریستم انتهایی ظاهر می‌شوند که در نهایت چتر را تشکیل می‌دهند (شکل ۲-۱D).

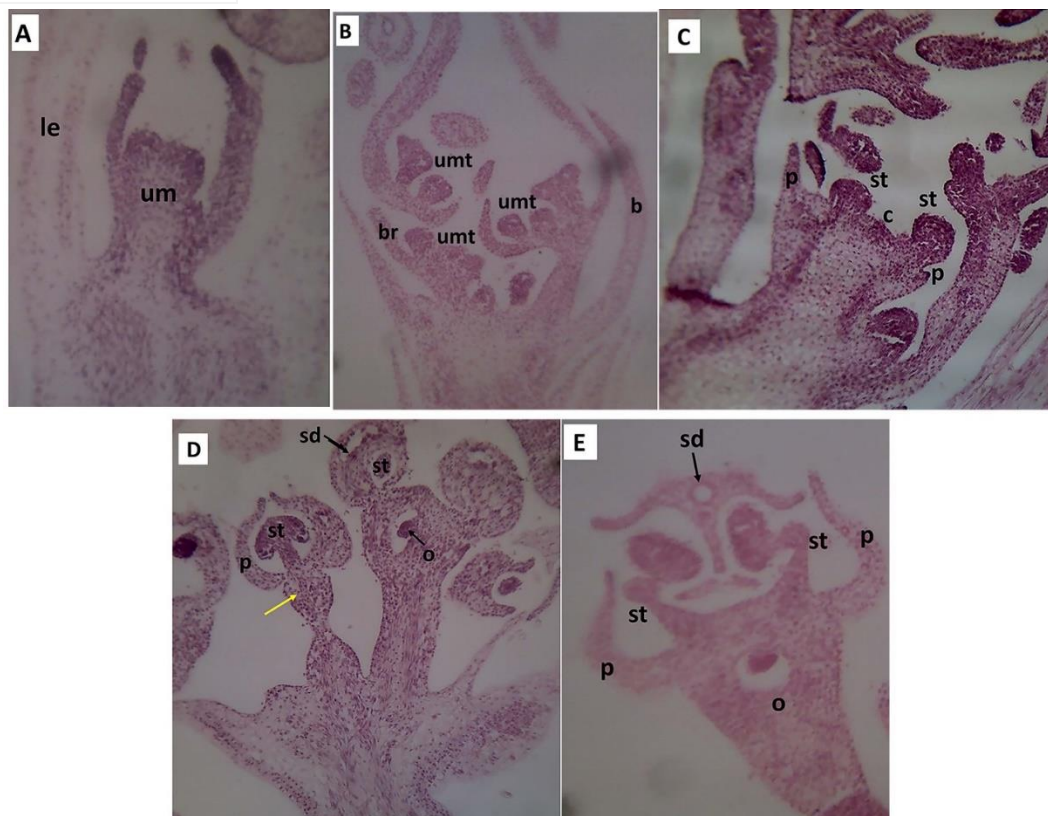


شکل ۱- گیاه زنیان در مرحله گل‌دهی؛ A: گل‌آذین چتر مرکب و چترک‌ها. B: غنچه‌ها در گل‌آذین. رنگ سفید گلبرگ‌ها در حالت غنچه مشخص است. um: گل‌آذین چتر umt: چترک؛ b: برگه؛ br: برگک.

Figure 1- Blooming of Ajwan; A: compound umbel inflorescence and umbellet. B: buds on the inflorescence. White color of petals is visible in bud status. um: umbel; umb: umbellet; b: bract; br: bracteole.

ناهمسانی نمو گل‌ها در چترک و حتی چترها در شکل‌های ۲-B تا ۲-D به‌وضوح قابل مشاهده است. پیدایش چترک‌های پیرامونی زودتر از چترک‌های میانی انجام می‌شود (شکل ۲-B). بخش زایشی نر در گیاه زنیان دارای ۵ پرچم پیرامونی (ایزوستمون) است که متناوب با گلبرگ‌ها قرار می‌گیرند. میله‌ی پرچم از مراحل ابتدایی نمو به‌صورت تا شده و خمیده درون غنچه هستند که در مرحله شکوفایی بساک و باز شدن کامل گل، میله‌های پرچم کشیده شده و در بیرون گل قرار می‌گیرند (شکل ۲-E). پرچم‌ها نمو زودرس دارند.

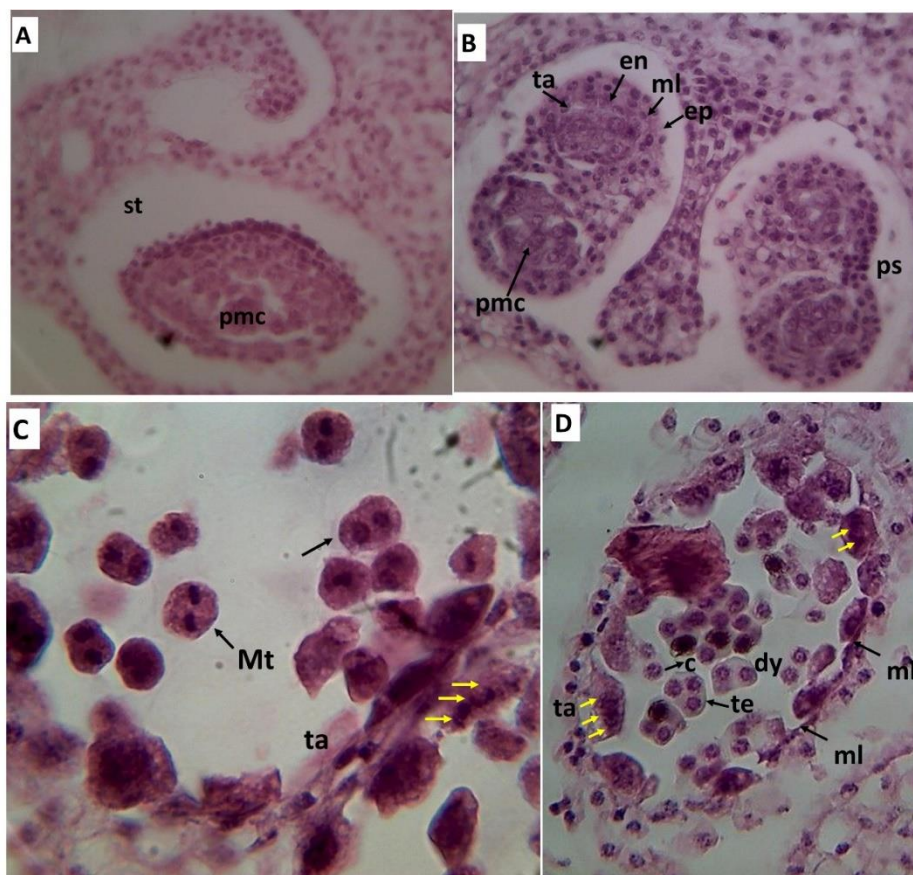
بر اساس شدت رنگ‌پذیری بافت‌ها، برگ‌ها و کاسبرگ‌ها نسبت به گلبرگ‌ها و پرچم‌ها از نظر مرحله تمایزی پیشرفته‌تر هستند (شکل‌های ۲-C و ۲-D). در مراحل اولیه‌ی پدیدار شدن پریموردیوم پرچمی، گلبرگ‌ها نیز دارای سلول‌های پارانشیمی با رنگ‌پذیری بالا می‌باشند که بیانگر فعال بودن تقسیمات سلولی به‌منظور توسعه‌ی بافت گلبرگ می‌باشد، اما همچنان نسبت به پریموردیوم پرچمی، کمرنگ‌تر می‌باشند. در این مرحله، باوجود این‌که تا حدودی محدوده و شکل بافت‌های تشکیل‌دهنده گلبرگ مشخص شده است، اما اثری از ایجاد مجرای ترشحی دیده نمی‌شود (شکل ۲-D).



شکل ۲- مراحل تکوین مریستم زایشی زنیان تا تشکیل گل، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین؛ A: برش طولی مریستم زایشی در مراحل ابتدایی (×۱۰). B: برش طولی گل آذین، تشکیل پریموردیوم‌های چترک (×۴۰). C: برش طولی غنچه (×۴۰)، تشکیل پریموردیوم‌های پرجمی گلبرگی، بساک‌ها. D: برش طولی بخشی از یک چتر. گل نر (فلش زرد). E: برش طولی غنچه‌ی گل. um: چتر؛ umt: چترک؛ b: برگه؛ br: برگه؛ le: برگ؛ p: گلبرگ؛ st: پرجم؛ o: تخمک؛ sd: مجرای ترشعی.

Figure 2- Developmental stages of reproductive meristem in Ajwan stained with hematoxylin-eosin; A: Longitudinal section of reproductive meristem at initial formation stage (×10). B: Longitudinal section of inflorescence, Formation of umbellet primordium (×40). C: Longitudinal section of bud (×40), forming primordium of stamen, petals, and anthers. D: Longitudinal section of the umbel, male flower (yellow arrow). E: Longitudinal section of bud. um: umbel; umt: umbellet; b: bract; br: bracteole; le: leaf; p: petal; st: stamen; o: ovule; sd: secretory duct.

در بساک جوان، بافت هاگزا در مرکز هر کیسه گرده و لایه‌های دیواره‌ای در پیرامون شروع به تقسیم و تمایز می‌کنند (شکل‌های A-۳ تا B-۳). هنگامی که تمایز لایه‌های دیواره بساک و سلول‌های مادر گرده در حال شکل‌گیری می‌باشد، مجرای ترشعی در گلبرگ دیده می‌شود (شکل‌های A-۳ تا B-۳). لایه‌های جداری شامل لایه‌های اپیدرم، مکانیکی (اندوتسیوم)، میانی (گذر) و مغزی (تاپی) می‌باشند (شکل B-۳). در مراحل اولیه، سلول‌های اپیدرمی مستطیلی هستند (شکل B-۳). سلول‌های لایه مغزی از نوع ترشعی هستند و طی تکوین بساک، در جای خود باقی‌مانده و نقش مهمی در تکوین میکروسپور دارند (شکل‌های C-۳ تا D-۳). این لایه، به‌مرور از مرحله دانه‌های گرده تک‌هسته‌ای، شروع به تجزیه می‌کنند. مواد مغزی موجود در لایه میانی و لایه مغزی، هضم شده و به مصرف تغذیه‌ی دانه گرده طی مراحل تکوین می‌رسند. در مراحل مختلف نمو دانه گرده، سلول‌های لایه مغزی حاوی سیتوپلاسم و رنگ‌پذیری بالایی هستند که بیانگر فعالیت ترشعی زیاد آن‌ها به‌منظور بلوغ دانه‌های گرده است (شکل‌های A-۳ تا D-۳).

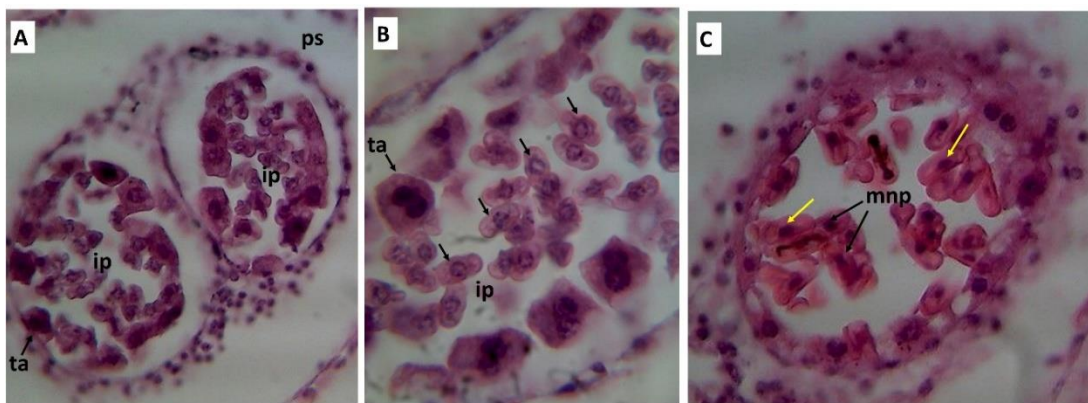


شکل ۳- مراحل تکوین بساک گیاه زنیان تا ایجاد تتراد، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انوزین؛ A و B: برش طولی بساک، لایه‌های دیواره بساک در حال شکل‌گیری است (x 40). C: تقسیمات میوزی سلول‌های مادر گرده (x 100)، سلول‌های لایه مغذی سه هسته‌ای (فلش زرد). D: شکل‌گیری دیااد و تتراد (x 40)، سلول‌های مغذی دوهسته‌ای (فلش زرد). Ps: کیسه گرده؛ st: پرچم؛ pmc: سلول مادر گرده؛ ep: اپیدرم؛ en: لایه میانی؛ ta: لایه مغذی؛ dy: دیااد؛ te: تتراد؛ c: کالوز؛ Mt: متافاز I؛ m: میکروسپور.

Figure 3- Developmental stages of anther to tetrad formation in Ajwan stained with hematoxylin-eosin
A, B: Longitudinal section of anther and forming of wall layers (x40). C: meiosis stages of PMC (x100), tri-nuclear tapetum cells (yellow arrow). D: forming of dyad and tetrad, two-nuclear tapetum cells (yellow arrow) (x40). Ps: pollen sac; st: stamen; PMC: pollen mother cell; ep: epiderm; en: endothecium; ml: middle layer; ta: tapetum; dy: dyad; te: tetrad; c: calluse; Mt: metaphase I; m: microspore.

شکل‌های ۳- C و ۳- D برخی مراحل تقسیم میوز سلول‌های مادر گرده تا تشکیل تتراد را نشان می‌دهد. این سلول‌ها با انجام دو میوز متوالی بدون سیتوکینز، در ابتدا دیااد و سپس تتراد را ایجاد می‌کنند. تترادها از نوع چهاروجهی (تتراهدرال) هستند و به‌وسیله دیواره کالوز احاطه می‌شوند (شکل ۳- D). سلول‌های لایه مغذی در هنگام تشکیل دیااد و تتراد واکنش داده و افزایش حجم می‌یابند (شکل ۳- D). رنگ‌پذیری بالای این سلول‌ها حاکی از تقسیمات میوزی بدون سیتوکینز دارد که موجب تشکیل سلول‌هایی با دو هسته با بیشتر از دو هسته می‌شود (شکل‌های ۳- C و ۳- D).

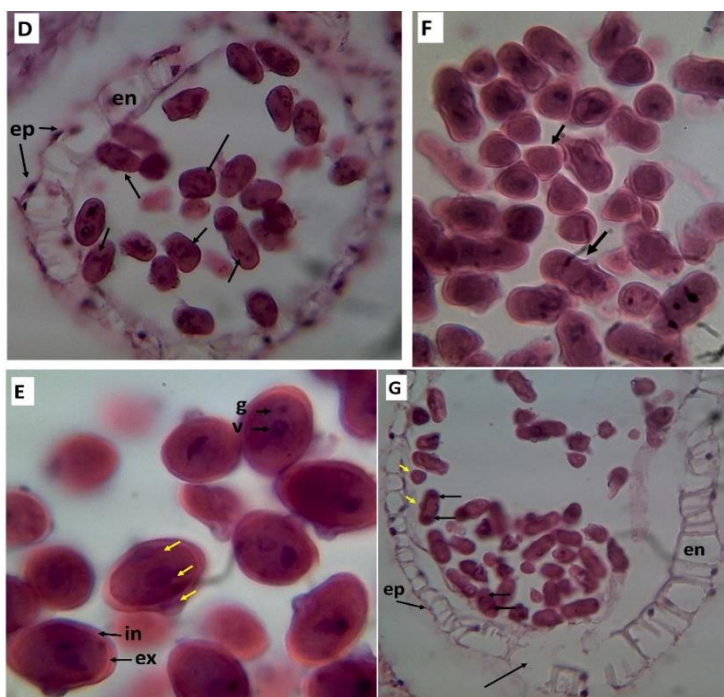
شکل‌های ۴- A تا ۴- G مراحل بعد از تتراد تا بلوغ دانه گرده و شکوفایی بساک را نشان می‌دهد. با هضم و تجزیه دیواره کالوزی تتراد در مراحل بعدی، میکروسپورها آزاد می‌شوند. میکروسپورهای رها شده در ابتدا به‌صورت کروی نامنظم شکل ۴- A و دیواره مجزا قابل تشخیص هستند و به تدریج به شکل بیضی درمی‌آیند (شکل‌های ۴- B و ۴- C). با افزایش حجم و واکنش شدن سیتوپلاسم، میکروسپورها وارد فاز تک‌هسته‌ای مرکزی می‌شوند (شکل ۴- D). میکروسپورهای تک‌هسته‌ای بزرگ هستند و هسته‌ها در مرکز قرار می‌گیرند سپس هسته‌ها به‌مرور به سمت لبه سلول کشیده می‌شوند (شکل ۴- D). پس از آن، میکروسپورها میتوز نامساوی را گذرانده (شکل‌های ۴- D و ۴- E) و دو سلول رویشی (بزرگ) و زایشی (کوچک) ایجاد می‌کنند (شکل‌های ۴- E تا ۴- G). هسته زایشی رنگ‌پذیری بیشتری دارد. در مرحله شکوفایی بساک، دانه‌های گرده بالغ با سه شیار آزاد می‌شوند (شکل ۴- E). در برش‌های مورد مطالعه موارد مشکوک به دانه‌های گرده سه‌سلولی مشاهده شد، اما به دلیل عدم اطمینان و شواهد کافی در این مورد، دانه‌های گرده که به‌وضوح وجود دو سلول در آن‌ها تایید می‌شود، مورد استناد قرار گرفت (شکل ۴- F).



شکل ۴- مراحل رهاسازی میکروسپورها از تتراد تا بلوغ دانه‌های گرده و شکوفایی بساک گیاه زنیان، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین؛ A: برش طولی بساک به همراه میکروسپورهای نابالغ در ابتدا کروی و سپس بیضی شکل (۱۰×). B: میکروسپورهای نابالغ در حال تغذیه و رشد (۴۰×). C: میکروسپور در مرحله پیشرفته‌تر تک‌هسته‌ای، ابتدا هسته در مرکز (mnp) و سپس به سمت کناره کشیده (فلش زرد) و وارد فاز تقسیم می‌شود (۴۰×).

Figure 4- Developmental stages of microspores releasing from tetrad to pollen maturing and anther blooming in Ajwan stained with hematoxylin-eosin; A: Longitudinal section of the anther (×10), Primarily round and then spindle shape. B: immature microspores feeding and growing phase (×40). C: more developmental phase of mononuclear microspore with a nucleus in the center and then margin (yellow arrow) for dividing (×40).

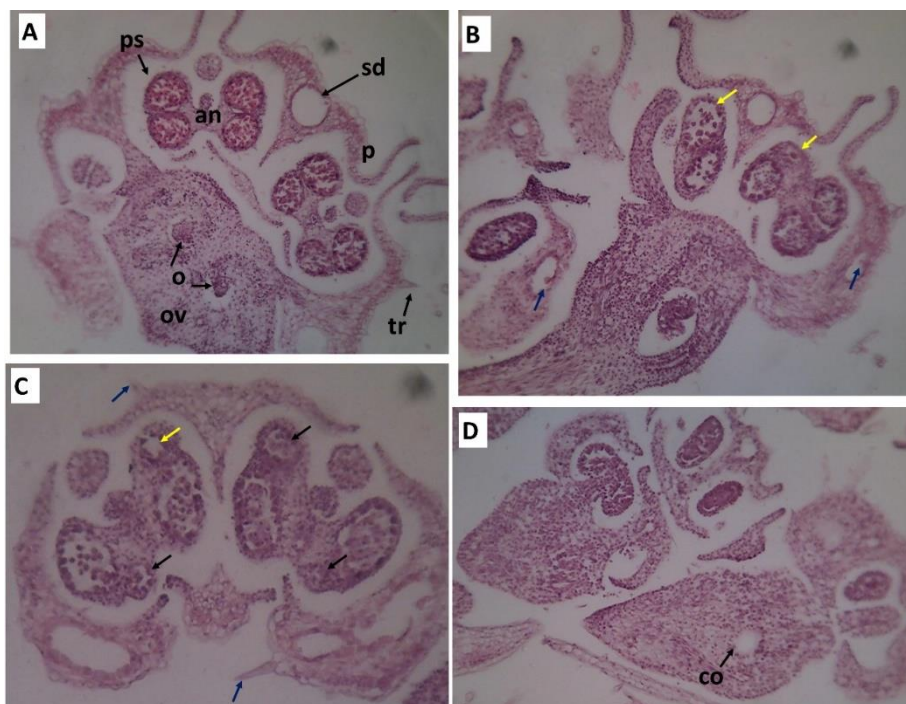
در مرحله نهایی بلوغ دانه گرده و شکوفایی بساک، دانه‌های گرده به شکل بیضی هستند (شکل‌های ۴-F و ۴-G) تیغه‌های جداکننده دو حفره‌ی بساک در حال تجزیه است و دیواره بساک تنها شامل لایه مکانیکی با آثار و بقایای لایه اپیدرمی است که به صورت نامنظم و برجستگی‌های ژله‌ای بر روی لایه مکانیکی قرار دارند (شکل‌های ۴-D و ۴-G).



ادامه شکل ۴- D: مراحل تقسیم میتوز دانه‌های گرده (۴۰×). E و F: دانه‌های گرده بالغ در دونمای قطبی و استوایی (۱۰۰×). فلش زرد نشان دهنده هسته مولد (در E) و اسپرم (در F)، G: شکوفه بساک (۱۰×) است. Ip: گرده نابالغ؛ ps: کیسه گرده؛ ta: لایه مغذی؛ ep: اپیدرم؛ en: لایه مکانیکی؛ mnp: میکروسپور تک‌هسته‌ای در مرکز؛ p: منفذ؛ in: اینتین؛ ex: آگزین؛ g: هسته زایشی؛ v: هسته رویشی

Figure 4- (Continue); D: mitotic stages of pollen grains (×40). E, F: polar and equatorial view of mature pollen grains (×100). yellow arrow indicates generative nucleus (in E) and sperms (in F), G: anther blooming (×10). Ip: immature pollen; ps: pollen sac; ta: tapetum; ep: epidermis; en: endothecium layer; mnp: mononuclear microspore in center; p: pore; ex: exine; in: intine; g: reproductive nucleus; v: vegetative nucleus.

بررسی برش‌های مختلف نشان می‌دهد که کیسه‌های گرده یک بساک و همچنین بساک‌های مختلف دارای اندازه‌های متفاوتی هستند و حتی در برخی از بساک‌ها یک یا دو کیسه گرده تحلیل می‌رود (شکل‌های A-۵ تا D-۵). تقسیم میوز سلول‌های مادر گرده و تکوین میکروسپورها در بساک‌های گل‌های یکپایه گیاهی و همچنین کیسه‌های گرده یک بساک، هم‌زمان (synchronous) نمی‌باشد (شکل‌های A-۵ تا D-۵). همچنین در برخی برش‌های مطالعه شده، گل‌های هرمافروdit مشاهده شدند که از نظر عملکردی نر بوده و فاقد تخمک و یا تخمک تحلیل رفته می‌باشند (شکل‌های D-۵ و D-۲).



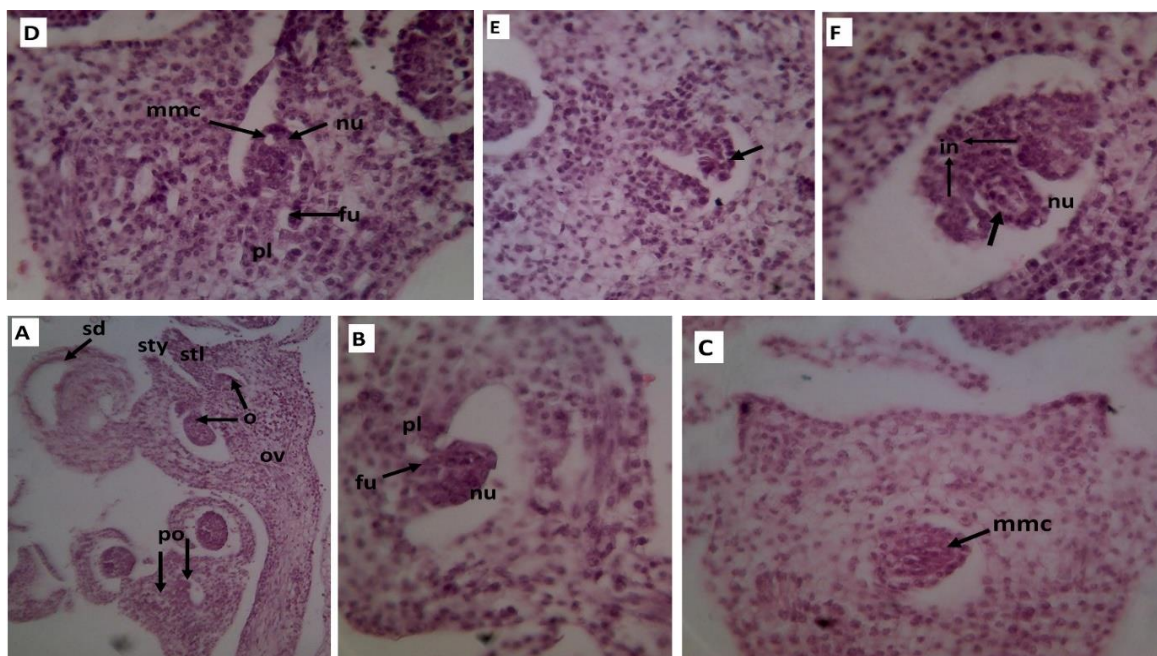
شکل ۵- برش‌های طولی (B و D) و عرضی از گل (A و C) گیاه زنیان، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (۱۰×): A: بساک‌ها با چهار کیسه‌های گرده تقریباً هم‌اندازه و هم‌فاز، تخمدان دو برچه‌ای هر کدام با یک پریموردیوم تخمکی. B: بساک با سه کیسه گرده فعال. کیسه‌های گرده دو بساک از لحاظ مراحل تمایز هم‌فاز نیستند (فلش زرد). فلش آبی: مجرای ترشچی و مواد ترشح شده. C: کیسه‌های بساک با اندازه‌های مختلف و بعضی توخالی. کرک: فلش آبی. D: گل با اندام زایشی نر و عدم تشکیل تخمک و خامه. Sd: مجرای ترشچی؛ p: گلبرگ؛ an: بساک؛ ps: کیسه گرده؛ tr: کرک؛ o: تخمک؛ ov: تخمدان؛ co: حفره تخمدان.

Figure 5- Longitudinal sections (B, D) and cross sections (A, C) of Ajwan flower stained with hematoxylin-eosin (×10). A: Anthers with four pollen sacs are almost the same size and phase. Ovary with two carpels, each with one ovule primordium. B: anther with three active pollen sacs, pollen sacs of two anthers are not in the same developmental phase (yellow arrow). Blue arrow: extraction and secretory duct. C: pollen sacs in different sizes. Some of them are empty. D: male flower, not formation of style and ovule. Sd: secretory duct; p: petal; an: anther; ps: pollen sac; tr: trichome; o: ovule; ov: ovary; co: ovary cavity.

در گیاه زنیان نیز همانند سایر اعضای این تیره، مجاری ترشچی از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشند. سلول‌های ترشچی احاطه‌کننده مجرای ترشچی، در مراحل ابتدایی تمایز سلول‌های مادر گرده، رنگ‌پذیری بیشتری داشته و سیتوپلاسم متراکمی دارد که نشان‌دهنده فعالیت ترشچی آن به سمت داخل مجرا می‌باشد (شکل‌های A-۵ و B-۵). در مراحل بعدی، این سلول‌ها تجزیه می‌شوند (شکل ۵-C). در نهایت تنها بقایایی از آن‌ها در پیرامون مجرا قابل مشاهده است. گلبرگ‌ها کاملاً توسعه می‌یابند و از یکدیگر فاصله می‌گیرند. در شکل ۵-C منشأ اپیدرمی کرک‌های گلبرگی به‌وضوح قابل مشاهده می‌باشد.

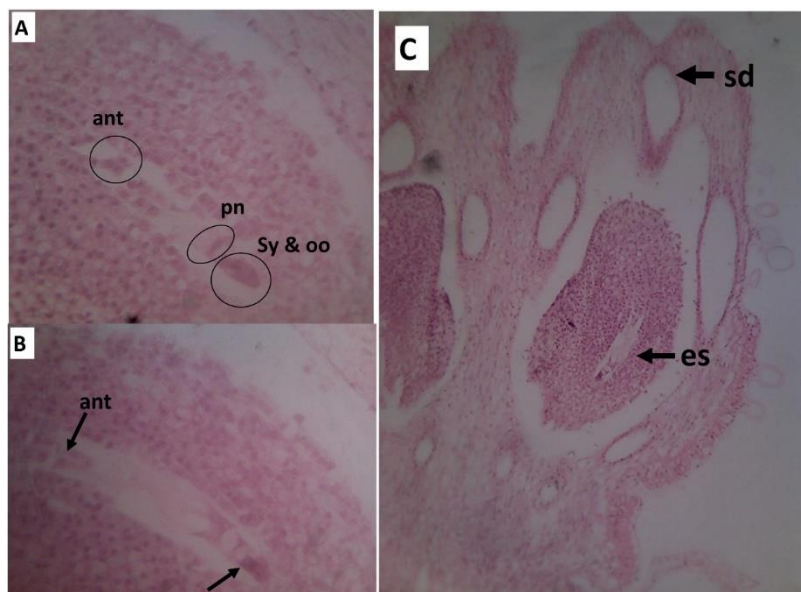
۳-۲- تکوین تخمک و کیسه رویانی

در گیاه زنیان، تکوین مادگی با تاخیر نسبت به پرچم‌ها انجام می‌شود. هنگامی‌که پریموردیوم‌های پرچمی به‌صورت برجستگی‌هایی روی مریستم زایشی پدیدار می‌شوند، توده‌ی میانی مریستم زایشی که دارای بافتی با سیتوپلاسم متراکم و رنگ‌پذیری بالا می‌باشد، در جهت تشکیل مادگی تمایز می‌یابد (شکل ۲-C).



شکل ۶- برش‌های طولی گل کامل (A) و تخمدان (B تا F) گیاه زنیان ($\times 40$)، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین؛ A: شکل‌گیری پریموردیوم تخمکی (گل پایین)، B: پریموردیوم تخمکی بافت خورش و شروع تشکیل بند از جفت، C و D: تشکیل سلول مادر مگاسپور، E تا F: تقسیم سلول مادر مگاسپور، ایجاد تتراد خطی و شروع تخریب سه سلول قطب سفی. Sd: مجرای ترشچی؛ o: تخمک؛ ov: تخمدان؛ sty: استیلوپود؛ mmc: سلول مادر مگاسپور؛ nu: خورش؛ pl: جفت؛ fu: بند؛ in: پوسته تخمک؛ po: پریموردیوم تخمکی.
Figure 6- Longitudinal sections of flower (A) and ovary (B-F) of Ajwan stained with hematoxylin-eosin ($\times 40$); A: ovule primordium formation (down). B: ovule primordium, nucellus, and initiation of funicule from placenta. C, D: megaspore mother cell formation. E, F: division of mmc, linear tetrad and degeneration of tri micropolar megaspores. Sd: secretory duct; o: ovule; ov: ovary; sty: stylopode; MMC: megaspore mother cells; nu: nucellus; pl: placenta; fu: funicule.

شکل ۶- D ایجاد حفره تخمدانی را نشان می‌دهد. تخمدان زیرین، دو برچه‌ی مادگی به‌صورت طولی به هم چسبیده و خامه‌ها آزاد هستند. قاعده خامه‌ها پهن است و دو برجستگی غده‌ای شکل (استیلوپود) را به وجود می‌آورند (شکل ۶-A).



شکل ۷- تشکیل کیسه رویانی در تخمک گیاه زنیان، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین؛ A و B: تشکیل کیسه رویانی هشت هسته‌ای نوع علف هفت‌بند ($\times 100$). C: تخمدان حاوی تخمک در مرحله کیسه رویانی. Sd: مجرای ترشچی؛ ant: سلول‌های پائینی یا آنتی‌بودال؛ pn: سلول دوهسته‌ای؛ es: کیسه رویانی؛ sy: سلول‌های سینرژید؛ oo: سلول تخم‌زا.

Figure 7- Embryo sac formation in Ajwan stained with hematoxylin-eosin. (A, B) Iformation of eight nuclear embryo sacs, Polygonum type ($\times 100$). (C, D) ovary with two carpels containing ovule in embryo sac stage. Sd: secretory duct; ant: antipodes; es: embryo sac; sy: synergid cells; np: nucleus polar; oo: ovule cell.

پریموردیوم تخمکی از گروهی از سلول‌ها به نام خورش که از جفت منشا می‌گیرند (شکل‌های ۶-B تا ۶-D). ظهور اولین آثار تشکیل تخمک به‌صورت پریموردیوم تخمکی، قبل از کامل شدن تخمدان و تشکیل خامه با ایجاد برجستگی کوچک کم‌بیش کروی در جدار تخمدان شکل می‌گیرد (شکل ۶-A). در بعضی از برچه‌ها دو پریموردیوم تخمکی شکل می‌گیرد که یکی از آن‌ها در مراحل بعدی تحلیل می‌رود (شکل ۶-A). سلول‌های اپیدرمی اطراف قاعده خورش، به‌سرعت تقسیم‌شده و دو پوششی متشکل از سلول‌های چندلایه‌ای ایجاد می‌کنند (شکل‌های ۶-F و ۶-E) درحالی‌که سلول‌های داخل بافت خورش، به تقسیمات خود ادامه داده و تا یک‌لایه سلولی اطراف سلول آرکئوسپوری را ایجاد نمایند. سلول آرکئوسپور با هسته درشت و سیتوپلاسم متراکم، به‌عنوان سلول مادر مگاسپور عمل می‌کند (MMC) (شکل‌های ۶-C تا ۶-D).

سلول مادر مگاسپور با انجام میوز تتراد را ایجاد می‌کنند. در گیاه زنیان، تتراد مشاهده‌شده از نوع خطی می‌باشد (شکل‌های ۶-F و ۶-E). سه مگاسپور قطب سفنی در مرحله بعدی، محو شده و تنها مگاسپور قطب بنی به‌عنوان مگاسپور عمل‌کردی باقی‌مانده و کیسه رویانی نوع علف هفت‌بند را ایجاد می‌کند (شکل‌های ۶-F و ۶-E). کیسه رویانی هشت هسته‌ای و از نوع علف هفت‌بند می‌باشد و سه هسته (آنتی‌پودال‌ها) در قطب بُنی قرار گرفته، یک سلول دوهسته‌ای در قسمت میانی و سه هسته دیگر (یک سلول تخم‌زا و دو سلول سینرژید) در قطب سفنی قرار می‌گیرند (شکل‌های ۶-A و ۶-B).

۴- بحث

بنیان‌گذاری اندام‌های گل در گیاه زنیان به‌صورت مرکزگرا می‌باشد که در آن ابتدا کاسبرگ‌ها، سپس گلبرگ‌ها و در نهایت پرچم‌ها بنیان‌گذاری می‌شوند. جوان‌تر بودن بافت گلبرگ نسبت به کاسبرگ‌ها به‌واسطه رنگ‌پذیری بیشتر و در نتیجه فعال‌تر بودن تقسیمات سلولی، علاوه بر گیاه زنیان در گیاهان مختلف این تیره نیز مورد تایید قرار گرفته است که می‌توان به گونه *Pycnocycla nodiflora* Decne. Ex Boiss. [13] و گیاهان سرده‌هایی مانند *Heracleum*، *Carum* و *Anethum* اشاره کرد [4]، [6]، [26]. حضور مجاری ترش‌چی علاوه بر اندام رویشی در بخش‌های مختلف زایشی گیاهان این تیره مانند کاسبرگ، گلبرگ، تخمدان و میوه نیز وجود دارد که از اختصاصات این تیره می‌باشد. در گیاه زنیان نیز، این مجاری که از نوع شیروژن می‌باشد، در اندام‌های مختلف مشاهده شد [13]. وجود مجراهای ترش‌چی در دیواره تخمدان در گونه‌های دیگر این تیره نیز گزارش شده است مانند کرفس سفید [27] که بیانگر فعالیت ترش‌چی بالا در گیاهان این تیره به‌عنوان گیاهان دارویی ارزشمند است.

خمیدگی پرچم به درون گل تا پیش از شکوفایی کامل گل، ویژگی است که در گیاه زنیان و همچنین گیاهان دیگری از این تیره مانند *Pycnocycla nodiflora* [13] دیده می‌شود. بلوغ پرچم‌ها با چهاروجهی شدن آن‌ها همراه است. شکاری طولی بساک را به دو قسمت تقسیم می‌کند که هر قسمت دارای دو کیسه‌گرده می‌باشد. لایه‌های جدار دیواره بساک در گیاهان تیپ علف هفت‌بند که گیاه زنیان نیز متعلق به این تیپ می‌باشد، از چهار لایه لایه‌ای می‌باشد، مکانیکی، میانی و مغزی تشکیل می‌شود [21]. در برخی گونه‌های این تیره مانند *Pycnocycla nodiflora* [13]، همانند بیشتر نهان‌دانگان سلول‌های اپیدرمی در مرحله بلوغ بساک و قبل از شکوفایی آن تجزیه و محو می‌شوند [28]. در گیاه زنیان و برخی سرده‌های دیگر این تیره، لایه اپیدرمی هرچند به‌صورت چروکیده و ژله‌ای نازک برجسته شده، اما تا آخرین مراحل بلوغ و شکوفایی بساک، بر روی لایه مکانیکی باقی می‌ماند، مانند *Daucus muricatus*، *Cuminum cyminum* [8]، [29]، *Bunium persicum* (Boiss.) B. fedtsch [10]. این لایه دارای نقش‌های مهمی مانند دفاعی، تنظیم روابط آبی و جذب گرده‌افشان‌ها است [30]. لایه میانی معمولاً در اوایل بلوغ دانه‌گرده و تحت فشارهای ناشی از تقسیمات بافت‌هاگزا، متلاشی می‌شوند و یا سازمان‌یابی خود را از دست می‌دهند [13]. در گیاه زنیان نیز همانند کرفس سفید (*Hausknechta elymaitica*) [11] و سگ‌دندان کره‌ای (*Pycnocycla nodiflora*) [13]، لایه میانی تا انتهای مرحله تتراد قابل مشاهده است و پس از آن این لایه تجزیه و هضم می‌شود. در برخی گونه‌های این تیره مانند بادیان رومی (*Pimpinella anisum* L.) عدم نمو لایه میانی گزارش شده است [14] و در گونه‌های مانند *Glehnia littoralis* [9] لایه میانی در مرحله بلوغ دانه‌گرده حتی پس از متلاشی شدن لایه مغزی باقی می‌ماند. متلاشی شدن و تخریب لایه مغزی در گونه‌های مختلف گیاهی، معمولاً در مرحله تتراد یا بعد از آن در مرحله دانه‌گرده تک‌هسته‌ای شروع می‌شود [16]، [17]؛ اما در گونه *Glehnia littoralis* از تیره‌ی کرفسیان، شروع تخریب تدریجی این لایه در مرحله دانه‌گرده تک‌هسته‌ای می‌باشد و در مرحله شکل‌گیری دانه‌گرده بالغ، به‌طور کامل متلاشی و محو می‌شود [9]. تعداد هسته سلول‌های لایه مغزی در زنیان نیز مشابه گونه‌های مختلف تیره کرفسیان یک و دوهسته‌ای است [16]، [31-33]. با این وجود، شواهدی از وجود لایه مغزی بیشتر از سه هسته نیز در زنیان دیده شد. در گونه *Seseli resinosum*، نیز علاوه بر سلول‌های یک و دوهسته‌ای، سلول‌های سه و چهار هسته‌ای نیز گزارش شده است [12].

سلول‌های مادر گرده، از تقسیم و تمایز سلول‌های توده‌هاگزا شکل می‌گیرند که با گذراندن مراحل میوزی و تشکیل دیواره کالوزی در اطراف، تتراسپورها را ایجاد می‌کنند. نوع تتراد در گیاه زنیان همانند اغلب گونه‌های این تیره از نوع تترادرال است مانند بادیان رومی [14]، سگ‌دندان کره‌ای [13]، *Glehnia littoralis* [9]، *Angelica* sp [9]، *Bupleurum chinense*، *Saposhnikovia divaricate* [15]، [16]، [18]، [31]، [32]؛ اما در گونه‌های مانند *Seseli resinosum* علاوه بر تتراد تتراهیدرال، نوع ایزوبایلترال نیز گزارش شده است [12]. همچنین زربینی و همکاران [11]، در کرفس سفید، نوع تترادرال را به‌عنوان نوع رایج تتراد میکروسپوری معرفی کرده‌اند، اما وجود تتراد نوع تتراکونال و خطی را نیز در این گونه تایید کردند.

میکروسپورها پس از رهایی از تتراد، به کمک سلول‌های لایه تابی تغذیه می‌شوند و فرآیند بلوغ را ادامه می‌دهند. میکروسپورهای رها شده از تترادها در ابتدا کروی و با هسته‌ای در مرکز می‌باشند که به تدریج، هسته به یک سمت رانده شده و با طی تقسیم میتوز، دو هسته نامساوی ایجاد می‌کند که هسته رویشی بزرگتر و هسته زایشی کوچکتر است. دانه‌های گرده بالغ به شکل بیضی و در مرحله دو سلولی از بساک آزاد می‌شوند. رها شدن دانه گرده از بساک در مرحله دو سلولی از ویژگی‌های دولپه‌ای‌های پیشرفته است [21]. با این وجود رها شدن دانه‌های گرده سه سلولی در گونه‌هایی از این تیره مانند در گونه‌های دیگر مانند زیره‌ی ایرانی (*Bunium persicum*)، *Glehnia littoralis*، کرفس سفید (*Hausknechta elymaitica*) [9-11]، اما در گیاهان دیگری از این تیره مانند غازیانی (*Falcaria vulgaris* Bernh.) دانه‌های گرده دو سلولی گزارش شده است [34]. در گیاه زنیان نیز احتمال وجود دانه‌های گرده سه سلولی را نمی‌توان نادیده گرفت چراکه در میان برش‌های مورد مطالعه، دانه‌های گرده مشکوک به دارا بودن سه سلول مشاهده شد.

اندازه کیسه‌های گرده در هر بساک می‌تواند یکسان نباشد و حتی در برخی بساک‌ها، هر چهار کیسه گرده، فعال نبوده و ممکن است تنها یک یا دو کیسه گرده مراحل اسپرماتوزیس را طی کنند. متفاوت بودن مراحل مختلف تقسیم گامتوفیت نر و میوز در بساک‌های مختلف یک گل و حتی کیسه‌های گرده یک بساک در زنیان، مشابه با گونه‌های دیگری از این تیره مانند *Glehnia littoralis* می‌باشد [9]؛ اما در گونه‌ای مانند *Angelica dahurica* [15]، این تقسیمات در کیسه‌های گرده مختلف، هم‌فاز هستند. جو و همکاران [9] عدم تطابق زمانی تقسیمات در بساک‌های گیاه *Glehnia littoralis* را یک استراتژی تولیدمثلی می‌دانند که منجر به طولانی‌تر کردن زمان گرده‌افشانی و دگر لقاحی می‌شود.

تخم‌دان در این گیاه زیرین و تمکن محوری می‌باشد. تمکن در بیشتر تخمک‌های واژگون از نوع محوری و قاعده‌ای می‌باشد، تخمک واژگون با تمکن راسی به‌ندرت در این نوع تخمک‌ها گزارش شده است مانند گونه *Glehnia littoralis* [9]. در تمکن محوری، کناره‌های برچه در محور تخمدان به هم می‌رسند. نوع تخمک در گیاه زنیان همانند بسیاری از اعضای این تیره واژگون و با دیواره نازک است، مانند *Glehnia littoralis* [9]، *Angelica sp*، *Bupleurum chinense*، *Saposhnikovia divaricata* [15]، [17]، [18]، [32]، [31] و بادیان رومی [11].

تشکیل سلول مادر مگاسپور در زنیان از نوع علف هفت‌بند است که در این تیپ، سه مگاسپور سُفتی از بین رفته و مگاسپور بُنی به‌عنوان مگاسپور عملکردی و فعال در تشکیل کیسه رویانی باقی می‌ماند [35]. موقعیت سلول عملکردی گونه زنیان نیز بُنی می‌باشد که نوع معمول تیپ علف هفت‌بند است و در گونه‌های مختلف این تیره نیز گزارش شده است. گزارش‌ها مربوط به گونه‌های مختلف این تیره [10]، [11]، [13]، [14] بیانگر این است که کیسه رویانی به لایه درونی پوسته‌ی تخمک می‌چسبند، در نتیجه اولین لایه درونی که بعد از کیسه رویانی قابل تشخیص است، به لایه سلولی اندوتلیوم تمایز می‌یابد. این سلول‌ها هسته بزرگ و گسترش شعاعی دارند و همانند لایه مغذی در بساک، دارای نقش تغذیه‌ای در تکوین گامتوفیت ماده می‌باشند [36]. تتراد مگاسپوری در گیاه زنیان همانند اغلب گونه‌های این تیره، از نوع خطی است. به‌عنوان مثال تتراد خطی در گونه‌های در گونه *Seseli resinosum* [12]، بادیان رومی [11] گزارش شده است؛ اما در مواردی مانند گونه *Glehnia littoralis*، نوع تتراد خطی و T شکل گزارش شده است [9]. مشابهت ویژگی‌های تکوینی گامتوفیت نر و ماده بین گونه‌های مختلف تیره مانند *Seseli resinosum*، *Bupleurum mucronatum*، *Cuminum cyminum*، *Ferula sinkiangensis*، *Pimpinella spp* و *Trachyspermu ammi* (زنیان) پیش‌تر نیز عنوان شده است [12].

وجود گل‌های هرمافرودیت و گل‌های نر از لحاظ عملکردی در یک گیاه، در تیره کرفسان بسیار رواج دارد [1]. در گیاه زنیان نیز همانند بسیاری از گونه‌های این تیره، علاوه بر گل‌های دوجنسی، گل‌های هرمافرودیت نیز دیده می‌شوند. همچنین در این گیاه، بساک‌های خالی و نقص در نمو تخمک نیز در برخی گل‌ها مشاهده شد. نر عقیمی ناشی از عملکرد لایه مغذی می‌تواند منجر به تولید میکروسپورهای ناهنجار و یا بساک‌های خالی می‌شود و یا بر شکوفایی بساک تأثیر می‌گذارد. ماده عقیمی، شامل ناهنجاری در تکوین مادگی و تخمک می‌باشد. نقص در مادگی، معمولاً در گل‌های کوچک حاشیه گل‌آذین گل‌های ضعیف در مراحل اولیه نمو رخ می‌دهد که در گیاه زنیان نیز مشاهده شد. خامه‌ها نمو نمی‌یابند یا این‌که نمو آن‌ها به‌اندازه طبیعی نمی‌رسد. ناهنجاری در تکوین تخمک نیز شامل کیسه رویانی خالی و پوسته‌ی تخمک غیرطبیعی می‌باشد. برخی از این نقص‌ها به محدود بودن منابع مغذی در دسترس گیاه، گرده‌افشانی ناموفق، باروری ناموفق مربوط می‌شوند [9]. در این مطالعه شواهدی از وجود این ناهنجاری‌ها و نقص عملکردی مشاهده شد که اثبات آن منوط به بررسی وسیع و جامع می‌باشد. بررسی سیستم تولیدمثلی و گرده‌افشانی، نر عقیمی و ماده عقیمی می‌تواند به‌عنوان موضوعی مهم برای مطالعات آینده جهت تکثیر و به‌زودی این گیاهان دارویی مهم مورد توجه قرار بگیرد.

۵- نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های مطالعه‌ی کنونی، گیاه زنیان دارای خصوصیات تکوینی شامل نمو دیواره گرده تیپ دولپه‌ای، لایه مغذی ترش‌خی، سیتوکینز تیپ هم‌زمان در میوز میکروسپوروسیت، تتراد میکروسپوری تتراهدال، دانه گرده دو سلولی، تخمک واژگون، دو پوششی و با دیواره نازک، تتراد مگاسپوری خطی و تکوین کیسه رویانی با تیپ علف هفت‌بند می‌باشد.

سیاسگزاری

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال تشکر می‌گردد.

اعلام تعارض منافع

تعارض منافعی برای اعلام وجود ندارد.

منابع

- [1] Ajani, Y., Bull-Hereñu, K., & Claßen-Bockhoff, R. (2016). Patterns of flower development in Apiaceae–Apioidaeae. *Flora: morphology, distribution, functional ecology of plants*, 221, 38–45. DOI:10.1016/j.flora.2016.02.004
- [2] Sattler, R. (1973). *Organogenesis of flowers, a photographic text-atlas*. University of Toronto Press.
- [3] Erbar, C., & Leins, P. (1985). Studien zur organsequenz in apiaceen-bluten. (Studies on primordial sequence in Apiaceae flowers.). *Bot. jahrb.*, 105(3), 379–400.
- [4] Payer, J.-B. (1853). *Organogenesis of the families Myrtaceae, Punicaceae, Philadelphae, Loaseae and Umbelliferae*. Annales des Sciences Naturelles.
- [5] Schuchardt, P. O. (1881). *Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des Blütenstandes und der Blüthe der Umbellifloren*. Leipzig.
- [6] Jochmann, E. C. G. G. (1854). *De umbelliferarum structura et evolutione nonnulla* (Vol. 15). Storchi.
- [7] Mozafarian, W. A. (2016). The need to know the medicinal plants correctly in order to achieve better results. *National conference of medicinal plants*. Civilica. (In Persian). <https://civilica.com/doc/624140>
- [8] Sehgal, C. B. (1965). The embryology of Cuminum cyminum (L.) Spargue (=Carum copticum Clarke). *Biological sciences*, 31(5–6), 175–201.
- [9] Zhou, C., An, K., Zhang, X., Tong, B., Liu, D., Kong, D., & Bian, F. (2023). Sporogenesis, gametophyte development and embryogenesis in Glehnia littoralis. *BMC plant biology*, 23(1), 114. DOI:10.1186/s12870-023-04105-1
- [10] Kazemivash, N., Majd, A., Jafari, S., & Rezayat, S. M. (2020). Investigation of vegetative structure and development of generative organs in *Bunium persicum* (Boiss.) B. Fedtsch. *Journal of plant research (iranian journal of biology)*, 33(3), 718–733. (In Persian). https://plant.ijbio.ir/article_1696_b57334b55620443addc60278a2a39cb7.pdf
- [11] Zarini, M., Majd, A., Tajadod, G., Mehrabian, S., & Jafari Marandi, S. (2017). Investigation the structure of vegetative organs and development of reproductive organs of Haussknechtia elymaitica Boiss. *Developmental biology*, 9(2), 73–88. (In Persian). <https://www.sid.ir/paper/193142/en>
- [12] Kaplan, A., & Iris, H. (2016). Male and female gametophyte development of Seseli resinosum (Apiaceae). *Journal of applied biological sciences*, 10(3), 1–8.
- [13] Sheikhabaehi, Nafiseh Rezanejad, Farkhondeh Mirtadzadini, S. M. (2014). The morphological and anatomical studies of inflorescence and male flower in *Pyncocycla nodiflora* Decne. *Journal of plant biology*, 6(19), 73–96. (In Persian). <https://civilica.com/doc/1376726/>
- [14] Jonoubi, P., Majd, A., Marouf, A., & Amini, S. (2015). Investigation the structure of vegetative organs and development of reproductive organs of *Pimpinella anisum* L. *Nova biologica reperta*, 2(3), 151–165. (In Persian). DOI:10.21859/acadpub.nbr.2.3.151
- [15] Rong, H., Zuo-xi, H., & Zheng-yi, T. (2009). Study on Megasporogenesis, Microsporogenesis and Development of Female and Male Gametophytes of *Angelica Dahurica*. *Journal of sichuan normal university(natural science)*, 32(3), 354–357.
- [16] Zhang, D., Wang, L., & Zhuo, L. huan. (2011). Embryology of *Iris mandshurica* Maxim. (Iridaceae) and its systematic relationships. *Plant systematics and evolution*, 293(1–4), 43–52. DOI:10.1007/s00606-011-0427-1
- [17] Yankova-Tsvetkova, E., & Semerdjieva, I. (2015). On the reproductive biology of *Angelica archangelica* L. (Apiaceae). *Int. j. adv. res. biol. sci. international journal of advanced research in biological sciences*, 2(3), 270–277. www.ijarbs.com
- [18] Yuan, Q., & Shen, J. (2005). Megasporogenesis and gametophyte microsporogenesis as well as male and female gametophyte development of *saposhnikovia divaricata*. *ACTA botanica boreali-occidentalia sinica*, 25(6), 1065. <http://xbzwx.alljournal.net/xbzwxben/article/abstract/200506234>
- [19] Evert, R. F. (2006). *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. John Wiley & Sons.
- [20] Chalabian, F. (2007). *Plant morphology and anatomy*. Aeizh Press. (In Persian). <https://db.ketab.ir/bookview.aspx?bookid=1439017>
- [21] Batygina, T. B. (2005). *Embryology of Flowering Plants: Terminology and Concepts*. CRC Press.
- [22] Nagalakshmi, S., Shankaracharya, N. B., Pura Naik, J., & Jagan Mohan Rao, L. (2000). Studies on chemical and technological aspects of ajowan (*Trachyspermum ammi* (L.) Syn. *Carum copticum* Hiern) seeds. *Journal of food science and technology*, 37(3), 277–281.
- [23] Esmaeili, A., & Ghobadianpour, S. (2016). Vancomycin loaded superparamagnetic MnFe₂O₄ nanoparticles coated with PEGylated chitosan to enhance antibacterial activity. *International journal of pharmaceutics*, 501(1–2), 326–330. DOI:10.1016/j.ijpharm.2016.02.013

- [24] Sefidkon, F. (2001). Essential oil content and chemical composition of *foeniculum vulgare* mill. At different stage of plant growth. *Iranian journal of medicinal and aromatic plants research (ijmapr)*, 10(1), 85-104. **(In Persian)**. https://ijmapr.areeo.ac.ir/article_118383.html?lang=en
- [25] Yeung, E. C. (1984). Histological and Histochemical Staining Procedures. *Laboratory procedures and their applications*, 1, 689-697. DOI:10.1016/b978-0-12-715001-7.50083-4
- [26] Payer, J.-B. (1857). *Treatise on comparative organogeny of the flower*. Victor Masson.
- [27] Jonoubi, P., Majd, A., Marouf, A., & Amini, S. (2015). Investigation the structure of vegetative organs and development of reproductive organs of *Pimpinella anisum* L. *Nova biologica reperta*, 2(3), 151-165. DOI:10.21859/acadpub.nbr.2.3.151
- [28] Mariath, J. E. A., Santos, R. P., & Bittencourt Jr, N. S. (2006). Flor. In *anatomia vegetal, b. appezzato-da-glória and s. m. carmello-guerreiro* (pp. 329-373). Federal University of Viçosa.
- [29] Al-Attar, A. A. A. (1979). Morphological and embryological investigation of *Daucn muricatus* (L.) L. (Caucalideae: Umbelliferae). *Proceedings of the indian academy of sciences - section b*, 88(6), 435-443. DOI:10.1007/BF03046132
- [30] Rezanejad, F. (2008). The structure and ultra structure of anther epidermis and pollen in *Lagerstroemia indica* L. (Lythraceae) in response to air pollution. *Turkish journal of botany*, 32(1), 35-42.
- [31] Manchao, Z., Yaozhi, W., & Huibin, D. (1991). *Anther development of Angelica sinensis*. *Acta Borealis Occidentalia Sinica*.
- [32] Ying, C., Xia, C. A. I., Zheng-Hai, H. U., & Ling-Ling, T. (2008). Studies on the development of embryo and endosperm and its influence on the germination of seeds of *Bupleurum chinense*. *Bulletin of botanical research*, 28(1), 14-19.
- [33] Wang, Z., & Ren, Y. (2007). Advances in the study of the angiosperm ovule. *Chinese bulletin of botany*, 24(1), 49-59.
- [34] Abdullahi, A., & Kordi, F. M. (2017). Study of Stamen and gynoecium ontogeny in floral *Falcaria vulgaris*. *Iranian journal of plant biology*, 9(3), 63-78. **(In Persian)**. <https://www.sid.ir/paper/160056/en>
- [35] Shi, D.-Q., & Yang, W.-C. (2011). Ovule development in *Arabidopsis*: progress and challenge. *Current opinion in plant biology*, 14(1), 74-80.
- [36] Schneitz, K., Balasubramanian, S., & Schiefthaler, U. (1998). Organogenesis in plants: the molecular and genetic control of ovule development. *Trends in plant science*, 3(12), 468-472.