

ارزش تکوینی و سیستماتیکی اندام‌های زایشی گل در درمنه خزری*

دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۰۴ ===== بازنگری: ۱۴۰۳/۰۵/۲۳ ===== پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۷

زهرا شیرخانی✉: استادیار گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران، ایران (z.shirkhani@khu.ac.ir)

عبدالکریم چهرگانی‌راد: استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

فریبا محسن‌زاده: دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

چکیده

هدف از این مطالعه، مشخص کردن ویژگی‌های رویان‌شناختی درمنه خزری (کاسنیان) با تمرکز بر تکوین دانه گرده و تخمک به منظور کمک به جایگاه سیستماتیکی این گونه بود. به این منظور، از میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره برای توصیف تکوین گل استفاده شد. با توجه به نتایج، شکل‌گیری دیواره بساک در این گونه از نوع دولپه‌ای، لایه مغذی بساک چندهسته‌ای و از نوع ترش‌حی بود. تتراد میکروسپورها از دو نوع تتراگونال و تتراهدرال و دانه‌های گرده هنگام شکوفایی دویاخته‌ای، سه‌مغذی و ریزخاردار بودند. تخمک از نوع واژگون، تک‌پوسته‌ای و کم‌خورش و آرکئوسپور تک‌یاخته‌ای بود. تترادهای مگاسپور T شکل و خطی مشاهده شد. مگاسپور قطب سفتی طبق الگوی تک‌اسپوری و علف‌هفت‌بند به کیسه‌روییانی هشت هسته‌ای نمو یافت. لقاح از نوع سفت‌زایی (porogamous) و تکوین آندوسپرم در این گونه از نوع یاخته‌ای بود. برخی از ویژگی‌های رویان‌زایی کاسنیان، *Calyceraceae* و *Goodeniaceae* نیز در این مقاله آورده شده که مقایسه این موارد نشان داد که ویژگی‌های رویان‌زایی شواهد آشکاری برای جداسازی این سه تیره خویشاوند ارائه می‌دهد. در نتیجه بررسی حاضر، نگارندگان پیشنهاد می‌کنند که طی مطالعات سیستماتیک جنس درمنه خزری و جنس‌های مشابه، لازم است علاوه بر تزیینات دانه گرده، مراحل تکوین بساک و دانه گرده نیز مورد بررسی قرار گیرند. به علاوه، مطالعات کیسه‌روییانی شاید بتواند تفاوت‌های نهان سیستماتیکی بین آرایه‌های مختلف آن‌ها را آشکار سازد.

واژه‌های کلیدی: بساک، تخمک، دانه گرده، کاسنیان، کیسه‌روییانی، *Artemisia annua***Developmental and systematic value of flower reproductive organs in *Artemisia annua***

Received: 25.07.2024 ===== Revised: 13.08.2024 ===== Accepted: 17.08.2024

Zohreh Shirkhani✉: Assistant Prof., Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, 15719-14911, Tehran, Iran (z.shirkhani@khu.ac.ir)

Abdolkarim Chehregani Rad: Prof., Department of Biology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Fariba Mohsenzadeh: Associate Prof., Department of Biology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Summary

This study aimed to determine the embryological characteristics of *Artemisia annua* L. (*Asteraceae*) with a focus on the development of pollen grains and ovules to help the taxonomic position of this species. Capitulum were studied using light and scanning electron microscopies to describe the floral development. According to the results, the formation of the anther wall was dicotyledonous type and the tapetum layer was multi-nucleated and secretory. The tetrad of microspores were tetragonal and tetrahedral, and mature pollen grains were 2-celled, tricolpate. The ovule was of anatropous, unitegmite, and tenuinucellate type. The archesporium was unicellular. T-shaped and linear tetrads of megaspore were observed in megasporogenesis. The micropylar megaspore developed into an eight-nucleate embryo sac with a *Polygonum* type pattern. Fertilization was of the porogamous type. This species displayed cellular and scant endosperm development. Some embryological features of *Asteraceae*, *Calyceraceae*, and *Goodeniaceae* are also brought in the present paper. Comparisons between embryological features provide some obvious evidence for the segregation of these close families. Therefore, based on the present survey, the authors suggest that, systematic studies on this genus and similar genera should not only be done on the thickening of pollen grain surface, but also on the stages of anther and pollen grain development. In addition, embryo sac studies can also reveal hidden systematic differences between different arrays.

Keywords: Anther, *Asteraceae*, embryonic sac, ovule, pollen grain

* مستخرج از رساله دکتری نگارنده نخست به راهنمایی دکتر عبدالکریم چهرگانی‌راد ارائه شده به دانشگاه بوعلی سینا

مقدمه

کاسنیان (*Asteraceae*) تیره‌ای بسیار بزرگ و گسترده از نهاندانگان با بیش از ۱۷۰۰ جنس و ۲۴۰۰۰ گونه است (Funk *et al.* 2009). درمنه (*Artemisia*) از قبیله *Anthemideae* دارای بیش از ۵۰۰ گونه است که عمدتاً در جنوب آسیا، آمریکای شمالی و کشورهای اروپایی رویش دارند (Abad *et al.* 2012). بسیاری از گونه‌های این جنس چندساله‌اند، در حالی که برخی نیز یک‌ساله و یا دوساله هستند (Vallès *et al.* 2003). درمنه خزری (*Artemisia annua* L.) گیاهی دارویی با طیف وسیعی از خواص زیستی است و از آن به دلیل تولید آرتیمیزین در درمان مالاریا استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده است که این گیاه متابولیت‌هایی تولید می‌کند که خواص دارویی از جمله فعالیت ضدسرطانی قوی دارند (Crespo-Ortiz & Wei 2012). به علاوه، درمنه دارای خواص ضدالتهابی، ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدانگلی است (Bhakuni *et al.* 2001).

تا به حال، مطالعات رویان‌شناسی محدودی در مورد درمنه خزری انجام شده است. استیکس (Stix 1960) براساس تزیینات آگزین در زیرقبیله *Artemisiinae* دو نوع کرده شامل نوع *Artemisia* (درمنه) با تزیینات ریزخاردار (*microechinate*) و نوع *Anthemis* (بابونه) با تزیینات خاردار (*echinate*) شناسایی کرد. در این ارتباط، وجود یا عدم وجود خار در آگزین می‌تواند به عنوان صفتی تشخیصی مفید در تیره مذکور در نظر گرفته شود (Mbagwu & Edeoga 2000, Pinar & Oybak 2006, Duke & Paul 1993). دوک و پاول (Duke & Paul 1993) نیز تکوین کرک‌های غده‌ای را روی برگ‌های درمنه خزری مطالعه کردند. در مطالعه‌ای دیگر، کرک‌های گل این گیاه با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره توصیف شدند (Ferreira & Janick 1995). در پژوهشی نسبتاً جدید ساختار گل و فرایند گل‌دهی در درمنه خزری مورد مطالعه قرار گرفت که در آن مراحل تکوین گلچه‌ها، ریخت‌شناسی کلاله و برهمکنش‌های دانه‌گرده-کلاله ارزیابی شد (Wetzstein *et al.* 2014).

قهرمان و همکاران (Ghahreman *et al.* 2007) ریخت‌شناسی دانه‌گرده ۲۶ گونه از جنس درمنه که در ایران می‌رویند را با استفاده از میکروسکوپ نوری (LM) و الکترونی (SEM) مورد بررسی قرار دادند که نتایج کرده‌شناسی آن نشان داد که این جنس بسیار ناهمگن است.

آرایه‌شناسی درمنه با وجود اهمیت اقتصادی، به دلیل گسترش زیاد و وجود پیچیدگی‌های ریخت‌شناختی در گونه‌های آن دارای مشکل آتی است. در طبقه‌بندی پیشین جنس مذکور براساس

ریخت‌شناسی به بخش‌هایی تقسیم شدند، در حالی که در مطالعات اخیر مبتنی بر داده‌های مولکولی، دوباره زیرجنس‌های پیشین در هم ادغام گردیدند (Hayat *et al.* 2009, Hussain 2020). در مقایسه با سایر روش‌های مطالعاتی در بیوسیستماتیک (Zarre 2003, Ghahremaninejad 2004, Atazadeh *et al.* 2020,) (Mohsenzadeh *et al.* 2020, Noroozi 2020)، مطالعات تکوینی به دلیل دشواری دسترسی به گامتوفیت ماده و ماهیت پرزحمت مراحل توصیف تکوین رویان و بساک، نقش محدودی در طبقه‌بندی توسط گیاه‌شناسان ایفا کرده است (Bhojwani 1974, Tobe 1989). در طبقه‌بندی، صفات رویان‌شناختی متفاوتی قابل استفاده است. صفات هاگ‌زایی و گامت‌زایی شامل نحوه تشکیل دیواره بساک، تعداد لایه‌های میانی، نوع لایه تاپی، تعداد هسته‌های یاخته‌های تاپی، تعداد یاخته‌ها در دانه‌های گرده بالغ، نوع تتراد میکروسپور، تعداد تخمک‌ها، نوع تخمک‌ها، نوع خورش، تعداد پوسته‌های تخمک، تعداد لایه‌های پوسته داخلی و خارجی، نوع تتراد مگاسپور، نوع تشکیل کیسه‌رویانی و تعداد یاخته‌های آنتی‌پود به عنوان ویژگی‌های مهمی برای طبقه‌بندی ذکر شده است (Maheswari 1950, Johri 2012, Tanaomi *et al.* 2016, Bonifácio *et al.* 2019). بنابراین، ویژگی‌های رویان‌شناختی می‌تواند شواهد آشکاری برای تفکیک آرایه‌های نزدیک به هم فراهم نماید.

از آنجایی که کاسنیان خویشاوندی نزدیکی با *Calyceraceae* و *Goodeniaceae* دارد (Panero & Funk 2008, Funk *et al.* 2009,) (Panero *et al.* 2014)، هدف از این مطالعه، درک جزئیات در مورد تکوین گل درمنه خزری و ارتباط آن در رفع ابهامات تاکسونومیک است. اطلاعات در مورد تکوین اندام‌های تولیدمثلی نر و ماده در این جنس درک ما را از فرایند تولیدمثل آن بهبود می‌بخشد و به یافتن رابطه طبقه‌بندی با گونه‌های نزدیک مرتبط در *Anthemideae* کمک می‌کند. همچنین، این مقاله به بررسی ویژگی‌های رویانی سه تیره مذکور می‌پردازد تا اهمیت شواهد رویان‌شناسی برای جداسازی کاسنیان از دو تیره خویشاوند خود را آشکار سازد.

روش بررسی

جهت بررسی حاضر، بذر درمنه خزری از مرکز ذخایر زیستی و ژنتیکی ایران (Accession No.: IBRC P1003898) تهیه گردید. دانه‌رست‌ها با اندازه برابر بدون علایم بیماری به گلدان منتقل شدند. گیاهان در گلخانه دانشگاه بوعلی‌سینا (همدان) در دمای ۱۵/۳۰ درجه سلسیوس (روز/شب) در شرایط نور طبیعی قرار گرفتند. گیاهان در طول پاییز در شرایط طبیعی روز کوتاه وارد فاز زایشی شدند

بود (شکل ۳ a). تقسیمات آرکتوسپور باعث ایجاد دیواره بساک و بافت هاگ‌زا شد (شکل ۳ b). دیواره بساک از بیرون به درون شامل اپیدرم، لایه‌های میانی، مکانیکی و تاپی بود (شکل ۳ b). میکروسپوروسیت‌ها (یاخته‌های مادر دانه گرده) با سیتوپلاسم متراکم، هسته‌های بزرگ و متمایز از یاخته‌های بافت اطراف مشخص می‌شوند که در گونه مورد بررسی، در سه ردیف قرار گرفتند (شکل ۳ c). قبل و طی تقسیم میوزی میکروسپوروسیت‌ها، یاخته‌های تاپی تحت درون رشتمان (endomitosis) و مضاعف‌سازی درونی DNA (endoreplication) قرار گرفتند که باعث ایجاد یاخته‌های چندهسته‌ای یا یاخته‌های با هسته حجیم شدند (شکل ۳ d). با شروع میوز، در اطراف میکروسپوروسیت‌ها، کالوز شروع به تشکیل کرد که در تصاویر میکروسکوپی تهیه شده به صورت یک لایه ضخیم و شفاف در اطراف میکروسپوروسیت‌ها قابل رؤیت بود (شکل ۳ c). میوز در هر میکروسپوروسیت آغاز شد، به طوری که پروفاز I (شکل ۳ e)، متافاز I (شکل ۳ f)؛ آنافاز I (شکل ۳ g)، تلوفاز I (شکل ۳ h)، پروفاز II، متافاز II (شکل ۳ a)، آنافاز II (شکل ۳ b) و تلوفاز II (شکل ۳ c) منجر به تشکیل تترادهای میکروسپوری گردید. سیتوکینز در این گونه از نوع هم‌زمان بود (شکل ۳ d و e).

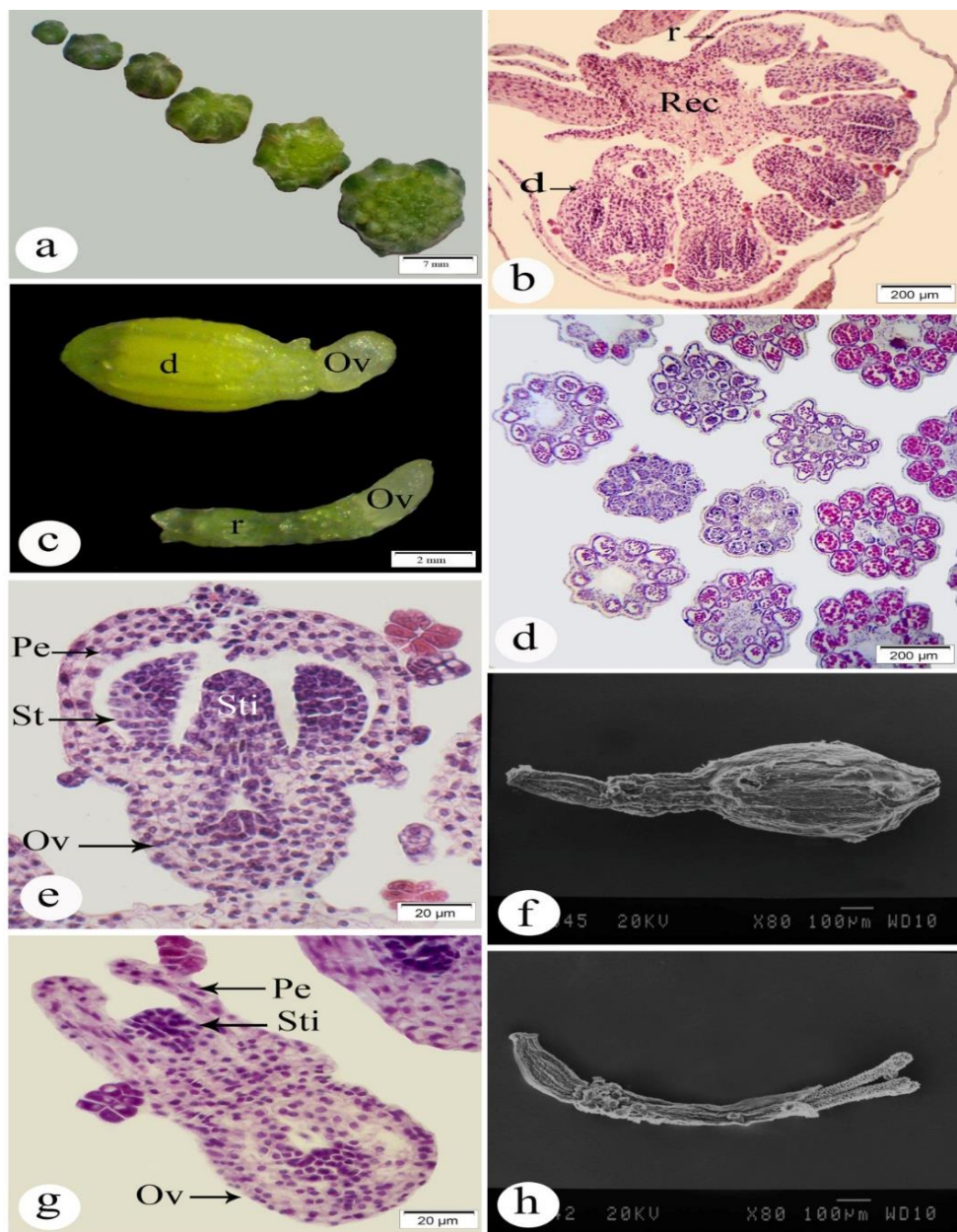
تترادهای بیشتر از نوع تتراهدال و کمتر از نوع تترائگونال بودند (شکل ۳ f). دیواره ویژه در اطراف تترادهای لایه‌لایه‌ی مواندها به خوبی قابل تشخیص بود (شکل ۳ g و h). میکروسپورها در زمان آزاد شدن هنوز واکوئله نبوده و دارای سیتوپلاسم متراکم، شکل منظم با یک هسته مشخص و قرار گرفته در مرکز یاخته بودند (شکل ۳ i). به تدریج تریپنات‌اگزین در میکروسپورها تشکیل گردید (شکل ۳ j). با توسعه واکوئل مرکزی، هسته به موقعیت کناری رانده شد (شکل ۳ a-c). تاپی از نوع ترشچی بود (شکل ۳ c). پس از بزرگ شدن میکروسپور، با انجام تقسیم میتوز، یک گامتوفیت نر دویاخته‌ای تشکیل شد که شامل یک یاخته زایشی کوچک‌تر و یک یاخته رویشی بزرگ‌تر بود (شکل ۳ d). همان‌طور که دانه‌های گرده دویاخته‌ای تشکیل شد، یاخته‌های تاپی به طور کامل تجزیه و دیواره بساک فقط شامل اپیدرم و لایه مکانیکی بود (شکل ۳ e-g). در مرحله بلوغ دانه گرده، با پاره شدن لایه مکانیکی، شکوفایی بساک به صورت درون‌گشا صورت گرفت و دانه‌های گرده پراکنده گردیدند (شکل ۳ f و g). در مراحل بلوغ به هم پیوستگی بساک‌ها مشاهده گردید (شکل ۳ b و f). دانه‌های گرده بالغ در منظر قطبی کروی (تقریباً ۲۰ میکرومتر) و از منظر استوایی کروی تا حدودی بیضوی (تقریباً ۱۵ میکرومتر) بودند (شکل ۳ h-j). دانه‌های گرده سه‌منفدی، سه‌شیری، جورقطب (isopolar) با تقارن شعاعی و zonocolporate بودند (شکل ۳ h-j).

(Wetzstein et al. 2014). برای مطالعات میکروسکوپی، گل‌آذین‌ها در اندازه‌های مختلف جدا (شکل ۱ a) و به مدت ۲۴ ساعت در تثبیت‌کننده FAA70 (فرمالدئید، اتانول و اسید استیک) تثبیت شدند. نمونه‌های تثبیت شده بعد از شستشو، به اتانول ۷۰٪ منتقل و پس از آبگیری و شفاف‌سازی، در پارافین قالب‌گیری و سپس با میکروتوم (دیده سبز، ایران) با ضخامت ۶ تا ۷ میکرومتر برش داده شدند. نمونه‌ها با استفاده از هماتوکسیلین-ئوزین رنگ‌آمیزی شدند و به وسیله میکروسکوپ نوری (LABOMED مدل LX50، دوربین دیجیتال LABOMED مدل Vu 3100، ایتالیا) مورد مطالعه قرار گرفتند. برای هر مرحله، حداقل ۲۰ گل‌آذین مورد مطالعه قرار گرفت و تصاویر از بین بهترین‌ها انتخاب شدند. نمونه‌ها قبل از پوشش طلا، در مجاورت هوا خشک شدند و سپس به منظور مطالعه دقیق‌تر توسط میکروسکوپ الکترونی (JEOL JSM 840 A at 20 kV) مشاهده گردیدند. جهت توصیف دانه‌های گرده از مطالعات پونت و همکاران (Punt et al. 2007) استفاده شد.

نتیجه

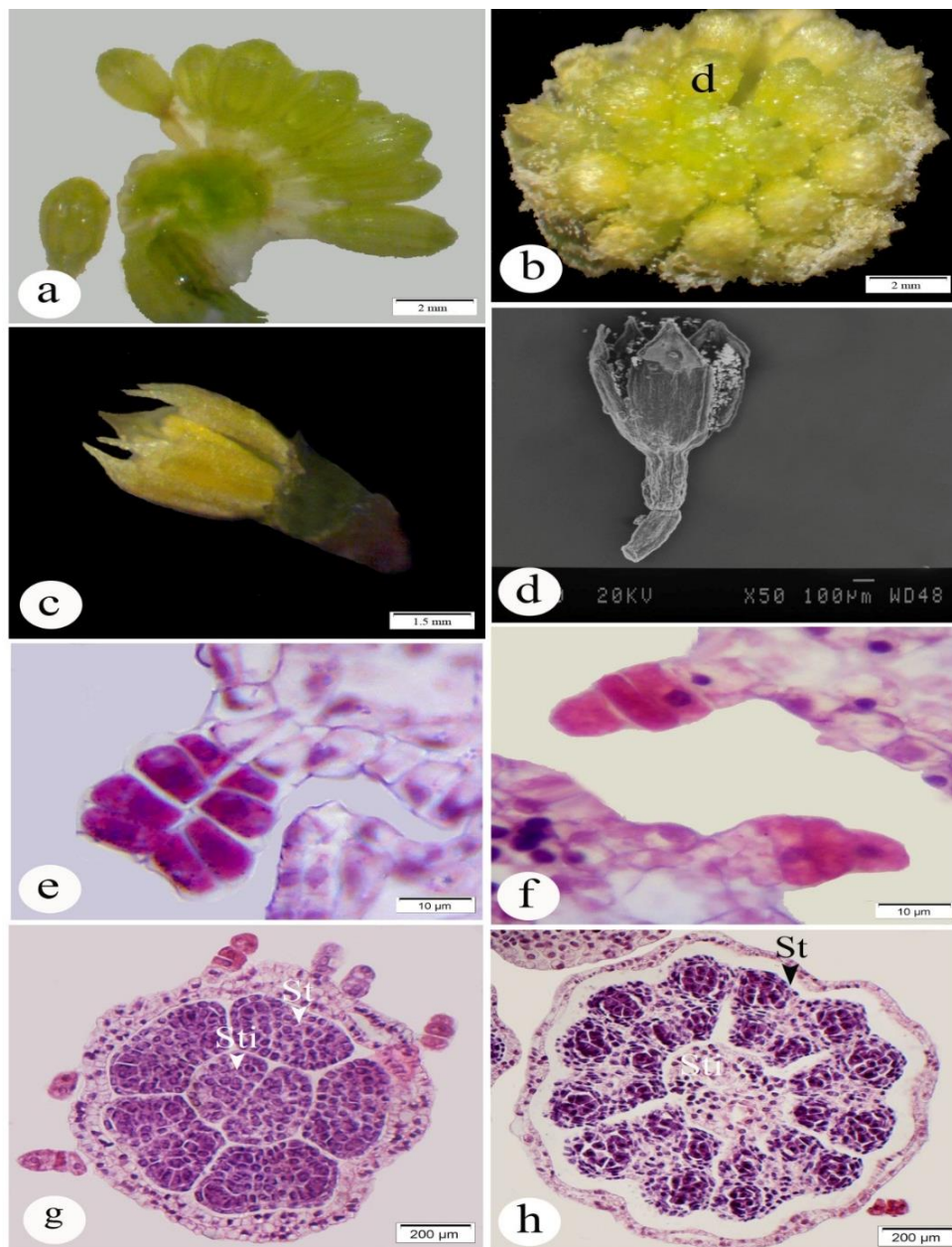
میکروسپورزایی و تکوین گامتوفیت نر

برای مطالعات میکروسکوپی، گل‌آذین‌های کلاپرک درمنه خزری در اندازه‌های مختلف استفاده شد (شکل ۱ a). گل‌آذین در کاسنیان دارای دو نوع گلچه است (شکل ۱ b): گلچه‌های دیسکی مرکزی دوجنسه (شکل ۱ c-f) و گلچه‌های شعاعی حاشیه‌ای (شکل ۱ c و h-g). گلچه‌ها فاقد دمگل و تخمدان از نوع زیرین است که به نهنج برآمده متصل هستند (شکل ۲ a). گلچه‌های کوچک (به طول کمتر از ۲ میلی‌متر) در گل‌آذین‌های کلاپرک دیسکی شکل (به عرض ۲-۳ میلی‌متر) قرار گرفته‌اند (شکل ۲ a). در مرحله بلوغ، گل‌آذین دارای گلچه‌های دیسکی پیوسته گلبرگ و زرد رنگ هستند (شکل ۲ b). جام گل تا هنگام باز شدن زنگ مانند و هنگام شکوفایی در رأس به پنج لوب نوک‌تیز مجزا تفکیک می‌شوند (شکل ۲ c و d). کرک‌های غده‌ای ده‌یاخته‌ای (شکل ۲ e) و کرک‌های چندیاخته‌ای (شکل ۲ f) در بخش‌های مختلفی از قبیل نهنج و گلبرگ گلچه‌ها وجود دارند. تکوین گلچه‌ها در گل‌آذین به این صورت بود که شکوفایی گلچه‌های شعاعی زودتر از گلچه‌های دیسکی صورت گرفت، در حالی که گلچه‌های دیسکی پروتواندیری را نشان دادند. براساس داده‌های به دست آمده از مشاهدات انجام شده در این تحقیق، گلچه‌های دیسکی دارای ۶-۵ پرچم (شکل ۲ g و h) بودند. پرچم‌ها دارای بساک‌های متشکل از چهار خانه و دو لوب بودند (شکل ۳ a و b). در مراحل اولیه نمو بساک در زیر اپیدرم، یاخته‌های آرکتوسپوری متمایز



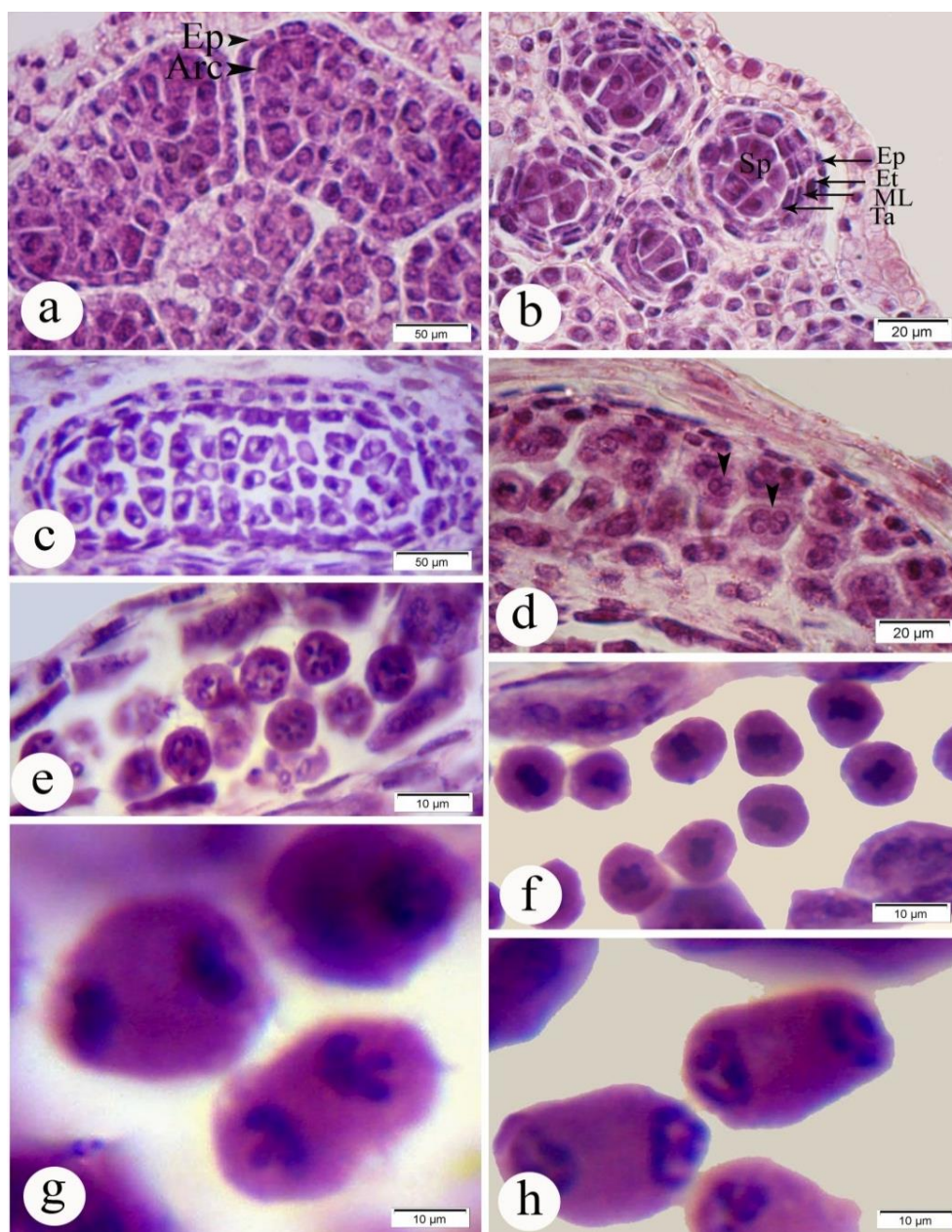
شکل ۱- گل‌آذین و گلچه‌های درمنه خزری: a. گل‌آذین‌های انتخاب شده جهت مطالعات تکوینی، b. برش طولی گل‌آذین، c. گلچه دیسکی و شعاعی، d. برش عرضی گل‌آذین، e. برش طولی گلچه دیسکی، f. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره گلچه دیسکی، g. برش طولی گلچه شعاعی، h. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره گلچه شعاعی (d = گلچه دیسکی، Ov = تخمدان، Pe = گلبرگ، r = گلچه شعاعی، Rec = نهنج، St = پرچم، Sti = کلاله).

Fig. 1. Inflorescences and florets of *Artemisia annua*: a. Capitula correspond to developmental stages, b. L.S. of capitulum, c. Ray and disk florets, d. T.S. of inflorescence, e. L.S. of disk floret, f. Disk floret with SEM, g. L.S. of ray floret, h. Ray floret with SEM (d = disk floret, Ov = ovary, Pe = petal, r = ray floret, Rec = receptacle, St = stamen, Sti = stigma).



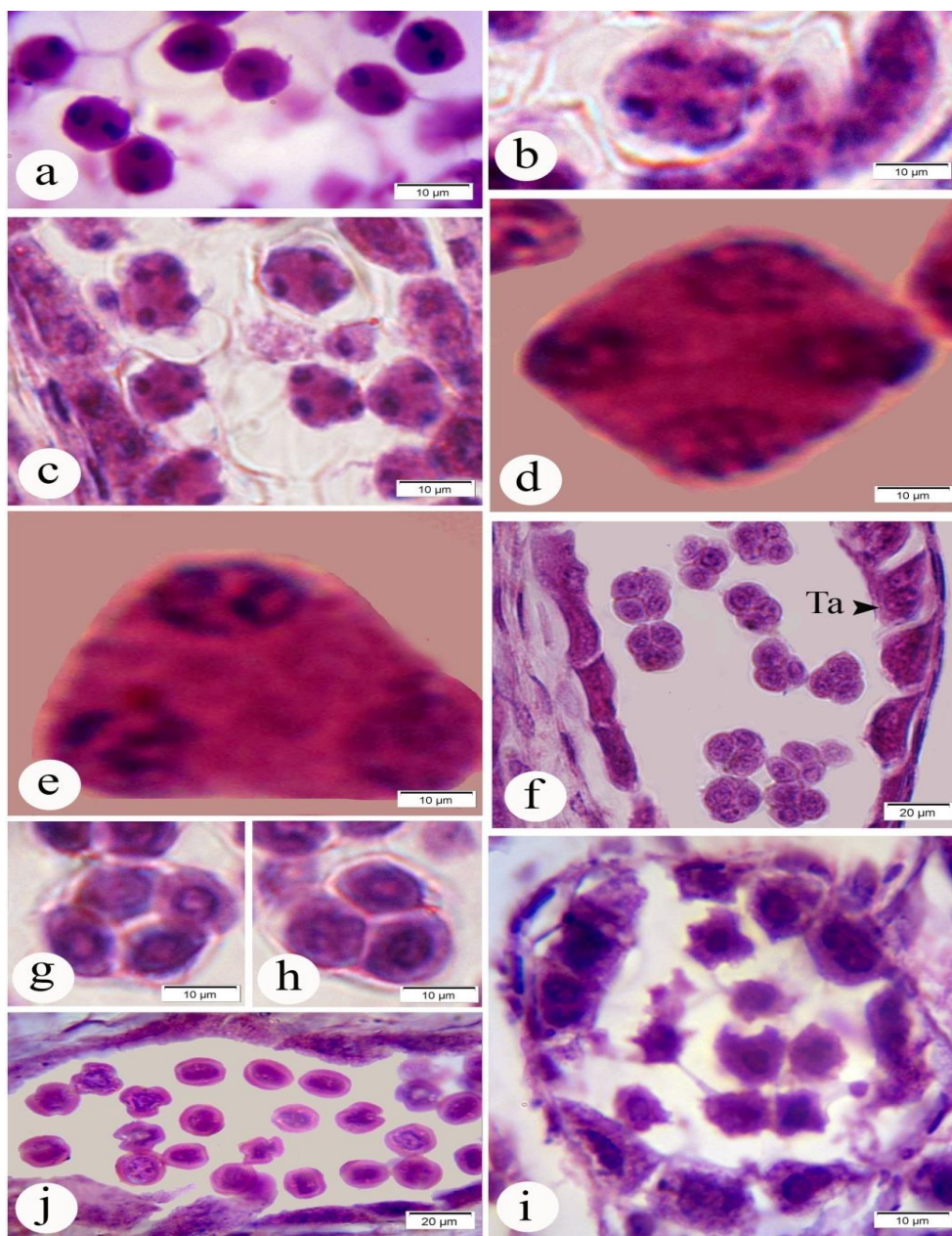
شکل ۲- تکوین بساک و دانه گرده در درمنه خزری: a. تشریح گل آذین نشان‌دهنده حضور گلچه‌های فاقد دمگل به طور سست متصل به نهنج برآمده، b. مرحله بلوغ گل آذین دارای گلچه‌های زرد رنگ، c و d. باز شدن جام گل گلچه‌های دیسکی هنگام شکوفایی گلبرگ‌ها در رأس تفکیک شده به پنج لوب نوک تیز مجزا، e. کرک غده‌ای ده‌یاخته‌ای، f. کرک چندیاخته‌ای، g و h. برش عرضی گلچه دیسکی دارای پنج و شش پرچم (d = گلچه دیسکی، St = پرچم، Sti = کلاله).

Fig. 2. Anther and pollen grain development in *A. annua*: a. Dissected inflorescence indicating sessile florets attached to a mound-shaped receptacle, b. Yellow-colored capitula at maturity stage, c, d. Petals of disk florets separated into five distinct pointed lobes at the opening, e. 10-celled glandular trichome, f. Multicellular trichome, g, h. T.S. of central disk, g, h. Florets consist of five and six stamens (d = disk floret, St = stamen, Sti = stigma).



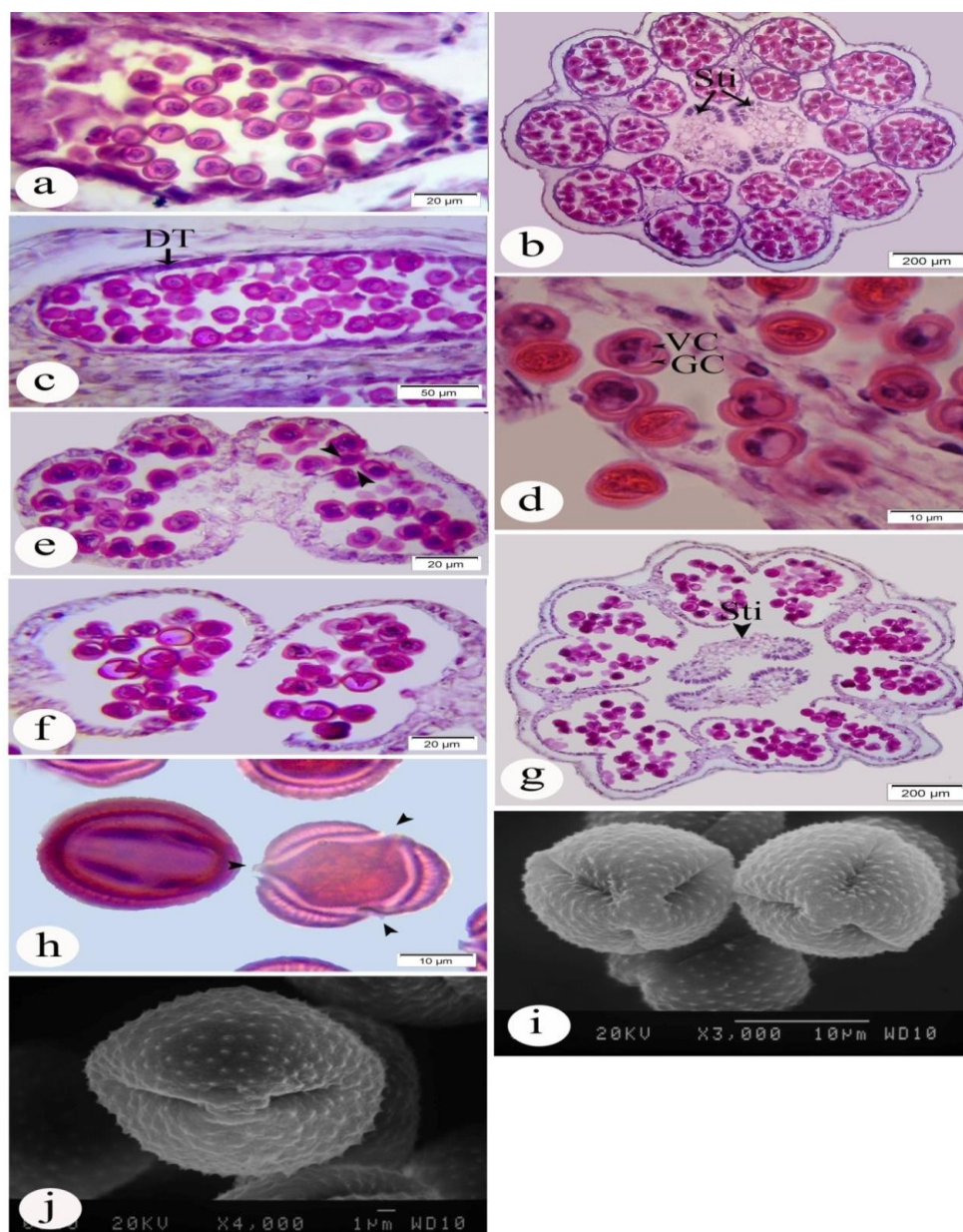
شکل ۳- تکوین بساک و دانه گرده در درمنه خزری (ادامه): a. برش عرضی بساک جوان نشان‌دهنده مراحل اولیه نمو بساک و تمایز یاخته‌های آرکتوسپوری در زیر اپیدرم، b. برش عرضی بساک جوان نشان‌دهنده بافت هاگ‌زا و دیواره بساک شامل اپیدرم، لایه‌های میانی و تاپی، c. برش طولی بساک نشان‌دهنده یاخته‌های مادر گرده، d. یاخته‌های تاپی چند هسته‌ای، e. پروفاز I در PMCs، f. متافاز I در PMCs، g. آنافاز I در PMCs، h. تلوفاز I در PMCs (Arc = آرکتوسپور، Ep = اپیدرم، Et = لایه مکانیکی، ML = لایه میانی، PMCs = یاخته‌های مادر گرده، Ta = لایه تاپی).

Fig. 3. Anther and pollen grain development in *A. annua* (continue): a. T.S. of young anther showing early stages of anther development and differentiation of archesporial cells under epidermis, b. T.S. of young anther showing sporogenous tissue and microsporangial wall consists of epidermis, endothecium, a single middle layer and tapetum, c. L.S. of anther showing pollen mother cells, d. Tapetum layer with polynuclei cells, e. Prophase I in PMCs, f. Metaphase I in PMCs, f. Anaphase I in PMCs, g. Telophase I in PMCs (Arc = arecospore, Ep = epidermis, Et = endothecium, ML = middle layer, PMCs = pollen mother cells, Ta = tapetum).



شکل ۴- تکوین بساک و دانه گرده در درمنه خزری (ادامه): a. متافاز II در PMCs، b. آنافاز II در PMCs، c. توفاز II در PMCs، d و e. توفاز II و سیتوکینز همزمان، f. تترادهای میکروسپور تتراگونال و تتراهدرال، g. تتراد میکروسپور تتراگونال، h. تتراد میکروسپور تتراهدرال، i. برش عرضی بساک در مرحله میکروسپورهای رها شده از تتراد، j. گرده‌های جوان با هسته منفرد (Ta = لایه تاپی).

Fig. 4. Anther and pollen grain development in *A. annua* (continue): a. Metaphase II in PMCs, b. Anaphase II in PMCs, c. Telophase II in PMCs, d,e. Telophase II and simultaneous cytokinesis, f. Tetrahedral and tetragonal microspore tetrads, g. Tetragonal microspore tetrad, h. Tetrahedral microspore tetrad, i. T.S. of anther at stage of release of microspores from tetrad, j. Young pollen with a single nucleus (Ta = tapetum).



شکل ۵- تکوین بساک و دانه گرده در درمنه خزری (ادامه): a. برش طولی بساک نشان دهنده میکروسپورهای واکوئله، b. اتصال بساکها به یکدیگر، c. دانه‌های گرده جوان احاطه شده با آگزین و تاپی از نوع ترشچی، d. دانه گرده بالغ دوپاخته‌ای، e. برش عرضی بساک بالغ نشان دهنده پاخته‌های تاپی تجزیه شده، اپیدرم و مکانیکی (قبل از شکوفایی، دیواره بین کیسه‌های گرده از بین رفته)، f و g. شکوفایی بساک، h. دانه‌های گرده سه‌شیاره با سه منفذ از منظر قطبی و استوایی، i و j. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره دانه گرده (DT = تاپی تحلیل رفته، GC = پاخته زایشی، Sti = کلاله، VC = پاخته رویشی).

Fig. 5. Anther and pollen grain development in *A. annua* (continue): a. L.S. showing vacuolated microspores, b. Connection of anthers to each other, c. Young pollen grains surrounded by exine, tapetum of secretory type, d. 2-celled mature pollen grains, e. T.S. of the mature anther showing degenerated tapetal cells, epidermis and endothecium (before dehiscence, wall between sporangium has disappeared), f, g. Dehiscence of anther, h. Tricolporate pollen grains in polar and equatorial view, i, j. SEM micrographs of tricolporate pollen grains (DT = degenerated tapetum, GC = generative cell, VC = vegetative cell).

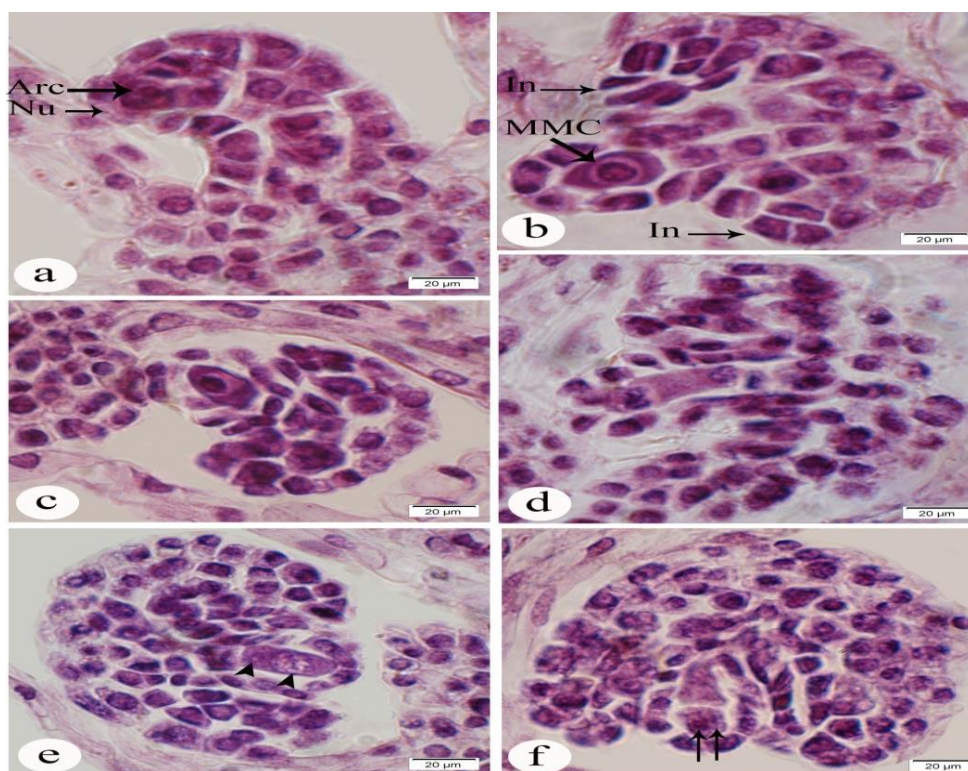
بعد از لقاح، یاخته تخم در قطب میکروپیلی شکل گرفت (شکل ۸ b-d). بعد از ادغام یاخته مرکزی با گامت نر (شکل ۸ b و c)، یاخته مرکزی به اندوسپرم تبدیل شد (شکل ۸ e و f) و لقاح یاخته مرکزی مقدم بر یاخته تخم‌زا بود. شکل‌گیری اندوسپرم از نوع یاخته‌ای بود (شکل ۸ f). بعد از تقسیمات یاخته تخم پیش‌رویانه تشکیل شد (شکل ۸ e و f). چند هسته‌ای شدن و پلی‌پلویدی در یاخته‌های آنتی‌پود مشاهده گردید (شکل ۸ e و g). کلاله در درمنه خزری از نوع دوشاخه‌ای و یاخته‌های سطحی کلاله تک‌یاخته‌ای و پاپیل‌دار بودند (شکل ۸ h-z). برخی از ویژگی‌های رویان‌شناختی درمنه خزری، کاسنیان، *Calyceraceae* و *Goodeniaceae* در جدول ۱ خلاصه شده است.

بحث

جنس درمنه گیاهانی یک‌ساله، دوساله یا چندساله هستند که در ایران دارای ۳۴ گونه با پراکنش وسیع است (Mozafarian 2008). برخی از گونه‌های این جنس هنوز نیاز به بررسی‌های بیشتری داشته زیرا از نظر طبقه‌بندی بسیار پیچیده‌اند. هیبریداسیون در گونه‌های این جنس که توسط گیاه‌شناسان مختلف شناسایی شده‌اند به سادگی رخ می‌دهد، به طوری که معمولاً تداخل ویژگی‌ها و چندشکلی‌های ریخت‌شناسی در آن‌ها دیده می‌شود. از نظر تاریخی، ریخت‌شناسی گل‌آذین و اندام زایشی، ویژگی‌های تشخیصی برای شناسایی سه زیرجنس در درمنه بوده است (Ghahreman *et al.* 2007). باتوجه به این موضوع، مطالعه دقیق ساختارهای زایشی می‌تواند ویژگی‌های تشخیصی دقیقی برای تفکیک آرایه‌های نزدیک به هم فراهم نماید.

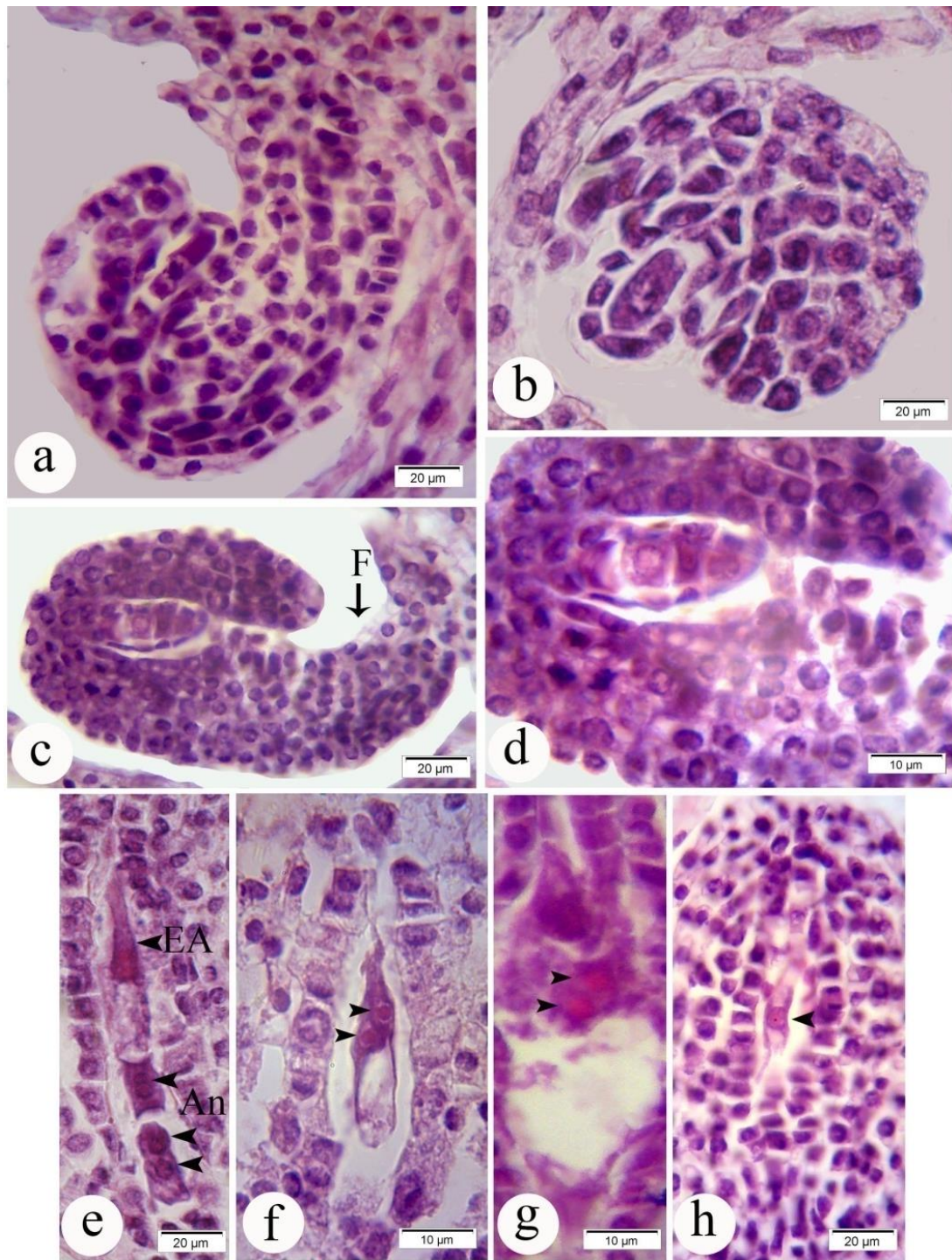
- مگاسپورزایی و تکوین گامتوفیت ماده در مراحل اولیه نمو تخمک درمنه خزری، یک یاخته زیر اپیدرمی واحد (آرکئوسپور) قابل تشخیص بود (شکل ۶ a). این یاخته بزرگ شده و از سایر یاخته‌های خورش متمایز و تبدیل به یاخته مادر مگاسپور شد (شکل ۶ b)، بنابراین تخمک از نوع کم‌خورش بود (شکل ۶ a و b). یاخته مادر مگاسپور از نظر اندازه رشد کرده (شکل ۶ c) و با ورود به میوز (شکل ۶ d) دیاد (شکل ۶ e) و سرانجام تتراد T شکل (شکل ۶ f) و خطی (شکل ۶ a) تولید شد که مگاسپور سفتی مگاسپور عملکردی بوده و به مگامتوفیت (کیسه‌رویانی) تک‌هسته‌ای تکوین یافت (شکل ۶ b). مگامتوفیت متحمل سه تقسیم میتوزی متوالی شده و کیسه‌رویانی دوهسته‌ای، چهارهسته‌ای (شکل ۶ c و d) و سرانجام هشت‌هسته‌ای (شکل ۶ e) را تشکیل داد. یاخته‌ای شدن سبب تشکیل کیسه‌رویانی هفت‌یاخته‌ای گردید (شکل ۶ e). تیپ کیسه‌رویانی از نوع پلی‌گونوم بود.

سه یاخته در قطب مجاور میکروپیل داسی شکل دستگاه تخم‌زا را ایجاد کردند (شکل ۶ e) که شامل یک یاخته میانی (تخم‌زا) و دو یاخته کناری سینرژیدها (قرینه‌ها) (شکل ۶ f) بود. دو هسته قطبی جدا شده از قطب‌های میکروپیلی و شالازی در قسمت مرکزی کیسه‌رویانی قرار گرفته و تشکیل هسته‌های قطبی را دادند (شکل ۶ g). قبل از لقاح، دو هسته قطبی با یکدیگر ادغام شده و یک یاخته مرکزی را تشکیل دادند (شکل ۶ h). ورود لوله‌گرده به تخمک از نوع سفت‌زایی (porogamous) بود (شکل ۶ a).



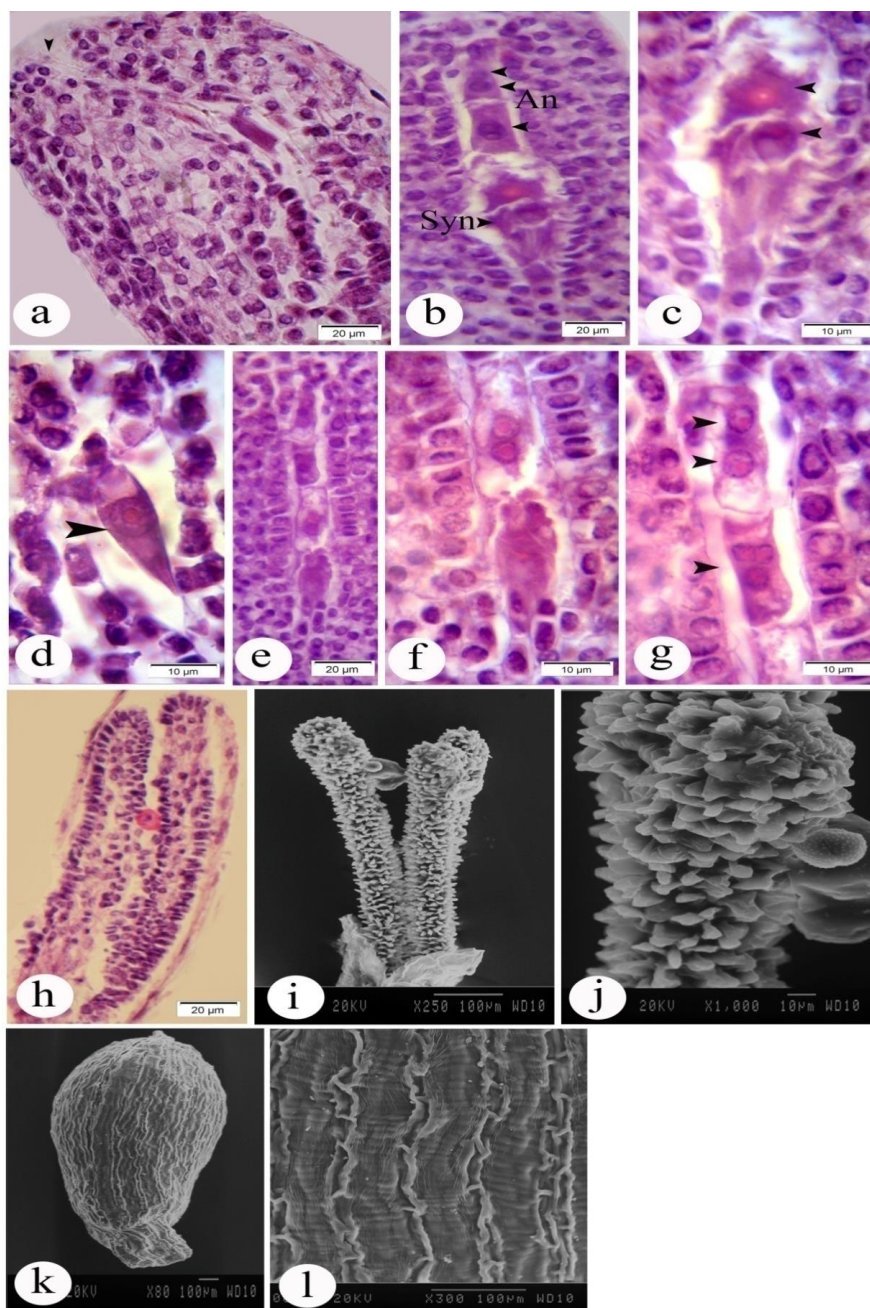
شکل ۶- تکوین تخمک و گامتوفیت ماده در درمنه خزری: a. برش طولی تخمک جوان کم‌خورش دارای یاخته آرکتوسپور، b. برش طولی تخمک جوان با یاخته مادر مگاسپور و تشکیل پوسته تخمکی، c. رشد یاخته مادر مگاسپور و ورود به تقسیم میوزی، d. تلوفاز I در MMC، e. دیاد مگاسپور، f. تتراد T شکل مگاسپورها (Arc = آرکتوسپورها، In = پوسته تخمک، Nu = خورش، MMC = یاخته مادر مگاسپور).

Fig. 6. Ovule and megagametophyte development in *A. annua*: a. L.S. of tenuinucellate ovule with single archesporial cell, b. L.S. of young ovule with megaspore mother cell (MMC) and formation of integument, c. Megaspore mother cell grows and enters the meiosis, d. Telophase I in MMC, e. Dyad of megaspore, f. T-shaped arrangement of megaspores (Arc = archesporial cells, In = integument, Nu = nucellus, MMC = megaspore mother cell).



شکل ۷- تکوین تخمک و گامتوفیت ماده در درمنه خزری (ادامه): a. تتراد خطی مگاسپورها، b. برش طولی تخمک با کیسه‌رویانی یک‌هسته‌ای، c و d. برش طولی تخمک با کیسه‌رویانی چهارهسته‌ای، e. کیسه‌رویانی بالغ، هسته‌های قطبی مشخص نیست، f. سینرژیدها، g. هسته‌های قطبی، h. یاخته مرکزی (An = آنتی‌پود، EA = دستگاه تخم، F = فونیکول).

Fig. 7. Ovule and megagametophyte development in *A. annua* (continue): a. Linear arrangement of megaspores, b. L.S. of ovule with one-nucleated megagametophyte, c, d. L.S. of ovule with 4-nucleated immature embryonic sac, e. Mature embryonic sac, polar nuclei not visible, f. Synergids, g. Polar nucleus, h. Central cell (An = antipode, EA = egg apparatus, F = funicle).



شکل ۸- تکوین تخمک و گامتوفیت ماده در درمنه خزری (ادامه): a. کیسه‌رویانی بالغ با مجرای داسی شکل میکروپیل (سر پیکان اسپرم و ورود لوله‌گرده به کیسه‌رویانی را نشان می‌دهد)، b. کیسه‌رویانی بالغ، هسته‌های مرکزی لقاح یافته، یکی از سینرژیدها از بین رفته و تخم‌زا لقاح یافته، c. یاخته تخم اصلی (پیکان پایینی) و تخم ضمیمه یا مادر آندوسپرم (پیکان بالایی)، d. یاخته تخم، e. برش طولی کیسه‌رویانی بالغ، f. تقسیمات تخم ضمیمه زودتر از تخم اصلی آغاز شده، پیش‌رویای چندیاخته‌ای حاصل از تخم اصلی مشاهده می‌شود، g. آنتی‌پودهای چندهسته‌ای و پلی‌پلویدی، h-j. خامه دوشاخه، پایلای سطح خامه مشخص، k و l. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره دانه و سطح آن (An = آنتی‌پود، Syn = سینرژید).

Fig. 8. Ovule and megagametophyte development in *A. annua* (continue): a. Mature embryonic sac with micropylar duct (head of arrow shows the entrance of pollen tube into the embryonic sac), b. Mature embryonic sac, central cell has been fertilized, one of synergids has been digested and egg is fertilized, c. Upper head of arrow indicates primary endosperm nucleus and lower head of arrow indicates zygote, d. Zygote, e. L.S. of mature embryonic sac, f. Divisions of primary endosperm nucleus preceded by egg division, proembryo from zygote is observed, g. Antipodal cells are polynuclei and polyploidy, h-j. Stigma with two arms, stigmatic papillae visible, k, l. SEM of seed and close up of its surface (An = antipode, Syn = synergid).

جدول ۱- برخی داده‌های رویان‌شناختی درمنه خزری، کاسنیان و تیره‌های مرتبط

Table 1. Some embryological data of *Artemisia annua*, *Asteraceae* and related families

Character	<i>A. annua</i>	<i>Asteraceae</i>	<i>Calyceraceae</i>	<i>Goodeniaceae</i>	Reference
No. of microsporangia	Tetrasporangiate	Bisporangiate, tetrasporangiate	-	Tetrasporangiate	(Davis 1967, Rajan 1974, Tobe & Morin 1996, Jurukova-Grančarova 1997, Franca <i>et al.</i> 2015)
Anther wall formation	Dicotyledonous type	Dicotyledonous type, mostly basic type, monocotyledonous type (<i>Asteroideae</i>)	-	Dicotyledonous type	(Johri <i>et al.</i> 2012, Brough 1927, Bonifácio <i>et al.</i> 2018, Franca <i>et al.</i> 2015)
Tapetum type	Secretory	Secretory, periplasmoidal	Secretory	Secretory	(Bonifácio <i>et al.</i> 2018, Gotelli <i>et al.</i> 2008, Maheswari 1950, Wetzstein <i>et al.</i> 2014)
Cytokinesis in meiosis	Simultaneous	Simultaneous	-	Simultaneous	(Tobe & Morin 1996)
Tetrad of microspore	Tetragonal and tetrahedral	Tetrahedral, isobilateral or cruciform	Tetrahedral or isobilateral	Tetrahedral	(Tobe & Morin 1996, Kellogg & Kubitzki 2015)
Mature pollen	2-celled	3-celled, 2-celled, 2- and 3-celled	2-celled	2-celled	(Brewbaker 1967, Yeung <i>et al.</i> 2011, Brough 1927, Maheswari Devi 1957, Yurukova-Grancharova 2004)
Thickening of pollen grain surface	Microechinate	Echinate or spinulate	Minute spinules	Coarse, fine	(Skvarla 1977, Duigan 1961, Kellogg & Kubitzki 2015)
Ovary	Inferior, unilocular	Inferior, unilocular 2 (rarely 3), united carpels	Inferior, unilocular 2 carpels	Superior, half-inferior or inferior, usually 2-locular (often incompletely so), rarely 4-locular or apparently 1-locular, 4 carpels	(Erbar 1994, Kellogg & Kubitzki 2015, Carolin 1959)

Table 1 (contd)					جدول ۱ (ادامه)
Style	Divided into 2	Divided into 2 or rarely 3	Club-like	Cup structure	(Wetzstein <i>et al.</i> 2014, Funk <i>et al.</i> 2009, Leins & Erbar 2006)
Placentation	Basal	Basal	Apical	Axile or parietal	(Funk <i>et al.</i> 2009, Hellwig 2007, Carolin 1959)
Curvature of ovules	Anatropous	Anatropous	Anatropous	Anatropous	(Johri <i>et al.</i> 2012, Tobe & Morin 1996)
Nucellus type	Tenuinucellate	Tenuinucellate	Tenuinucellate	Tenuinucellate	(Johri <i>et al.</i> 2012, Tobe & Morin 1996)
No. of integument	Unitegmic	Unitegmic	Unitegmic	Unitegmic	(Johri <i>et al.</i> 2012, Tobe & Morin 1996)
Archesperium	Unicellular	Unicellular (sometimes multicellular or rarely 2-cellular)	Unicellular	Unicellular	(Tobe & Morin 1996, Kellogg & Kubitzki 2015)
Embryonic sac	Polygonum type	Mostly: Polygonum type Rarely: Adoxa type, drusa type, oenothera type, pyrethrum cinerariaefolium	Polygonum type	Polygonum type	(Li <i>et al.</i> 2009, Tobe & Morin 1996)
Antipodal cells	Persistent	Persistent, ephemeral	Ephemeral	Ephemeral	(Lakshmi & Pullaiah 1987, Johri <i>et al.</i> 2012, Tobe & Morin 1996)
Hypostase	Not formed	Not formed	-	Formed	(Tobe & Morin 1996)
Path of pollen tube	Porogamous	Porogamous	-	Porogamous	(Tobe & Morin 1996)
Mode of endosperm formation	Cellular	Cellular, nuclear	Cellular	Cellular	(Pandey <i>et al.</i> 2014, Carolin 1966)
Endosperm in mature seed	Scant	Scant	Abundant	Scant	(Tobe & Morin 1996, Kellogg & Kubitzki 2015)

گونه‌های متعددی از کاسنیان گزارش شده است (Lakshmi & Pullaiah 1987). همچنین، در گونه *A. aucheri* که هر دو نوع لایه تاپی توسط قاسمی‌نور و همکاران (Ghaseminoor et al. 2018) مشاهده شده، با نتایج مطالعه حاضر هم‌سویی ندارد. میوز در هر میکروسپور منجر به تشکیل تتراد می‌شود و تترادها بیشتر از نوع تتراهدردال و به ندرت از نوع تترائگونال هستند. وجود تترادهای تتراهدردال و صلیبی شکل در گیاهان تیره مذکور گزارش شده است (Chaudhury et al. 2001). قاسمی‌نور و همکاران (۲۰۱۸) تترادهای بیشتر از نوع تتراهدردال و به ندرت از نوع تترائگونال و خطی را برای *A. aucheri* گزارش دادند.

تکون میکروسپوره‌های دو کیسه‌گرده هم‌جوار، هم‌زمان است. میکروسپورها در زمان آزاد شدن از تترادها فاقد واکنش و لی دارای یک سیتوپلاسم متراکم، شکل منظم با یک هسته حجیم قرار گرفته در بخش میانی می‌باشند. هسته‌ها با روش میتوز تقسیم شده و دو هسته نابرابر را به وجود می‌آورند که هسته بزرگ‌تر رویشی و هسته کوچک‌تر زایشی است. بنابراین، دانه‌گرده دوهسته‌ای و سپس دویاخته‌ای تشکیل می‌شود که با نتایج پژوهش در مورد گونه‌های *Tripleurospermum disciforme* (C.A. Mey) Schultz Bip. *Anthemis haussknechtii* Boiss. & (Chehregani et al. 2010) و *Reut.* (Shirkhani et al. 2018) هم‌خوانی و با یافته‌ها در مورد *Senecio tenuifolius* Burm. F. (Lakshmi & Pullaiah 1987) و *S. tenuifolius* L. (Chehregani et al. 2014) متفاوت بود.

نتایج این مطالعه نشان داد که در هر تخمدان فقط یک تخمک واژگون کم‌خورش وجود دارد و مادر مگاسپور موقعیت زیراپیدرمی داشت. موقعیت زیراپیدرمی یاخته مادر مگاسپور، بیشتر در سایر گونه‌های کاسنیان گزارش شده است (Chehregani et al. 2024, Shirkhani et al. 2014). در این گونه، مگاسپور سفتی از تترادها موجب تشکیل کیسه‌رویانی مونوسپوری پلی‌گونوم می‌شود و سه مگاسپور دیگر به سرعت از بین می‌روند. وجود تترادهای خطی در گیاهان این تیره به وسیله پژوهشگران دیگر گزارش شده است (Chehregani et al. 2010, Rangaswamy et al. 1986) اما وجود تتراد T شکل یک حالت نسبتاً نادر است (Chehregani et al. 2014). مگاسپور پایا، کیسه‌رویانی هشت هسته‌ای را به وجود آورده که سپس به کیسه‌رویانی بالغ تمایز می‌یابد. در این گیاه، لقاح یاخته مرکزی قبل از لقاح تخم‌زا صورت می‌گیرد. در کیسه‌رویانی تیپ پلی‌گونوم یاخته‌های آنتی‌پود در قطب مقابل یاخته تخم قرار دارند که معمولاً

مشاهدات میکروسکوپی گلچه‌های درمنه خزری نشان داد که کرک‌های غده‌ای و چندیاخته‌ای به تعداد زیاد روی گلچه‌های شعاعی و دیسکی وجود دارد. بیوسنتز و ترشح آرتیمیزینین در داخل کرک‌های غده‌ای صورت می‌گیرد (Olsson et al. 2009). کرک‌های غده‌ای از ۱۰ یاخته متشکل از دو ستون پنج‌یاخته‌ای و قلبی شکل تشکیل شده‌اند (Ferreira et al. 1995). اگرچه این نوع کرک‌ها روی براکته‌ها، نهنگ و گلبرگ‌های گلچه‌ها حضور دارند اما روی مادگی مشاهده نشدند که با نتایج مطالعات گذشته مطابقت دارد (Wetzstein et al. 2014). در مطالعات پیشین، حضور کرک‌های T شکل و غده‌ای گزارش شده است (Alejos-Gonzalez et al. 2011, Ferreira et al. 1995) ولی در مطالعه حاضر، کرک‌های T شکل مشاهده نشد. از سوی دیگر، وجود کرک‌های چندیاخته‌ای مشاهده شده در بررسی حاضر، در مطالعات گذشته گزارش نشده است. ویژگی‌های گرده‌شناسی مشاهده شده در این مطالعه، مشابه خصوصیتی است که برای جنس‌های مرتبط در کاسنیان توصیف شده است. گرده‌های سه‌شیری و سه‌منفذی برای گونه‌های *Artemisia absinthium* L. (Konowalik et al. 2012)، *A. granatensis* Boiss. (Peñas et al. 2011) و *A. aucheri* Boiss. (Ghaseminoor et al. 2018) گزارش شده است.

در گونه مورد بررسی که نمو چهارلایه‌ای دیواره بساک براساس تیپ دولپه‌ای صورت می‌گیرد، با مطالعات دیویس (Davis 1967) مطابقت دارد. براساس نتایج مطالعه حاضر، در گونه مورد نظر، لایه میانی نمو پیدا می‌کند. وجود لایه میانی پیشتر توسط پژوهشگران، در گیاهان این تیره گزارش شده است (Rangaswamy et al. 2018, Sood et al. 2000, Ghaseminoor et al. 1986). یک همبستگی آشکار بین تقسیمات میوزی در یاخته‌های مادر گرده و نمو لایه تاپی بساک وجود دارد که برای سایر گونه‌های این تیره نیز گزارش شده است (Gustafsson 1946). یاخته‌های لایه تاپی چندهسته‌ای، درجه بالای پلویدی را نشان دادند که نمایانگر فعالیت متابولیسمی بالای آن‌ها است، به طوری که از این نظر شبیه یاخته‌های آنتی‌پود کیسه‌رویانی هستند (Maheswari 1950). در نهاندانگان، دو تیپ اصلی نمو لایه تاپی بساک از نوع ترش‌حی (جداری) و آمیبی قابل تشخیص است. در گیاه مورد مطالعه، لایه تاپی از نوع ترش‌حی است که در آن تکثیر هسته‌ها صورت گرفته و تعداد هسته‌ها در هر یاخته افزایش می‌یابد. لایه تاپی آمیبی برای

رأسی و محوری یا جداری است. از سوی دیگر، تزئینات سطح دانه گرده در کاسنیان به صورت خاردار یا ریزخاردار است اما الگوهای سطح دانه‌های گرده در *Goodeniaceae*، زبر (coarse) و یا نرم (fine) است.

با توجه به محدود بودن تعداد مطالعات رویان‌شناسی در *Calyceraceae* و *Goodeniaceae* (به ویژه *Calyceraceae*)، هنوز نمی‌توان مرز بین این تیره‌های مرتبط را با اطلاعات رویان‌شناسی ارزشمند تعیین کرد. در پایان، پیشنهاد می‌گردد که گونه‌های جنس درمنه علاوه بر مطالعات گرده‌شناسی مرسوم، به لحاظ تکوین بساک و تخمک نیز مورد مطالعه قرار گیرند تا حدود تاکسونومیک آن‌ها بهتر مشخص شود.

سپاسگزاری

نگارندگان لازم می‌دانند مراتب سپاسگزاری خویش را از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه بوعلی‌سینا (همدان) ابراز نمایند.

References

- Abad, M.J., Bedoya, L.M., Apaza, L. & Bermejo, P. 2012. The *Artemisia* L. genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules* 17: 2542–2566. DOI: 10.3390/molecules17032542.
- Alejos-Gonzalez, F., Qu, G., Zhou, L.-L., Saravitz, C.H., Shurtleff, J.L. & Xie, D.-Y. 2011. Characterization of development and artemisinin biosynthesis in self-pollinated *Artemisia annua* plants. *Planta* 234: 685–697. DOI: 10.1007/s00425-011-1430-z.
- Atazadeh, N., Sheidai, M., Attar, F., Ghahremaninejad, F. & Koohdar, F. 2020. A palynological study of genus *Cousinia* Cass. (Family Asteraceae), sections *Cynaroideae* Bunge and *Platyacanthae* Rech.f. *Grana* 59: 428–443. DOI: 10.1080/00173134.2020.1781247.
- Baghaeifar, Z., Mofidinia, M. & Chehregani, A. 2017. Microsporogenesis and megasporogenesis in *Echinops ilicifolius* L. *Journal of Cellular and Molecular Researches (Iranian Journal of Biology)* 29: 349–358 (In Persian).
- Bhakuni, R.S., Jain, D.C., Sharma, R.P. & Kumar, S. 2001. Secondary metabolites of *Artemisia annua* and their biological activity. *Current Science* 8: 35–48. <https://www.jstor.org/stable/24105552>.
- Bhojwani, S.S., Bhatnagar, S. & Dantu, P. 2018. *The Embryology of Angiosperms (6th Edn)*. Vikas Publishing House. 376 pp.
- Bonifácio, S.K., Moura, L.L., Marzinek, J. & De-Paula, O.C. 2019. Comparative embryology of *Stiffitia* and *Wunderlichia* and implications for its evolution in Asteraceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 189: 169–189. DOI: 10.1093/botlinnean/boy044.
- Brough, P. 1927. Studies in the Goodeniaceae. I. The life-history of *Dampiera stricta* (R. Br.). *Proceedings of*

سه عدد بوده و از نظر اندازه و تعداد در گونه‌های این تیره تنوع نشان دادند (Baghaeifar *et al.* 2017, Chehregani *et al.* 2014). در گونه مطالعه شده، آنتی‌پودهای چندهسته‌ای و پلی‌پلوئید مشاهده شد. در این گونه پاپیلاها روی سطح کلاله درمنه در دو نوار حاشیه‌ای شکمی در امتداد دو شاخه کلاله دیده شد، همان‌طور که در برخی از اعضای این تیره نیز گزارش شده است (Wetzstein *et al.* 2014). اگرچه ویژگی‌های رویان‌شناختی در کاسنیان به خوبی شناخته شده اما ویژگی‌های رویان‌شناختی هنوز در *Calyceraceae* و *Goodeniaceae* ناشناخته باقی مانده است. براساس اطلاعات ارایه شده در جدول ۱، از نظر تزئینات سطح دانه گرده، شکل کلاله، تمکن تخمک و حضور یا عدم حضور هیپوستاز تفاوت‌های آشکاری بین کاسنیان و *Goodeniaceae* مشاهده می‌شود. همچنین، شکل کلاله و تمکن تخمک از تفاوت‌های بین کاسنیان و *Calyceraceae* محسوب می‌شود. کلاله در کاسنیان به دو یا به ندرت به سه بخش تقسیم می‌شود اما در *Calyceraceae* گرژی مانند و در *Goodeniaceae* ساختار جامی شکل دارد. تمکن در کاسنیان قاعده‌ای است اما در *Calyceraceae* و *Goodeniaceae* به ترتیب

- the Linnean Society of New South Wales 52: 471–498.
- Brewbaker, J.L. 1967. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. *American Journal of Botany* 54: 1069–1083. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1967.tb10735.x.
- Carolin, R.C. 1959. Floral structure and anatomy in the family Goodeniaceae Dumort. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* 84: 242–255.
- Chaudhury, A.M., Koltunow, A., Payne, T., Luo, M., Tucker, M.R., Dennis, E. & Peacock, W. 2001. Control of early seed development. *Annual review of cell and developmental biology* 17: 677–699. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.17.1.677.
- Chehregani Rad, A. & Hajisadeghian, S. 2014. Microsporogenesis, megasporogenesis and gametophyte development in *Senecio glaucus* L. *Thaiszia Journal of Botany* 24: 89–100.
- Chehregani Rad, A., Zarre, S. & Hajisadeghian, S. 2010. Embryology of *Tripleurospermum disciforme*: New and rare type of embryogenesis. *Iranian Journal of Plant Biology* 23: 26–34 (In Persian).
- Crespo-Ortiz, M.P. & Wei, M.Q. 2012. Antitumor activity of artemisinin and its derivatives: from a well-known antimalarial agent to a potential anticancer drug. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 247597. DOI: 10.1155/2012/247597.
- Davis, G.L. 1967. *Systematic Embryology of the Angiosperms*. John Wiley & Sons. 528 pp.
- Duke, S.O. & Paul, R.N. 1993. Development and fine structure of the glandular trichomes of *Artemisia annua* L. *International Journal of Plant Sciences* 154: 107–118. <https://www.jstor.org/stable/2995610>.
- Duigan, S.L. 1961. Studies of pollen grains of plants native to Victoria, Australia. 1. Goodeniaceae (including *Brunonia*). *Proceedings of the Royal Society of Victoria* 74: 87–109.
- Erbar, C. 1993. Studies on the floral development and pollen presentation in *Acicarpa tribuloides* with a discussion of the systematic. *Botanische Jahrbucher* 115: 325–350.
- Ferreira, J.F. & Janick, J. 1995. Floral morphology of *Artemisia annua* with special reference to trichomes. *International Journal of Plant Sciences* 156: 807–815. <https://www.jstor.org/stable/2475112>.
- Franca, R.D.O., De-Paula, O.C., Carmo-Oliveira, R. & Marzinek, J. 2015. Embryology of *Ageratum conyzoides* L. and *A. fastigiatum* R.M. King & H. Rob. (Asteraceae). *Acta Botanica Brasilica* 29: 8–15.
- Funk, V.A., Stuessy, T., Susanna, A. & Bayer, R. 2009. Systematics, evolution, and biogeography of Compositae. *International Association for Plant Taxonomy, Institute of Botany, University of Vienna, Vienna*. 965 pp.
- Ghahraman, A., Nourbakhsh, N., Mehdi, G.K. & Atar, F. 2007. Pollen morphology of *Artemisia* L. (Asteraceae) in Iran. *The Iranian Journal of Botany* 13: 21–29. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.1029788.1386.13.1.5.3>.
- Ghahremaninejad, F. 2004. Value of trichome characteristics for the separation of bifurcating hairy *Astragalus* L. (Fabaceae) at the sectional level. *Turkish Journal of Botany* 28: 241–245. <https://journals.tubitak.gov.tr/botany/vol28/iss1/26>.
- Ghaseminoor, E., Chehregani, A., Mohsenzadeh, F. & Tanaomi, N. 2018. The development of inflorescence, flower, ovule and pollen grains in *Artemisia aucheri*, 20th National and 8th. International Congress on Biology of Iran.

- Gotelli, M.M., Galati, B.G. & Medan, D. 2008. Embryology of *Helianthus annuus* (Asteraceae). *Annales Botanici Fennici* 45: 81–96. DOI: 10.5735/085.045.0201.
- Gustafsson, A. 1946. Apomixis in higher plants. Part 1. The Mechanism of Apomixis. Lunds University. Asskrift NF 42: 1–66.
- Hayat, M.Q., Khan, M.A., Ashraf, M. & Jabeen, S. 2009. Ethnobotany of the genus *Artemisia* L. (Asteraceae) in Pakistan. *Ethnobotany Research and Applications* 7: 147–162. Retrieved from <https://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/279>.
- Hellwig, F.H. 2007. Calyceraceae. In: Kadereit, J.W., Jeffrey, C. (eds), *Flowering plants; Eudicots. The Families and Genera of Vascular Plants*, Vol. 8. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-540-31051-8_4.
- Hussain, A. 2020. The genus *Artemisia* (Asteraceae): A review on its ethnomedicinal prominence and taxonomy with emphasis on foliar anatomy, morphology, and molecular phylogeny: ethnomedicinal prominence and taxonomy of *Artemisia*. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: B. Life and Environmental Sciences* 57: 1–28.
- Johri, B.M. 2012. *Embryology of angiosperms*. Springer Science & Business Media. 860 pp.
- Jurukova-Grančarova, P. 1997. A cytoembryological study of *Sonchus asper* (Asteraceae). *Bocconea* 5: 717–720.
- Konowalik, K. & Kreitschitz, A. 2012. Morphological and anatomical characteristics of *Artemisia absinthium* var. *absinthium* and its Polish endemic variety *A. absinthium* var. *calcigena*. *Plant Systematics and Evolution* 298: 1325–1336. DOI: 10.1007/s00606-012-0639-z.
- Kellogg, E.A. & Kubitzki, K.E. 2015. The families and genera of vascular plants. Vol. XIII. Flowering Plants. Monocots. Poaceae. Springer New York. 520 pp.
- Lakshmi, P.S. & Pullaiah, T. 1987. Embryology of *Senecio tenuifolius* Burm.f. (Asteraceae). *Taiwania* 32: 208–213. DOI: 10.6165/tai.1987.32.208.
- Leins, P. & Erbar, C. 2005. Secondary pollen presentation syndromes of the Asterales—a phylogenetic perspective. *Botanische Jahrbucher fur Systematik Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 127: 83–104. DOI: 10.1127/0006-8152/2006/0127-0083.
- Li, J., Nianjun, T., Fadi, C., Sumei, C., Chunqing, S. & Weimin, F. 2009. Reproductive characteristics of *Opisthopappus taihangensis* (Ling) Shih, an endangered Asteraceae species endemic to China. *Scientia Horticulturae* 121: 474–479. DOI: 10.1016/j.scienta.2009.02.025.
- Maheswari, P. 1950. *An introduction to the embryology of angiosperms*. New York, McGraw-Hill. 466 pp.
- Maheswari Devi, H. 1957. Embryological studies in Compositae. *Proceedings: Plant Sciences* 46: 68–74.
- Mbagwu, F.N. & Edeoga, H.O. 2006. Palynological studies on some Nigerian species of *Vigna* Savi. *Journal of Biological Science* 6: 1122–1125. DOI: 10.3923/jbs.2006.1122.1125.
- Mohsenzadeh, S., Sheidai, M., Ghahremaninejad, F. & Koohdar, F. 2020. A palynological study of the genus *Plantago* (Plantaginaceae). *Grana* 59: 454–465. DOI: 10.1080/00173134.2020.1736147.
- Mozafarian, V. 2008. *Artemisia* L.: Flora of Iran. No. 59, Assadi, M. (Chief ed.), RIFR. Tehran.
- Noroozi, M., Ghahremaninejad, F., Bogler, D., Witherspoon, J.M., Ryan, G.L., Miller, J.S., Riahi, M. & Cohen, J.I. 2022. Parsing a plethora of pollen: the role of pollen size and shape in the evolution

- of Boraginaceae. *Cladistics* 38: 204–226. DOI: 10.1111/cla.12488.
- Olsson, M.E., Olofsson, L.M., Lindahl, A.-L., Lundgren, A., Brodelius, M. & Brodelius, P.E. 2009. Localization of enzymes of artemisinin biosynthesis to the apical cells of glandular secretory trichomes of *Artemisia annua* L. *Phytochemistry* 70: 1123–1128. DOI: 10.1016/j.phytochem.2009.07.009.
- Peñas, J., Moreno, J.L., Alba-Sánchez, F. & Taisma, M.A. 2011. Self-incompatibility, floral parameters, and pollen characterization in the narrow endemic and threatened species *Artemisia granatensis* (Asteraceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 68: 97–105. DOI: 10.3989/ajbm.2276.
- Panero, J.L., Freire, S.E., Espinar, L.A., Crozier, B.S., Barboza, G.E. & Cantero, J.J. 2014. Resolution of deep nodes yields an improved backbone phylogeny and a new basal lineage to study early evolution of Asteraceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 80: 43–53. DOI: 10.1016/j.ympev.2014.07.012.
- Panero, J.L. & Funk, V.A. 2008. The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the Asteraceae revealed. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47: 757–782.
- Pınar, N.M. & Dönmez, E.O. 2000. Pollen morphology of some Turkish endemic *Helichrysum* Gaertner species (Compositae). *Pakistan Journal of Botany* 32: 295–301.
- Rajan, S.S. 1974. Embryological studies in compositae. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section B* 79: 267–282. DOI: 10.1007/BF03045458.
- Pandey, A.K., Stuessy, T.F. & Mathur, R.R. 2014. Phytomelanin and systematics of the *Heliantheae alliance* (Compositae). *Plant Diversity and Evolution* 131: 145–165. DOI: 10.1127/1869-6155/2014/0131-0077.
- Punt, W., Hoen, P.P., Blackmore, S., Nilsson, S. & Le Thomas, A. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology* 143: 1–81. DOI: 10.1016/j.revpalbo.2006.06.008.
- Rangaswamy, V. & Pullaiah, T. 1986. Studies in the embryology of *Senecio candicans* Dc. (Compositae). *Journal of the Indian Botanical Society* 65: 509–512.
- Sood, S. & Kumar, N. 2000. Investigations on embryology of *Inula cuspidata* Clarke (Asteraceae). *Journal of Indian Botanical Society* 79: 93–95.
- Skvarla, J.J., Turner, B.L., Patel, V.C. & Tomb, A.S. 1977. Pollen morphology in the Compositae and in morphologically related families. *Academic Press* 141–256.
- Shirkhani, Z., Chehregani Rad, A. & Azizi, K. 2024. Characterization of male and female gametophyte development in *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)* 37: 16–29. DOI: 10.22034/cmr.2024.2319.
- Stix, E. 1960. Pollenmorphologische untersuchungen an Compositen. *Grana* 2: 41–104. DOI: 10.1080/00173136009429443.
- 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* 6: 256–266. DOI: 10.1080/00087114.2016.1179460.
- Tobe, H. 1989. The embryology of angiosperms: its broad application to the systematic and evolutionary study. *Journal of Plant Research* 102: 351–367.
- Vallès, J., Torrell, M., Garnatje, T., Garcia-Jacas, N., Vilatersana, R. & Susanna, A. 2003. The genus *Artemisia* and its allies: phylogeny of the subtribe

- Artemisiinae (Asteraceae, Anthemideae) based on nucleotide sequences of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers (ITS). *Plant Biology* 5: 274–284. DOI: 10.1055/s-2003–40790.
- Wetzstein, H.Y., Porter, J.A., Janick, J. & Ferreira, J.F. 2014. Flower morphology and floral sequence in *Artemisia annua* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 101: 875–885. DOI: 10.3732/ajb.1300329.
- Yeung, E.C., Oinam, G.S., Yeung, S.S. & Harry, I. 2011. Anther, pollen and tapetum development in safflower, *Carthamus tinctorius* L. *Sexual Plant Reproduction* 24: 307–317. DOI: 10.1007/s00497-011-0168-x.
- Yurukova-Grancharova, P.D. 2004. On the embryology of *Leontodon autumnalis* (Asteraceae). *Phytologia Balcanica* 10: 85–91.
- Zarre, S. 2003. Hair micromorphology and its phylogenetic application in thorny species of *Astragalus* (Fabaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 143: 323–330. DOI: 10.1046/j.1095-8339.2003.00220.x.