



## بررسی ساختار اندام‌های رویشی و تکوین اندام‌های زایشی کرفس سفید (*Haussknechtia elymaitica* Boiss.)

مهدی زرینی، احمد مجد\*، گلناز تجدد، صدیقه مهربان، سایه جعفری

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

\*E.mail: ahmad\_majd2005@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱۸

### چکیده

کرفس سفید متعلق به تیره چتریان (Apiaceae) است. با توجه به اهمیت شناخت مراحل تکوینی در گسترش دانش زیست شناسی، گیاه *Haussknechtia elymaitica* یا کرفس سفید که یک گونه دارویی کمیاب و بومی ایران است برای این پژوهش انتخاب شد. نمونه اندام‌های رویشی و زایشی در مراحل متفاوتی از تکوین انتخاب و با استفاده از روش‌های سلول- بافت شناسی بررسی شدند. مشاهده ساختار اندام‌های رویشی نشان داد که در بین بافت‌های پارانشیمی برگ و ساقه، حفره ترش‌چی قرار دارد. برش غنچه‌های گل نشان داد که بساک‌ها دارای چهار کیسه گرده بوده و تقسیم سلول‌های مادر گرده از نوع همزمان، تترادهای میکروسپور از نوع چهار وجهی و لایه مغذی از نوع ترش‌چی است. تخمدان دو بر چه و دو خانه، تخمک واژگون و تک پوسته ای است. نمو کیسه رویانی نیز الگوی عمومی دو لپه ای را دارد. در بررسی رویان زایی، رویان کروی، قلبی، لپه‌ای و اژدری و گذر از رویان کروی به قلبی مشاهده شد. اندام‌های رویشی کرفس سفید دارای ساختار عمومی دو لپه‌ای‌ها است. الگوهای تکوین تخمک و کیسه رویانی از نهان دانگان و تیپ پلی گونوم تبعیت می‌کنند. تترادهای میکروسپور دارای تنوع بوده و از سه نوع تتراهدرال، تتراکونال و خطی است. در بررسی رویان زایی نیز کلیه مراحل رویانی مشاهده شد.

**کلیدواژه‌ها:** تکوین، چتریان، دانه گرده، رویان زایی، میکروسپور

### مقدمه

بخوبی متمایز می‌سازد. این تیره دارای ۴۵۵ جنس و ۳۶۰۰ تا ۳۷۵۱ گونه در مناطق معتدل و مرتفع نیمکره شمالی است [۲۹].

تیره چتریان یکی از تیره‌های بزرگ گیاهی است که وجود گل آذین چتری و برگ‌های غالباً مرکب از بریدگی‌های باریک و نازک، آنها را از سایر گیاهان

### جنس *Haussknechtia* (کرفس سفید)

نام فارسی این گیاه کرفس سفید می‌باشد و در انگلیسی به آن *johour* می‌گویند. این جنس در ایران یک گونه گیاه دائمی به نام *H. elymaitica* دارد که اغلب در نواحی کوهستانی و جنگل‌های بلوط زاگرس در استان‌های کهگیلویه و بویراحمد، چهارمحال بختیاری، ایلام و لرستان می‌روید. این گیاه بومی ایران است و تا به حال از هیچ نقطه دیگری در جهان گزارش نشده است [۲۲]. قسمت‌های هوایی کرفس سفید دارای ترکیباتی نظیر ترانس آسارون، ترانس-متیل ایزواوژنول و آسارونیک اسید می‌باشد و به همین علت دارای خواص دارویی ضد صرع، ضد سنگ کیسه صفرا و کاهش دهنده چربی خون می‌باشد [۲۰]. مردم محلی در طب سنتی از قسمت‌های مختلف این گیاه به عنوان چاشنی غذا استفاده نموده و نیز از آن به عنوان یک گونه گیاهی ضد دیابت و کاهنده استرس و تنش یاد شده است [۱۹]. اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قسمت‌های مختلف گیاه کرفس سفید مورد بررسی قرار گرفته و تأیید شده است [۳۱].

در سال‌های اخیر به زیست‌شناسی زایشی تکوینی بیشتر توجه شده است که بررسی مراحل مختلف تکوین، یعنی اندام‌زایی، تکوین پرچم و دانه‌گرده، تکوین تخمک و مگاکامتوفیت را شامل می‌شود. توسعه دانش زیست‌شناسی تکوینی و مطالعه چگونگی و مراحل تکوین اندام‌های تولید مثلی، برای حفظ گیاهان، به ویژه گیاهان نادر و در حال انقراض و با اهمیت در بخش کشاورزی ضروری است [۱۲]. چرخه زندگی گیاهان گل‌دار شامل یک مرحله دیپلوئید اسپوروفیت و یک مرحله هاپلوئید گامتوفیت می‌باشد. طی فرایند تولید مثل جنسی، گامتوفیت (زادانه‌های گرده) و ماده (کیسه رویانی) تشکیل

می‌شوند و سرانجام پس از لقاح موفق میوه و دانه به وجود می‌آید [۳۰]. با توجه به بررسی‌های مرجع شناسی انجام شده، اطلاع دقیقی در زمینه ساختار تشریحی تکوینی گیاه کرفس سفید در دسترس نیست و در زمینه تکوین اندام‌های زایشی آن پژوهشی انجام نشده است، بنابراین بررسی ساختار تشریحی-تکوینی اندام‌های رویشی و زایشی این گیاه با روش‌های سلول-بافت شناختی از اهداف این پژوهش است.

### مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی تحت آزمایش کرفس سفید شامل ریشه، ساقه، گل، برگ و بذر از منطقه کوهستانی تختان شهرستان دهلران (استان ایلام) از اواخر فروردین تا اواخر شهریور ۱۳۹۵ جمع‌آوری شدند. برای بررسی بخش‌های رویشی نمونه‌ها در فیکساتور مناسب (الکل-گلیسرین به نسبت ۱ به ۱) نگهداری شدند و سپس برش‌های نازک دستی از آن‌ها گرفته شد. پس از عبور نمونه‌ها از آب ژاول و اسید استیک و شستشو با آب مقطر، رنگ آمیزی مضاعف (متیلن بلو-کارمن زاجی) انجام شد و تهیه عکس از برش‌ها با میکروسکوپ نوری Nikon - ECLIPSE - E200 انجام گرفت. بخش‌های زایشی در مراحل مختلف تکوین با فیکساتور فرمالدئید ۳۷ درصد، اتانول ۹۶ درصد و استیک اسید خالص با نسبت ۱۷، ۲، ۱ میلی لیتر تثبیت شدند و نمونه‌ها با توجه به ضخامت و مراحل مختلف تکوینی به مدت ۲۰-۱۵ ساعت در فیکساتور نگهداری شدند. سپس مراحل آماده‌سازی نمونه (شستشو، آبگیری با درجات افزایشی الکل، شفاف‌سازی در نسبت‌های مختلف الکل/تولونن، پارافین دهی، قالب‌گیری، آرایش بلوک پارافینی و سوار کردن بلوک) انجام شد [۱۵]. سپس با استفاده از

در برش طولی ریشه (شکل ۲)، در نوک ریشه کلاهک مشاهده شد. از بخش‌های دیگری که مشاهده شد مریستم ریشه بود که شامل بخش‌های زیر است: اولین منطقه کالیپتروژن یا کلاهک‌زا است که در لبه داخلی کلاهک قرار دارد. در بالای این منطقه مرکز آرام یا مریستم خفته ریشه جای گرفته است. سومین منطقه، منطقه آرام است که بالای مرکز آرام ریشه قرار دارد و در بخش‌های تمایز یافته ریشه (منطقه بلوغ) بافت آبکش و بافت چوب مشاهده می‌شوند.

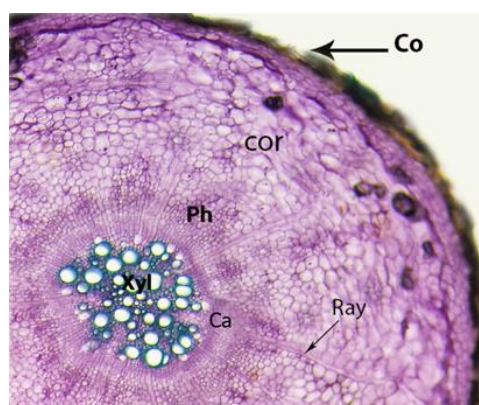
در برش عرضی ساقه (شکل ۳)، از خارج به داخل اپیدرم (Epi) به صورت یک لایه سلول‌های فشرده، منظم با سطح کوتینی شده و رنگ پذیری قرار دارد. در زیر اپیدرم یکی دو لایه سلول‌های فشرده و منظم (هیپودرم (Hyp)) و سپس پارانشیم پوستی (Cop) در چند لایه سلولی دیده می‌شود. در پارانشیم پوستی حفره‌های ترش‌حی (Sc) فراوان وجود دارند که روی آن‌ها به وسیله کلاهک کلانشیمی (Col) گرفته شده است. کلانشیم از نوع گوشه‌دار است. در ساختار استوانه مرکزی دسته‌های آوندهای آبکشی-چوبی (Xyl-Phl) و در حد واسط آن‌ها سلول‌های پروکامبیومی که کم و بیش به صورت سلول‌های کامبیومی (Ca) تکامل یافته اند دیده می‌شوند. لایه کامبیوم چوب آبکش شامل دو بخش بین هر دسته چوب آبکش (Fascicular Cambium) و بین دسته‌های چوب آبکش (Interfascicular Cambium) است. آثار اولیه‌ای از تشکیل چوب پسین (Scl) قابل مشاهده است. بخش میانی ساقه به وسیله پارانشیم مغز (Pi) اشغال شده است.

میکروتوم چرخان دستی مدل Leica 820 ساخت کشور آلمان از قالب‌ها، برش‌هایی به ضخامت ۸ تا ۱۰ میکرون تهیه شد. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اُوزین انجام شد و با میکروسکوپ نوری تحت بررسی قرار گرفت.

## نتایج

### بررسی ساختار تشریحی اندام‌های رویشی

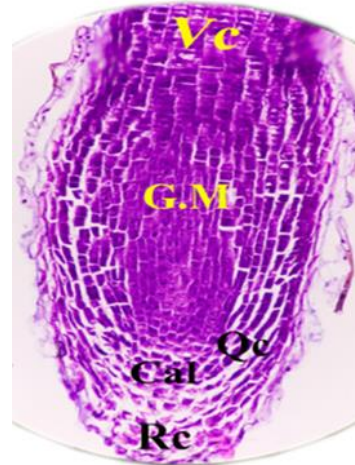
در برش عرضی ریشه (شکل ۱)، از بیرون به سمت داخل ابتدا ریزودرم دیده می‌شود که به سرعت جای خود را به بافت چوب پنبه ای شده می‌دهد. سپس بخش پارانشیم پوست یا کورتکس مشاهده می‌شود. در قسمت استوانه مرکزی کامبیوم آوندی وجود دارد که آوندهای آبکش پسین به رنگ صورتی یا بنفش در سمت خارج کامبیوم آوندی و آوندهای چوب پسین با رنگ سبز به سمت داخل مشاهده می‌شوند. همچنین در قسمت‌هایی از بافت ریشه ریون آبکش مشاهده شد که از سلول‌های رویی بافت پوست تا آوندهای آبکش در مرکز ریشه امتداد داشتند.



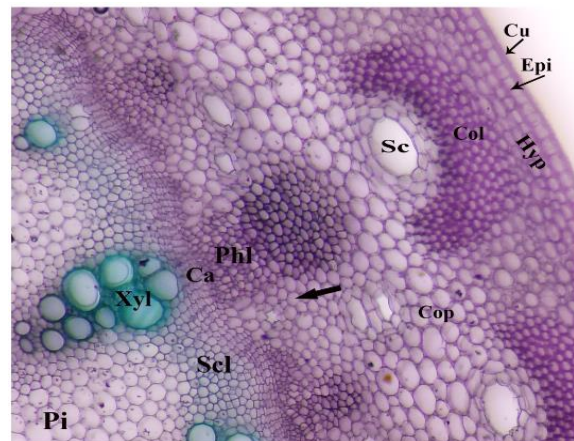
شکل ۱) برش عرضی ریشه *H. elymaitica*: Co چوب پنبه، Cor پوست، Ca کامبیوم آوندی، Xyl آوند چوبی، Ph آوند آبکش پسین، Ray ریون آبکش (بزرگنمایی ۱۰X).

ترشچی، Scl اسکلرانسیم، Xyl دسته آوند چوب، Phl دسته آوند  
ابکش، Pi پارانشیم مغز (بزرگنمایی  $\times 10$ ).

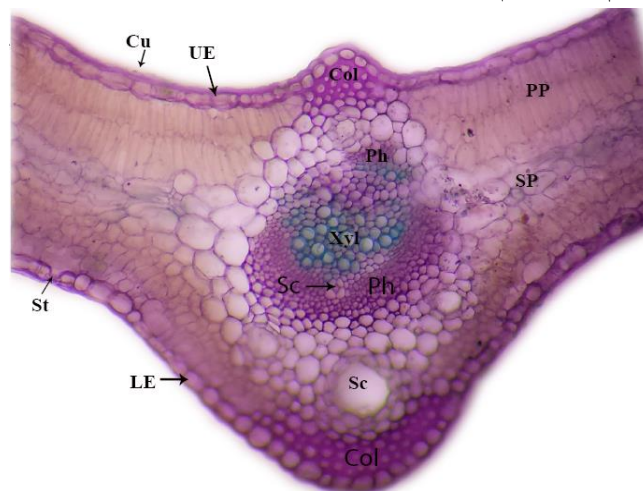
برش عرضی برگ (شکل ۴)، از بیرون به درون شامل بافت‌های زیر می‌باشد: یک لایه سلول‌های اپیدرمی با رنگ پذیری زیاد و دیواره‌های ضخیم، که لایه کوتیکولی نسبتاً ضخیمی بر سطح بیرونی این سلول‌ها دیده می‌شود. پس از این ردیف سلولی، دو لایه سلول بافت پارانشیم نردبانی وجود دارد و درست بالای دسته‌های آوندی از ناحیه زیر اپیدرمی بافت کلانشیم به اندازه ۵ تا ۸ ردیف سلولی قرار دارد که با رنگ‌آمیزی با کارمن زاجی به رنگ صورتی و با سلول‌هایی با دیواره ضخیم قابل مشاهده هستند. در زیر هر بخش کلانشیمی یک حفره‌ی ترشچی قرار گرفته و در زیر آن دسته آوندهای چوب و آبکش وجود دارد. دسته‌های آوندی به طور یک در میان بزرگ و کوچک هستند که دسته‌های کوچک‌تر مربوط به انشعابات ریزتر رگبرگ‌ها می‌باشند. حفره‌های ترشچی ریزتر در پارانشیم حفره‌ای مغز برگ پراکنده اند که تعداد آن‌ها در نواحی حاشیه‌ای و در مجاورت دسته‌های آوندی بیشتر می‌باشد در زیر دسته‌های آوندی در مجاور آوندهای چوب حفره‌ی ترشچی مشاهده شد.



شکل ۲) برش طولی انتهایی ریشه *H. elymaitica*: G.M مرستیم زمینه، Rc کلاهک ریشه، Cal کالیپتروژن، Qc مرکز آرام، Vc استوانه آوندی (بزرگنمایی  $\times 10$ ).



شکل ۳) برش عرضی ساقه *H. elymaitica*: Cu کوتیکول، Epi اپیدرم، Cop پارانشیم پوست، Col کلانشیم، Ca کامبیوم، Sc حفره



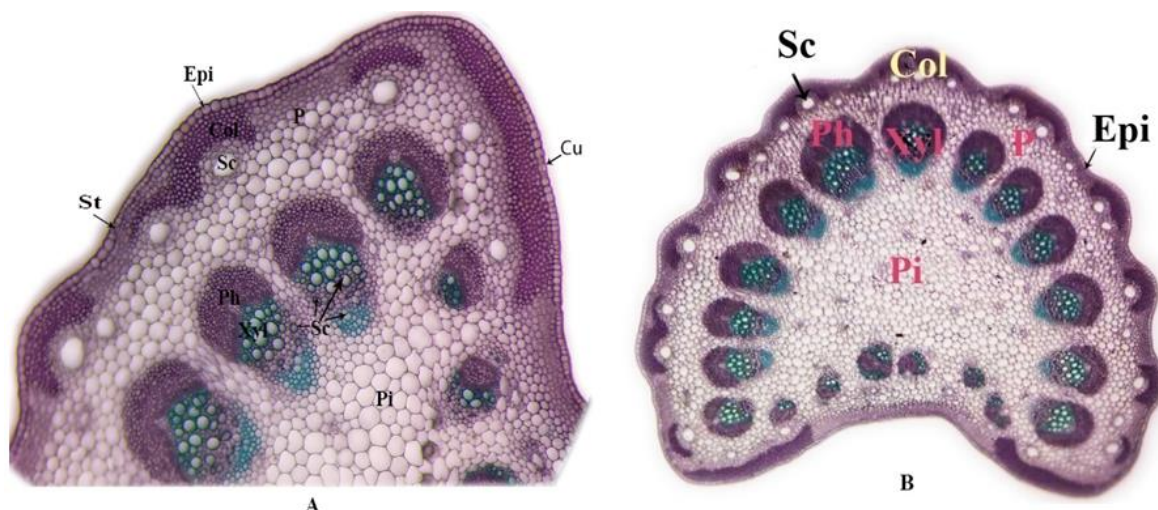
شکل ۴) برش عرضی برگ *H. elymaitica*: Cu کوتیکول، UE اپیدرم زبرین، LE اپیدرم زیرین، PP پارانشیم نردبانی، SP پارانشیم اسفنجی، Col کلانشیم، Sc حفره ترشچی، Xyl دسته آوند چوب، Phl دسته آوند آبکش، St روزنه (بزرگنمایی  $\times 10$ ).

بساک در گونه کرفس سفید از نوع چهار کیسه گرده ای است. در مراحل اولیه نمو بساک در زیر اپیدرم ۴ الی ۵ ردیف سلول آرکتوسپوری تمایز پیدا می کنند. سلول های آرکتوسپور با سیتوپلاسم متراکم و هسته حجیم خود قابل تشخیص اند (شکل ۶A). این سلول ها به صورت مماسی تقسیم شده و تشکیل سلول های بیرونی (سلول جداری) و سلول داخلی یا هاگرا را می دهند (شکل ۶B). دیواره بساک از تقسیمات سلول جداری بوجود می آید که لایه های بساک در این نمونه متشکل از چهار لایه است که به این ترتیب می باشند: لایه رو پوست، لایه مکانیکی، لایه میانی و لایه مغزی که تعداد هر یک از این لایه ها از یک عدد تجاوز نمی کند (شکل ۷). سلول های بافت هاگرای به وجود آمده از سلول های آرکتوسپور به سلول های مادر گرده (میکروسپوروسیت) تمایز پیدا می کنند. میکروسپوروسیت ها با سیتوپلاسم متراکم، اندازه بزرگ و هسته های مشخص از سلول های بافت احاطه کننده متفاوت هستند (شکل ۷).

در برش عرضی قسمت پهن شده و غلافی دمبرگ (شکل ۵) که در سطح تحتانی موج دار و سطح فوقانی آن صاف است به ترتیب از سطح تحتانی شامل بافت های زیر می باشد: ابتدا لایه اپیدرمی مشابه برگ دیده می شود یک لایه سلول با دیواره ضخیم و رنگ پذیری زیاد در لایه دوم سلول هایی مشابه با دیواره نازکتر و رنگ پذیری کمتر قرار دارند. در بالای دسته های آوندی و درست در زیر اپیدرم بافت کلانشیمی با ۵ تا ۹ ردیف سلول به شکل خمیده قرار گرفته که در زیر این بخش یک حفره ترشعی بزرگ و پس از آن دسته آوندهای چوب و آبکش قرار دارند. در زیر آوندهای چوب چند حفره ترشعی قرار دارد. حد فاصل بین اپیدرم زیرین و اپیدرم زبرین بافت پارانثیم حفره ای قرار گرفته که حفره های ترشعی در آن پراکنده بوده و تراکم آنها در سطح زیرین بیشتر از سطح زبرین می باشد.

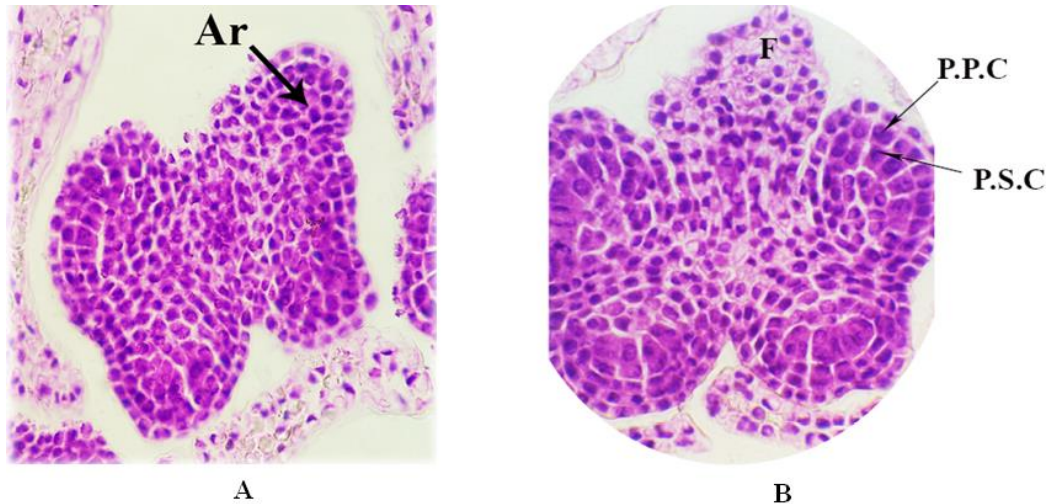
#### تکوین دستگاه زایشی

#### نمو بساک و تشکیل دانه گرده

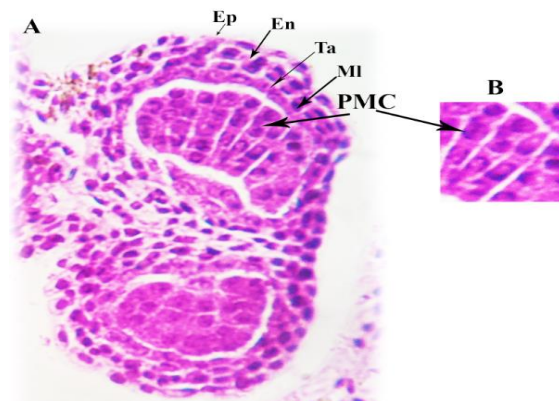


شکل ۵) برش عرضی دمبرگ *H. elymaitica*: A: مقطع عرضی قسمتی از دمبرگ (بزرگنمایی  $\times 40$ ): B: مقطع عرضی کامل (بزرگنمایی  $\times 4$ ): Cu: کوتیکول، P پارانثیم، Col کلانشیم، Sc حفره ترشعی، Xyl آوند چوبی، Ph بافت آبکش، Pi پارانثیم مغزی، St روزنه.





شکل ۶) برش عرضی بساک جوان *H. elymaitica*: Ar سلول‌های آرکنوسپور، P.P.C سلول کناری اولیه، P.S.C سلول هاگزای اولیه (بزرگنمایی  $\times 40$ ).



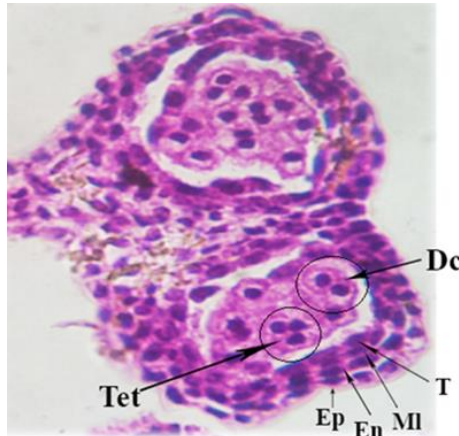
شکل ۷) A- برش عرضی بخشی از بساک جوان *H. elymaitica* نشان دهنده لایه‌های دیواره بساک و سلول‌های مادر گرده (PMC): Ep اپیدرم، En لایه مکانیکی، MI لایه میانی (گذر)، Ta لایه مغذی (تایی) (بزرگنمایی  $\times 40$ ), B- سلول‌های مادر گرده (PMC) با درشت‌نمایی بیشتر (بزرگنمایی  $\times 100$ ).

می‌شوند و میوسپور به میکروسپور جوانی تبدیل می‌شود که دارای سیتوپلاسم متراکم، شکل نامنظم با یک هسته مشخص و قرار گرفته در مرکز هستند (شکل ۱۰A)، میکروسپورهای جوان به لایه مغذی نزدیک شده و از آن تغذیه می‌کنند. شکل ۱۰B مرحله پیشرفته‌تر را نشان می‌دهد که میکروسپور شکل کم و بیش منظم با هسته‌ی مشخص است. هسته میکروسپور تک هسته‌ای جوان به سرعت تقسیم میتوزی خود را می‌گذراند و دو هسته بوجود می‌آید هسته بزرگ رویشی و یک هسته کوچک زایشی که منجر به

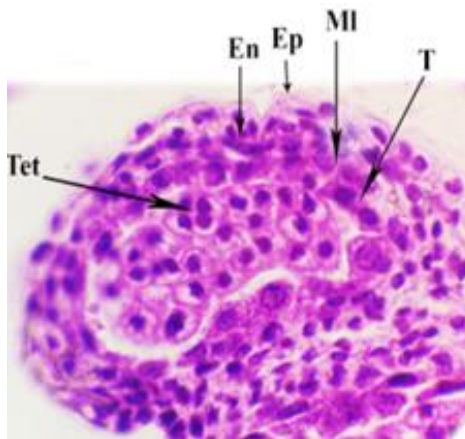
مراحل میوز در میکروسپوروسیت انجام شده که بعد از میوز I تشکیل دیاد (شکل ۸) و سپس میوز II منجر به تشکیل تترادهای میکروسپوری می‌شود. سه نوع تتراد مشاهده می‌شود که بیشتر از نوع تترادرال (شکل ۸) و کمتر از نوع تترائگونال و خطی می‌باشد (شکل ۹).

ضمن تشکیل تترادها، سلول‌های لایه مغذی واکوئل‌دار می‌شوند و افزایش ابعاد پیدا می‌کنند. در پایان میوز با ترشح آنزیم کاتالاز بوسیله تپتوم و تجزیه دیواره کالوزی در اطراف میوسپورها، تترادها تفکیک

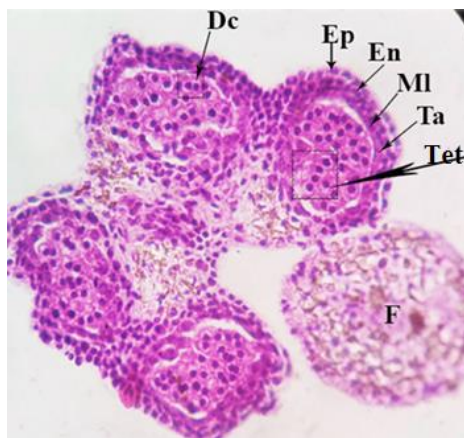
تشکیل دانه گرده دو هسته‌ای و نهایتاً دو سلولی می‌شود (شکل ۱۰C).



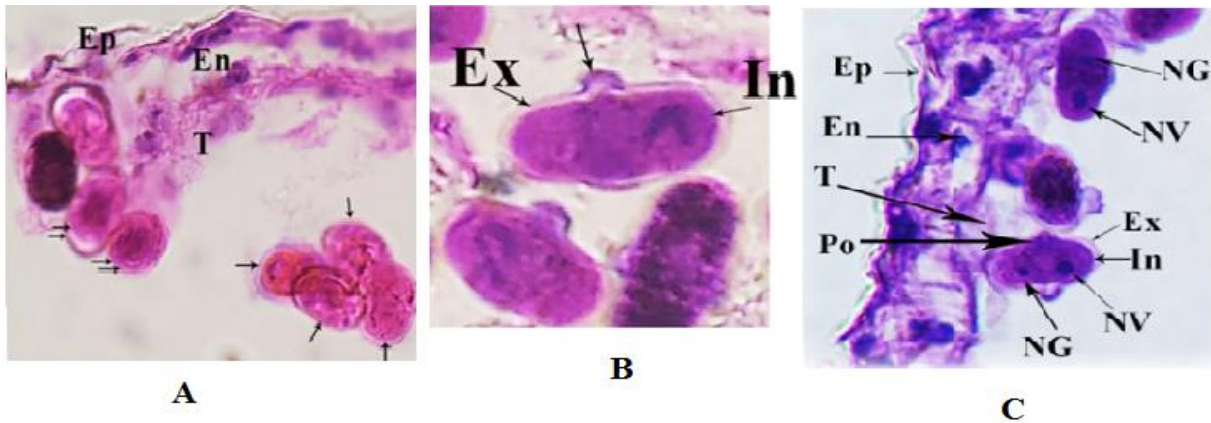
شکل ۸) برش عرضی بخشی از بساک *H. elymaitica* نشان دهنده لایه‌های دیواره بساک و سلول‌های دیاد (Dc) و تتراد (Tet) تراهدرال: Ep اپیدرم، En لایه مکانیکی، MI لایه میانی (گذر)، T لایه مغذی (تاپی) (بزرگنمایی X۴۰).



شکل ۹- A) برش عرضی بخشی از بساک *H. elymaitica* نشان دهنده لایه‌های دیواره بساک و سلول‌های و تتراد (Tet)، تراگونال اپیدرم، En لایه مکانیکی، MI لایه میانی (گذر)، T لایه مغذی (تاپی)، سلول‌های دیاد (Dc) (بزرگنمایی X۴۰).



شکل ۹- B) برش عرضی بخشی از بساک *H. elymaitica* نشان دهنده لایه‌های دیواره بساک و سلول‌های و تتراد (Tet)، خطی: Ep اپیدرم، En لایه مکانیکی، MI لایه میانی (گذر)، T لایه مغذی (تاپی)، سلول‌های دیاد (Dc) (بزرگنمایی X۴۰).



شکل ۱۰) A- میکروسپورجوان (↑) با یک هسته مشخص (↑) در مرکز سلول است، T تاپی هنوز از بین نرفته است (بزرگنمایی X۱۰۰)  
 B- میکروسپور در مرحله پیشرفته و تک سلولی، اگزین (Ex) و انتین (In) رشد یافته و منفذ (↑) دیده می‌شود (بزرگنمایی X۴۰۰)  
 C- دانه گرده بالغ با دو هسته NV هسته رویشی و NG هسته زایشی، Ep اپیدرم، En لایه مکانیکی، T لایه مغذی (تاپی) (بزرگنمایی X۱۰۰)

کوچک در بالای رأس تخمک تشکیل شده و ورود لوله گرده را به کیسه رویانی تضمین می‌کند، که سفت نامیده می‌شود (شکل ۱۳).

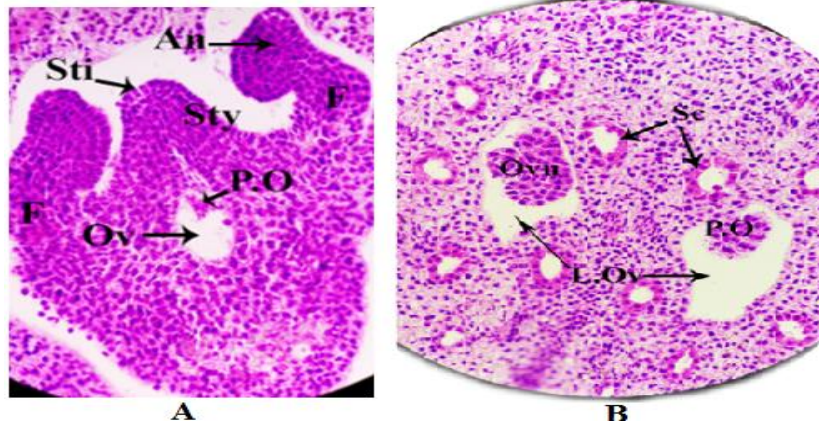
مگاسپوروسیت با حجم زیاد، هسته درشت، متراکم و حجیم و شکل چند وجهی خود به خوبی از سایر سلول‌های خورش قابل تشخیص می‌باشد (شکل ۱۴). نهایتاً مگاسپوروسیت با انجام میوز مگاسپورها را تشکیل می‌دهد که ضمن رویش، گامتوفیت ماده یا کیسه رویانی را تولید می‌کنند (شکل ۱۵A). در برش‌هایی که گرفته شد مشخص شد سه هسته در مجاورت سفت دستگاه تخمزا را تشکیل می‌دهند که شامل یک سلول میانی تخمزا و دو سلول کناری (سینرژید) است (شکل ۱۵B). در قسمت مرکزی کیسه رویانی از ترکیب دو هسته، هسته ثانویه تشکیل می‌شود (شکل D و ۱۵C) در قطب بنی سلول‌های آتی بود بوجود می‌آیند که کوچکترین سلول‌های کیسه رویانی هستند و در این نمونه مورد بررسی به تعداد سه عدد به صورت هلالی در قطب شالازی ردیف می‌شوند که بعد از لقاح تحلیل می‌روند (شکل ۱۵A).

### ساختار و تکوین اندام زایشی ماده

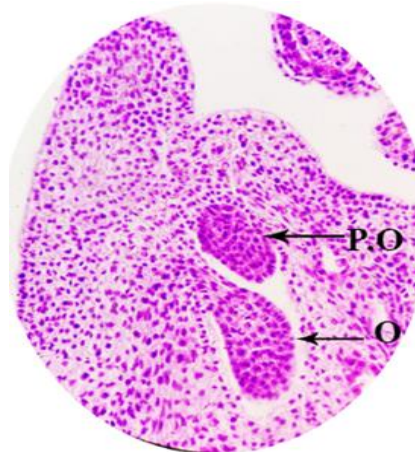
در گیاه کرفس سفید تشکیل مادگی بعد از پرچم‌ها صورت می‌گیرد. با تکوین پرچم‌ها، توده میانی مریستم زایشی در جهت تشکیل مادگی تمایز می‌یابد. (شکل ۱۱A). قبل از کامل شدن تخمدان و تشکیل خامه و کلاله، به تدریج اولین آثار تشکیل تخمک به صورت برجستگی کوچک کم و بیش کروی (پریموردیوم تخمک) در جدار تخمدان پدیدار می‌شود (شکل ۱۱A). بنیان تخمکی به صورت برآمدگی کوچکی ابتدا در بخش بالایی حفره تخمدان تشکیل شده که در نتیجه رشد، تخمک موقعیت آویخته پیدا می‌کند تخمدان زیرین با تمکن محوری و در هر تخمدان دو عدد تخمک وجود دارد که تخمک بالایی تحلیل می‌رود (شکل ۱۲).

تخمک رسیده در این نمونه واژگون و تک پوسته‌ای است و با تقسیمات شعاعی سلول‌های پوستی از پریموردیوم تخمک، بنیانگذاری پوسته تخمک در طرفین جسم تخمک و در قاعده خورش به صورت برجستگی چند سلولی صورت می‌گیرد با توسعه یافتن پوسته‌های پوشاننده خورش یک کانال

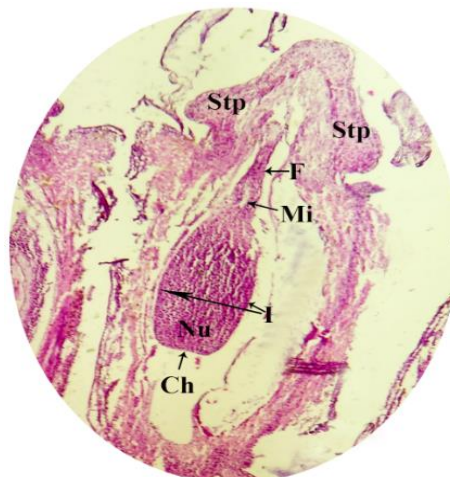




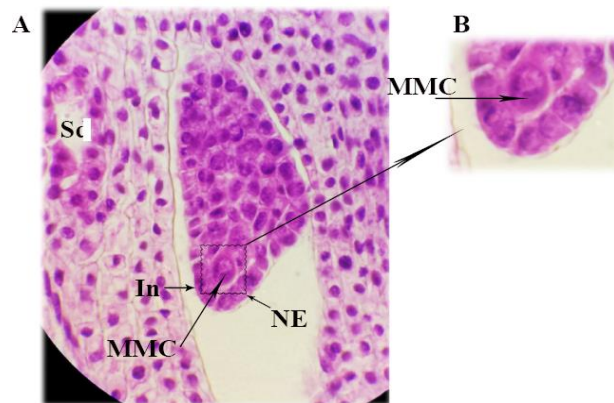
شکل ۱۱) A - برش طولی گل *H. elymaitica*: و تشکیل اجزای مادگی (بزرگنمایی  $\times 40$ ). شکل ۱۱) B - برش عرضی تخمدان و مشاهده تخمک‌ها و حفره های ترشعی فراوان در اطراف مادگی برچه ها دو عدد پیوسته (بزرگنمایی  $\times 40$ ). پرچم شامل میله F و بساک An، حفره ترشعی Sc، P.O پریموردیوم تخمک، Ov تخمدان، Ovu تخمک نابالغ، L.Ov خانه های تخمدان.



شکل ۱۲) دو تخمک (O) در یک تخمدان که تخمک بالایی تحلیل می‌رود، تخمک پایینی چرخش پیدا کرده است، P.O پریموردیوم تخمک (بزرگنمایی  $\times 40$ ).



شکل ۱۳) برش طولی تخمدان دارای تخمک رسیده تک پوسته‌ای به همراه اجزای آن در *H. elymaitica*: Mi سمت سفت یا میکروپیل، Ch سمت بن یا شالاز، I پوشش تخمک، Nu بافت خورش، F فونیکول یا بند، Stp استیلوبود یا نوشجای (بزرگنمایی  $\times 10$ ).



شکل ۱۴) برش طولی تخمک جوان *H. elymaitica*: A- در نزدیک قسمت رأسی پریموردیوم تخمکی سلول مادر مگاسپور (MMC) متمایز شده است (بزرگنمایی X۴۰) B- سلول مادر مگاسپور با سیتوپلاسم رنگ پذیر و هسته حجیم (بزرگنمایی X۱۰۰). NE سلول اپیدرم بافت خورش، In بنیانگذاری پوشش تخمک، Sc حفره ی ترش‌چی.

ساقه را تشکیل می‌دهند. بخش زیرین سلول‌های پیش‌مریستم ریشه تعدادی از سلول‌ها متمایز شده و ریشه‌چه را می‌سازند. بخش زیرین سلول‌های پیش‌مریستم ساقه تعدادی از سلول‌ها متمایز شده و ساقه‌چه یا محور زیر لپه یا هیپوکوتیل را می‌سازند. در نهایت تعدادی از سلول‌ها در دوطرف تقسیم شده و لپه‌ها را می‌سازند (شکل F ۱۶).

#### بحث

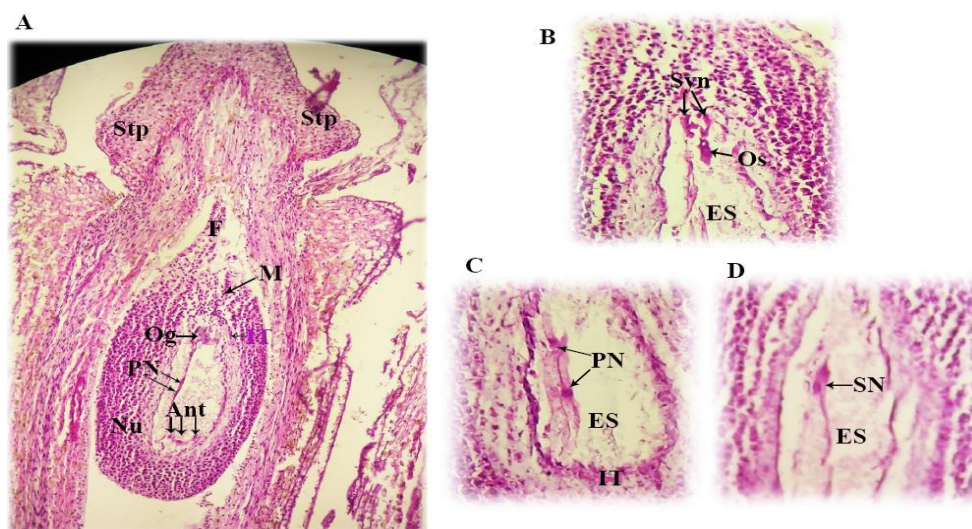
در ریشه اولیه بیرونی‌ترین بخش که تک لایه است و نقش محافظتی دارد اپیدرم است. بخش درونی اپیدرم معمولاً از سلول‌های پارانشیمی با دیواره نازک و چندین فضای بین سلولی تشکیل شده است. آندودرم به عنوان درونی‌ترین لایه پوست در همه ریشه‌ها وجود دارد و دارای سلول‌هایی با آرایش متراکم در کنار یکدیگر است. با رشد پسین ریشه‌های دولپه، آندودرم به همراه پوست از بین می‌رود. استوانه مرکزی در بخش درونی ریشه واقع شده است و از دایره محیطیه در سمت داخلی آندودرم است، معمولاً یک ردیفی است و ماهیت پارانشیمی دارد. همچنین

در برش طولی از بذر *H. elymaitica*، رویان کروی شکل به همراه آندوسپرم آن مشاهده می‌شود. رویان کروی توده‌ای است پر یاخته با ساختاری به نسبت پیچیده، اما هنوز تشخیص اولیه لپه‌ها در آن ممکن نیست (شکل A و B ۱۶). در رویان کروی سوسپانسون یا بند، هیپوفیز که نزدیک‌ترین سلول بند به رویان است و توده کوچک پر یاخته‌ای کروی شکل را می‌توان تشخیص داد. رویان کروی با تقسیمات و دیواره بندی‌های جدید رویان قلبی را می‌سازد (شکل D ۱۶). مرحله گذر از رویان کروی به رویان قلبی در شکل C ۴-۳۰ مشاهده می‌شود در مرحله گذر از رویان کروی به قلبی و رویان قلبی بند به صورت دو ردیف سلول مشخص می‌شود (شکل C و D ۱۶). در مرحله بعد رویان قلبی با جذب مواد غذایی از آلبومن و انجام تقسیمات بیشتر به سمت تشکیل رویان لپه‌ای می‌رود که اندازه لپه‌ها با هم برابری ندارد (شکل E ۱۶). آخرین مرحله رویان‌زایی تشکیل رویان اثری است (شکل F ۱۶). در قطب مجاور هیپوفیز و در قطب مقابل، تقسیمات تعدادی از سلول‌ها متوقف می‌شود و به ترتیب پیش‌مریستم ریشه و پیش‌مریستم

بین اپیدرم و بافت‌های آوندی، پوست قرار می‌گیرد که سه نوع بافت پارانشیم، کلانشیم و اسکلرانشیم ممکن است وجود داشته باشد [۲۴]. در ساقه *H. elymaitica* کلانشیم از نوع گوشه‌دار وجود دارد. سیستم آوندی شامل دسته‌هایی آوندی و مغز است. دسته‌هایی آوندی شامل عناصر چوب و آبکش است. در ساقه پروتوگزیم به سمت مرکز و متاگزیم به سمت پیرامون است بنابراین چوب از نوع درون‌زا یا Endarch بوده و جهت نمو آن به صورت گریز از مرکز است. بخش مرکزی که شامل مغز است که سلول‌های پارانشیمی با فضای بین سلولی زیاد است. در ساقه به دلیل آنکه آبکش در خارج چوب قرار دارد بنابراین دسته‌های آوندی از نوع کلاترال هستند. بین بافت چوب و آبکش هم بافت کامبیوم قرار دارد. پژوهش حاضر با یافته‌های جنوبی و همکاران در مورد گیاه *Pimpinella anisum* L. از این تیره هم خوانی دارد [۲].

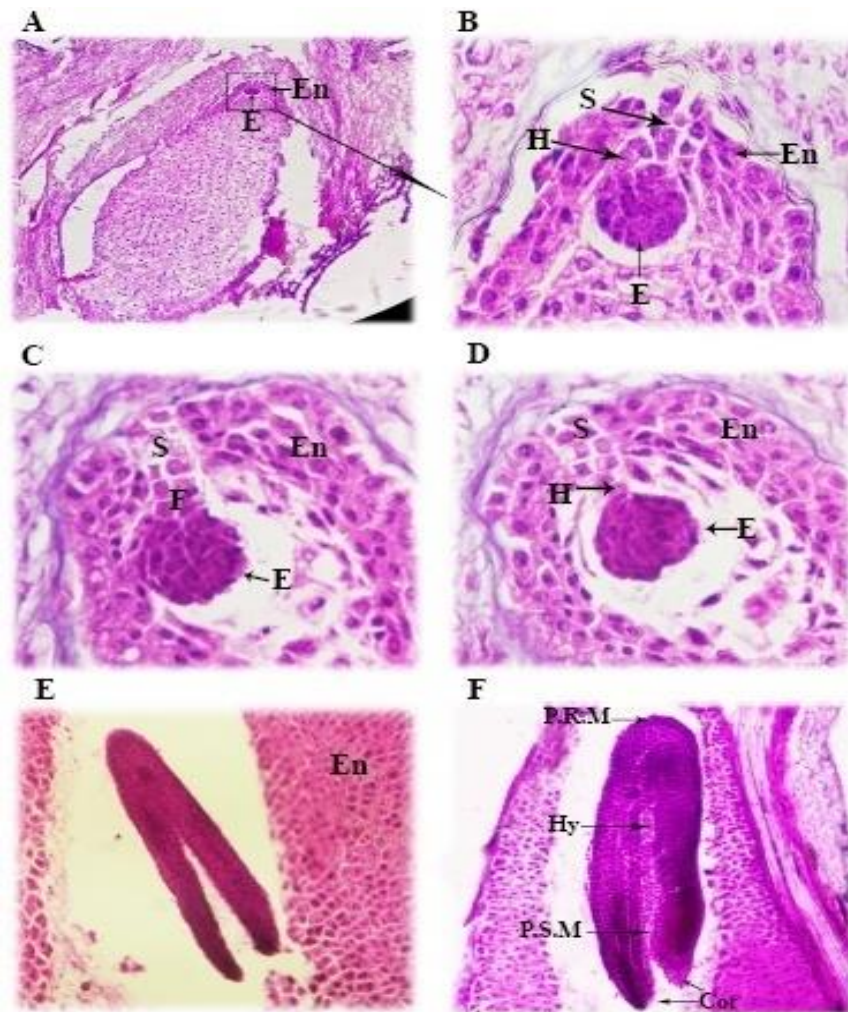
دارای خاصیت مرستمی است و ریشه فرعی را می‌سازد. مداح و همکاران (۱۳۷۹) نیز در مورد جنس دیگری از تیره چتریان به نتایج مشابهی رسیدند. در انتهای ریشه اولین منطقه کلاهک است که پیوسته تشکیل می‌شود. سلول‌های خارجی می‌میرند، از هم جدا می‌شوند و می‌ریزند و جای آن‌ها را سلول‌های جدید می‌گیرند. منطقه بعدی کالیپتروژن است. کالیپتروژن سلول بنیادی مخصوص کلاهک است. سلول‌های قطب استوانه و پوست انتهای ریشه، فعالیت میتوزی بسیار کمی دارند. این گروه سلولی ظاهری بشقابی و نیمکره ایجاد می‌کنند و مرکز آرام خوانده می‌شوند که بالاتر از کالیپتروژن قرار گرفته است. منطقه بعدی منطقه فعال است. ساختار انتهایی گونه‌ی مورد بررسی در این پژوهش مشابه ساختار انتهایی ریشه در دولپه‌ای‌هاست [۵].

در ساقه، خارجی ترین لایه، اپیدرم است که با ماده مقاوم با ماهیت چوبی به نام کوتین پوشیده شده است.



شکل ۱۵) A- برش طولی تخمدان دارای کیسه رویانی (Es) بالغ هشت هسته‌ای در *H. elymaitica* (بزرگنمایی  $\times 10$ )، B- دستگاه تخمزا در مجاورت سفت شامل سلول میانی (Os) و سینترژیدها (Syn) در کنار (بزرگنمایی  $\times 40$ )، C- دو هسته قطبی (PN) به سمت وسط کیسه رویانی مهاجرت کرده و نزدیک هم می‌آیند (بزرگنمایی  $\times 40$ ) D- تلفیق دو هسته قطبی و تشکیل سلول ثانوی (SN) که به دستگاه تخمزا نزدیک می‌شود (بزرگنمایی  $\times 40$ ) M سمت سفت یا میکروپیل، Ch سمت بن یا شالاز، In پوشش تخمک، Nu بافت خورش، F سوسپانسور یا بند، Stp استیلوپود، Ant سلول‌های آنتی بود که به صورت هلالی در قطب شالازی قرار گرفته‌اند.





شکل ۱۶) برش طولی بذر *H. elymaitica*، A - رویان کروی (بزرگنمایی  $\times 10$ )، B - رویان کروی با درشت‌نمایی بیشتر (بزرگنمایی  $\times 40$ )، C - گذر از رویان کروی به رویان قلبی (بزرگنمایی  $\times 40$ )، D - رویان قلبی (بزرگنمایی  $\times 40$ )، E - رویان لپه‌ای (بزرگنمایی  $\times 10$ )، F - رویان ازدری (بزرگنمایی  $\times 10$ )، S بند، H هیپوفیز، E رویان، En آندوسپرم، Cot لپه، P.R.M پرومریستم ریشه، P.S.M پرومریستم ساقه، Hy هیپوکوتیل.

زیر پارانشیم نردبانی و در طرف دیگر برگ قرار دارد. مابین سلول‌های پارانشیم حفره‌ای م‌ها یا فضاهای زیادی وجود دارند و با اتصالات سست به یکدیگر متصل هستند [۹]. در دسته‌های آوندی درون برگ، آبکش خارج چوب است. بنابراین دسته‌های آوندی از نوع کلاترال است. بین بافت چوب و آبکش هم بافت کامبیوم قرار دارد.

نمونه‌های دیواره‌ی بساک و تغییرات سلول شناختی آن‌ها بر اساس تیپ دولپه‌ای‌ها صورت می‌گیرد [۱۶]. در اغلب نهاندانگان، دیواره‌ی

به‌طور معمول برگ‌ها دونوع هستند: برگ‌های پشتی - شکمی که معمولاً به صورت افقی رشد می‌کنند و دارای سطوح مشخص فوقانی و تحتانی هستند و نوع دوم برگ‌های دو سطح همسان یا جور سطحی که به‌طور عمودی قرار می‌گیرند این برگ‌ها دارای ساختار یکسانی در هر دو سطح فوقانی و تحتانی خود هستند [۸]. برگ *H. elymaitica* تقارن پشتی - شکمی دارد. دو نوع پارانشیم در مزوفیل مشاهده می‌شود: پارانشیم نردبانی با دو لایه سلول زیر اپیدرم بالایی وجود دارد. بافت پارانشیم حفره‌ای در



یک بند است [۱۷]. در گونه مورد مطالعه تخمک تک پوسته ای بوده و این پوسته کاملاً رشد یافته بود و این نتیجه با گزارش های Randhawa و همکاران (1992) مطابقت دارد. سلول آرکتوسپوری یک یا چند لایه زیراپیدرمی در منطقه رأسی پریموردیوم خورش است که به طور مستقیم (بدون تقسیم)، یا به دنبال جدا شدن از سلول پوششی به سلول مادر مگاسپور یا مگاسپوروسیت سازمان می یابد [۱۰]. در گونه مورد بررسی موقعیت مگاسپوروسیت در لایه دوم زیر اپیدرمی است و در نهایت مگاسپوروسیت به دنبال میوز، مگاسپورها را تشکیل می دهد. مطالعه بر روی مگاسپورانژ نشان می دهد که پس از تقسیمات میوز مگاسپور شکل تتراد خطی است که معمولی ترین نوع تتراد در تیره چتریان است. عموماً سه سلول نزدیک سفت تجزیه می شوند و یکی باقی می ماند که با تقسیمات میتوز متعدد کیسه رویانی را بوجود می آورد [۲۸]. الگوی تیپ تک اسپوری علف هفت بند پلی گونیوم که متداول ترین الگوی نموی کیسه رویانی است در نمونه مورد بررسی این پژوهش قابل مشاهده می باشد. این نوع کیسه رویانی تقریباً در ۷۰ درصد از گیاهان گل دار وجود دارد و با مشاهدات چهرگانی راد و همکاران مطابقت دارد. موقعیت مگاسپور فعال نیز بسیار متغیر است و ممکن است در موقعیت سفتی، شالازی یا میانی باشد. موقعیت شالازی ویژه نمو کیسه رویانی تیپ علف هفت بند و موقعیت سفتی ویژه تیپ گل مغربی معرفی شده است. موقعیت مگاسپور فعال گونه *H. elymaitica* بنی است و از حالت معمول تبعیت می کند.

در دیواره تخمدان، حفره های ترشحي متعددی مشاهده شد که نشانه فعالیت ترشحي بالا در این گونه به عنوان یک گیاه دارویی است. وجود این

میکروسپورانژ از اپیدرم، لایه ی مکانیکی، لایه ی مغزی، و لایه مغزی، ساخته شده است [۴]. لایه ی گذر که به عنوان لایه ی میانی (به دلیل قرارگرفتن بین لایه ی مکانیکی و لایه ی مغزی) نیز شناخته شده است در گونه ی مورد پژوهش، وجود دارد که در انتهای مرحله ی تتراد گرده، تجزیه می شود. این نتیجه با نتایج بدست آمده توسط Sehgal (۱۹۶۵) مطابقت می کند. لایه ی مغزی در گونه ی مورد بررسی در پژوهش ما از نوع ترشحي است که در آن، سلول ها در موقعیت اولیه ی خود باقی می ماند و ترشحات خود را به داخل کیسه ی گرده، می فرستند.

میوز در هر میکروسپوروسیت منجر به تشکیل تتراد می شود. سیتوکینز از نوع همزمان بوده و آرایش تترادهای میکروسپور در داخل دیواره کالوزی در گونه مورد بررسی از سه نوع تتراهدال، تترگونال و خطی است که شکل رایج تر آن تتراهدال می باشد [۳]، ۱. هسته ها به روش میتوز تقسیم می شوند و دو هسته نابرابر بوجود می آورند که هسته بزرگ تر رویشی و هسته کوچکتر زايشی است. بنابراین دانه گرده دو هسته ای تشکیل می شود [۳]. در رابطه با ساختار دانه گرده کرفس سفید مطالعه جامعی یافت نشد.

مادگی در گونه *H. elymaitica* به صورت دو برچه ای پیوسته تشکیل شده است که برچه ها متصل به نهنج هستند بنابراین از نوع مادگی پیوسته برچه است و شامل کلالة، خامه و تخمدان است. خامه در اکثر نهاندانگان توپر است. در مادگی پیوسته برچه با خامه توپر چندین نوار بافت بینابینی ایجاد می شود [۲۶]. در تیره چتریان پوسته داخلی تخمک وجود ندارد و پوسته خارجی هم از دو یا سه لایه سلولی تشکیل شده است [۱۴]. تخمک های نارس دارای سه ساختار اصلی شامل یک بافت خورش، یک یا دو پوسته و

روی گونه *Pimpinella anisum* L. از این تیره و قاسمیان و همکاران (۱۳۹۰) بررسی مراحل رویان زایی سوماتیکی حاصل از رویان بذری در گیاه وشا *Dorema ammoniacum* D. از این تیره همخوانی دارد.

### نتیجه‌گیری

تترادهای میکروسپور از سه نوع تتراهدرا، تراگونال و خطی بوده که شکل رایج‌تر آن تتراهدرا (چهار وجهی) می‌باشد. سلول‌های لایه مغذی در گونه مورد بررسی در موقعیت اولیه ی خود باقی می‌مانند و ترشحات خود را به داخل کیسه ی کرده، می‌فرستند پس می‌توان گفت این لایه از نوع ترشچی است. همچنین با بررسی برش‌های مختلف لایه‌های دیواره بساک لایه گذر نیز مشاهده شد. الگوهای تکوین تخمک و کیسه رویانی از نهادانگان و تیپ پلی‌گونیوم تبعیت می‌کنند.

در رویان زایی رویان کروی در رأس یک سوسپانسور بلند و گذر از رویان کروی به قلبی قابل مشاهده بود، همچنین مراحل بعدی تکوین رویان شامل رویان قلبی، رویان لپه‌ای و در انتها رویان اژدری مشاهده شد.

### تشکر و قدردانی

از استاد راهنمای محترم جناب آقای دکتر احمد مجد و سایر اساتید محترم گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و نیز آقای دکتر عبدالکریم چهرگانی راد به دلیل همکاری و راهنمایی در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

ساختارهای ترشچی در چندین گونه از تیره چتریان توسط چهرگانی و همکاران [۱۲] گزارش شده است.

سلول تخم در امتداد محور رأسی پایه‌ای طویل شده و به دنبال آن تقسیم نامتقارن انجام می‌گردد و یک سلول کوچک در رأس محور و یک سلول بزرگ در پایه‌ی محور تشکیل می‌شود. سلول پایه‌ای و اشتقاق‌های آن با تقسیمات متعدد بند یا سوسپانسور ۶-۹ سلولی را ایجاد می‌کنند، در حالی که تقسیمات متعدد سلول رأسی و اشتقاق‌های آن جنین کروی را به وجود می‌آورند [۱۱]. رویان کروی حجمی به اندازه سلول تخم اولیه دارد. تقسیمات بیشتر در رویان کروی، به ویژه در ناحیه‌هایی که لپه‌ها توسعه می‌یابند، رویان قلبی شکل را بوجود می‌آورد [۱۳]. قبل از جنین قلبی شکل مرحله گذر از رویان کروی به قلبی شکل مشاهده شد در دو مرحله گذر و رویان قلبی بند به صورت دو ردیفه ظاهر می‌شود. سپس در دو قطب مقابل به هم رویان در تعدادی از سلول‌ها که تقسیماتی داشتند، این تقسیمات متوقف می‌شود. تعدادی از سلول‌ها در قطب مجاور هیپوفیز و قطب مقابل تقسیمات شان متوقف می‌شود و به ترتیب پیش‌مریستم ریشه و پیش‌مریستم ساقه را تشکیل می‌دهند. این مرحله بنیان‌گذاری پرو‌مریستم‌ها است زیر سلول‌های پیش‌مریستم ریشه تعدادی از سلول‌ها متمایز می‌شوند و ریشه چه را می‌سازند و زیر ریشه چه تعدادی از سلول‌ها متمایز می‌شوند و ساقه چه یا محور زیر لپه (هیپو کوتیل) را می‌سازند. تعدادی از سلول‌ها در گیاه تک لپه در یک طرف و در دو لپه‌ها در دو طرف تقسیم می‌شوند و لپه‌ها را می‌سازند. و در مرحله‌ی آخر لپه‌ها به هم فشرده می‌شوند و رویان اژدری را بوجود می‌آورند [۲۱]. نتایج حاصل از این پژوهش با یافته‌های جنوبی و همکاران (۱۳۹۲) که

نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد واحد تهران

شمال و علوم تحقیقات

- [8] Ahmad, K., Khan, M.A., Ahmad, M., Zafar, M., Arshad, M. and Ahmad, F. 2009. Taxonomic diversity of stomata in dicot flora of a district tank (N.W.F.P.) in Pakistan. – The Journal of Biotechnology 8: 1052 – 1055.
- [9] Ahmad, K., Khan, M.A., Ahmad, M., Shaheen, N.A. and Nazir A. 2010. Taxonomic diversity in epidermal cells of some sub-tropical plant species. – International Journal of Agriculture and Biology 12: 115-118.
- [10] Bouman, F., 1984, *The Ovule*. PP. 123-157. In: Johri, J.B., (ed.): *Embryology of the angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin.
- [11] Chaudhury, A.M., Craig, S., Dennis, E. and Peacock, W. 1998. Ovule and embryo development, apomixes and fertilization. – The Journal of Current Opinion in Plant Biology 1: 26-31.
- [12] Chehregani rad, A., Hajisadeghian, S. and Mohsenzadeh, F. (2010) Study on the developmental stages of ovule and pollen grains of *Inula aucheriana* DC. Journal of Plant Biology 6: 15-28 (in Persian).
- [13] Cisneros, A., Garcia, R.B. and Tel-Zur, N. 2011. Ovule morphology, embryogenesis and seed development in three *Hylocereus* species (Cactaceae). – Flora 206: 1076-1084.
- [14] Copeland. Lawrence O, McDonald. M. B., 1963, Principles of seed science and techno. Page 9 in this book.
- [15] Dadpour, M.R., Grigorian, W., Nazemieh, A. and Valizadeh, M. 2008. Application of epiillumination light microscopy for study of floral ontogeny in fruit trees. – International Journal of Botany 4: 49-55.
- [16] Davis, G, L., 1966, Systematic Embryology of Angiosperms, John Wiley & Sons, New. York.
- [17] Ekici, N. and Dance, F. 2004. Polarity during sporogenesis and gametogenesis in plants. Biologia Bratislava 59: 687- 696.
- [18] Ghannadi, A., Sajjadi, S.A., Jafari, A., Mortazavian, S.M., J.Essential Oil Bear Plants, 14, nr. 4, 2011, p. 408.
- [19] Ghorbani., M., Iranian traditional medicine for treatment of type II diabetes, anxiety and hypertension with introduction of

## منابع / References

- [۱] آبریان، س. ی. دارش، ع. ۱۳۹۲. مطالعه مراحل تکوین دانه گرده و کیسه‌های ترش‌حی گلب‌رگ در دارابی از تیره مرکبات. نشریه علوم دانشگاه خوارزمی. ۱۳: ۷۰۰-۶۹۱.
- [۲] جنوبی پریسا، مجد احمد، معروف عارف و امینی شهلا (۱۳۹۴). بررسی ساختار اندام‌های رویشی و تکوین اندام‌های زایشی بادیان رومی (*Pimpinella anisum* L.). مجله یافته‌های نوین در علوم زیستی، جلد ۲ شماره ۳ ص ۱۶۵-۱۵۱.
- [۳] چهرگانی راد، ع.، زارع، ش. و حاجی صادق‌یان، ۱۳۸۸. *Tripleurospermum disciforme* Sch. Bip. (C.A.Mey.) زایی. مجله زیست شناسی ایران. ۲۶-۲۲: ۳۴-۲۶.
- [۴] رضائزاد، فرخنده و چهرگانی، عبدالکریم (۱۳۸۷). رویان‌زایی گیاهان گل‌دار (واژگان و مفاهیم)، جلد اول، دانشگاه شهید باهنر کرمان.
- [۵] فان، ا. ۱۳۸۳. آناتومی گیاهی. مترجم: آذرنوش جعفری. چاپ اول. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. صفحه ۶۳۹.
- [۶] قاسمیان، خ.، ناظری، س.، چهرگانی راد، ع و میرزایی اصل، ا. (۱۳۹۰). بررسی مراحل رویان زایی سوماتیکی حاصل از رویان بذری در گیاه وشا *Dorema ammoniacum* D. مجله سلول و بافت، جلد ۳، شماره ۱، صفحه ۲۱-۲۷.
- [۷] مداح، م.، مجد، ا.، رضایی، م.ب. و جایمند، ک. ۱۳۷۹. بررسی تأثیر پرتوهای فرابنفش بر روی ویژگی‌های تشریحی - تکوینی اندام‌های رویشی زایشی و مقدار و نوع اسانس گیاه رازیانه *Foeniculum vulgare* Mill. از تیره چتریان. پایان

- zebrafish model system for their screening. *International Journal of Herbal Medicine* 2014; 2 (5): 13-19.
- [20] Habibi .Z , Ghavidel .M and Yousefi .M. Extraction and identification of asaronic acid and two phenylpropanoids from the aerial parts of *Hausknechtia elymaitica* Boiss. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 2013, Vol. 29, No. 4: 76-77.
- [21] Kapil, R.N. and Bhatnagar, A.K. Ultrastructure and biology of female gametophyte in flowering plants. *Cytology*, 1981, 70: 291-337.
- [22] Mozaffarian, V., A Dictionary of Iranian Plant Names. FarhangeMoasser, Tehran, 1996, p. 262.
- [23] Mozaffarian, V., Plant Systematics, Dicotyledons, Danesh-eEmrooz, Tehran, 1994, p. 347-351.
- [24] Pandey, S.N. and Chadha, A. 1996. Plant anatomy and embryology. Vikas Publishing House, New Delhi, India, 474 pp.
- [25] Randhawa, G.S., Gill, B.S. and Rachaudhuri, S.P. 1992. Optimising agronomic requirments of *Anise* in the Punjab. – Recent Advances in Medicinal, Aromatic Species Crops 2: 413-416.
- [26] Reiser, L. and Fischer, R. 1993. The ovule and the embryo sac. – *The Journal of Plant Cell* 5: 1291-1301.
- [27] Sehgal, C. B. (1965) The embryology of *Cuminum cyminum* L. and *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague(= *Carum copticum* Clarke). *Proceedings of the National Institute of Sciences of India* B31 175.
- [28] Shi, D.Q. and Yang, W.C. 2011. Ovule development in *Arabidopsis*: progress and challenge. – *The Journal of Current Opinion in Plant Biology* 14: 74-80.
- [29] Vasyata, G.G., Ilinskaya, L.R., Timasheva, L.A. and Kivyushko, O.N. 1984. Sowing qualities of *Anise* seed in relation their position on the plant. – *Trudy Use Soyuznogo Nauchno Issledovatel Skoyo Institiuta Efiromaslichnykn Culture* 16: 19-96.
- [30] Yadegari R, Drews GN. [Female Gametophyte Development]. *The Plant Cell*. 2004; 16(1): S133-S141. Persian.
- [31] Zarini M, Majd, A., Tajadod, G., Mehrabian, S., Jafari, S. 2017. Study of the antioxidant activity and antibacterial effect of Essential Oil at different growth stages of plant *Hausknechtia elymaitica* Boiss as endemic spices of Iran. *AD ALTA Juornal of Interdisciplinary Research*. 17:748-752.



