بسم الله الرحمن الرحيم

۱۱۴۲۶۵

دانشکده علوم طبیعی
گروه زیست شناسی گیاهی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی گیاهی
گرایش سلولی – تکوینی

عنوان

مطالعه هیستولوژیکی مراحل تشکیل جنین در گیاه خارخسک (*Tribulus terrestris* L.) از تیره اسپند

استادان راهنما

دکتر محبوبه علی اصغر پور

دکتر علی موافقی

استاد مشاور

دکتر محمد رضا دادپور

واحد اطلاعات مدارک علمی پژوهشگاه
تهیه مدارک

پژوهشگر

فهیمه مختاری شجاعی

خرداد ۱۳۸۸

۱۳۸۸/۴/۱۰

۱۱۴۲۶۵

تقدیم به

خداوندگاران مهر و مهربانی پدر و مادر عزیزم

آنانکه فروغ نگاهشان، گرمی کلامشان و روشنی سیمایشان سرمایه جاودانی

زندگی من است

و

همسفر لحظات زندگیم، همسر مهربانم

و

خواهران عزیزم

سپاس و ستایش پروردگار متعال را که بمن آموخت در زندگی لذتی بالاتر از تحصیل علم و در جهان عظمتی برتر از دانش نخواهم یافت و بمن توانایی آنرا بخشید تا رهرو این طریق باشم.

از پدر و مادر عزیزم که در تمامی مراحل زندگی، سختی ها و مشکلات را تحمل نمودند تا شاهد رشد و بالندگی من باشند تشکر و قدردانی می نمایم.

از همسرم و خانواده محترمشان که با صبر و شکیبایی مرا در انجام این رساله مساعدت نمودند سپاسگذارم. از خواهران عزیزم که وجودشان پشتوانه من برای تلاش و زندگی است نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

از زحمات و راهنمایی های اساتید محترم خانم دکتر محبوبه علی اصغر پور و آقای دکتر علی موافقی که راهنمایی این پایان نامه را تقبل نمودند تشکر و قدردانی می نمایم.

از اساتید ارجمندم آقای دکتر محمد رضا دادپور که مشاوره این پایان نامه را به عهده داشتند و آقای دکتر هوشنگ نصرتی که داوری پایان نامه را قبول نمودند سپاسگذارم.

از اساتید محترم گروه زیست شناسی گیاهی که در دوران تحصیلم از محضرشان کسب علم نموده و از راهنمایی های ارزنده شان بهره مند شده ام تشکر و قدردانی می نمایم.

در نهایت از خانم الهام مجلل کاظمی و آقای حسام الدین زرگران اصفهانی که مرا در پیشبرد این پایان نامه یاری نمودند و تمامی همکلاسی ها و دوستان عزیزم بی نهایت سپاسگذارم.

فهیمه مختاری شجاعی

خرداد ۸۸

نام خانوادگی: مختاری شجاعی | نام: فهیمه

عنوان پایان نامه: مطالعه هیستولوژیکی مراحل تشکیل جنین در گیاه خارخسک (*Tribulus terrestris* L.) از تیره اسپند

استادان راهنما: دکتر محبوبه علی اصغر پور – دکتر علی موافقی

استاد مشاور: دکتر محمد رضا دادپور

مقطع: کارشناسی ارشد | رشته: زیست شناسی گیاهی | گرایش: سلولی – تکوینی

دانشگاه: تبریز | دانشکده: علوم طبیعی | تاریخ فارغ التحصیلی: خرداد ۱۳۸۸

تعداد صفحه: ۱۰۱

کلمات کلیدی: نمو جنین، بافت شناسی، خارخسک

چکیده: تخمک ساختار تخصص یافته ای است که از دیواره تخمدان مشتق می شود. هرتخمک دارای ۳ ساختار اصلی شامل خورش، یک یا دو پوسته و یک بند می باشد. خورش یا نوسل به عنوان مگاسپورانژیوم عمل می کند و گامتوفیت ماده را تولید می کند. چرخه اسپوروفیتی در گیاهان عالی با فرایند لقاح مضاعف آغاز می شود و حاصل آن تشکیل سلول تخم و سلول مادر آندوسپرم می باشد. سلول مادر آندوسپرم، آندوسپرم را تولید می کند و سلول تخم تحت تاثیر مجموعه ای از تغییرات سلولی و مورفولوژیکی در نهایت به جنین بالغ تبدیل می شود. در گیاهان نمو جنین به صورت پیوسته اتفاق می افتد ولی برای توصیف بهتر، مراحل زیر در نظر گرفته می شود: مرحله پیش جنینی، مرحله کروی شکل، مرحله قلبی شکل، مرحله اژدری شکل و در نهایت جنین بالغ. در گیاهان نهاندانه مواد ذخیره ای از جمله لیپید، پروتئین و نشاسته اغلب در لپه های جنین و یا سلول های آندوسپرم ذخیره می شوند. مطالعه تکوین جنین و نمو آندوسپرم در تیره های مختلف گیاهی از لحاظ بررسی های فیلوژنتیکی و سیستماتیکی بسیار حائز اهمیت است. زمانیکه شواهد قابل دسترس وجود ندارد و یا شواهد دیگر از بین رفته اند تنها صفات جنین زایی می توانند دلیل محکم و منطقی برای حل مسائل سیستماتیکی فراهم آورند. هدف تحقیق حاضر بررسی بافت شناختی تکوین جنین در خارخسک از تیره اسپند با استفاده از روش های میکروسکوپ نوری می باشد. تخمدان ها و میوه های این گیاه از طبیعت جمع آوری و در فیکساتور FAA تثبیت شدند. در مرحله بعد نمونه های تثبیت شده با روش های مختلف بافت شناختی و هیستو شیمیایی مطالعه شدند. با توجه به مطالعات بافت شناختی و هیستو شیمیایی تقسیم نا متقارن سلول تخم منجر به تولید سلول راسی و قاعده ای گردید. تقسیمات در سلول قاعده ای سریع تر از سلول راسی اتفاق افتاد و سوسپانسور رشته ای تولید شد. تشکیل جنین در نتیجه تقسیمات در سلول راسی، صورت گرفت. سوسپانسور در مرحله جنین اژدری شکل از بین رفت. جنین بالغ ۳/۵ میلی متر طول داشت و

ادامه چکیده پایان نامه

شامل دو لپه، هیپوکوتیل، مریستم راسی ریشه و مریستم راسی ساقه بود. با توجه به مطالعات بافت شناختی، جنین بالغ دارای اپیدرم، پارانشیم ذخیره ای و سلول های پروکامبیومی بود. پروکامبیوم به صورت یک دسته در محور جنینی مشاهده شد که در محل لپه ها منشعب گردیده بود و سلول های پارانشیم ذخیره ای در زیر پروتودرم شکمی به پارانشیم نرده ای تمایز یافته بودند. در جنین بالغ تمام سلول های جنینی به جز سلول های مریستمی حاوی اجسام پروتئینی شامل یک یا چند گلوبوئید در ماتریکس پروتئینی به عنوان ماده ذخیره ای بودند. بر اساس مطالعات بافت شناختی آندوسپرم از نوع هسته ای بود که در طی تکوین جنین فاقد ماده ذخیره ای بود. با رشد جنین سلول های آندوسپرم کشیده شده و دیواره های سلولی آن ها بهم نزدیک شد. در مرحله جنین بالغ آندوسپرم به صورت ساختار تور مانند در پیرامون لپه ها و در ما بین لپه ها دیده شد.

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه و بررسی منابع
۱-۱ مقدمه..... ۱
۱-۱-۱ ساختمان تخمک..... ۲
۱-۱-۱-۱ نمو کیسه جنینی..... ۳
۱-۱-۱-۲ مراحل نموی سلول تخمزا..... ۵
۱-۱-۲ فرایند لقاح..... ۵
۱-۲ سلول تخم..... ٦
۱-۲-۱ روند تقسیمات میتوزی در سلول تخم..... ۷
۱-۲-۲ سوسپانسور..... ۹
۱-۲-۳ هیپوفیز..... ۱۰
۱-۲-٤ انواع جنین زائی..... ۱۱
۱-۳ جنین..... ۱۷
۱-۳-۱ اندام های تشکیل دهنده جنین..... ۱۷
۱-۳-۲ تمایز پروکامبیوم در جنین..... ۱۹
۱-۳-۳ لایه کوتیکول در جنین..... ۲۰
۱-۳-٤ وجود کلروفیل در جنین..... ۲۱
۱-٤ آندوسپرم..... ۲۲
۱-٤-۱- نظریه های موجود در مورد مبداء تکاملی آندوسپرم..... ۲۳
۱-٤-۲- انواع آندوسپرم بر اساس نحوه نمو..... ۲۵
۱-۵ مشخصات عمومی تیره اسپند..... ۲٦
۱-۵-۱ جنس خارخسک..... ۲۷
۱-۵-۲ گونه خارخسک..... ۲۸
۱-۵-۳ خواص دارویی خارخسک..... ۲۹
۱-٦ اهداف پژوهش..... ۳۰

فصل دوم: مواد وروش ها
مراحل آماده سازی نمونه جهت مطالعه توسط میکروسکوپ نوری..... ۳۳
۲-۱ جمع آوری نمونه های گیاهی و طبقه بندی آنها..... ۳۳

۲-۲ بررسی های بافت شناختی..... ۳٤
۲-۲-۱ تثبیت نمونه ها..... ۳۵
۲-۲-۱-۱- فرمالین استیک الکل..... ۳۵
۲-۲-۱-۲ فرمال- کلسیم..... ۳٦
۲-۲-۲ قالب گیری..... ۳٦
۲-۲-۳ مقطع گیری و تثبیت برشها روی لام..... ۳۸
۲-۲-٤ تهیه لامهای ژلاتینه..... ۳۹
۲-۲-٤-۱- شستشوی لامها..... ۳۹
۲-۲-٤-۲- ژلاتینه کردن لامها..... ۳۹
۲-۲-۵ رنگ آمیزی..... ٤۰
۲-۲-۵-۱ روش هماتوکسیلین..... ٤۱
۲- ۲-۵-۲ روش مضاعف پریدیک اسید - شیف، هماتوکسیلن..... ٤۳
۲-۳ بررسی های هیستوشیمیایی..... ٤٦
۲-۳-۱ شناسایی پلی ساکارید ها..... ٤٦
۲-۳-۲ شناسایی لیپیدها..... ٤۷
۲-۳-۳ شناسایی پروتئین ها..... ٤۸

فصل سوم: نتایج و مشاهدات..... ۵۰
فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری..... ۸۰
منابع مورد استفاده..... ۹٦

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع

۱-۱ مقدمه

درک طبیعت و مکانیزم فرایند هایی که منجر به تشکیل و نمو موجود گیاهی کامل می شود از مسائل مهم بیولوژی است و گسترش این علم بدون اطلاع از مراحل اولیه انتوژنی ممکن نیست (Batygina, 2006).

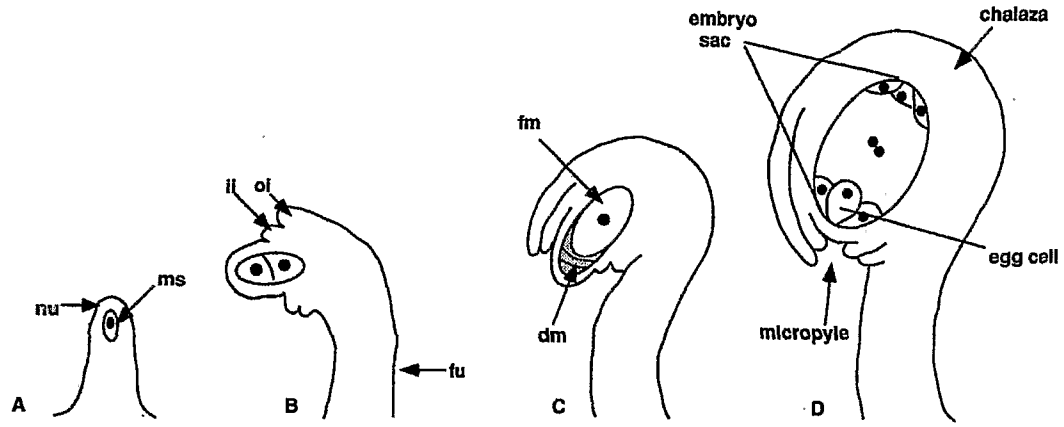
جنین شناسی[1] یکی از شاخه های زیست شناسی است که به مطالعه ساختار گل و فرایند های دخیل در تولید دانه می پردازد و علم پایه برای مطالعات نظری و آزمایشگاهی تولید مثل می باشد. این علم شامل مطالعه نمو پرچم و دانه گرده، نمو مادگی و کیسه جنینی، جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله گرده، فرایند لقاح، نمو آندوسپرم و نمو جنین، و در برخی مواقع نمو پوسته دانه است (Lersten, 2004). کاربرد ویژگی های نموی از جمله آناتومی پوسته دانه، چگونگی نمو تخمک، ویژگی های کیسه جنینی، نوع جنین و نوع آندوسپرم در مطالعات سیستماتیکی و بررسی های فیلوژنتیکی و نیز ضرورت مطالعه نمو جنین برای پیشرفت در زمینه ژنتیک و سایر علوم منجر به انشعاب شاخه ای از جنین شناسی به نام جنین زائی[2] گردید (Tobe, 1989; Philipson, 1973; Berg, 2003). واژه جنین زائی برای اولین بار توسط تروب[3] در سال ۱۸۷۹ ارائه شد و به عنوان علمی که چگونگی نمو جنین را توصیف می کند تعریف شد (Batygina, 2006). در تعریف دقیق تر جنین زائی به دوره نموی اطلاق می شود که در آن سلول تخم تحت تاثیر مجموعه ای از تغییرات سلولی و مورفولوژیکی، در نهایت به جنین بالغ تبدیل می شود. جنین بالغ شامل یک محور جنینی با مریستم انتهایی ریشه و ساقه در دو انتهای آن، لپه ها و هیپوکوتیل می باشد (West and Harada, 1993; Laux et al., 2004).

1. Emberyology
2. Emberyogeny
3. Treub

درک کامل مراحل نمو جنین نیازمند داشتن اطلاعات کافی از اتفاقاتی است که در مرحله گامتوفیتی به وقوع می پیوندد.

۱-۱-۱ ساختمان تخمک

تخمک ساختار تخصص یافته ای هست که از دیواره تخمدان مشتق می شود و مگاسپوروسیت[1] را تولید می کند. هرتخمک شامل ۳ ساختار اصلی: خورش[2]، یک یا دو پوسته[3] و یک بند[4] می باشد (Reiser et al., 1993).



شکل ۱-۱ مراحل نمو تخمک (nu: خورش، ms: مگاسپوروسیت، ii: پوسته داخلی، oi: پوسته بیرونی، fu: بند، fm: مگاسپوروسیت عملکردی، dm: مگاسپوروسیت از بین رفته).

خورش یا نوسل از بخش رأسی پریموردیوم تخمک مشتق می شود و به عنوان مگاسپورانژیوم عمل می کند. کمی بعد از آغازش تخمک، یک سلول نوسلی زیر پوستی[5] کشیده شده و حاوی هسته برجسته و درشت می شود (شکل ۱-۱-A). این سلول مگاسپور را ایجاد می کند. آغازش پوسته ها

1. Megasporocyte
2. Nucellus
3. Integument
4. Funiculus
5. Subdermal

در پایه خورش در طول مگاسپوروژنز می باشد (شکل ۱-۱-B).

تخمک توسط بند یا فونیکول در تماس با دیواره تخمدان است. بند ساختار ساقه مانند کشیده شده از شالاز به سمت بافت مادری می باشد. معمولا یک دسته آوند از بافت مادری به درون بند وارد می شود و تا قاعده کیسه جنینی کشیده می شود. ایساو[1] در سال ۱۹۷۷ شالاز را منطقه برآمده قاعده پوسته داخلی که در تماس با بند است تعریف کرد. میکروپیل نیز منطقه ای است که پوسته ها درآنجا خاتمه می یابند و محل عبور لوله گرده می باشد (Reiser et al., 1993).

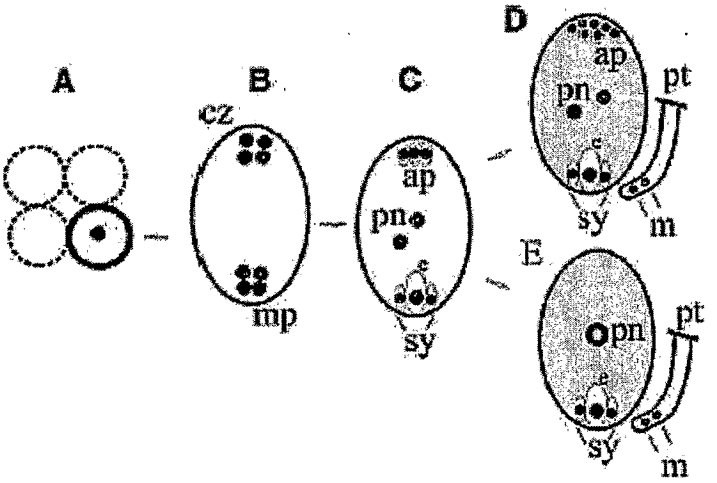
۱-۱-۱-۱ نمو کیسه جنینی

کیسه جنینی معادل گامتوفیت ماده است و با توجه به تعداد اسپور هایی که در تشکیل کیسه جنینی مشارکت دارند، به انواع چهار اسپوری، دو اسپوری و تک اسپوری تقسیم می شود. در نوع اول هر چهار اسپور در تشکیل کیسه جنینی نقش دارد. در نوع دوم کیسه جنینی از دو اسپور به وجود می آید. در نوع سوم فقط یک اسپور در تشکیل کیسه جنینی نقش دارد. با وجود منشاء چند گانه کیسه جنینی، قبل از سلولی شدن کیسه جنینی، هسته های داخل آن تقسیم می شوند و سپس به قطب شالازی و قطب میکروپیلی و مرکز کیسه جنینی مهاجرت می کنند. تفاوت در مهاجرت هسته ها و تعداد تقسیمات، دلیل تنوع تعداد هسته های حاضر در سلول مرکزی و در نتیجه تنوع پلوئیدی آندوسپرم بین گونه ها می باشد (Reiser et al., 1993).

رایج ترین نوع مگاگامتوفیت میان گیاهان، نوع پلی گونیوم است. در مگاگامتوفیت نوع پلی گونیوم هسته مگاسپور شالازی تقسیم میتوزی انجام می دهد. دو هسته تولید شده بدون تشکیل دیواره جداکننده به دو قطب مخالف مهاجرت می کنند. دو میتوز متوالی بدون تشکیل دیواره منجر به

1. Esau

تولید چهار سلول در دو قطب مخالف می شود. از هر قطب یکی از هسته ها به مرکز کیسه جنینی مهاجرت می کند در حالیکه اطراف سه هسته دیگر در قطب شالازی و میکروپیلی دیواره تشکیل می شود.



شکل ۱-۲: کیسه جنینی نوع پلی گونیوم (cz: منطقه شالازی، mp: منطقه میکروپیلی، ap: آنتی پدال، pn: هسته های قطبی، sy: سینرژید، e: سلول تخمزا، pt: لوله گرده، m: میکروسپور)

این فرایند منجر به تولید ۷ عدد سلول می شود که شامل ۱ عدد سلول تخمزا، ۲ عدد سلول سینرژید،۳ عدد سلول آنتی پدال و هسته های قطبی در مرکز کیسه جنینی است. هسته های قطبی ممکن است تا زمان لقاح جدا باشند (مثل ذرت) یا قبل از لقاح ادغام شوند و هسته قطبی دیپلوئید موسوم به هسته ثانوی را تولید کنند (مثل *Arabidopsis*) (Olsen, 2004).

کیسه جنینی اغلب در تماس مستقیم با پوسته داخلی است. در چنین مواردی لایه سلولی داخلی پوسته درونی، به یک لایه سلولی به نام اندوتلیوم[1] تمایز می یابد. این سلول ها گسترش[2] شعاعی، اندوپلی پلوئیدی و هسته های درشت و بارز نشان می دهند که مشابه ویژگی سلول های تپتوم بساک می باشد. تقریبا در ٦٥٪ گونه های مطالعه شده قسمت عمده نوسل قبل از بلوغ کیسه جنینی از بین

1. Endothelium
2. Expansion

می رود (Takhtadzhian, 1991). در گونه هایی که نوسل از بین نمی رود، پوسته درونی به اندوتلیوم تمایز نمی یابد و کیسه جنینی مواد مورد نیاز خود را مستقیما از نوسل دریافت مـی کنـد (Reiser et al., 1993).

۱-۱-۱-۲ مراحل نموی سلول تخمزا

چهار مرحله نموی اصلی برای سلول تخمزا پیش بینی شده است که عبارتند از (Batygina, 2006):

الف- تشکیل هسته اولیه سلول تخمزا: پایین ترین هسته هاپلوئید در قطب میکروپیلی، در کیسه جنینی ۸ هسته ای، که خواهر یکی از هسته های قطبی می باشد.

ب- تشکیل آغازه سلول تخمزا: یکی از سلول های گامتوفیتی هاپلوئید بافت دستگاه تخمزا[1] می باشد که در نتیجه تشکیل دیواره ها ایجاد می شوند.

ج- ایجاد سلول تخمزای نابالغ: گامت ماده نابالغ که از لحاظ سیتولوژیکی دارای ویژگی هـایی از آن جمله، کاهش بس توانی[2]، ایجاد قطبیت (مهاجرت هسته و بویژه واکوئلیزاسیون) و تقارن (شعاعی یـا دو جانبی) می باشد در این مرحله کیسه جنینی کاملاً تشکیل شده ولی هنوز برای لقاح آماده نیست.

د- تشکیل سلول تخمزای بالغ: گامت ماده بالغ که از سلول تخمزای نابالغ بـه سـلول تخمـزای بـالغ برای لقاح تبدیل شده است. این سلول بشدت تمایز یافته و تخصص یافتـه، قطبـی و دارای سـازمان یابی راسی- قاعده ای[3] می باشد. در این مرحله کیسه جنینی برای لقاح آماده است.

۱-۱-۲ فرایند لقاح

چرخه زندگی تمامی گیاهان از یک الـگوی اسـاسی پیروی می کند و آن تنـاوب بین دو مرحـله

1. Egg apparatus
2. Totipotency
3. Apical-basal

اسپوروفیتی و گامتوفیتی می باشد. چرخه اسپوروفیتی در نهاندانگان با فرایند لقاح مضاعف[1] آغاز می شود. در طی این فرایند لوله گرده ابتدا به سلول سینرژید وارد می شود که احتمالاً در نتیجه علامتی است که از سلول سینرژید زنده صادر می شود (Higashiama, 2002). پس از ورود لوله گرده به سلول سینرژید، لوله گرده پاره می شود و دو سلول اسپرم داخل سینرژید تخلیه می گردند. در طول تخلیه لوله گرده، غشاء سلول های اسپرم پاره می شود و هسته های اسپرم در تماس مستقیم با سلول تخمزا و هسته های قطبی قرار می گیرند. لقاح یکی از هسته های اسپرم با سلول تخمزا و هسته اسپرم بعدی با هسته های قطبی، منجر به تولید سلول تخم اصلی و تخم ضمیمه می شود که بترتیب منشاء جنین و بافت ذخیره ای دانه می باشند (Russell et al., 1993; Reiser et al., 1993; West and Harada, 1993).

۱-۲ سلول تخم[2]

واژه سلول تخم یا زیگوت اولین بار توسط استراسبورگر[3] در سال ۱۸۷۷ برای تعریف نتاج حاصل از ادغام گامتها در جلبک اسپیروژیرا[4] و استابولاریا[5] به کار برده شد. بعداً باتسون[6] در سال ۱۹۰۲ این واژه را برای فردی که از سلول تخمزای لقاح یافته نمو می یابد به کار برد.

سه مرحله نموی اصلی سلول تخم عبارتند از (Batygina, 2006):

الف- تشکیل آغازه سلول تخم: سلول تخمزاء بالغ، که هسته گامت نر به سیتوپلاسم آن داخل شده است. بدنبال این فرایند تمایز زدایی در این سلول، که از لحاظ سیتولوژیکی سلولی تمایز یافته و قطبی می باشد آغاز می شود.

1. Double fertilization
2. Zygote
3. Strasburger
4. *Spirogyra*
5. *Asetabularia*
6. Batson

ب- تشکیل سلول تخم نابالغ: سلول تخم از آغازش تلاقی هسته ها تا کامل شدن ادغام هسته ها می باشد. از لحاظ سیتولوژیکی کاهش تخصص یافتگی، اکتساب بس توانی و قطبیت (سازمان یابی راسی- قاعده ای) نشان می دهد.

ج- تشکیل تخم بالغ: سلولی که ادغام هسته های جنسی تا مرحله تقسیم را طی کرده است. از لحاظ سیتولوژیکی بس توان، دارای قطبیت و تقارن می باشد.

اندازه و شکل سلول تخم جزء ویژگی های مختص گونه می باشد. اغلب گلابی شکل یا کروی اند. این سلول در بسیاری از گونه ها بلافاصله بعد از لقاح تقسیم نمی شود و دارای یک دوره استراحت[1] می باشد (Lersten, 2004).

۱-۲-۱ روند تقسیمات میتوزی در سلول تخم:

گیاهان موجوداتی قطبی هستند و اولین قطبیت در سلول تخم دیده می شود. معمولاً هسته و بخشی از سیتوپلاسم که قسمت عمده اندامک ها در آنجا توزیع شده اند در بخش راسی و یک واکوئل بزرگ در بخش قاعده ای سلول تخم قرار می گیرد (Lersten, 2004; Batygina, 2006). دربسیاری از نهاندانگان تقسیم اول سلول تخم به صورت نامتقارن و افقی می باشد (Meinke,1991). تقسیم نامتقارن سلول تخم منجر به ایجاد دو سلول با سیتوپلاسم متفاوت می شود: سلول کوچکتر با سیتوپلاسم متراکم با عنوان سلول راسی[2] و سلول بزرگتر با سیتوپلاسم واکوئلیزه که با عنوان سلول قاعده ای[3] شناخته می شود. البته سیواراماکریشنا[4] در سال ۱۹۸۷ با مطالعه جنین دو سلولی ۱۰۰ گونه مختلف، مشاهده کرد در ۳٤ گونه هر دو سلول از لحاظ اندازه با هم برابرند و یا سلول راسی بزرگتر

1. Resting- period
2. Apical cell
3. Basal cell
4. Sivaramakrishna

می باشد. اگرچه اندازه سلول های دختر ممکن است متفاوت نباشد، جهت گیری سلول راسی در مقابل شالاز از لحاظ فیزیولوژیکی بسیار مهم است (Lersten, 2004). این دو سلول به لحاظ مورفولوژیکی و سرنوشت متفاوت می باشند. سلول رأسی منشا تشکیل جنین خواهد شد در حالیکه سلول قاعده ای هیپوفیز و ساختار ناپایداری را که سوسپانسور نامیده می شود تولید می کند. اگرچه امروزه اثبات شده سلول قاعده ای در تولید تعدادی سلول در ساختار جنین مشارکت می کند. نمو جنین به صورت پیوسته اتفاق می افتد اما برای سهولت مطالعه مراحلی را برای آن در نظر گرفته اند (West and Harada, 1993; Lersten, 2004; Berleth, 1998; Batygina, 2006).

۱- مرحله پیش جنین[1]

این واژه اولین بار توسط هوفمیستر[2] در سال ۱۸۴۹ با مطالعه پدیده جنین زائی در گیاه کیسه کشیش[3]، برای تعریف ساختار کروی حاصل از تقسیمات سلول راسی تا قبل ازتمایز اندام ها و بافت های جنینی به کار برده شد. تحقیقات بعدی نشان داد نه تنها جنین می تواند از سلول راسی منشا بگیرد بلکه می تواند از سلول قاعده ای نیز منشا بگیرد. در نتیجه واژه پیش جنین برای تعریف جنین با بافت ها و اندام های تمایز نیافته در مراحل اولیه نموش به کار می رود.

۲- مرحله کروی[4]

جنین بعد از تشکیل، تقسیمات میتوزی سریعی را انجام داده در نتیجه تعداد فراوانی سلول با اندازه کوچک به وجود می آید. به علت سرعت تقسیمات سلول ها رشد نمی یابند و حجم جنین

1. Proembryo
2. Hofmeister
3. *Capsella*
4. Globular stage

چندان افزایش نمی یابد. جنین در این مرحله دارای تقارن شعاعی است و تمایز یابی اندام ها در آن دیده نمی شود.

۳- مرحله قلبی شکل[1]

به دنبال تغییر در روند تقسیمات میتوزی در بخش های مختلف جنین کروی، جنین وارد مرحله قلبی شکل می شود. در این مرحله تقسیمات در دو انتهای محور جنین کاهش می یابد در حالیکه در دو طرف راس، افزایش می یابد و جنین تقارن دو جانبی پیدا می کند.

٤- مرحله اژدری شکل[2]

به دنبال مرحله قلبی شکل با تشکیل و رشد لپه ها جنین وارد این مرحله می شود. تمایز یابی مریستم راسی ریشه و ساقه در این مرحله اتفاق می افتد.

۱-۲-۲ سوسپانسور[3]

سوسپانسور ساختار جنینی نسبتاً ناپایداری است که از تقسیمات سلول بازال حاصل می شود. در بیشتر گونه ها سوسپانسور در انتهای مرحله جنین قلبی شکل یا اوایل مرحله اژدری شکل در نتیجه مرگ سلولی برنامه ریزی شده که از پایه ی سوسپانسور شروع می شود از بین می رود. این سلول در جذب و انتقال مواد غذایی به جنین نقش دارد (Umehara and Kamada, 2005). سوسپانسور در گیاهان مختلف دارای اشکال بسیار متنوعی است و به صورت رشته ای یا توده ای، انشعاب دار یا

1. Heart- shaped stage
2. Torpedo stage
3. Suspensor

فاقد انشعاب، و در برخی مواقع شبیه هوستریوم مهاجم به بافت نوسل دیده می شود. مثلاً اعضای متعلق به خانواده ارکیداسه سوسپانسوری بزرگ و منشعب دارند (Yeug and Law, 1996).

واردلو[1] در سال ۱۹۵۵ انواع سوسپانسور های توصیف شده در گیاهان مختلف را بررسی کرد و به این نتیجه رسید که می توان بین گونه ها گرادیانی از سوسپانسور بشدت توسعه یافته تا سوسپانسور کمتر توسعه یافته و تقریباً فاقد سوسپانسور یافت.

بررسی های لرستن در سال ۱۹۸۳ نشان داد جنین های تیره حبوبات[2] بیشترین تنوع شکل سوسپانسور در میان نهاندانگان را نشان می دهند. بویژه در طایفه ویسیه[3] سوسپانسور دارای چهار سلول چند هسته ای[4]، (۲سلول بالایی کوچک و ۲ سلول پائینی بزرگ، هر کدام دارای ۳۲-٦٤ هسته) می باشد. لوبیای قرمز[5] بدلیل دارا بودن سوسپانسور حجیم، گونه بسیار مطلوبی برای تحقیق در این زمینه می باشد. گونه های داخل این جنس گستره ای از انواع اشکال سوسپانسور را نشان می دهند. وجود اشکال مختلف سوسپانسور ثابت می کند که سوسپانسور ها و عملکرد آن ها به شدت در نهاندانگان کنترل می شود (Lersten, 2004).

۱-۲-۳ هیپوفیز[6]

این واژه توسط هانستین[7] در سال ۱۸۷۰ برای توصیف سلول واقع در بین سوسپانسور و جنین به کار برده شد. به عقیده وی این سلول (عدسی مانند) در اوایل مرحله کروی آشکار می شود و به

1. Wardlow
2 .Fabaceae
3. Vicieae
4. Multinucleate
5. *Fhaseolus multiflorus*
6. hypophis
7. Hanstein

عنوان یک ارتباط دهنده بین جنین و سوسپانسور عمل می کند. بعدا در سال ۱۹۰۶ شافنر[1] هیپوفیز را سلول لنز مانند حاصل از تقسیم سلول واقع در بین سوسپانسور و جنین تعریف کرد. این سلول در تشکیل کلاهک ریشه و مرکز آرام ریشه نقش دارد (Batygina, 2006).

۱-۲-٤ انواع جنین زائی

مراحل اصلی تشکیل جنین در گیاهان گلدار در اوایل قرن ۱۹ مطالعه شد. هوفمیسر[2] در سال ۱۸۵۹ اولین تقسیم سلول تخم و تشکیل جنین دو سلولی از سلول راسی را کشف کرد. در حال حاضر انواع مختلف رده بندی نوع جنین زایی، بر پایه ملاک های مختلف در تک لپه ایها و دو لپه ایها وجود دارد با اینحال ساده ترین و کاربردی ترین رده بندی، نوع جانسون[3] (۱۹۵۰) می باشد. انواع مدل های جنین زایی پیشنهاد شده توسط وی در مطالعات جنین زایی مقایسه ای به منظور حل مشکلات سیستماتیکی و فیلوژنتیکی استفاده می شود. علاوه بر این بدلیل توجه به مراحل اولیه نمو جنین، این مدل می تواند برای کنترل تحقیقات در بررسی های فیلوژنتیکی و جنبه های مولکولی جنین زایی استفاده گردد (Batygina, 2006).

رده بندی جانسون (۱۹۵۰)

وی از ریشه لاتین اسامی خانواده ها برای رده بندی استفاده کرد و ٦ نوع مختلف جنین زایی بر اساس نوع تقسیم اول و دوم سلول تخم و میزان مشارکت سلول بازال در تشکیل جنین پیشنهاد داد که عبارتنداز:

1. Schaffner
2. Hofmeister
3. Johansen