

مطالعه نمو گامتوفیت ماده در گیاه گل گندم (*Centaurea depressa* L.)

ناصر حسینی*^۱، منا ناظمی^۲

^۱ مربی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

^۲ کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران.

تاریخ پذیرش ۱۳۹۱/۱۱/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۲/۲۱

چکیده

مطالعات رویان شناختی جایگاه ویژه‌ای در علم گیاه‌شناسی و تاکسونومی گیاهی دارند. در این پژوهش مراحل و چگونگی تکوین تخمک و دانه گرده در گیاه *Centaurea depressa* مورد بررسی قرار گرفت. گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در FAA₇₀ تثبیت و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از قالب گیری در پارافین با میکروتوم برش گیری شد و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی انجام گرفت. لام‌های تهیه شده از مراحل مختلف تکوینی با دقت با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. براساس نتایج حاصل از این بررسی، تخمک به شکل واژگون، دو پوسته ای و کم خورش است و تکوین کیسه رویانی از طرح تک اسپوری و تیپ پلی‌گونوم پیروی می‌کند. از آنجائی که نمو کیسه رویانی در گونه مطالعه شده از نوع پلی‌گونوم است. بنابراین مگاسپور موجود در ناحیه شالازی، مگاسپور عملکردی می‌باشد. پس از تقسیم میوز تترادهای مگاسپور آرایش T شکل دارند. لایه اندوتلیوم از یک ردیف یاخته تشکیل شده است و تا زمان تشکیل رویان پایدار باقی می‌ماند. کیسه رویانی ابتدا بسیار کوچک است به طوری که هسته‌های آن آرایش خطی فشرده را به خود می‌گیرند، اما در جریان بلوغ، کیسه رشد طولی قابل توجهی پیدا می‌کند.

واژگان کلیدی: تک اسپوری، پلی‌گونوم، لایه اندوتلیوم، کیسه رویانی، *Centaurea depressa*

مقدمه

ارتباطات بین سرده‌ها، طایفه‌ها و همچنین وجود گونه‌های چند شکل (پلی مورف) است (Torrell et al., 1999). مطالعات تکوینی و رویان شناختی می‌تواند به حل مشکلات آرایه شناختی در این تیره نیز کمک نماید.

سرده‌ها و گونه‌های فراوان این تیره، پراکنش جهانی، و این حقیقت که شامل تعداد زیادی گیاه مفید و دارویی می‌باشد این تیره را موضوع مطالعات متعددی نموده است. بسیاری از گیاهان این تیره از جمله *Centaurea* از نظر دارویی و داشتن اسانس،

تیره آفتاب گردان (Asteraceae) بزرگترین تیره گیاهی است (Bremer, 1994). بر اساس گزارش‌های باغ گیاه‌شناسی سلطنتی کیو این تیره بیش از ۱۶۰۰ جنس و ۲۳۰۰۰ گونه دارد (Watanabe, 2002; Kadereit and Jeffrey, 2007). در این تیره تقسیم بندی سرده‌ها و تشخیص مرز بین آنها اغلب مشکل‌زا بوده و برخی از آنها باید پی در پی به زیر گروه‌های کوچک‌تر تقسیم شوند (Hind et al., 1995). یکی از مشکلات اساسی آرایه شناختی در این تیره درک

*مسئول مکاتبه: na_hosseini@ymail.com

نهانانگان، به وجود آمده‌اند (Maheshwari, 1950; Romanov, 1944). اطلاعات جدید گردآوری شده به وسیله زیست شناسی توصیفی و تجربی، ریخت شناسی، زیست شناسی تولید مثلی و نموی، باید مطالعات رویان شناسی تکاملی را توسعه دهند که در این زمینه، تحقیقاتی به‌ویژه در ارتباط با جنبه‌های مختلف رویان زایی توصیفی و مقایسه‌ای انجام شده است (Johri et al., 1992).

تاکسون مورد بررسی در این تحقیق گونه *Centaurea depressa* L. بوده که متعلق به تیره *Asteraceae* و طایفه *Cynareae* می‌باشد. هدف از انجام این بررسی، تجزیه و تحلیل مراحل تکوینی گامتوفیت ماده می‌باشد. از آنجا که اغلب پژوهش‌هایی که با دیدگاه سیستماتیکی بر روی اندام‌های زایشی صورت گرفته، به دلیل سادگی نسبی کار و کثرت دانه‌های گرده، بر روی خصوصیات دانه گرده بوده است، به نظر می‌رسد که مطالعه اندام زایشی ماده، به ویژه مراحل تکوین کیسه رویانی ارائه دهنده ویژگی‌های ارزشمند و بسیار متنوعی است که می‌توانند از دیدگاه سیستماتیکی مورد توجه واقع شوند.

مواد و روش‌ها

نمونه گیاهی در اردیبهشت ۱۳۹۰ از مزارع اطراف اراک جمع‌آوری شد و سپس جهت شناسایی، تهیه نمونه هرباریومی و جداسازی گل‌ها به منظور مطالعه جنین‌شناسی به آزمایشگاه گیاه‌شناسی گروه گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه اراک منتقل شدند. گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف تکوین جهت تثبیت در FAA 70 (ethanol Formalin, acetic acid) قرار داده شد. سپس ذخیره سازی در الکل ۷۰ درصد صورت گرفت. پس از جاسازی نمونه‌ها در قالب‌های پارافین برش‌گیری با میکروتوم در اندازه ۵-۱۰ μm صورت گرفت (Xue and Li, 2005). شفاف سازی و رنگ آمیزی مضاعف هسته و سیتوپلاسم به وسیله

ارزش ویژه‌ای دارند (Zhao et al., 2006; Khan et al., 2008).

مطالعات متعدد کاربولوژیک و فیتوشیمی در این آرایه صورت گرفته است (Valles et al., 2005)، اما مطالعات تکوینی و رویان شناختی محدودی در این تیره انجام شده است. بنابراین هنوز انجام مطالعات جدید تکوینی برای افزایش دانش و آگاهی در مورد گیاهان این تیره ضروری است (Shamrov, 1987). همچنین پیش‌بینی می‌شود مطالعات تکوینی و رویان شناختی بتواند در کنار سایر مطالعات در حل مشکلات آرایه شناختی این گروه نیز همانند سایر تیره‌های گیاهی مورد استفاده قرار گیرد (Johri et al., 1992). بر اساس مطالعات رویان شناختی محدود که در این تیره انجام شده است، ویژگی‌های استثنایی و نادر متعددی در گیاهان این تیره گزارش شده است. برخی از موارد استثنایی و نادر مشاهده شده در گیاهان این تیره از جمله: وجود پدیده Nemec یعنی تشکیل ساختارهای شبیه کیسه رویانی در دانه گرده (Davis, 1966; Batygina, 1987)، افزایش یاخسته‌های قرینه (سینرژیدها) در کیسه رویانی (Pandey, 2001)، افزایش یاخسته‌های آنتی‌پود (Richards, 1997)، تکوین کیسه رویانی ۴ یاخسته‌ای (Davis, 1966) و وجود آپومیکسی (Chaudhury et al., 2001) گزارش شده‌اند.

در مقایسه با اطلاعات گردآوری شده راجع به نمو دانه گرده، شناخت کمتری از نمو گامتوفیت ماده و ارتباط کیسه رویانی با تخمک قبل و بعد از لقاح، حاصل شده است. مقداری اطلاعات درباره اولین مراحل نمو تخمک نیز می‌تواند صرفاً در گزارش‌های (Roth, 1957; Schulz and Jensen, 1981) یافت شوند. بر پایه شباهت‌های زیاد در ساختار کیسه رویانی (تکوین نوع نرمال یا تیپ علف هفت بند) که در بخش عمده‌ای از نهانانگان وجود دارد و عمومیت مطلق لقاح مضاعف در بین آنها، به نظر می‌رسد این ویژگی‌ها یکبارہ در تاریخ تکاملی

هماتوکسیلین و ائوزین صورت گرفت. نمونه‌های مورد مطالعه با میکروسکوپ نوری میکروسکوپ OPTIKA بررسی شد و عکسبرداری به کمک دوربین دیجیتال مدل Canon pc.1049 انجام گرفت.

نتایج

تکوین تخمک

در نمونه مورد بررسی تخمک‌ها از نوع واژگون دو پوششی با خورش کم می‌باشند (شکل 1A). تخمک‌ها در ابتدا به صورت برجستگی کوچک در جدار تخمدان پدیدار می‌شوند. پریموردیوم تخمکی ابتدا به صورت برجستگی ظاهر می‌شود (شکل 1A). سپس کمی انحنای برمی‌دارد و کم و بیش هلالی شکل می‌شود (شکل 1B). بنیان گذاری پوسته‌های تخمک در طرفین جسم تخمک و در قاعده خورش ابتدا به صورت برجستگی‌های چند سلولی صورت می‌گیرد. هرچند زمان تشکیل پوسته درونی زودتر است (شکل 1D) ولی پوسته بیرونی نسبت به پوسته درونی از رشد سریعتری برخوردار است. انتهای آزاد پوسته‌ها در قطب سفیدی تخمک ایجاد مجرای باریک میکروویلی یا سفیدی را می‌کنند که شکل میکروویلی بصورت هلالی است. وجود یا عدم وجود لایه اندوتلیوم نیز اهمیت تاکسونومیکی دارد. سلول‌های این لایه دارای هسته کاملاً واضح و سیتوپلاسمی متراکم هستند که از پایداری زیادی برخوردار می‌باشند، به طوری که در زمان تشکیل رویان نیز حضور دارند (شکل 1I). در داخل پریموردیوم تخمک، به دنبال رشد سریع یکی از سلول‌های خورش، سلولی به نام آرکسپور یا مگامتوسیت تمایز می‌یابد (شکل 1C).

مگامتوسیت با حجم زیاد، هسته متراکم و حجیم و شکل چند وجهی خود به خوبی از سایر سلول‌های خورش قابل تشخیص می‌باشد (شکل 1D). سپس سلول مادر مگاسپور به دنبال افزایش حجم، متحمل تقسیم میوز می‌شود. اولین تقسیم میوزی

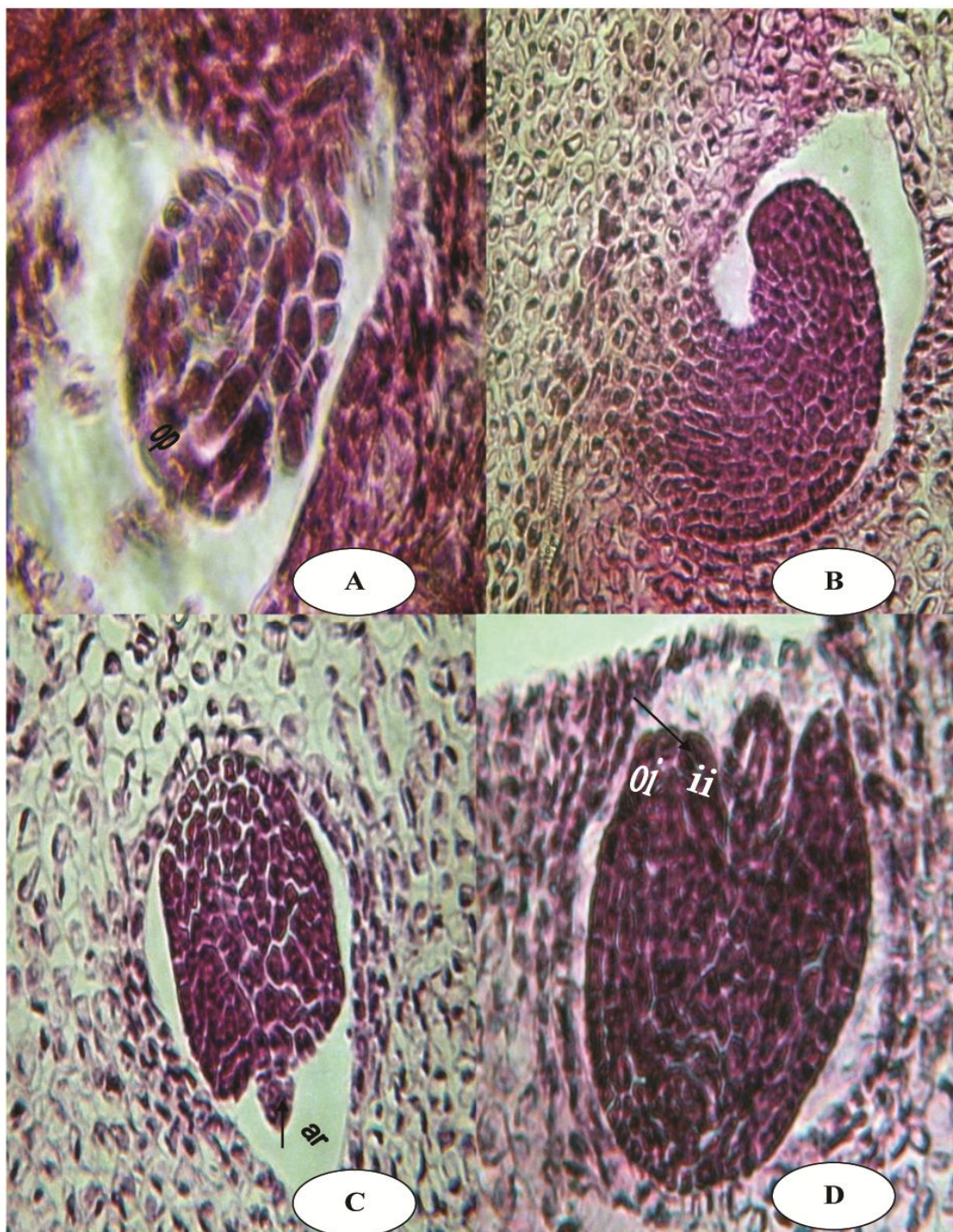
مگامتوسیت موجب تشکیل دو سلول دیاد می‌گردد (شکل 1E) و دومین تقسیم میوزی آن موجب تشکیل چهار سلول تتراد می‌شود (شکل 1F). آرایش تترادها در این گونه از نوع T شکل می‌باشد، که در این مرحله از نمو، پوسته‌های تخمک بیش از سه چهارم جسم تخمک را بر گرفته است. سپس سه سلول تحلیل رفته و تنها سلول باقی مانده که مگاسپور فعال یا عملکردی نامیده می‌شود، به کیسه رویانی تحول می‌یابد.

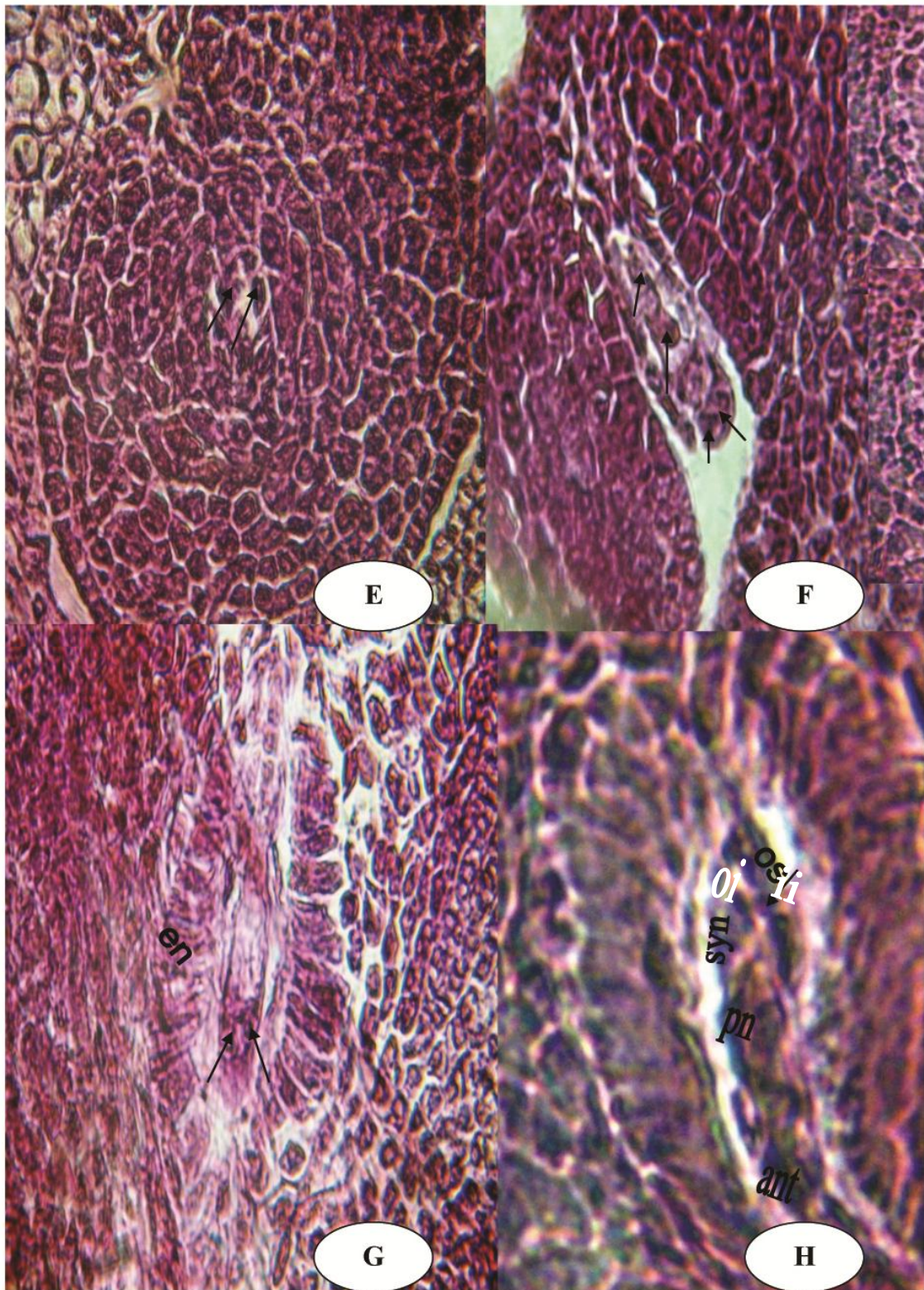
نمو کیسه رویانی

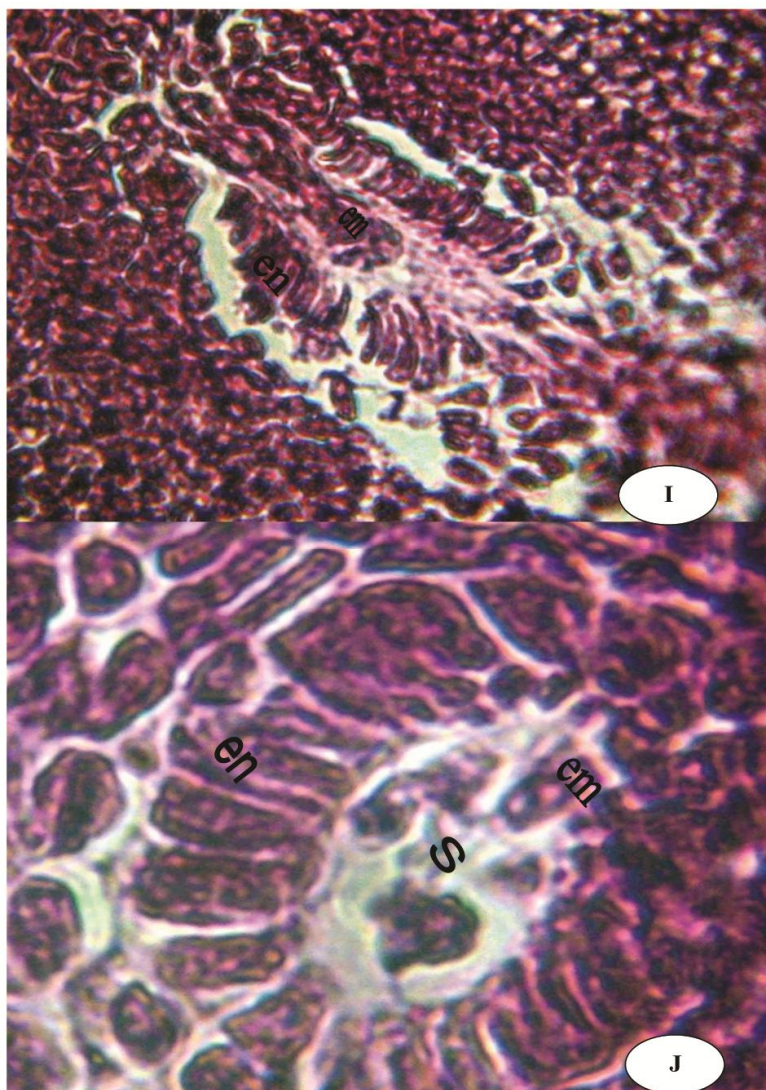
هسته سلول بنیادی کیسه رویانی در این گونه سه تقسیم میتوزی متوالی را انجام می‌دهد. نخستین تقسیم میتوزی موجب تشکیل کیسه رویانی دو هسته‌ای می‌شود. به دنبال انجام دومین تقسیم میتوزی در هر کیسه رویانی چهار هسته تشکیل می‌شود. حاصل تقسیم سوم، کیسه رویانی هشت هسته‌ای بوده که شامل یک سلول میانی تخمزا و دو سلول سینرژید است و در قسمت بنی سه سلول آنتی‌پود به وجود می‌آید (شکل 1H). یک سلول مرکزی هم شامل دو هسته قطبی جدا شده از قطب‌های بنی و سفیدی می‌باشد که بیشترین حجم کیسه رویانی توسط آن‌ها اشغال می‌گردد (شکل 1F). بنابراین کیسه رویانی در این گونه نیز دو قطبی، هفت سلولی و هشت هسته‌ای است و از نوع پلی‌گونوم می‌باشد. همچنین دو هسته سلول مرکزی به تدریج به هم نزدیک تر شده و همزمان به سمت دستگاه تخم مهاجرت می‌کنند و نزدیک دستگاه تخم و مصادف با تمایز دستگاه تخم، یعنی زمانیکه دستگاه تخم گلابی شکل می‌شود و دیواره مشخصی پیدا می‌کند، با هم تلفیق می‌شوند و یک هسته ثانوی را ایجاد می‌کنند (شکل 1H). آنتی‌پودها یا سلول‌های قطب شالازی نیز به سرعت و قبل از عمل لقاح در کیسه رویانی از بین می‌روند. بدین ترتیب کیسه رویانی بالغ که در آن تمایز یافتگی اجزا نشان دهنده خصوصیات ویژه تاکسون است کامل شده و در این حالت کیسه رویانی آماده لقاح است (شکل 1H). به دنبال لقاح سلول تخمزا با یکی از

وجود می‌آید. هسته‌های حاصل از تقسیم تخم
ضمیمه، به علت فقدان دیواره جدا کننده، تشکیل توده
ای سیتوپلاسمی با هسته‌های بیشمار به نام آلبومن
هسته‌ای بافت نموی (سنسیتیوم) را می‌دهند و جنین
کروی در رأس یک سوسپانسور بلند قرار دارد
(شکل 1J).

اسپریم‌های لوله گرده و تشکیل سلول تخم، رویان
کروی شکل ایجاد می‌شود (شکل II) و شروع به
تکوین می‌نماید. در گونه *C. depressa* از ترکیب
هسته ثانوی با دومین اسپریم و تقسیمات پی‌درپی
سلول حاصله، بافت ذخیره‌ای آندوسپریم سنسیتیوم به







شکل ۱ (A-J): مراحل تشکیل تخمک و کیسه رویانی در *Centaurea depressa*. شکل A: پریموردیوم تخمکی (op)، یک تخمک تمایز نیافته جوان، به صورت یک برجستگی کوچک تقریباً کروی و در جدار تخمدان پدیدار می‌شود. شکل B: انحناى پریموردیوم تخمکی شکل C: آرکسپور (ar) با اندازه بزرگ و هسته حجیم و متراکم خود از سلول‌های اطراف متمایز شده است. شکل D: مگاگامتوسیت با حجم زیاد، هسته درشت و متراکم و حجیم و شکل چند وجهی خود از سایر سلول‌های خورش قابل تشخیص می‌باشد و بنیان گذاری زودتر پوسته درونی (ii) نسبت به پوسته بیرونی (oi) دیده می‌شود. شکل E: اولین تقسیم میتوزی مگاگامتوسیت موجب تشکیل دو سلول دیاده‌اپلوئید می‌گردد شکل F: دومین تقسیم میتوزی مگاگامتوسیت موجب تشکیل چهار سلول‌هاپلوئید (تتراسپور) می‌شود. تتراده‌ها از نوع T شکل هستند و فرم قرار گرفتن پوسته‌های تخمک به گونه‌ای است که شکل سفت در گونه مورد نظر هلالی شکل می‌باشد. شکل G: یک سلول مرکزی هم شامل دو هسته قطبی جدا شده از قطب‌های بنی و سفتی می‌باشد که بیشترین حجم کیسه رویانی توسط آن اشغال می‌گردد. شکل H: کیسه رویانی بالغ (es) که آماده لقاح می‌باشد. سلول تخمزا (os)، سینرژیدها (syn)، هسته قطبی (pn)، آنتی پدال‌ها (ant). شکل I: جنین کروی و لایه اندوتلیوم (en) که با رنگ پذیری بیشتر نسبت به سلول‌های اطراف قابل تشخیص است و تا زمان تشکیل رویان نیز حضور دارد. شکل J: هسته‌های حاصل از تقسیم تخم ضمیمه، به علت فقدان دیواره جدا کننده، تشکیل توده‌ای سیتوپلاسمی با هسته‌های بیشمار به نام آلبومن هسته‌ای بافت نموی (سنسیتیوم) را می‌دهند و جنین کروی در رأس یک سوسپانسور بلند قرار دارد.

بحث

که پوسته را تولید می‌کنند زیر سلول‌های اپیدرمی واقع می‌شوند.

در گونه *Centaurea depressa* مطابق گونه *C.iberica* (چهرگانی و همکاران، ۱۳۸۹) آندوسپرم هسته‌ای تشخیص داده شد، به گونه‌ای که هسته‌های حاصل از تقسیم تخم ضمیمه، به علت فقدان دیواره جدا کننده، تشکیل توده‌ای سیتوپلاسمی با هسته‌های بیشمار به نام بافت نموی (سنسیتیوم) را می‌دهند. در این مرحله جنین کروی در رأس یک سوسپانسون بلند قابل مشاهده است. الگوی تیپ علف هفت بند یا *Polygonum* متداول ترین الگوی نموی کیسه رویانی قابل مشاهده می‌باشد که تقریباً در ۷۰ درصد گیاهان گل دار وجود دارد و در تیره‌های مهمی مانند *Malvaceae*، *Brassicaceae*، *Poaceae*، *Asteraceae*، *Leguminosae* و *Solanaceae* این نوع کیسه رویانی وجود دارد. در گیاهان مورد مطالعه نیز تیپ علف هفت بند مشاهده شد (Maheshwari, 1950; Mansfield et al., 1991; Huang & Russell, 1992). موقعیت مگاسپور فعال نیز بسیار متغیر است و ممکن است در موقعیت سفیدی، بنی یا میانی باشد، موقعیت بنی ویژه نمو کیسه رویانی تیپ علف هفت بند گزارش شده و کیسه رویانی نوع پلی‌گنومی و مونوسپوری به طور عادی از مگاسپور تحتانی تشکیل می‌شود و از آنجائی که نمو کیسه رویانی در گونه مطالعه شده از نوع پلی‌گونوم بوده، بنابراین مگاسپور موجود در ناحیه شالازی، مگاسپور عملکردی می‌باشد و ۳ مگاسپور دیگر که به صورت غیرکارکردی می‌باشند، توسط کالوز احاطه شده و در نهایت تخریب می‌شوند که بر اساس نظریه Webb and Guning (۱۹۹۰) وظیفه اصلی کالوز در طی مگاسپوروزن متوقف کردن عملکرد مگاسپور غیر کارکردی می‌باشد. در نمونه مورد مطالعه مگاسپور ناحیه بنی، کارکردی می‌باشد که با نتایج (Gotelli et

در گونه بررسی شده تخمک از نوع واژگون تشخیص داده شده به این علت که تخمک روی پایه خود بر می‌گردد و میکروپیل آن کاملاً مجاور ناف و فونیکول قرار می‌گیرد. از آنجایی که منطقه میکروپیلی خورش، در هدایت و احتمالاً رشد لوله کرده دخالت می‌نماید (Chaban and Yakovlev, 1974). یکی از مهم ترین ویژگی‌های تخمک، جهت یابی سفت است. چرا که این جهت گیری در تسهیل یا مهار لقاح و کوتاه یا بلند کردن لوله کرده نقش دارد. فرم قرار گرفتن پوسته‌های تخمک به گونه‌ای است که شکل سفت در گونه مورد نظر هلالی شکل بوده و در دو گونه مورد بررسی دیگر به صورت خطی راست با کمی انحنای داسی شکل است. بر اثر تغییر شکل سلول‌های داخلی خورش به سلول‌های ترشچی، بر روی سطح خورش که بعداً در تماس با کیسه رویانی قرار می‌گیرد، یک لایه از سلول‌های ترشچی به نام اندوتلیوم تشکیل می‌شود (Areal, 1963) که سلول‌های آن طرح‌های منظم و یکنواختی را نشان می‌دهند.

در گونه مورد بررسی، اندوتلیوم از پایداری زیادی برخوردار است و از یک ردیف سلول تشکیل شده، سلول‌های آن تک هسته‌ای و دارای دیواره ضخیم بوده و عمود بر محور کیسه رویانی طویل شده‌اند و همچنین در تمام طول کیسه رویانی دیده می‌شوند. Mirbel (۱۸۲۹) با تهیه تصاویر اولیه از تشکیل تخمک مشخص کرد که پوسته‌ها به صورت برجستگی‌هایی بنیان گذاری می‌شوند و به طور معمول از تقسیمات مماسی یا مایل بنیان‌های پوستی یا زیر پوستی پریموردیوم تخمکی به وجود می‌آیند. در برخی تاکسون‌ها، مانند تیره کاسنی، تیره شب بو (Roth, 1957) تقسیمات مماسی سلول‌های اپیدرمی

منابع

چهرگانی، ع.، حسینی، ن.، ناظمی، م. و لاری یزدی، ح. (۱۳۸۹). بررسی ویژگی‌های تکوینی دانه‌های گرده و تخمک در گونه *Centaurea iberica* Trevir. ex Sprengs فصلنامه زیست شناسی گیاهی سال دوم شماره پنجم، پاییز ۸۹ صفحه ۶۳-۷۴.

ناظمی، م.، چهرگانی، ع. (۱۳۸۷). مطالعه رویان شناسی در برخی از گونه‌های تیره Asteraceae، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد.

Arekal, G.D. (1963). Embryological studies in Canadian representatives of the tribe Rhinanthae, Scrophulariaceae. Canadian Journal of Botany, 41: 267-305

Batygina, T.B. (1987). Embryology of flowering plants: terminology and concepts. USA, Science Publishers.

Bremer, K. (1994). Asteraceae, Cladistics and Classification. Timber Press, Portland, Oregon.

Chaban, I.A. and Yakovlev, M.S. (1974). Embryology of *Reseda lutea* L. Megasporogenesis and embryo sac development. Bot. Journal, 59: 24-37.

Chaudhury, A.M., Koltunow, A., Payn, T., Luo, M., Tucker, M.R., Dennis, E.S. and Peacock, W.J. (2001). Control of early seed development. Annual review of cell and developmental biology, 17: 677-699.

Davis, O.L. (1966). Systematic embryology of the Angiosperms. John Wiley and Sons, New York.

Gotelli, M.M., Galati, B.G. and Medan, D., (2008). Embryology of *Helianthus annuus* (Asteraceae). Annales Botanici Fennici, 45:81-96.

Haig, D. (1990). New perspective on the angiosperm female gametophyte. Botanical Review, 56: 236-274.

Hind, D.J.N, Jeffrey, C. and Pope, G.V. (1995). Advances in Compositae systematics. - Royal Bot. Gardens, Kew.

Huang, B.Q. and Russell, S.D. (1992). Female germ Unit: Organization, isolation and function. International Review of Cytology, 140: 233-292.

Johri, B.M., Ambegaokar, K. and Srivastava, P.S. (1992). Comparative

al., 2008) در مورد گونه *Helianthus annuus* همسو است.

زمان ترکیب هسته‌های قطبی، با توجه به الگوی نموی کیسه رویانی، می‌تواند قبل یا بعد از لقاح انجام گیرد (Haig, 1990; Huang & Russell, 1992). در گونه مورد مطالعه ترکیب هسته‌های قطبی قبل از لقاح کامل شده که مطابق با *C.solstitialis* (ناظمی و چهرگانی، ۱۳۸۷)، *Centaurea iberica* (چهرگانی و همکاران، ۱۳۸۹) و *Helianthus annuus* (Gotelli et al., 2008) می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

اندام‌های زایشی گیاهان صفات و خصوصیات فراوان و با اهمیتی هستند که می‌توانند تنوع وسیعی را در تاکسون‌های مختلف نشان دهند. در این میان تخمک و کیسه رویانی اندام‌های مهمی هستند که می‌توانند تنوع قابل ملاحظه‌ای داشته باشند. لذا در مطالعات سیستماتیک که تعداد و تنوع صفات نقش کلیدی و مهمی را بازی می‌کنند، این اندام‌ها می‌توانند کمک کننده و راهگشا باشند. لذا به نظر می‌رسد که با وجود برخی تفاوت‌های بیان شده در نمو کیسه رویانی از جمله اندازه کیسه رویانی، نحوه قرار گیری دیادها، شکل جنین و اندازه سلول‌های اندوتلیوم بین گونه‌های مختلف جنس *Centaurea* مطالعه گامتوفیت ماده در گونه‌های مختلف بتواند راهگشای حل برخی مشکلات سیستماتیکی در این جنس و سایر گیاهان باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از حوزه معاونت محترم پژوهشی و فن‌آوری دانشگاه اراک که با در اختیار قرار دادن منابع مالی و حمایت‌های معنوی ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تشکر می‌نمایم.

- embryology of Angiosperms. Springer-Verlag. Berlin. Germany.
- Kadereit, J.W. and Jeffrey, C. (2007).** Flowering plants vol. VIII. Eudicots. Asterales. Springer-Verlag Press, Berlin Heidelberg.
- Khan, A.L., Gilani, S.A., Fujii, Y. and Watanabe, K.N. (2008).** Monograph on *Inula britannica* L. Mimatsu Corporation, Tokyo.
- Maheshwari, P. (1950).** An introduction to the embryology of Angiosperms. McGraw-Hill, New York.
- Mansfield, S.G., Briarty, L.G., and Erni, S. (1991).** Early embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. 1. The mature embryo sac. The Canadian Journal of Botany, 69: 447-460.
- Mirbel, C.F.B. (1829).** Nouvelles recherches sur la structure et les développements de l'ovule végétale. Ann. Sciences Naturelles. Botanique, 17: 302-318.
- Pandey, B.P. (2001).** A textbook of botany, Angiosperms. Taxonomy, Anatomy, embryology (including tissue culture) and economic botany, Mc Graw Hill.
- Richards, A.J. (1997).** *Plant breeding systems*. 2nd edition. Chapman and Hall. UK. "Manual de metodologia: proyecto AFA" (zenbait autore)
- Romanov, I.D. (1944).** The evolution of angiosperm embryo sacs. Postdoctoral thesis, Tashkent, zbekistan
- Roth, I. (1957).** Die Histogenese der Integumente von *Capsella bursa-pastoris* Und, ihre morphologische Bedeutung. Flora, 145: 212-235.
- Schulz, P. and Jensen, W.A., (1981).** Pre-fertilization ovule development in *Capsella*: ultrastructure and ultracytochemical localization of acid phosphatase in the meiocyte. Protoplasma, 107: 27-45.
- Shamrov, I. (1987).** Gentianaceae-In Batygina, T.B., Jakovlev, M.S., (Eds): Sravnitel'naia embriologija cvetkovykh rastenii, 4, Davidiaceae-Asteraceae Leningrad: Nauka, 137-145.
- Torrell, M., Garcia-Jacas, N., Susanna, A. and Valles, J. (1999).** Phylogeny of *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae) inferred from nuclear ribosomal DNA (ITS) sequences. Taxon, 48: 721-36.
- Valles, J., Garnatje, T., Garcia, S., Sanz, M. and Korbkov, A. (2005).** Chromosome numbers in the tribes Anthemideae and Inuleae (Asteraceae). Kazakhstan. Botanical Journal of the Linnean Society, 148: 77-85.
- Watanabe, W. (2002).** Index to chromosome numbers in Asteraceae. <http://www-asteraceae.cla.kobe-u.ac.jp/index.html>.
- Webb, M.C. and Gunning, B.E.S. (1990).** Embryo sac development in *Arabidopsis thaliana*: Megasporogenesis, including the microtubular cytoskeleton. Sexual Plant Reproduction, 3: 244-256.
- Xue, C.Y. and Li, D.Z. (2005).** *Veratrillabaillonii* (Gentianaceae):description and systematic. Embryology of *Megacodon stylophorus* and implication. Botanical Journal of the Linnean Society, 147: 317-331.
- Yan, H., Yang, H.Y. and Jensen, W. (1990).** Ultrastructure of the developing embryo sac of sunflower (*Helianthus annuus*) before and after fertilization. Canadian Journal of Botany, 69:191-202.
- Zhao, Y.M., Zhang, M.L., Shi, Q.W. and Kiyota, H. (2006).** Chemical constituents of Plants from the Genus *Inula*. Chemical Biodiversity 3: 371-384.