

بررسی ساختار تشریحی و تکوینی خزه *Tortula ruralis* L.

زهرا گودرزی^{۱*}، معصومه میرزایی^۲، فریبا شریف‌نیا^۳

^۱ کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

^۲ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

^۳ دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۶/۲۶

چکیده

در این پژوهش خزه *Tortula ruralis* L. با نام جدید *Syntrichia ruralis* متعلق به تیره Pottiaceae در دو مرحله اسپوروفیتی و گامتوفیتی در دو فصل رویشی بهار و پاییز جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفت. نمونه مورد نظر ابتدا از لحاظ شکل کلی گامتوفیت خزه (خزنده، قائم) ویژگی‌های برگ‌نما (شکل و رنگ پهنک) وضعیت تار (صاف یا پیچیده، رنگ) شکل هاگدان، کلاهک، آرایش دندانه‌های پرستومی و هاگ مورد بررسی و پس از تایید گونه با استفاده از استریو میکروسکوپ، میکروسکوپ نوری و الکترونی از بخش‌های مختلف آن برای مطالعات بعدی استفاده گردید. ریخت‌شناسی و ساختار تشریحی آن به کمک برش‌های دستی و میکروتومی با استفاده از روش‌های متداول سلول - بافت‌شناختی بررسی گردید. برش عرضی دستی از برگ نما و برش عرضی میکروتومی از برگ نما، ساقه نما، کپسول و برش طولی میکروتومی از ساقه نما صورت گرفت. در برش عرضی برگ نمای خزه ساده و مرکب از یک لایه سلول است که در وسط برگ به صورت رگبرگ تراکم بیشتری دارد. در برش طولی میکروتومی از ساقه نما سلول راسی قابل تشخیص می‌باشد که بیانگر قدرت تکثیر خزه در ایجاد گامتوفیت برگ‌نما می‌باشد. در برش عرضی ساقه نما در خزه‌ها دارای سلول‌های پوستی و سلول‌هایی با دیواره‌های ضخیم به نام نوارها یا باندهای استروئیدی که به منظور حمایت ساختاری تمایز یافته‌اند هستند. در برش عرضی هاگدان تک لایه است و داخل آن تعداد زیادی هاگ وجود دارد.

واژگان کلیدی: تیره Pottiaceae، خزه (*Tortula ruralis* L.)، ساختار تشریحی، ساختار تکوینی، هاگ

مقدمه

این گیاهان از نظر مورفولوژی ساده و از نظر اکولوژی بسیار متنوع هستند. بریوفیت‌ها در اجتماعاتی مخلوط رشد می‌کنند. به علاوه به علت اندازه کوچکشان خالص سازی آنها مشکل شده و زمان محدود تکثیرشان نیز مشکل دیگری برای مطالعه می‌باشد (Katoh, 1988). خزه گیان نمی‌توانند بدون رطوبت کافی فعالیت جنسی داشته باشند. آب برای انتقال اسپرم به آرکگون ضروری است. حفظ اسپرم‌های شناگر یک خصوصیت جلبکی است. بنابراین برای عمل لقاح به آب وابسته می‌باشند. بستگی آنها به آب

خزه‌ها، جگرواش‌ها یا هپاتیک‌ها و علف شاخی‌ها که همگی بریوفیت‌ها را تشکیل می‌دهند، ابتدایی‌ترین تولید کنندگان خشکی هستند (Cove et al., 1997) که پیدایش آنها به دوره دونین در حدود ۴۰۰ میلیون سال قبل و گسترش آنها به کربونیفر در حدود ۳۴۵ میلیون سال قبل می‌رسد (قهرمان، ۱۳۸۱). آنها اولین گیاهانی هستند که به تدریج با محیط خشکی سازگار شده‌اند.

*مسئول مکاتبه: gdr_zhr@yahoo.com

بررسی قرار گرفت. جهت شناسایی از کلید تیره Pottiaceae استفاده شد (Kürschner, 2007).

ب) بررسی ریخت‌شناسی و ساختار تشریحی: به کمک برش‌های دستی و میکروتومی با استفاده از روش‌های متداول سلول - بافت شناختی انجام گردید. برش عرضی دستی از برگ نما و برش عرضی میکروتومی از برگ نما، ساقه نما، کپسول و برش طولی میکروتومی از ساقه نما صورت گرفت.

ج) مطالعات هاگ شناسی: ازهاگ و زواید پرستومی در دانشگاه تربیت مدرس با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM ساخت شرکت فیلیپس (Philips) از کشور هلند و مدل XL30 عکس الکترونی تهیه گردید. قبل از مشاهده با میکروسکوپ الکترونی هاگ‌ها را با لایه نازکی از طلا پوشش دادیم. برش‌گیری دستی: جهت برش‌گیری دستی عرضی از برگ نمای خزه از سیب زمینی خام استفاده شد (شکل F).

مراحل تهیه برش‌های میکروتومی: از برگ نما، ساقه نما و کپسول جهت برش‌گیری میکروتومی استفاده شد.

تثبیت نمونه‌ها: جهت تثبیت از محلول FAA با فرمول (۱۷cc الکل اتیلیک، ۲cc فرمالین، ۱cc استیک اسید) به مدت ۴ ساعت استفاده شد.

شستشوی نمونه‌ها: به مدت ۴ ساعت انجام شد. آب‌گیری از نمونه‌ها: از درجات رو به افزایش الکل استفاده شد. درجه الکی به ترتیب به کارگیری ۲۵، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۷۰، ۹۶، ۱۰۰ و ۱۰۰ تکراری.

شفاف سازی: در این مرحله طی مراحل تدریجی تولوئن را جایگزین الکل کردیم.

مرحله نفوذ پارافین مذاب به درون بافت: در این مرحله طی مراحل تدریجی پارافین مذاب را جایگزین تولوئن نمودیم.

برای لقاح سبب تحمیل محدودیت روی اندازه آنها می‌شود. از آنجایی که معمولاً خزه گیان در شرایط دوزیستی رشد می‌کنند و نمی‌توانند چرخه زندگی خود را بدون آب کامل کنند شایسته است که آنها را تحت عنوان دوزیستان جهان گیاهی بنامند (Vashista et al., 2008).

خزه *Tortula ruralis* خاکزی، آکروکارپ، متعلق به سلسله: Plantae، شاخه: Bryophyta، راسته: Pottiales تیره: Pottiaceae و گونه: *ruralis* است. گیاهانی در دسته‌های تنک تا مترکم چمنی کوتاه به طول ۱ تا ۲ سانتی‌متر، ساقه‌ها بدون انشعاب پوشیده از کرک‌های قرمز بلند به‌خصوص در قاعده برگ‌ها در حالت خشک به هم پیچ خورده و یا در برخی برگ‌ها تخم‌مرغی، حاشیه لوله شده به پشت از قاعده تا تقریباً راس برگ، راس برگ گرد یا گاهی فرو رفته به‌ندرت تیز، پهن، نوک منتهی به یک سیخک شفاف با طول دو سوم تا مساوی برگ، رگبرگ دارای ۳ تا ۵ ردیف سلول‌های استریلیدی در سطح پشتی بدون هیدروئید. تار انتهایی منفرد ایستا و قهوه‌ای قرمز در حالت خشک در جهت عقربه‌های ساعت پیچیده. هاگدان ایستا تا کمی خمیده استوانه‌ای صاف و قهوه‌ای، کلاهک کلاه خود مانند. روی خاک‌های مرطوب یا خشک ارتفاعات پایین تا بالا می‌رویند. از آنجا که این گیاه به راحتی به شرایط آلوده تهران سازگار می‌باشد و در نقاط مختلفی از استان تهران رشد می‌کند. لذا هدف از این تحقیق، بررسی ساختار تشریحی و ریخت‌شناسی این گیاه بود.

مواد و روش‌ها

الف) جمع‌آوری: خزه *Tortula ruralis* از منطقه فیروزکوه در دو فصل رویشی بهار و پاییز در دو مرحله اسپوروفیتی و گامتوفیتی جمع‌آوری و مورد

ریزوئیدها معمولاً از سلول‌های پوستی ساقه به وجود می‌آیند، اما گاهی می‌توانند از برگ‌ها نیز به وجود بیایند. در خزها ریزوئیدها دارای دیواره‌های عرضی مورب و سلول‌های غیر فتوسنتزی می‌باشند. وظیفه اصلی ریزوئیدها اتصال گیاه به سطح بسترش می‌باشد. ریزوئیدها علاوه بر نقش مذکور قادر به حفظ و نگهداری آب و هدایت آنها توسط خاصیت موئینگی هستند (شکل A).

ساقه‌نما: محوری شبیه به ساقه است لیکن فاقد آوندهای چوبی و آبکش می‌باشد. در خزها ساقه نماها دارای چندین نوع سلول هستند و می‌توانند تنوع بالایی از تمایز سلولی را در گونه‌های خز ای داشته باشند. به‌طور کلی ساقه‌نما در خزها دارای سلول‌های پوستی (همچنین به نام سلول‌های پارانشیمی) که قسمت اعظمی از ساقه‌ها را تشکیل می‌دهند و سلول‌هایی با دیواره‌های ضخیم به نام نوارها یا باندهای استرئیدی که به‌منظور حمایت ساختاری تمایز یافته اند هستند. برخی خزها دارای یک سری نوارهای هادی درونی هستند که قادر به انتقال آب و حتی متابولیت‌ها از ساقه می‌باشند (شکل H). در برش طولی از ساقه نمای خز سلول راسی با شکل چهاروجهی مشاهده شد. این سلول نقش یاخته بنیادی را ایفا می‌کند و به تنهایی نقش اندام زایی ساقه و برگ را بر عهده دارد. همچنین در خزها دیگر مریستم کناری (حلقه بنیادی) مسوول تشکیل برگ‌ها نمی‌باشد بلکه یاخته راسی محوری است که با تقسیم قطبی شده خود محل تشکیل متوالی برگ‌ها را تعیین می‌کند. در بریوفیت‌ها زایش مورد نیاز برای تداوم ایجاد ساقه برگدار به عهده سلول راسی واحد است که نقش اساسی در ریخت زایی را به عهده دارد (شکل I).

برگ‌نما: برگ نماها اندام‌های بسیار جالبی در خزها هستند زیرا قادرند میزان بالایی از تخصص یافتگی را

قالب گیری از نمونه‌ها: درحالی که قالب روی یک سطح ثابت باشد پارافین مذاب داخل قالب ریخته شد. آرایش بلوک‌های پارافینی: بلوک‌های منجمد شده را از قالب درآورده سپس با استفاده از اسکالپل پارافین اضافی را جدا کرده تا در نهایت یک پیرامید (مخروط ناقص) ایجاد شود.

برش گیری: مکعب‌های چوبی حاوی پیرامید را روی دستگاه میکروتوم سوار کردیم واز بلوک‌ها برش‌های پی در پی تهیه گردید. برش‌ها را به کمک دستگاه پهن کننده با درجه حرارت ۴۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد صاف کردیم.

رنگ آمیزی برش‌های میکروتومی- مرحله حذف پارافین: لام‌های حاوی برش‌های میکروتومی را به مدت ۱۵ دقیقه درون جار حاوی تولوئن یا گزینلن خالص قرار دادیم.

مرحله آبدهی: نمونه‌ها را به ترتیب از الکل‌های رو به کاهشی ۷۰، ۵۰، ۹۶، ۱۰۰ و آب مقطر ۱ و ۲ عبور دادیم.

رنگ آمیزی با استفاده از هماتوکسیلین، زمان رنگ آمیزی برای نمونه مورد نظر ۷ دقیقه بوده است. وائوزین. زمان رنگ آمیزی برای نمونه مورد نظر ۱۰ دقیقه بوده است. مرحله بعدی، چسباندن لامل که در مرحله آخر، لامل بر روی لام قرار داده شد (رشیدی، ۱۳۸۶).

نتایج حاصل از بررسی ویژگی‌های تشریحی گیاه

خزه

گامتوفیت

گامتوفیت شامل همه اندام‌ها و بافت‌هایی است که بخشی از نسل‌هاپلوئید می‌باشند که شامل ریزوئید، ساقه نما و برگ نما می‌باشد.

ریزوئید (ریشه‌نما): در خزها ریزوئیدها از چندین ردیف یاخته‌های بی رنگی تشکیل شده که گیاه را به زمین استوار می‌کند. ریزوئیدها تک لایه هستند.

نامناسب حفظ می‌نماید. لازم به ذکر است که وجود پرستوم حلقه و گردن در همه گونه‌ها الزامی نیست. هاگ: هاگ‌ها به صورت کروی هستند و به وسیله دندانه‌های پرستومی پوشیده شده‌اند و نمی‌توانند خارج شوند. وقتی کلاهک برداشته می‌شود پرستوم به بیرون می‌آید و هاگ‌ها از کپسول آزاد می‌شوند. هاگ‌ها دارای آرایش پاپیلوزی هستند (شکل‌های P, Q, S).

بحث

در مرکز ساقه‌نما سلول‌های طویل و باریک و کشیده دیده می‌شوند که طرح و مقدمه تشکیل آوند غربالی پیشگام در نهاندانگان را تداعی می‌کنند (قهرمان، ۱۳۷۳). در برش طولی از ساقه‌نمای خزه سلول راسی با شکل چهاروجهی مشاهده شد که با نتایج رشیدی در سال (۱۳۸۶) مطابقت دارد. شکل برگ‌ها دوکی تا عدسی دیده می‌شود. نوک برگ گرد یا گاهی فرورفته و به ندرت تیز پهن است. سلول‌های قطور که دنباله سیستم هدایتی ساقه است به صورت رگبرگ منفرد قابل مشاهده است و به صورت زائده مو مانند از نوک برگ خارج شده است. البته تمایز آوندی مشاهده نمی‌شود، به‌طور کلی سلول‌های برگ در ناحیه فوقانی کروی شش ضلعی تا چهارگوش و شفاف در ناحیه قاعده‌ای مستطیلی بزرگ با دیواره نازک بی‌رنگ و صاف و در حاشیه برگ کوچکتر می‌باشد. آرایش برگ‌ها (فیلوتاکسی) در سه ردیف حلزونی می‌باشد که با نتایج میرزایی (۱۳۷۸) و رشیدی (۱۳۸۶) مطابقت دارد (شکل E) و همچنین این آرایش، آرایش برگ گیاهان دانه دار و نهاندانان آوندی را تداعی می‌کند. ساختار تشریحی برگ نمای خزه ساده و مرکب از یک لایه سلول است که در وسط برگ به صورت رگبرگ تراکم بیشتری دارد (شکل G). این سلول‌ها را از لحاظ عمل انتقال مواد می‌توان با

در بین خزه‌ها نشان دهند. برگ گامتوفیت خزه فاقد بافت مزوفیل، روزنه، دم‌برگ است و از این جهت با برگ‌های حقیقی متفاوتند. در عده‌ای از خزه‌ها ناحیه مرکزی برگ نما از چند لایه یاخته تشکیل شده و این ناحیه منظره رگبرگ را به برگ داده است. در برخی گونه‌ها رگبرگ به نوک برگ نمی‌رسد یا رگبرگ تا نوک برگ ادامه دارد و یا بیشتر از نوک برگ ادامه دارد. برگ نماها در ابتدا در سه ردیف ایجاد می‌شوند ولیکن در بالاتر ساقه نما نظم ماریچی به خود می‌گیرند (شکل‌های B, C, D).

اسپوروفیت: اسپوروفیت از سه بخش پایه، تار و هاگدان تشکیل شده است. پایه مواد غذایی را از گامتوفیت جذب می‌کند و ساختار تکیه گاه دارد. تار رشته‌ای نازک است و متشکل از سلول‌هایی باریک در امتداد هم می‌باشد (شکل O, M). هاگدان تنها بخش بارور اسپوروفیت است و دو بخش قبلی نازا هستند. هاگدان تک لایه است و داخل آن تعداد زیادی هاگ وجود دارد (شکل J). هاگدان‌ها به طرق مختلف می‌شکافند و هاگ‌ها را آزاد می‌کند. هاگدان بالغ شامل: گردن: بخش باریک شده تحتانی هاگدان در محل اتصال به تار، بخش حاوی هاگ: بخش کوزه‌ای هاگدان، حلقه: حلقه‌ای از سلول‌های با دیواره ضخیم بین لبه‌هاگدان و درپوش، پرستوم: زواید و دندانه‌های موجود در اطراف دهانه‌هاگدان، پرستوم طویل و ۳۲ دندانه دارد. دندانه‌های پرستومی به هم بافته شده اند به طوری که در نگاه اول حالت تار و پود را نشان می‌دهند. دندانه‌های پرستوم ۲ تا ۳ بار پیچ خورده است (شکل‌های R, N).

اپرکلوم یا درپوش: سرپوش یا پوشش هاگدان (شکل M)، ستون نازا: بخش مرکزی هاگدان که از بافت‌های نازا تشکیل شده است. کلاهک: از بافت گامتوفیت تشکیل می‌شود و یک کلاهک غشایی است که هاگدان را تا زمان بلوغ می‌پوشاند و آن را در مقابل شرایط

مقدار کم و الکل ۷۵درجه جهت تثبیت مناسب است. که با نتایج رشیدی (۱۳۸۶) همسویی دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به ویژگی‌های ریخت‌شناسی که بر روی خزّه مورد مطالعه انجام شد توجه به نشان ویژگی‌های گامتوفیت و اسپوروفیت برای تشخیص گونه‌های خزّه مورد استفاده قرار گرفته و در این بین ویژگی‌های تشریحی به ویژه ساختار برگ نما و تزیینات پرستوم از نظر تنوعی که دارند بیشتر مورد توجه قرار می‌گیرند.

سپاسگزاری

از زحمات متعهدانه استادان گرانقدر سرکار خانم دکتر معصومه میرزایی و سرکار خانم دکتر فریبا شریف نیا از صمیم قلب سپاسگزارم. از جناب آقای دکتر سعید شیرزادیان که با راهنمایی‌های خویش در این پژوهش مرا همراهی نمودند و همچنین پرسنل محترم آزمایشگاه محمودیه که امکانات لازم برای این پژوهش را فراهم نمودند کمال تشکر را می‌نمایم.

رگبرگ نهاندانگان همتا دانست. برگ در خزّه روزنه ندارد و عمل تعرق به‌صورت سطحی و از سطح سلول صورت می‌گیرد. شاید وجود واکوئل‌های بزرگ در برگ خزّه به‌علت تعرق از سطح برگ‌ها باشد. خزّه به‌علت خاصیت تورژسانس بین سلول‌ها در برگ و ساقه نیاز به بافت استحکامی را احساس نمی‌کند و حالت ایستایی خود را با خاصیت تورژسانس برطرف می‌کند که این خاصیت می‌تواند با گیاهان علفی همسویی داشته باشد (شکل‌های K, L). تمامی هاگ‌ها مشابه هستند که از این دیدگاه کپسول خزّه باهاگدان سرخس‌ها هم‌تایی دارد. حضور نمک‌های کانی عامل مهمی است که سبب کنندی نفوذ پارافین به بافت‌ها شده و در هنگام تهیه برش سبب عدم موفقیت در تهیه برش کامل نازک گشته و برش‌ها از هم گسیخته می‌شود. بافت‌های خزّه به‌علت نداشتن بافت استحکامی بسیار حساس می‌باشد و باید پارافین کاملاً شفاف و از نوع مرغوب تهیه گردد تا نتیجه مورد نظر گرفته شود. تغییر غلظت مواد تثبیت‌کننده نوع و زمان مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها به دفعات تغییر داده شد و در مجموع نتیجه گرفته شد که استفاده از فرمالین به



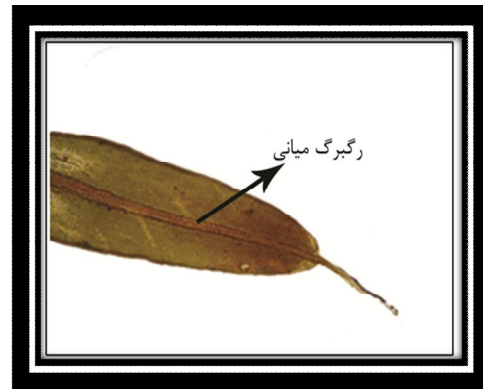
شکل B: برگ با ۱۰x



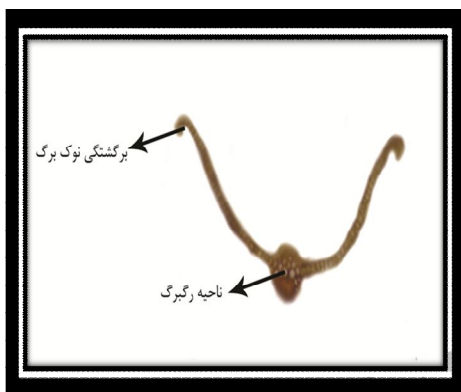
شکل A: ریزوبید با استریو میکروسکوپ



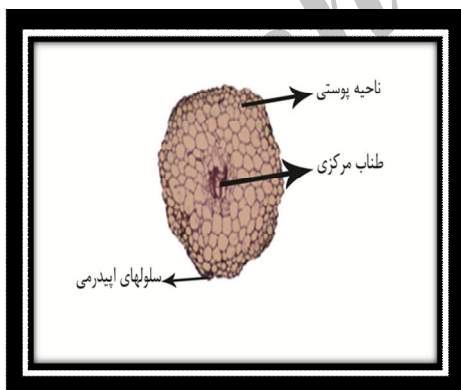
شکل D: کلروپلاست برجسته در برگ نما با میکروسکوپ نوری ۱۰۰x



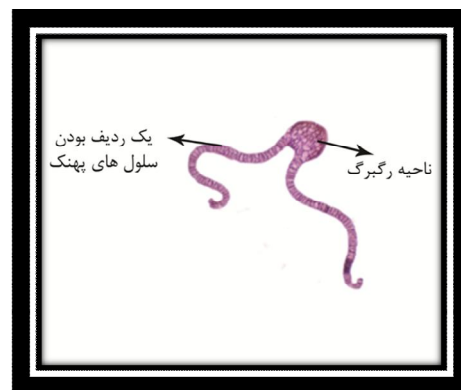
شکل C: برگ نما با میکروسکوپ نوری ۶۰x



شکل F: مارپیچ‌های برگ ۱۰x



شکل H: برش عرضی میکروتومی ساقه نما ۱۰x



شکل G: برش عرضی میکروتومی برگ نما ۱۰x



شکل L: برش عرضی میکروتومی کپسول 10x



شکل I: برش طولی میکروتومی ساقه نما 10x



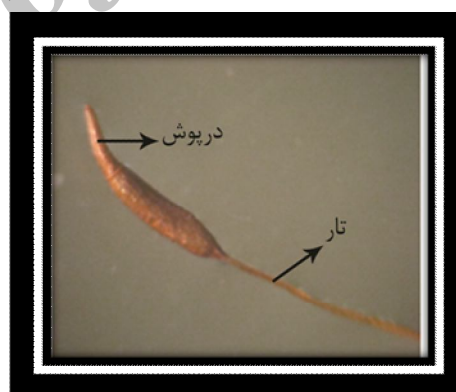
شکل L: برگ نمای خشک، استریو میکروسکوپ



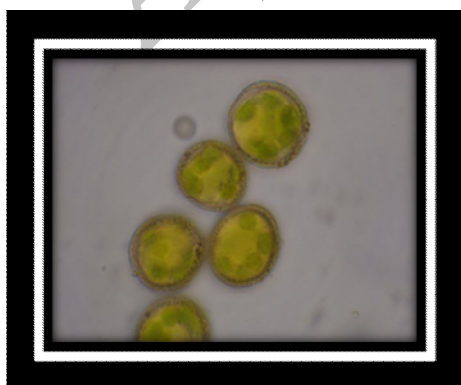
شکل K: برگ نمای مرطوب، استریو میکروسکوپ



شکل N: پرستوم، استریو میکروسکوپ



شکل M: تارو درپوش



شکل P: هاگ، میکروسکوپ نوری 100x

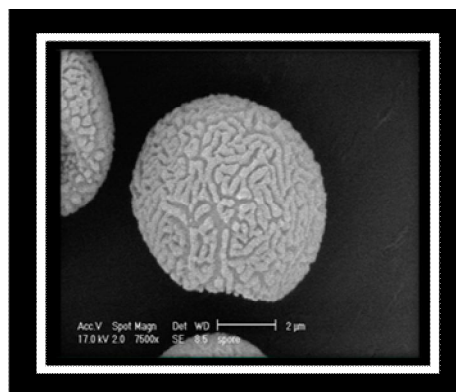


شکل O: پیچش تار، استریو میکروسکوپ



شکل R: X7500 پرستوم هاگدان خزه، میکروسکوپ

الکترونی X137



شکل Q: خزه میکروسکوپ الکترونی



شکل S: تزیینات پاپیلوزی هاگدان خزه میکروسکوپ الکترونی X20000

Cove, D.J., Knight, C.D. and Lamparter, T. (1997). Mosses as model System. Trends in Plant Science. 2: 99-105.

Katoh, K. (1988). Isolation and manintence of callus kshop, Mainz. Hattori Bot. Lab., Nichinan. 99-105.

Kürschner, H. (2007). A key to the Pottiaceae (Bryopsida - Bryophytina) of the Near and Middle East.

Vashishta, B.R., Sinha, A.K. and Kumar, A. (2008). Botany for degree students; Bryophyta, S. Chand and Company Ltd.

منابع

رشیدی، س. (۱۳۸۶). بررسی ساختار تشریحی و

تکوینی خزه *Tortula muralis* در مقایسه با گامتوفیت حاصل از رویش اسپور در محیط کشت.

پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد تهران شمال.

قهرمان، ا. (۱۳۷۳). کروموفیت‌های ایران. جلد سوم.

مرکز نشر دانشگاهی

قهرمان، ا. (۱۳۸۱). گیاه شناسی پایه جلد اول. انتشارات

دانشگاه تهران.

کیان مهر، ه (۱۳۸۸). مبانی بیولوژی گیاهی. انتشارات

آییز. تهران. صفحه ۴۴۹