فصلنامه

زیست شناسی تکوینی

سال اول، شماره ۱، زمستان ۱۳۸۷

بررسی چرخه زندگی سرخس *Pteris cretica L.* و تأثیر آرسنیک بر رویش هاگ تا تمایز اندام های جنسی

گلناز تجدد*، احمد مجد

عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

* (عهده دار مکاتبات) tajadodg@yahoo.com

سارا معصومی

دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه

چکیده

سرخس پتریس متعلق به تیره پتریداسه است که یکی از گونه های موجود آن در ایران پتریس کرتیکا می باشد. این سرخس درابتدای چرخه تولید مثلی،در پشت و حاشیه برگچه ها ی برگ هاگینه ها را می سازد.

در این پژوهش هاگ سرخس در خاک کشت داده و مراحل رویش آن تا تشکیل پروتونما، پهنک قلبی شکل و تمایز اندام های جنسی بررسی شد. رویش هاگ در محیط مناسب ابتدا یک جهتی است که با تقسیمات سلولی، پروتونمای چند سلولی را تشکیل می دهد و سپس پروتونما صفحه سلولی پهن و سبز رنگی به نام پهنک (پروتال) را به وجود می آورد. نا متقارن شدن تقسیم در سلول های راس پهنک موجب تشکیل شیار جنسی و در نتیجه قلبی شکل شدن پهنک می شود. روی پهنک قلبی شکل ابتدا اندام های جنسی نر (آنتریدی ها) و سپس اندام های جنسی ماده (آرکگن ها) تمایز می یابند.

فلز آرسنیک یک آلایندهٔ سمی محیط زیست است. پاکسازی آب و خاک آلوده به آرسنیک با استفاده از روش های مهندسی جاری دشوار و پرهزینه است. شناخت سرخس پتریس و گونه های مختلف آن و انباشته کردن آرسنیک در فروند آن منجر به پیدایش تکنولوژی گیاه پالایی (فیتورمیدییشن) برای پاکسازی مکان های آلوده به آرسنیک گردید .

با اضافه کردن ۰/۰۰۱گرم در لیترآرسنیک اثر آن بر رویش هاگ ها تا تمایز اندام های جنسی سرخس مورد بررسی قرار گرفت. هاگ های تیمار شده با آرسنیک به کندی رویش می یابند و رشد پروتونما، پهنک و تمایز اندام های جنسی نیز با تأخیر صورت می گیرد.

نتایج این پژوهش نشان داد که سرخس پتریس دارای قدرت جذب بالای آرسنیک می باشد و پهنک های آبیاری شده با آرسنیک کوچک و دارای چندین شیار جنسی کم عمق می باشند که موجب چند بخشی شدن آن می گردند. بخشی از این تغییرات می تواند به دلیل افزایش تعداد و نامنظم شدن تقسیمات تحت تاثیر آرسنیک باشند.

شکل(۱):*Pteris cretica L.*

Archive of SID

www.SID.ir

واژه های کلیدی: *Pteris cretica L.* ، کشت هاگ، چرخه زندگی، آرسنیک

مقدمه

اسپوروفیت*Pteris cretica L.* گسترش جغرافیایی زیادی دارد ودر مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری یافت می شود. دستگاه رویشی ریشه، ساقه و برگ را به وجود می آورد. برگ های آن بارور و به اصطلاح اسپوروفیل و حامل هاگدان (اسپورانژ) هستند [۴]. هاگ های درون هاگدان بر اثر تقسیم میوز به وجود می آیند و چون هر چهار سلول آن در اثر دوبار تقسیم از یک سلول به نام سلول مادر به وجود می آیند، به آنها هاگ های چهارگانه (تتراسپور) می گویند. در پتریس ، تشکیل هاگ پایان مرحله اسپوروفیت و آغاز مرحله گامتوفیت است [۵]. هاگ ها، پس از آزاد شدن از هاگدان، در محیط مساعد می رویند و گامتوفیت بسیار کاهش یافته ای به نام پهنک (پروتال) را به وجود می آورند که به صورت صفحه ای کوچک، سبز رنگ است که به وسیلهٔ ریزوئیدها به سطح خاک چسبیده است. پهنک فاقد ریشه، ساقه، برگ و بافت های آوندی است. پروتال مولد آنتریدی ها و آرکگن ها است. آنتروزوئیدهای آزاد شده از آنتریدی در قطرات آب محیط با حرکت تاژک‌ها شنا کرده و خود را به آرکگن می رسانند سپس با اووسفر آن ترکیب شده، سلول تخم(زیگوت) را که ۲۸ کروموزومی است به وجود می آورند.سلول تخم در داخل آرکگن ، یعنی روی پروتال به سرعت رشد کرده، به یک زندگی مستقل می رسد و به گیاه دارای ریشه و اندام های هوایی مبدل می شود[۶].

آرسنیک فلزی خاکستری و متبلور با عدد اتمی ۳۳ ، جرم اتمی ۷۴,۹۲ گرم با چهار ظرفیت (۳- ، ۰ ، ۳+ ، ۵+) و نقطه ذوب ۷۱۸ درجه سانتیگراد بوده و خواص شیمیایی آن شبیه فسفر است [۱].

آرسنیک یک فلز سمی است که در سطح وسیعی در طبیعت پراکنده است و معمولاً با سنگ معدن، مس، سرب، طلا و به صورت سولفید و سولفیدهای مرکب از آهن، نیکل وکبالت یافت می شود. آرسنیت و آرسنات شایع ترین اشکال غیر آلی آرسنیک در طبیعت می باشند[۷]. فعالیت های انسانی شامل ذوب کردن فلزات، سوزاندن زغال سنگ، صنایع معدن، ضایعات ناشی از چرم، رنگ ها، سلاح‌های شیمیایی، آفت کش های آرسنیک دار، علف کش های آلی، سوخت های فسیلی و صنعتی منجر به افزایش سطح آرسنیک در طبیعت گردیده اند[۸].

آرسنیک یک ماده سرطان زا است که باعث سرطان مثانه، ریه و پوست در انسان و حیوان می گردد. هر دو نوع آرسنیک (III) و آرسنیک (V) سمی بوده و بر اساس ارزیابی های *USEPA*[1] ، آرسنیک غیر آلی به عنوان یک آلوده کننده محیط زیست تلقی می شود و کارکردهای زیستی را دچار اختلال می کند[۹]. آرسنات غیر آلی به پروتئین هایی با گروه های سولفیدریل متصل شده و در کارکردهای آنها اختلال ایجاد می کند. آرسنات مستقیماً به عنوان یک جهش زا (موتاژن) عمل نمی کند بلکه ترکیب مجدد کروموزوم های همتا (همولوگ) را تحریک می کند (همچنین اکسیژن را به صورت رادیکال آزاد تولید می کند) و از سوی دیگر در فسفریلاسیون، اکسیداسیون و سنتز ATP مداخله می کند [۱۰].

در پژوهش حاضر اثرات آرسنیک بر سرعت تقسیم ،تعداد و نظم تقسیمات هاگ های سرخس پتریس کرتیکا با تغییر درریخت زایی پروتال مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها :

جمع آوری گیاهان درخرداد ۸۷ درمنطقه چلندر واقع در ۲۰ کیلومتری شهرستان چالوس انجام شد. مقداری از برگ های زایای گیاهان را خشک کردیم تا در اثر خشک شدن لایه مکانیکی هاگدان ها پاره شود. سپس هاگ ها را درون گلدان های دارای خاک استریل ریخته و آن را با آب معمولی(شاهد) و آب حاوی ۰/۰۰۱گرم در لیتر آرسنیک آبیاری کردیم و در ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و رطوبت ۶۰ درجه و فتوپریود ۱۲ ساعت قرار دادیم هاگ ها پس از سه هفته شروع به رویش کردند. در طول مدت آزمایش برای مطالعه پروتونما و پروتال آنها را بوسیله سوزن ظریف و تمیزی از محیط جدا کرده روی لام گذاشتیم و با میکروسکوپ نوری *Nikon- optiphot- 2* بررسی کردیم.

1 – *USEPA*: آمریکا آژانس حفاظت ازمحیط زیست

Archive of SID

www.SID.ir

برای بررسی ریخت شناسی هاگ و هاگدان، ابتدا این نمونه ها در دستگاه خلابا پوشش نازکی از طلا پوشیده شدند و سپس به وسیله میکروسکوپ الکترونی *S.E.M.* مدل *Phillips XL-30* مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج و بحث:

- هاگ و هاگدان:

پوشش هاگدان بوسیله تقسیمات شعاعی متوالی سلول بنیادی پوشش هاگدان تشکیل می شود. پوشش تک لایه است و وقتی تشکیل می شود یک ردیف عمودی شامل ۲۵ سلول دارد که دارای دیواره ضخیم می باشند و لایه مکانیکی را می سازند(شکل ۲). هاگینه (سور) و هاگدان تا رسیدن به مرحله بلوغ از هاگ ها محافظت می کنند. مطالعه با میکروسکوپ *SEM* نشان داد که آرایش سطح هاگ ها زگیل مانند *(Verrucate)* است و اندازه آنها ۳۱× ۳۴ *µm* می باشد (شکل ۳). ساختار هاگدان در *P.cretica L.* از نوع لپتوسپورانژ می باشد شکل و موقعیت حلقه مکانیکی هاگدان در تقسیمات سیستماتیکی کاربرد فراوانی دارد. ساختار سه وجهی هاگ *P.cretica L.* در تمامی واریته های آن مشترک است [۴].

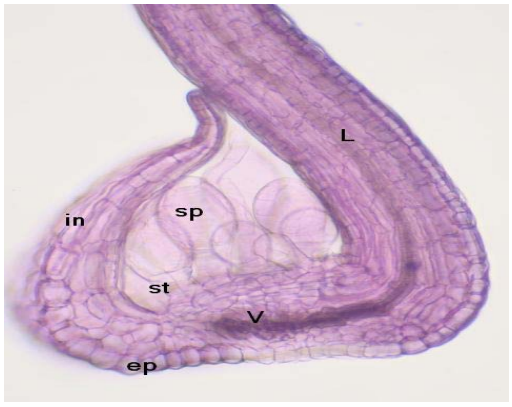
شکل (۲):هاگ و هاگدان با لایه مکانیکی X40

st=پایه، en= لایه مکانیکی ،sp= هاگ

شکل(۳):هاگ 34x31 *µm* ، 1278x

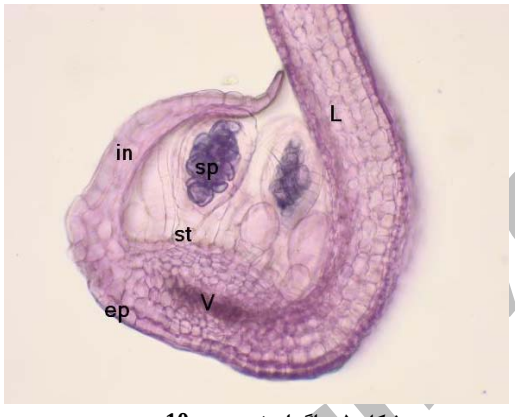
- مراحل تکوین هاگ و هاگدان:

مر حله ۱: هاگینه (سور) در پشت برگ به رنگ سبزتیره دیده می شود وهاگ ها هنوز رنگ پذیری پیدا نکرده و قابل رویت نیستند و لایه مکانیکی هنوز کامل نشده است(شکل۴).



شکل۴:هاگدان نارس x10

st=پایه،V= آوند ،sp= هاگدان، L= برگ ep= اپیدرم، in= اندوزی



شکل ۵: هاگدان نیمه رس x10

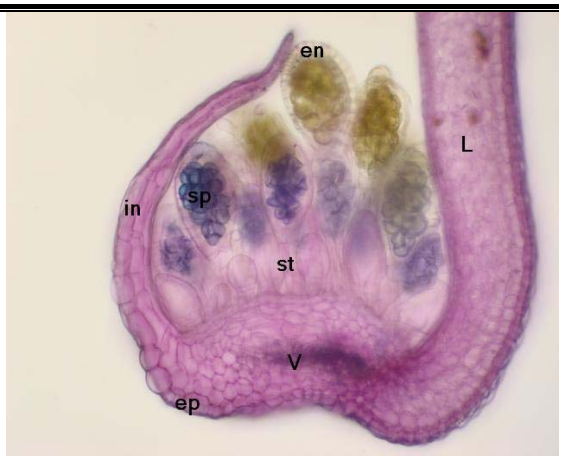
st= پایه، V= آوند ،sp= هاگ، L= برگ ، ep = اپیدرم،in = اندوزی

– مرحله ۲: در این مرحله هاگینه ها (سورها) به رنگ قهوه ای روشن و باز شده دیده می شوند. دیواره مکانیکی هاگدان تقریبا کامل شده و هاگ ها قابل رویت می باشند. هاگدان ها هنوز نشکفته اند(شکل۵).

- مرحله ۳: هاگینه ها (سورها) به رنگ قهوه ای تیره در حاشیه پشت برگ دیده می شوند و لبه اندوزی برای پراکنده شدن هاگ ها از برگ فاصله گرفته است. بعضی از هاگدان ها شکفته شده اند و هاگدان های بالغ به دلیل تنوع در مواد سازنده حلقه مکانیکی و درجات بلوغ آن رنگ پذیری متفاوتی دارند. در این زمان هاگدان ها با از دست دادن آب حلقه مکانیکی باز شده و هاگ ها انتشار می یابند (شکل۶).

Archive of SID

www.SID.ir

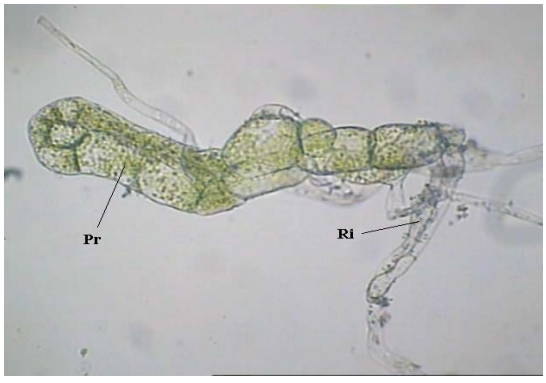


شکل ۶:هاگدان بالغ x10

st= پایه، V= آوند ،sp= هاگ، L= برگ ، ep= اپیدرم،en = لایه مکانیکی ،in= اندوزی

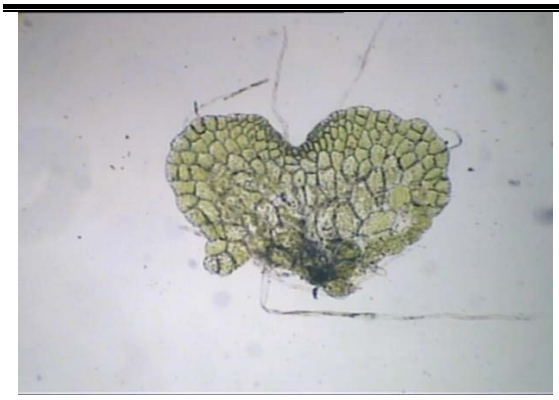
- کشت هاگ:

هاگ ها سه هفته پس ازکشت تندش پیدا می کنند. این هاگ ها از یک طرف زائده شفافی را به وجود آوردند که عمل تثبیت هاگ در خاک و جذب مواد غذایی را به عهده دارد (ریزوئید) و از طرف دیگر سلولی را به وجود می آورد که با تقسیمات خود پروتونمای چند سلولی را تشکیل می دهد (شکل۷). با تغییر جهت تقسیم در سلول انتهایی و دو بعدی شدن تقسیمات، سه هفته پس از شروع تندش هاگ ها صفحه سبز رنگ و مسطحی به نام پهنک (پروتال) ظاهرمی شود. تغییرمحل قرار گرفتن هسته ها در سلول های حاشیه پهنک به قاعده سلول ها و نامتقارن شدن تقسیم در این سلول ها موجب تشکیل شیار جنسی و قلبی شکل شدن پهنک می شود (شکل۸).



شکل (۷):پروتونمای چند سلولی10x

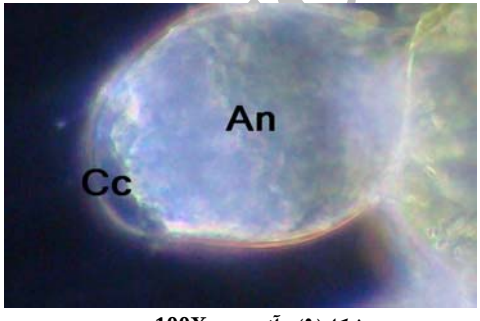
Ri= ریزوئید،Pr= پهنک



شکل (۸):پهنک قلبی شکل با جوانه4x

در سرخس پتریس اندام های جنسی نر و ماده روی یک پهنک (پروتال) تشکیل می شوند. بنابراین پهنک نر- ماده است. یک ماه پس از کشت هاگ ها آنتریدی ها پدید می آیند. آنتریدی ها ابتدا به صورت کرات شفافی در نزدیکی ریزوئید ظاهر می شوند. هر آنتریدی دارای دو بخش است. یک بخش حجیم که آنتروزوئیدها در آن قرار دارند و یک کلاهک که تا زمان رسیدن آنتروزوئیدها از خروج آنها جلوگیری می کند(شکل۹).

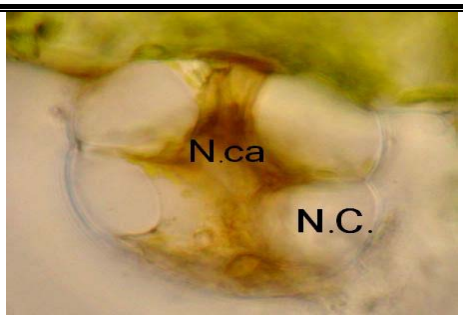
آرکگن ها در مجاورت آنتریدی ها در عمق پروتال ظاهر شده و بطری شکل وحجیم هستند آرکگن از دو بخش تشکیل شده است، بخش گردن که سلول های جدار آن کانالی را در وسط برای عبور آنتروزوئید به وجود می آورند (این بخش از پروتال بیرون می زند) و بخش شکم که درون پروتال فرورفته است وسلول جنسی ماده (اووسفر) درون آن قرار دارد(شکل۱۰)[۲].



شکل(۹): آنتریدی 100X

An= آنتریدی ،Cc=سلول کلاهک

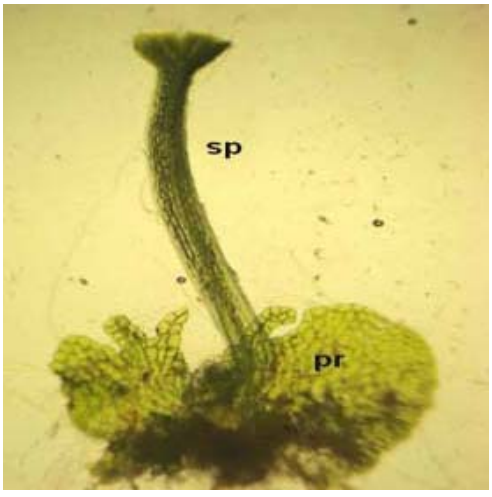
Archive of SID
www.SID.ir



شکل (۱۰) :سلولهای گردن و مجرای آرکگن که از سطح پهنک بیرون زده اند100x

N.ca= کانال گردن،N.C= سلول گردن

برای عمل لقاح وجود آب ضروری است. بعد از آزاد شدن آنتروزوئیدها، اسپرماتوزوئیدهای بالغ که دارای تعداد زیادی تاژک هستند به سمت آرکگن شنا می کنند. قابل توجه است که حرکات اسپرماتوزوئید به صورت چرخشی صورت می گیرد تا اینکه به مجرای گردن آرکگن برسد، اما فقط یکی با اووسفرلقاح می یابد و سلول تخم را می سازد. سلول تخم درون شکم آرکگن تشکیل شده، شروع به تقسیم می کند و مرحله اسپوروفیت آغاز می شود. اسپوروفیت (گیاه جوان) رشد می کند و فروند را به وجود می آورد. کم کم پروتال تحلیل می رود و گیاه به طور مستقل به زندگی خود ادامه می دهد (شکل۱۱).



شکل (۱۱) :گیاه جوان x4

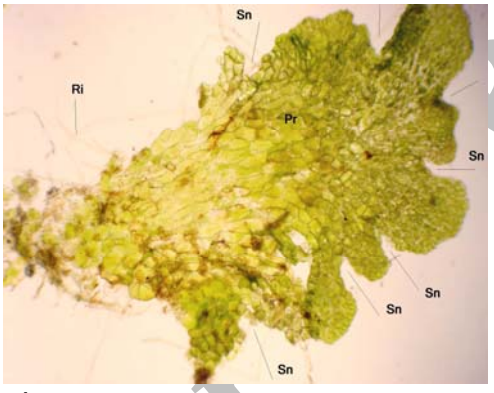
sp= اسپوروفیت جوان ،Pr= پهنک

- اثرات آرسنیک بر رشد پهنک سرخس:

هاگ های کشت شده در آرسنیک با اختلاف زمانی کمی نسبت به شاهد رویش یافته و پروتونما و پروتال (پهنک) را می سازند. پهنک بدست آمده کوچک ودارای شیارهای جنسی بسیار کم عمقی است که موجب چند بخشی شدن آن می گردد و شکل ظاهری آن را غیر عادی می‌کند . تغییرات ریختی سلول های پهنک در ناحیه شیار جنسی منجر به چند شیاری شدن پهنک ودر نتیجه چند بخشی شدن پهنک آن می شود (شکل ۱۲). افزایش سرعت تقسیمات می تواند کوچک بودن سلول های پروتال را توجیه کند زیرا افزایش سرعت تقسیم زمان کافی برای رشد را در اختیار سلول ها قرار نخواهد داد [۱۱] .

احتمالا تمایز زود هنگام و یا تمایز نامتناسب موجب بر هم خوردن قطبیت سلول و نامنظم شدن آرایش دوک تقسیم می شود که به دلیل نامنظم شدن جهت میکرو توبول ها می باشد .این امرجهت تقسیم را به سمت نامتقارن و نامنظم شدن پیش می برد و منجر به غیرطبیعی شدن پروتال می شود [۳].

تعداد جوانه های جانبی در پهنک های تیمار شده با آرسنیک بیشتر و زمان ظهورآنها نیز نسبت به شاهد سریع تر است. این مورد را می توان به تاثیر آرسنیک برافزایش تعداد تقسیمات در سلول ها نسبت داد.



شکل(۱۲):پهنک چند بخشی به همراه جوانه جانبی 4x

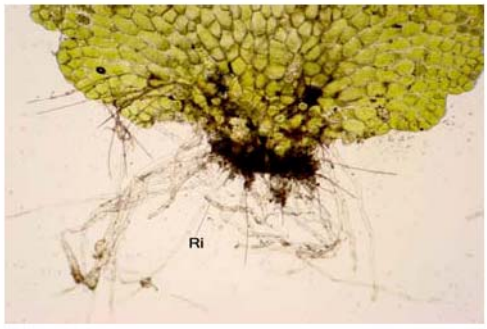
Ri= ریزوئید،Pr= پهنک،sn= شیار جنسی

از آنجایی که واکوئل ها محل انباشت مواد سمی می باشند آرسنیک نیز که ماده ای سمی است در واکوئلها ذخیره می‌شود، این امر از مرگ سلول جلوگیری می کند [۹]. بدین ترتیب حجم واکوئل گسترش پیدا کرده و موجب کمرنگ شدن سلول، راندن کلروپلاست و اندامک ها به حاشیه سلول می‌شود.

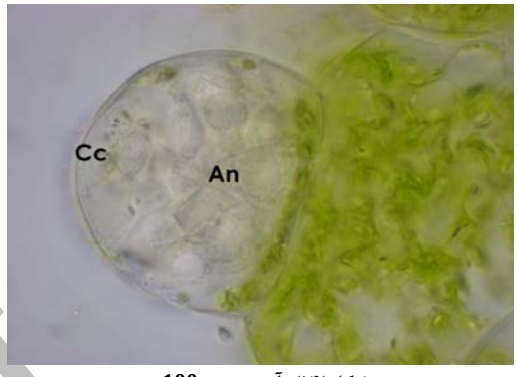
پهنک های کشت شده دارای تعداد بیشتری ریزوئید هستند و سیستم ریزوئیدی دارای سطح تماس بیشتری با خاک است. در نتیجهٔ این افزایش، گیاه مواد بیشتری را جذب و پالایش می کند (شکل۱۳).

Archive of SID

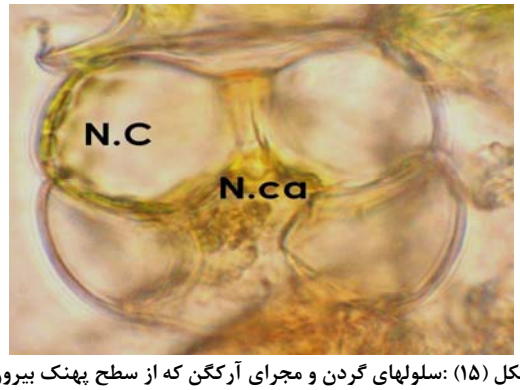
www.SID.ir



شکل(۱۳): افزایش تعداد ریزوئید20x
Ri= ریزوئید



شکل(۱۴): آنتریدی 100x
An= آنتریدی ،Cc= سلول کلاهک



شکل (۱۵) :سلولهای گردن و مجرای آرکگن که از سطح پهنک بیرون زده اند100x
N.ca= کانال گردن،N.C= سلول گردن

اندام های جنسی نر و ماده(آنتریدی و آرکگن) با اختلاف زمانی کمی نسبت به شاهد رشد کرده و به نسبت کوچک شدن پهنک تعداد آنها نیز کم شده است، اما از نظر حرکات اسپرماتوزوئیدها که به صورت چرخشی صورت می گیرند تغییری صورت نگرفته است (شکل ۱۴، ۱۵).

منابع

۱- مرف.، زائری خ، (۱۳۸۲) عناصر زمین، انتشارات دانشگاه شیراز.

۲- تجدد گ.، مجد ا.، فلاحیان ف.، تاثیر بتاکاروتن بر رویش هاگ تا تمایز اندام های جنسی بر سرخس پرسیاوش.

۳- Adiantum capillus-veneris L. ، (۱۳۸۲) علوم پایه، شماره ۵۰ ، ص ۴۱۰۷-۴۱۱۶.

۴- مجد ا.، عبادی م.، (۱۳۷۵) نموگیاهی، انتشارات مروارید.

5- Vashishta B. R., (2005), Botany for degree students, 432-440.

6- Holloway M., Lantin D. and Maintaining M., (2002), apical dominance in the fern gametophyte- Annals of botany, **89**, 409-417.

7- Croft J. R., (1999), Reproduction and life cycle of ferns and their allies-Australian government.

8- Srivastava. M., Q. Ma. L. and Santos J. (2006), Three new arsenic hyperaccumulating ferns –Science of the total environment, **346,** 24-31.

9- Wei C. Y., Chen T.B., (2006), Arsenic accumulation by two brake ferns growing on arsenic mine and their potential in phytoremediation- Chemosphere, **63**, 1048-1053.

10- Rathinasabapathi B., Q. Ma. L., (2006), Srivastava. M., Arsenic hyperaccumulating ferns and their application to phytoremediation of arsenic contaminated site-Global science books 32.

11- Gonzaga M., Santos.J. and Q. Ma. L., (2006), Arsenic phytoextraction and hyperaccumulation by fern species-Sci. agric, **63**, 90-101.

12- D. Cohen. M. and Salnikow K., (2002), Effect of arsenic on cell differentiation-Toxicological science, **65**, 161-163.

Archive of

www.SID.ir