

مطالعه ریخت‌شناسی و ریخت‌زایی در سه گونه از *Arabidopsis* ایران

غلامرضا بخشی خانیکی^{۱*}، مه لقا آقا جعفری^۲ و بهروز شاهسون بهبودی^۳

*۱- نویسنده مسئول مکاتبات، استاد، دانشگاه پیام نور، تهران پست الکترونیک: bakhshi@pnu.ac.ir

۲- کارشناس ارشد، علوم گیاهی، دانشگاه پیام نور، تهران

۳- دانشیار، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تهران، تهران

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۹/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۴/۱۰

چکیده

صفات ریخت‌شناسی اندام‌های مختلف گونه‌های جنس *Arabidopsis* در ایران شامل *A. thaliana* Heynh، *A. pumila* Steph و *A. wallichii* Hook & Thoms مورد بررسی قرار گرفت. کرک‌های اندام‌های هوایی سه گونه با کمک میکروسکوپ تشریحی مطالعه شد. از صفات ریختی جداکننده گونه‌ها می‌توان به شکل کرک‌ها، شکل برگ‌های پایه‌ای و ساقه‌ای، طول میوه، حالت میوه، وجود کرک در میوه و دمگل و رنگ گلبرگ‌ها اشاره نمود. صفات تشریحی ساقه و برگ گونه‌های مورد پژوهش با میکروسکوپ نوری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در ساقه صفاتی مانند شکل ساقه در برش عرضی، ضخامت پوست، وجود بافت نگهدارنده در اطراف بافت آبکش، تعداد دسته‌جات آوندی و موج بودن استوانه مرکزی در سه گونه قابل تفکیک بود. در برگ صفاتی مانند شکل برگ در مقطع عرضی، تعداد لایه‌های پارانشیم نرده‌ای، یکنواختی بافت مزوفیل و تراکم کرک‌ها در سه گونه تفاوت داشت. در مطالعه مرستم‌زایی گونه‌ها بجز گونه *A. wallichii* تفاوت بارزی در ساختار مرستمی گونه‌ها مشاهده نگردید. تنها تفاوت در اندازه مرستم‌زایی بین دو گونه و تعداد گل‌های تولید شده از آنهاست.

واژه‌های کلیدی: ریخت‌شناسی، ریخت‌زایی، آرابیدوپسیس، مرستم‌زایی.

مقدمه

نیست. احتمالاً از مناطق مرتفع آسیای مرکزی و هیمالیای غربی منشأ گرفته است (Redei, 1975). گونه *A. thaliana* در بیشتر شهرهای شمالی ایران پراکنش دارد. گونه *A. wallichii* در ناحیه شمال شرقی ایران پراکنده است. گونه *A. pumila* در بسیاری از استان‌های ایران مشاهده می‌شود (Rechinger, 1968). نام *Arabidopsis* ابتدا توسط دکاندول (Decandolle, 1821) به‌عنوان یک بخش از جنس *Sisymbrium* Linnaeus پیشنهاد شد. از نیمه اول قرن بیستم زمانی که Redei (۱۹۷۵) گیاه

جنس *Arabidopsis* به خانواده شب‌بویان یا Cruciferae (Brassicaceae) تعلق دارد. اعضای این خانواده در کلیه قاره‌های جهان پراکنش دارند، اما پراکنش آنها در مناطق معتدله شمالی، نواحی مدیترانه‌ای و ناحیه ایران - تورانی بیشتر است (Rollins, 1993). گونه‌های معرفی شده این جنس در ایران *A. thaliana*، *A. pumila* و *A. wallichii* است (Rechinger, 1968). مدارک مستندی در مورد منشأ جغرافیایی آن در دست

سیتوتوکسیک به بیش از یک مجموعه آنزیمی فعال بستگی دارد (Croteau et al., 2000). همچنین تحقیقات نشان داده است که گیاهان متعلق به رویشگاه‌های متفاوت در این گونه دارای تنوع ژنتیکی زیادی در تمام صفات مورد مطالعه به‌ویژه در متابولیت ثانویه گلوکوزینولیت هستند و از نظر این صفات به خوبی از هم متمایز شدند (مصلح آرانی، ۱۳۸۸).

هدف از تحقیق حاضر بدست آوردن اطلاعات بیشتر در زمینه آن دسته از صفات ریخت‌شناسی و ریخت‌زایی است که موجب تفکیک و جدایی گونه‌ها می‌شود و در علم تاکسونومی اهمیت دارد.

مواد و روشها

گونه‌های *A. thaliana* و *A. pumila* در مرحله گل‌دهی از رویشگاه طبیعی جمع‌آوری شد (جدول ۱). پس از تأیید و شناسایی آنها در هرباریوم اوین (E) تعدادی از آنها به صورت نمونه‌های هرباریومی درآمدند. قطعاتی از ساقه، برگ و مریستم زایشی در محلول FAA و گلوترالدئید ۵٪ تثبیت شدند و قطعاتی از ساقه و برگ هر سه گونه در محلول فرمل ۸٪ نگهداری شد. نمونه‌های ذخیره شده در فرمل ۸٪ با تیغ برش داده شدند و برش‌ها با کارمن زاجی و سبز متیل رنگ گردیدند. نمونه‌های ذخیره شده در FAA و گلوترالدئید ۵٪ پس از شستشو با آب، آبگیری با الکل درجات صعودی، شفاف کردن با تولوئن و نفوذ پارافین در بافت قالب‌گیر شدند. قالب‌ها با میکروتوم لایکا مدل ۲۰۴۵ به ضخامت ۱۰ میکرومتر برش‌گیری شدند و سپس برش‌ها با استفاده از چسب آلبومین به لام‌ها چسبانده شدند. پس از پارافین‌زدایی، با محلول‌های آلن دوفر هماتوکسیلین، سبز متیل پیرونین و

A. thaliana را به‌عنوان مدل گیاهی مناسب در تحقیقات علمی مطرح کرد، تاکسونومیست‌ها تصمیم گرفتند *Arabidopsis* را از رتبه بخش خارج کنند و به رتبه جنس ارتقاء دهند (Al-Shehbaz, 2003). ویژگی‌هایی مانند کوچک بودن گیاه، چرخه زندگی کوتاه، تولید محصول فراوان، خود لقاحی، تعداد کروموزوم‌های کم و اندازه کوچک ژنوم، گیاه *A. thaliana* را برای آزمایش‌های تجربی مناسب می‌سازد (Redei, 1975). این گونه تاکنون کم‌های شایان توجهی را به محققان علوم زیستی نموده است (میرزایی ندوشن، ۱۳۸۳ و ۱۳۸۶). جنس *Arabidopsis* ابتدا با گونه *A. thaliana* مطرح شد. گسترش بی‌رویه جنس به لحاظ تعداد گونه صرفاً به دلیل شباهت در میوه‌های خطی و کرک‌های منشعب سبب شد که تعداد گونه‌های جنس را به ۵۹ گونه رساند (O'kane & AL-Shehbaz, 1997). توسعه غیر علمی جنس، محققان را بر آن داشت تا مطالعات گسترده‌ای در زمینه‌های مولکولی، ژنتیکی و فیلوژنتیکی داشته باشند. نتیجه تحقیقات آنها منجر به خارج شدن ۵۰ گونه از این جنس شد (Koch, 2001). هم‌اکنون جنس *Arabidopsis* شامل ۹ گونه و ۸ زیرگونه است. ۹ گونه تماماً بومی اروپا و ۲ گونه در شمال و شمال شرقی آسیا دیده می‌شوند.

در خانواده Cruciferae ترکیبات غنی از نیتروژن و سولفور مانند گلوکوسینولات‌ها و ایندول‌کالوئیدها دیده می‌شود. این مواد بر علیه میکروارگانیسم‌ها و حشرات گیاهخوار نقش دفاعی دارند. تحقیقات نشان می‌دهد که در این جنس الکلوئیدهای ایندولی نظیر کامالکسین، ایندول گلوکوسینولات و هورمون اکسین سنتز می‌شود. به اعتقاد پژوهشگران توانایی سنتز و تجمع الکلوئیدهای

پریودیک اسید شیف (پاس) رنگ آمیزی شدند. نمونه‌ها
 آبگیری و سپس با چسب آنتلان بر روی لام دائمی
 گردیدند. برای مشاهده کرک‌ها و مقایسه بین آنها از
 میکروسکوپ تشریحی استفاده شد. در پایان تمامی
 نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری به دقت مشاهده و از آنها
 عکس گرفته شد.

جدول ۱- فهرست و محل جمع‌آوری گونه‌های *Arabidopsis* مورد مطالعه در بررسی تشریحی

گونه	مشخصات محل جمع‌آوری نمونه
<i>A. thaliana</i> <i>A. Pumila</i>	استان مازندران: تنکابن، از سطح دریا تا ارتفاع ۱۰۰۰ متری استان خراسان: چناران، دره آبشار بالای اخلمد، ارتفاع ۱۶۰۰-۱۸۰۰ متری استان خراسان: چناران، گل‌مکان، ارتفاع ۱۵۰۰-۱۰۰۰ متری
<i>A. wallichii</i>	استان خراسان: نیشابور، کوه خرو، ۱۷۰۰ متر، (امینی راد، ایران ۲-۴۴۸۴۷) استان خراسان: نیشابور، کوه خرو، رشینگر، (اسفندیاری، ایران ۱۴۱۵۲) استان خراسان: تربت حیدریه، جلگه زاوه، (جوهرچی، دانشگاه فردوسی مشهد)

نتایج

پایه بلند و درخت مانند و بافت نگهدارنده در بالای بافت
 آبکش حضور داشتند.

مهمترین صفات تشریحی برگ در ۳ گونه مورد تحقیق
 به این شرح بود (شکل ۵): در گونه *A. thaliana* اپیدرم
 فوقانی و تحتانی ۱ لایه‌ای، بافت مزوفیل غیر یکنواخت،
 پارانشیم نرده‌ای در بالا، پارانشیم حفره‌ای در پایین، در
 محل رگبرگ اصلی مزوفیل غیر یکنواخت و برآمدگی
 سطح پشتی برگ در محل رگبرگ میانی کم بود. در گونه
A. pumila اپیدرم فوقانی و تحتانی ۱ لایه‌ای، بافت
 مزوفیل غیر یکنواخت، در محل رگبرگ اصلی مزوفیل
 یکنواخت، برآمدگی سطح پشتی برگ در محل رگبرگ
 میانی نسبتاً زیاد بود. در گونه *A. wallichii* اپیدرم فوقانی
 و تحتانی ۱ لایه‌ای، بافت نردبانی مزوفیل بیش از یک
 لایه، در محل رگبرگ اصلی بافت مزوفیل یکنواخت بود و
 برآمدگی سطح پشتی برگ در محل رگبرگ میانی نسبتاً
 کم مشاهده شد. مقطع میوه در گونه *A. thaliana* گرد و
 در دو گونه دیگر بیضوی شکل بود (شکل ۳). مریستم

سه گونه مورد تحقیق در بسیاری از صفات ریختی و
 تشریحی با هم مشترک بودند (شکل ۱). مهمترین صفات
 ریخت‌شناسی جداکننده سه گونه که موجب تمایز گونه‌ها
 از یکدیگر شد در جدول ۲ نشان داده شده است. مهمترین
 صفات تشریحی از مقاطع عرضی ساقه گونه‌های مورد
 پژوهش به این شرح بود (شکل‌های ۲ و ۴): در گونه
A. thaliana ساقه در مقطع نسبتاً گرد، اپیدرم یک لایه‌ای
 و روزنه‌دار، دسته‌جات آوندی تقریباً ۱۱-۹ دسته، استوانه
 مرکزی موج، کرکها ساده و دو تا سه شاخه‌ای بود. در
 گونه *A. pumila* ساقه در مقطع چند ضلعی و گوشه‌دار،
 اپیدرم یک لایه‌ای و روزنه‌دار، دسته‌جات آوندی ۱۵-۱۱
 دسته، استوانه مرکزی موجی شکل، کرک‌ها دو تا چهار
 شاخه‌ای و در پایه متورم مشاهده شدند. در گونه
A. wallichii ساقه در مقطع نسبتاً گرد، اپیدرم یک لایه‌ای
 و روزنه‌دار، ضخامت کوتیکول زیاد، تعداد دسته‌جات
 آوندی ۱۳-۱۱ دسته، استوانه مرکزی کمی موج، کرک‌ها

زایشی گونه *A. thaliana* و *A. pumila* به لحاظ اندازه مریستم و تعداد گل‌های تولید شده در گونه ساختاری تفاوت محسوسی را نشان ندادند (شکل ۶). *A. pumila* بیشتر از گونه *A. thaliana* بود.

جدول ۲- مقایسه برخی از صفات ریخت‌شناسی در سه گونه *Arabidopsis*

<i>A. wallichii</i>		<i>A. pumila</i>		<i>A. thaliana</i>		صفات ریختی اندام‌ها	
تعداد کرک‌ها در بالای ساقه		از پایین ساقه تا بالا کرک‌دار		پایین ساقه کرک‌دار ولی بالا بدون کرک		کرک	
شانه‌ای		دندانه‌دار		کامل		شکل	
بسیار زیاد		زیاد		کم		تراکم کرک	
کمی گوشک‌دار		پیکانی - گوشک‌دار		مستطیلی - نیزه‌ای		شکل	
بدون دم‌برگ		بدون دم‌برگ		دم‌برگ کوتاه		دم‌برگ	
۴۰-۷۰ mm		۱۵-۶۰ mm		۵-۱۷ mm		طول میوه	
خمیده		کمی خمیده		افراشته		حالت میوه	
کرک‌های بسیار کم		پر کرک		بدون کرک		کرک	
کرک‌دار		کرک‌دار		بدون کرک		دم میوه	
بیضوی		بیضوی		گرد		شکل میوه در مقطع	
بنفش		زرد، کاهی		سفید		رنگ گلبرگ	
						گل	

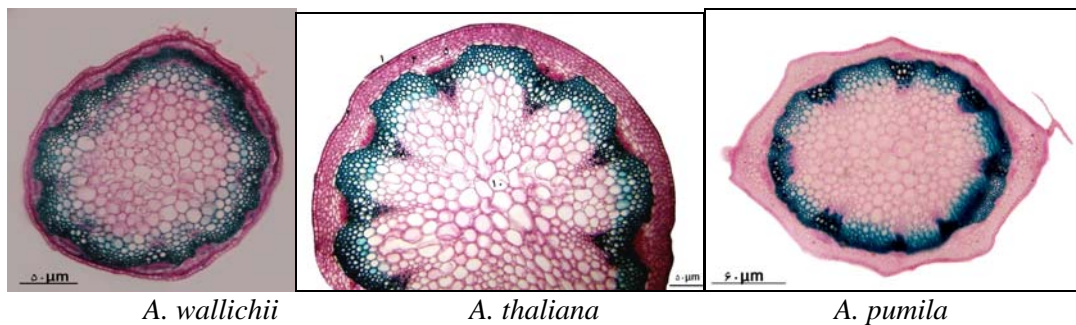


شکل ۱- به ترتیب از چپ به راست: نمونه‌های هرباریومی 1- *A. pumila*, 2- *A. thaliana*, 3- *A. wallichii*

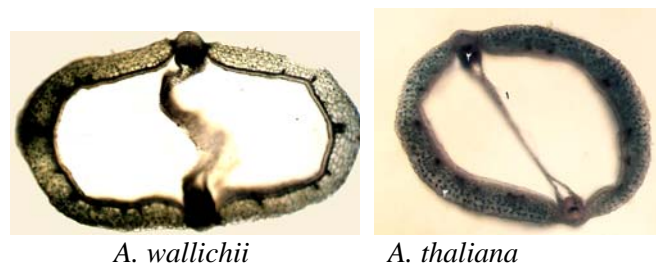
بحث

در تحقیق حاضر علاوه بر صفات ریختی فوق، صفاتی شامل وجود بافت نرده‌ای در رگبرگ میانی و موج بودن استوانه مرکزی از جمله صفات جداکننده گونه *A. thaliana* از دو گونه دیگر بودند. برطبق نتایج تحقیقات O'kane و Al-shehbaz (۱۹۹۷ و ۲۰۰۳) گونه *A. pumila* به دلیل تفاوت‌های ریخت‌شناسی، تشریحی و ژنتیکی از جنس *Arabidopsis* خارج گردید و در جنس *Olimarabidopsis* قرار گرفت. همچنین گونه *A. wallichii* از جنس *Arabidopsis* خارج شد و به جنس *Crucihimalaya* انتقال یافت. با توجه به تحقیقات گسترده دانشمندان و تحقیق حاضر تنها یک گونه از جنس *Arabidopsis* در ایران باقی می‌ماند که آن هم گونه منحصر به فرد *A. thaliana* است.

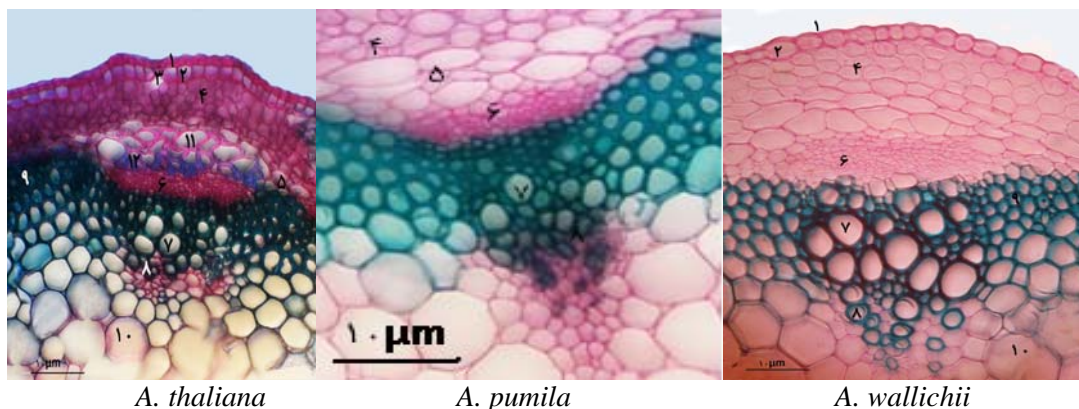
با توجه به اینکه گونه *A. thaliana* گونه منحصر به فرد جنس *Arabidopsis* است و بسیاری از صفات آن از نظر ریخت‌شناسی، تشریحی، سلول‌شناسی و ژنتیکی در دنیا شناخته شده است، لذا کلیه صفات مورد مطالعه گونه *A. wallichii* و *A. pumila* با گونه *A. thaliana* مقایسه شد. با توجه به مطالعات زیادی که توسط محققان (O'kane & Al-Shehbaz, 2003) بر روی گونه‌های مختلف جنس *Arabidopsis* انجام شده است. گیاهانی در جنس *Arabidopsis* قرار می‌گیرند که برخی از صفات از قبیل کرک‌های ساده و چنگالی، برگ‌های ساقه‌ای دمبرگ‌دار، نداشتن گوشک در برگ‌های ساقه‌ای، گل‌ها سفید تا یاسی، میوه بدون کرک، افراشته، دم میوه ایستاده و فاقد کرک، میوه درمقطع مسطح و یا گرد را داشته باشند.



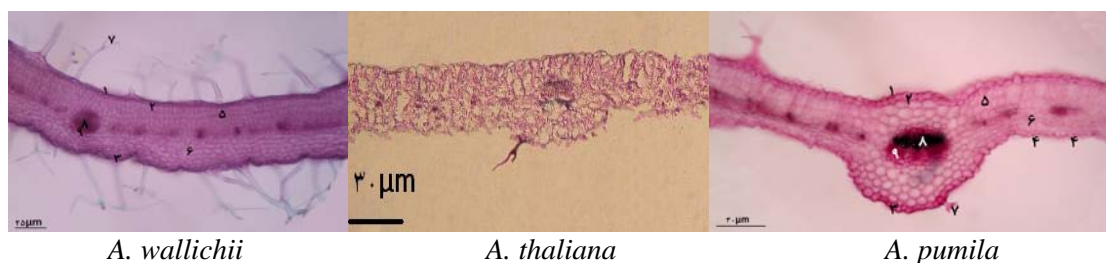
شکل ۲- مقطع عرضی ساقه درسه گونه مورد پژوهش



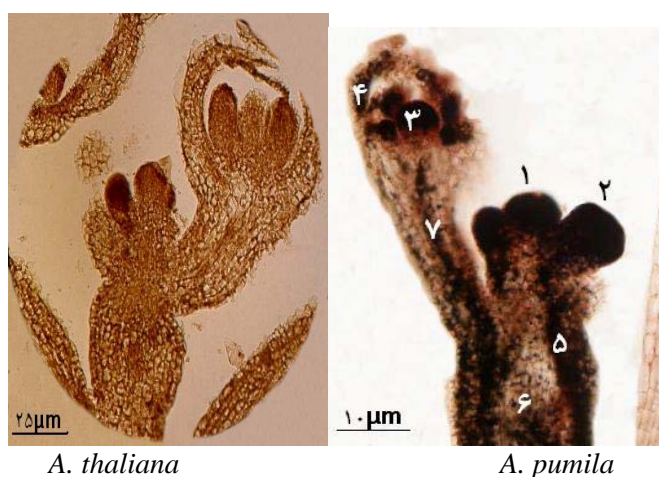
شکل ۳- میوه در مقطع عرضی به ترتیب از بیرون به درون شامل پرده غشایی، رگبرگ اصلی و دیواره میوه



شکل ۴- بخشی از ساقه در سه گونه مورد مطالعه: ۱- کوتیکول، ۲- اپیدرم، ۳- روزنه، ۴- پارانشیم پوست، ۵- اندودرم، ۶- بافت آبکش، ۷- متاگزیم، ۸- پروتوگزیم، ۹- فیبر، ۱۰- پارانشیم مغزی، ۱۱- کلانشیم، ۱۲- اسکلرانسیم.



شکل ۵- مقطع عرضی برگ در سه گونه مورد مطالعه: ۱- کوتیکول، ۲- اپیدرم رویی، ۳- اپیدرم زیرین، ۴- روزنه، ۵- پارانشیم نرده‌ای، ۶- پارانشیم اسفنجی، ۷- کرک، ۸- بافت چوب، ۹- بافت آبکش.



شکل ۶- برش طولی مریستم گلی در دو گونه مورد مطالعه: ۱- مریستم گل‌آذین، ۲- مریستم گل، ۳- پریموردیم مادگی، ۴- کاسبرگ، ۵- پیش‌آوند، ۶- پارانشیم ساقه.

منابع مورد استفاده

- Croteau R, Kutchan, T.M. and Lewis, N.G., 2000. Natural products (secondary metabolites). Biochemistry and molecular biology of plants. Rockville, MD, American Society of Plant Physiologists, pp: 1250-1318.
- Rechinger, K.H., 1968. Arabidopsis. In Flora Iranica. Akademische Druck-u. Verlagsanstalt, Graz 57:328-334.
- Koch, M., 2001. Molecular systematic of the Brassicaceae evidence from coding plastidic mark and nuclear chromosomes sequence. American Journal of Botany, 534-544.
- O'kane, S.L. and AL-Shehbaz, I.A., 1997. A synopsis of *Arabidopsis* (Brassicaceae). Novon., 7: 323-327.
- O'kane, S.L. and AL- shehbaz, I.A., 2003. Phylogenetic position and generic Limits of *Arabidopsis* based on sequence of Nuclear ribosomal DNA. Ann. of Misoori Botanical Garden, 90 (4): 603-672.
- Redei, G.P., 1975. Arabidopsis as a genetic tool Ann.Rec. Genetics., 111-127 .
- Rollins, R.C., 1993. A monographic study of Arabidopsis in western north America. Rhodora, 43: 289-325
- مصلاح آرانی، ا.، ۱۳۸۸. سازگاری و تنوع ژنتیکی در برخی از ویژگی‌های گیاه رشادی (*Arabidopsis thaliana*). دوفصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۷(۲): ۱۷۵-۱۶۶
- میرزایی ندوشن، ح.، ۱۳۸۳. استفاده از TAIL-PCR در شناسایی و تکثیر توالی‌های نوکلئوتیدی درون و مجاور T-DNA در ژنوم آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*). پژوهش و سازندگی (در زراعت و باغبانی)، ۶۵: ۶۷-۷۷.
- میرزایی ندوشن، ح.، ۱۳۸۶. کلن کردن ژن *RGL2* از DNAی ژنومی آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*). دوفصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۵: ۲۶۵-۲۷۲.
- AL-Shehbaz, I. A., 2003. The Brassicaceae family, A technical overview. Misoori Botanical Gardern poster.
- Candolle A.P. de., 1821. Regni Vegetabilis Systema Naturale. Treuttel and Würtz., Paris 68.

Morphology and morphogenesis studies on three Iranian native *Arabidopsis* species

G. Bakhshi Khaniki ¹, M. Aghajafari ² and B. Shahsavan Behboodi ³

1*- Corresponding author, Prof., Payame Noor University, Tehran, I.R.Iran.

Email: bakhshi@pnu.ac.ir

2- M.Sc., Payame Noor University, Tehran, I.R.Iran.

3- Assoc. Prof., Tehran University, Tehran, I.R.Iran.

Received: 01.07.2009

Accepted: 03.12.2009

Abstract

Morphological characteristics of *Arabidopsis thaliana*, *A. pumila* and *A. wallichii* were evaluated in Iran. Shape of the trichomes, shape of the basal and cauline leaves, length and shape of the fruits, presence or absence of trichome in fruits flowers, color of the petals and shape of silique in cross section are the differentiating characteristics of the three species. Anatomical features of stems and leaves of the species were observed and analyzed by light microscope. Shape of the stem in transverse sections, thickness of derm, presence of collenchyme and scleranchyme around vascular bundle, the number of vascular bundle and wavy shape of the stele are the distinctive features in stems. The anatomical features of the leaves such as shape of leaves in cross section The number of palisade tissue layers, uniformity or non-uniformity of mesophyll tissue were distinctively different in the three species. Floral meristem of the two species were observed by light microscope. No difference was observed in tissue structure.

Key words: Morphology, Morphogenesis, *Arabidopsis*, Generative meristem.