

مطالعات مورفو-آناتومیک جلبک قرمز *Gracilaria corticata*

در سواحل خلیج فارس و دریای عمان

سید عباس طالب زاده^{(۱،۳)*}، سید محسن حسام زاده حجازی^(۲)، حسین مقصودی^(۱)، تورج ولی نسب^(۳)
* satalebzadeh@gmail.com

- ۱- گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵
- ۲- موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، صندوق پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵
- ۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، صندوق پستی: ۱۶۶۱-۱۴۱۵۵

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۲

چکیده

نمونه های جلبک قرمز *G. corticata* از سواحل صخره ای بین جزر و مدی بستانه از خلیج فارس و لیباز از دریای عمان طی اردیبهشت، خرداد و مرداد ۱۳۹۲ جمع آوری گردید. ساختار آناتومی و تشریحی ریشه های رویشی و زایشی گیاه مورد بررسی قرار گرفت. مراحل کارپوسپوروفیت و تتراسپوروفیت بر اساس روش های بافت شناسی و ریخت شناسی مشخص گردید. سیستم کارپ ها در سراسر طول ریشه گیاه جنس ماده با ساختاری نیمه کروی مشاهده شدند. در ضمن مشخص گردید که اسپرماتانژهای گیاه جنس نر در داخل کنسپتاکل های عمیق تر بیضوی شکل واقع شده است و مرحله تتراسپوروفیت مربوط به نمونه های دیپلوئید، با حضور تتراسپورانژیوم چلیپایی به اشکال بیضوی تعیین شد.

کلمات کلیدی: جلبک قرمز، *Gracilaria corticata*، مورفولوژی، آناتومی، خلیج فارس، دریای عمان

*نویسنده مسئول

مقدمه

جلبک های قرمز از نظر غذایی، دارویی و صنعتی حائز اهمیت می باشند (Barsanti & Gualtieri, 2006) و تولید آگار مهمترین ویژگی آنها محسوب می گردد (Winchester, 1969). کیفیت آگار گراسیلاریا به گونه مورد بررسی، زمان جمع آوری نمونه، محیط رشد (Yee, 1999)، تناوب نسل ایزومورفیک و جنسیت آنها بستگی دارد، بطوریکه میزان آگار استخراجی در گونه *Gracilaria verrucosa* type) به ترتیب از زیاد به کم در اشکال سیستوکار (cystocarp)، تتراسپوروفیت (tetrasporophyte) و گامتوفیت نر مشاهده می شود (Whyte et al., 1981) و در گونه *Gracilaria dura* تتراسپوروفیت ها کیفیت برتری از آگارز نسبت به گامتوفیت ها نشان داده است (Gupta et al., 2011) و از طرفی استفاده تجاری از این جلبک دریایی و توسعه کشت آن نیازمند شناسایی صحیح و دانش چرخه زیستی آن می باشد و به لحاظ اهمیت تشخیص تمایز جنسیتی در مراحل زندگی در امر تکثیر و پرورش، تجزیه و تحلیل ساختار جنسیتی این گونه ضروری است (Törjék et al., 2002). جلبک قرمز *Gracilaria* دو پایه بوده (Martinez et al., 1999) بطور شگفت آوری محتوای ژن اجدادی را در ژنوم پلاستید خود حفظ کرده است و همراه با سایر جلبک های قرمز، شامل مجموعه ای از کامل ترین ژن پلاستید شناخته شده در یوکاریوت های فتوسنتتیک می باشد (Hagopian et al., 2004). شناسایی و تشخیص صحیح در مطالعات تاکسونومی حائز اهمیت می باشد و رده بندی قراردادی بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی از جمله در جنس های نزدیک بهم مانند *Gracilaria*، *Gracilariopsis* و *Hydropuntia* غامض و گیج کننده است (Yee, 1999). جلبک های قرمز اگر در معرض تابش اشعه مستقیم خورشید قرار گیرند، رنگ قرمز خود را از دست داده و به رنگ سبز در می آیند (قهرمان، ۱۳۸۹). رنگ جلبک قرمز بواسطه دارا بودن رنگدانه های محلول در آب به نام فیکوبیلین که معمولاً قرمز بوده اما بعضی اوقات سبز تیره تا روشن یا حتی قهوه ای تیره یا سیاه ظاهر شده و در مناطق جزر و مدی کم عمق ساحلی یافت می شوند. رنگدانه غالب آر- فیکو اریترین (r-phycoerythrin)، موجب رنگ قرمز می گردد. در حالی که رنگدانه های کلروفیل a, d

کاروتن، لوتین (lutein)، زیاکسانتین (zeaxanthin) و آرفیکوسیانین (r-phyocyanin) نیز حضور دارند. (Yee, 1999) جنس گراسیلاریا، از میان تیره Gracilariaceae بزرگترین جنس از شاخه ردوفیتا (Rhodophyta) می باشد (Yee, 1999). در جهان دارای پراکنش وسیع بوده و وجود آن در مناطق قطبی، استوایی و مدیترانه ای گزارش شده است (حسینی، ۱۳۸۳).

در بین جلبک های دریایی گراسیلاریا سومین جنس با بیشتر از ۱۵۰ گونه در سراسر دنیا گزارش شده است و شامل بسیاری از آگروفیت های مهم تجاری می باشد (Byrne et al., 2002) در حال حاضر بیش از نیمی از نیاز صنعت جهانی آگار را تامین می کند (Peng et al., 2009).

ظهور و رشد تالهای بر افراشته از یک صفحه دیسکی شکل کوچک نگهدارنده آغاز می شود. تال بتدریج استوانه ای شده، بصورت تیغ فشرده و سپس ایجاد انشعابات جانبی بصورت متناوب یا متقابل می نماید. گاهی در یک گیاه انشعابات زیاد و متفاوتی دیده می شود. شکل ظاهری تال گاهی بعنوان عامل شناسایی گیاه بشمار می رود و زمانی در یک گونه شکل یک شاخه و نوک آن با گونه دیگر متفاوت است (حسینی، ۱۳۸۳). رنگ جلبک *Gracilaria corticata* قرمز متمایل به ارغوانی تا قهوه ای می باشد و به اشکال مختلف، غضروفی، بوته ای و بادبزنی دیده می شود و ریشه ها تقسیمات دو تایی نامنظم متوالی دارد. سیستوکارپ نیمه کروی روی سطح تال در فصول تابستان و زمستان دیده می شود. شامل چندین محور اصلی پهن برخاسته از قاعده می باشد. دارای نگاهدارنه صفحه ای (holdfast) بوده و پهنای انشعابات اصلی ۷-۴ میلیمتر و ارتفاع تال ۱۵-۵ سانتیمتر می باشد (قرنجیک و روحانی، ۱۳۸۹).

در گونه *G. gracilis* که گیاهی چند ساله محسوب می شود (Destombe & Valero, 2001) افراد نر بالغ و تتراسپوروفیت با مشاهده توسط میکروسکوپ تعیین میگردد (Martinez et al., 1999). تشخیص ماده بالغ قبل از لقاح بسیار مشکل بوده ولی بعد از لقاح با گسترش سیستوکارپ بر روی تالوس ماده ها قابل تشخیص با چشم می باشند. تتراسپوروفیت های دیپلوئید اسپورهای میوزی را منتشر می کند که به ایجاد جوانه به منظور تولید هاپلوئید های مستقل گامتوفیت های دو پایه منجر می گردد. تفکیک ژنتیکی در مرحله هاپلوئید رخ می دهد. با این حال در برخی از موارد

رشد بهینه *Gracilaria* در British Columbia بین ۵ تا ۶ متر زیر سطح متوسط جزر و مد رخ می دهد و با تابش خورشیدی ارتباط دارد (Whyte et al., 1981). تغییرات فصلی در ریختن اسپور جلبک های قرمز یک ساله مختلف در هند مانند *peterocladia*، *Gelidium pusillum*، *Gracilaria corticata* و *heteroplatos* دیده می شود بطوریکه تولید اسپور ماهانه بیش از ۱۰۰۰ تا ۱.۲۰۰.۰۰۰ به ازای یک گرم وزن تر بوته بارده متغییر می باشد (Narasimha, 1989).

دوره رشد *G. tenuistipitata* با توجه به درجه حرارت در ماههای مختلف سال از ۴۰ تا ۷۰ روز می باشد و اندازه آن به دو میلیمتر می رسد و در فصولی از سال یا حرارت مناسب اندازه ریشه های آن ۳۰ تا ۶۰ سانتیمتر می رسد. و زمانی که درجه حرارت آب به ۲۹ درجه سانتیگراد رسید رشد ریشه ها متوقف شده و سپس ریشه از نوک گیاه شروع به پوسیدن کرده و در نهایت از بین می رود بطوریکه هنگامی که درجه حرارت آب به ۳۱ درجه رسید هیچگونه ریشه مسن در بستر مشاهده نمی گردد و در این هنگام بعضی از هاگ های رشد یافته جدید که رنگ آنها زرد و اندازه کمتر از ۲ میلیمتر قابل رویت می باشد و با کاهش دما رنگ سبز در گیاه ایجاد شده و بخوبی به رشد ادامه خواهند داد. (حسینی، ۱۳۸۳).

هدف کلی از مطالعه حاضر تشخیص ساختار جنسیتی در نسل ایزومورفیک جلبک *G. corticata* با استفاده از ساختار آناتومی آن با هدف تشخیص تنوع جنسیتی برای کاربرد در امر تکثیر می باشد.

مواد و روش کار

نمونه های جلبک *G. corticata* از مناطق بین جزر ومدی صخره ای در نواحی از سواحل خلیج فارس (سواحل بستانه از توابع بندر لنگه در استان هرمزگان به ترتیب با طول و عرض جغرافیایی ۳۸° ۵۴'، ۳۰' ۲۶° و سواحل دریای عمان (منطقه لیبیار در شرق چابهار به ترتیب با طول و عرض جغرافیایی ۴۹° ۶۰'، ۱۵° ۲۵) در ماه های اردیبهشت، خرداد و مرداد ۱۳۹۲ جمع آوری گردید. محدوده مکان نمونه برداری در شکل ۱ نشان داده شده است

اسپورهای میتوزی منتشر نمی شوند و گامتوفیت های کوچک هاپلوئید تالوس ها به عنوان اپی فیت ها روی تترااسپوروفیت های دیپلوئید والدینی رشد می نمایند این پدیده جوانه زنی syntagmatic یا جوانه زنی درجا (in situ germination) نامیده می شود (Martinez et al., 1999) مرحله تترااسپوروفیت دیپلوئیدی، با حضور تترااسپور صلیبی به اشکال مکعبی تا بیضوی مشخص می گردد (Marín-Salgado & Peña-Salamanca, 2011). تترااسپورها بصورت متراکم روی بخش اپیدرمی پراکنده می باشند. هر تترااسپور مرکب از چهار اسپور است که صلیبی شکل می باشد و اسپرماتانژها بشکل کروی یا بیضوی و بطور پراکنده در سطح تال دیده می شود (حسینی، ۱۳۸۳).

در جنس *Gracilaria* تناوبی از نسل هم ریخت (ایزومورفیک) بین گامتوفیت هاپلوئید و تترا اسپوروفیت دیپلوئید را نشان می دهد. گامتوفیت دو پایه می باشد. پایه نر (male thallus) بارور تولید اسپرماتانژ (spermatangia) و پایه ماده تولید کارپوگونیا (carpogonia) می نماید. پس از لقاح یک ساختار به نام سیستوکارپ (cystocarp) تشکیل می گردد. سیستوکارپ ها برجسته، بیرون زده، گرد و یا نیم کره است، با یا بدون پوزه (rostrum)، در سطح پایه ماده پراکنده می باشند. هر سیستوکارپ متشکل از پوسته (pericarp)، رشته gonimoblast و carposporangia. با یا بدون رشته های جذبی می باشد (Lewmanomont, 1996). سیستوکارپ بالغ واجد روزنه کوچکی بر روی آن می باشد که از قسمت انتهایی آن کارپوسپورها (Carpospore) خارج می گردند (Marín-Salgado & Peña-Salamanca, 2011). کارپوسپورهاها از طریق این روزنه کوچک آزاد می شوند و به تالوس های tetrasporic یا tetrasporophytes جوانه می زنند. تترااسپوروفیت بالغ تترااسپورونژیا را ایجاد می کند که عموماً در پوسته تالوس رخ می دهد. تترااسپورانژیوم بطور چلیپایی تقسیم می شود و ۴ اسپور یا تترااسپور که به ۴ تالوس گامتوفیتیک یا گامتوفیت جوانه می زند که دو تا نر و دو تا تالوس ماده می باشند (Lewmanomont, 1996).



شکل ۱: نقشه مناطق نمونه برداری در خلیج فارس و دریای عمان

جهت تهیه مقاطع از نمونه های مورد بررسی در محیط کشت PES ابتدا قطعه ای از تال داخل محلول فرمالین ۴٪ با آب دریا به مدت ۱۰ دقیقه فیکس گردید. سپس عمل برش گیری انجام شد ولی برای نمونه هایی که از ابتدا در فرمالین ۴٪ آب دریا نگهداری و تثبیت شده بودند، جهت جلوگیری از متلاشی شدن بافت هنگام برش گیری قطعه ای از تال به مدت حدود یک ساعت در الکل مطلق (۹۶٪) قرار داده شد و سپس عمل برش گیری انجام گردید. تهیه مقاطع بصورت دستی و به کمک تیغ معمولی انجام شد (Byrne *et al.*, 2002) و رنگ آمیزی مقاطع تهیه شده از نمونه ها به مدت ۲ الی ۳ ثانیه در رنگ آبی متیلن قرار داده شد (Yamamoto, 1986). تشخیص مورفولوژیک نمونه ها بر اساس مشاهده ماکروسکوپی سیستم کارپ در جنس ماده و یا ساختار تشریحی اسپرماتانجیال کانسپتاکل در مورد جنس نر و تتراسپورها در تتراسپوروفیت با استفاده از میکروسکوپ Olympus BH₂ با لنز های ۱۰x، ۴۰x و ۱۰۰x و حداکثر بزرگنمایی ۲۰۰۰ بررسی گردید.

نتایج:

خصوصیات ریخت شناسی نمونه های مورد بررسی در جدول ۱ و شکل های ۱ تا ۷ مشاهده می گردد.

در هر منطقه به تعداد ۳۰ تا ۴۰ نمونه از جلبک *G. corticata* به طور تصادفی جمع آوری گردید و بدین منظور چند تال (ریسه) از نمونه پس از شستشو توسط آب دریا و پاک شدن از گل و لای، داخل ظروف نمونه برداری، جهت بررسی به آزمایشگاه منتقل گردید. ضمناً ۳ لیتر از آب دریا از محل نمونه برداری همراه نمونه ها به آزمایشگاه ارسال گردید تا در محیط کشت PES (Provasoli, 1968) استفاده گردد. عملیات آزمایشگاهی در آزمایشگاه ژنتیک موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور انجام گردید.

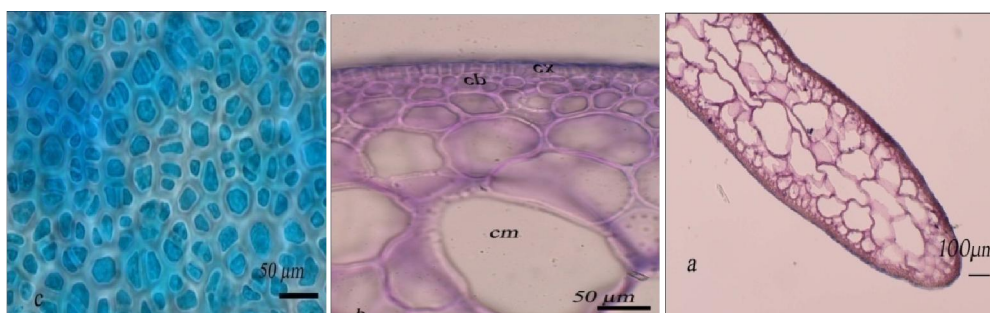
ریسه های جلبکی به کمک برس و شستشو با آب مقطر از انگلها و اپی فیت ها پاک گردید و قسمتی از تال در هر نمونه با حفظ شماره جهت بررسی های مورفولوژیکی در مخلوط ۴٪ فرمالین و آب دریا نگهداری شد (Byrne *et al.*, 2002) و مابقی هر نمونه در محیط کشت PES با ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر (Geo₂) در دمای ۲۵±۱ زیر نور سرد سفید از ۱۵ میکرومول فوتون بر متر مربع ثانیه ($m^{-2} s^{-1}$) با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری گردید و به کمک پمپ هوا اکسیژن آن تامین گردید (Byrne *et al.*, 2002).

جدول ۱: نسل های ایزومورفیک جلبک *G. corticata* جمع آوری شده از مناطق بستانه و لیپار (۱۳۹۲)

مکان نمونه برداری	ماه نمونه برداری	تعداد کل	تعداد مورد بررسی		
			نر	ماده	تتراسپوروفیت
بستانه	اردیبهشت	۳۰	-	-	۳۰
بستانه	خرداد	۳۰	۲	۴	۶
لیپار	مرداد	۴۰	۸	۴	۲۸

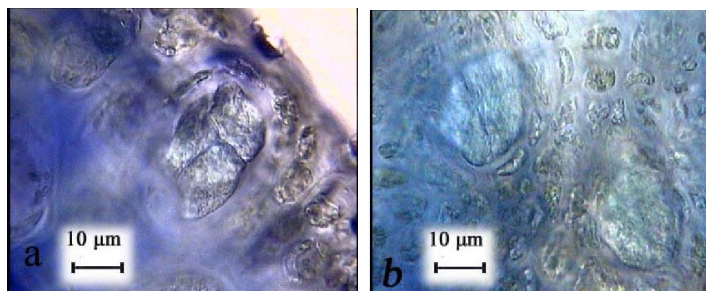
دوم بستانه بالغ بودند که تنها بالغین ماده با سیستوکارپ نیمه کروی برجسته بر روی ریشه ها با چشم غیر مسلح از نابالغین تمیز داده می شد و تتراسپوروفیت های بالغ و گامتوفیت های نر بالغ در مناطق بستانه و لیپار تنها به کمک میکروسکوپ قابل تشخیص از نابالغین بودند.

خصوصیات مراحل ویژه ایزومورفیک در نمونه های مورد بررسی تنها در جلبک هایی با بلوغ کامل مشاهده شد. از مجموع نمونه های جمع آوری شده از منطقه بستانه در نوبت اول همگی نابالغ بوده و هیچکدام از مراحل جنسیتی از طریق خصوصیات ریخت شناسی قابل تشخیص نبود (شکل ۱). از نظر شکل ظاهری بین نمونه های نابالغ در اردیبهشت و خرداد منطقه بستانه اختلافی مشاهده نشد ولی ۴۰٪ نمونه های سری

شکل ۱: برش عرضی و سطحی از نمونه های نابالغ *G. corticata* در منطقه بستانه (اردیبهشت ۱۳۹۲)

- a: مقطع عرضی از ریشه جلبک با استفاده از رنگ آمیزی کالمن و آبی متیل و بزرگنمایی ۱۰۰
b: مقطع عرضی از ریشه جلبک در ناحیه میانی، سلولهای برجسته مغزی (cm)، احاطه شده توسط سلول های پارانشیمی (cp) و قشری (کورتکس) (cx) با استفاده از رنگ آمیزی کالمن و آبی متیل و بزرگنمایی ۴۰۰
c: مقطع سطحی از ریشه جلبک با استفاده از رنگ آمیزی آبی متیل و بزرگنمایی ۴۰۰

از ۳۰ نمونه نوبت دوم، که با یک ماه فاصله زمانی جمع آوری شده بود فقط ۲ نمونه به عنوان نر، ۴ نمونه به عنوان ماده و ۶ نمونه به بودند (شکل ۲).



شکل ۲: برش عرضی و سطحی از نمونه های بالغ *G.corticata* در منطقه بستانه

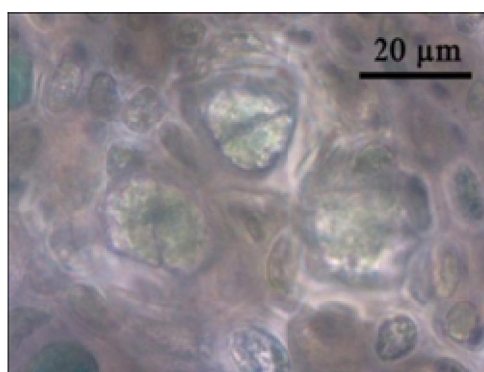
a: مقطع عرضی از تتراسپوروفیت برجسته در بخش قشری ریشه جلبک با استفاده از رنگ آمیزی آبی متیل و بزرگنمایی ۲۰۰۰

b: تتراسپوروفیت در مقطع سطحی از ریشه جلبک با استفاده از رنگ آمیزی آبی متیل و بزرگنمایی ۲۰۰۰

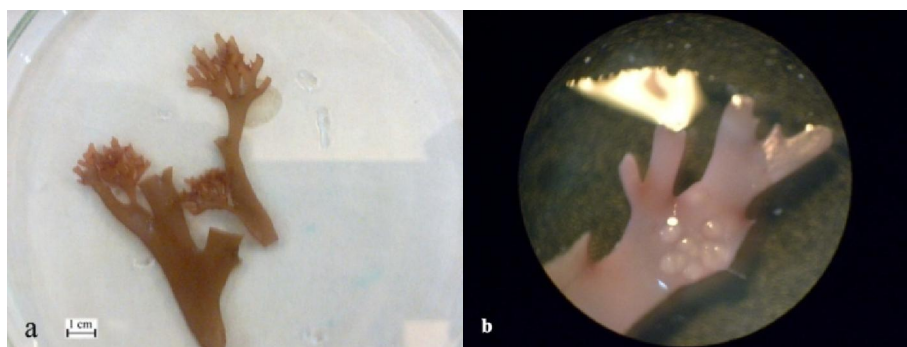
از مجموع ۴۰ نمونه منطقه لیپار که مورد بررسی مورفولوژیک قرار

گرفت، تعداد ۸ نمونه به عنوان نر ، ۴ نمونه به عنوان ماده و ۲۸

نمونه به عنوان تتراسپوروفیت مشخص گردید (شکل ۳ تا ۶).

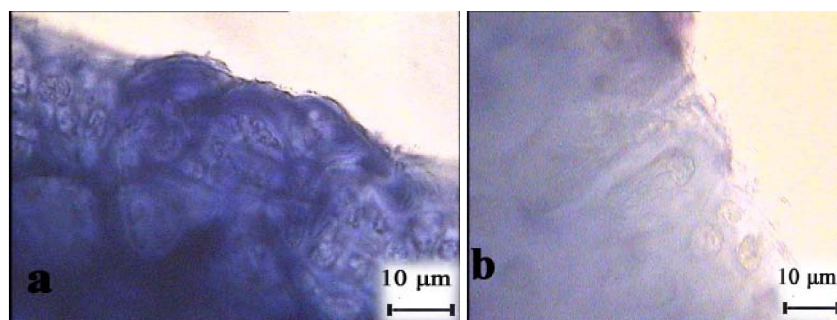


شکل ۳: پراکندگی تتراسپورانژیا بطور متراکم در سطح ریشه

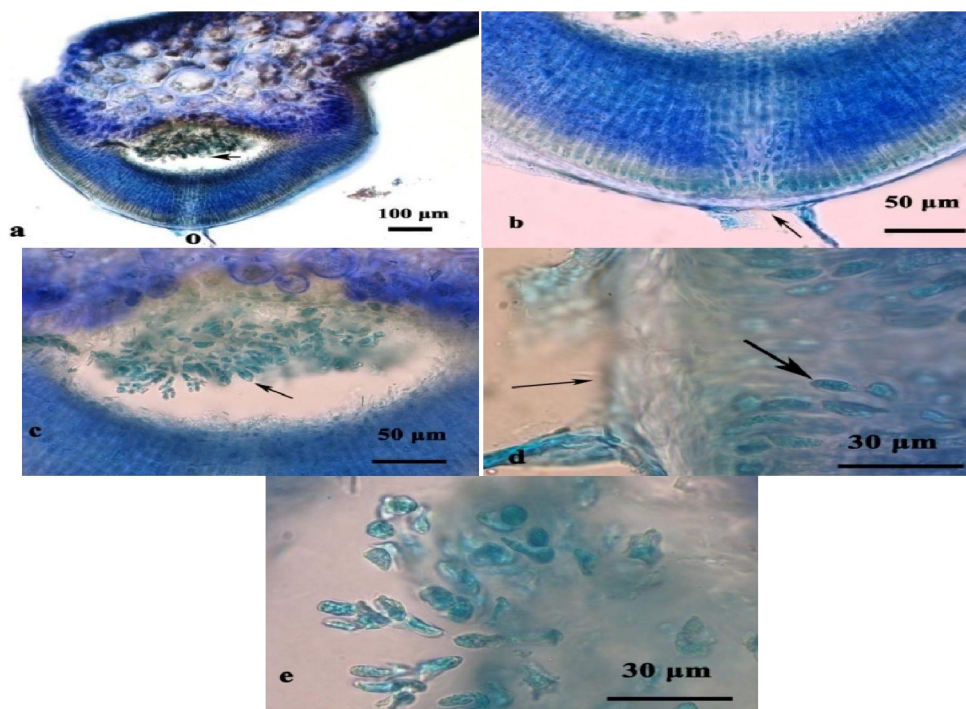


شکل ۴: شکل ظاهری گامتوفیت ماده (a) و نمایش سطحی از زوائد سیستوکارب نیمه کروی بالغ با استفاده از استریو میکروسکوپ (b)

در جنس نر *G.corticata* اسپرماتانژیالها در داخل کنسپتاکل های عمیق تر بیضوی شکل قرار می گیرند.

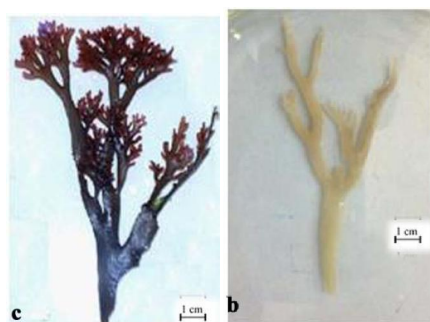
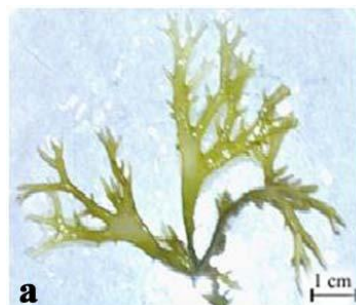


شکل ۵: برش عرضی از گامتوفیت نر در *G.corticata* و اسپرماتانژیال کنسپتاکل در جنس نر در مراحل رسیدگی



شکل ۶: نمایش مقاطع عرضی سیستم کارپ *G.corticata* از منطقه لیپار
a: سیستم کارپ بالغ با روزنه کوچک بر روی آن (o) که از قسمت انتهایی آن کارپوسپورها خارج می گردند. کارپوسپور با پیکان نمایش داده شده است. (بزرگنمایی ۱۰۰)
b: نمایش روزنه سیستم کارپ بالغ با بزرگنمایی ۴۰۰. پیکان روزنه را نشان می دهد
c: نمایش کارپوسپورانژ با بزرگنمایی ۴۰۰. کارپوسپور با پیکان نمایش داده شده است
d و e: نمایش کارپوسپورانژ با بزرگنمایی ۱۰۰۰

ریسه ها فشرده تا برگگی شکل ، رنگ ریسه ها سبز ، زرد تا قرمز متمایل به ارغوانی متغییر می باشد. محور آن صاف بوده و انتهای ریسه ها دو بخشی با انشعابات نامنظم و لبه های صاف می باشد . نمونه های نر در مقایسه با نمونه های ماده و تتراسپوروفیت از پرپشتی کمتری برخوردار بوده و بلندی آن ۱۶-۱۰ سانتیمتر و پهنای ۴-۶ میلیمتر بوده و نمونه های ماده ۱۰-۸ سانتیمتر ارتفاع و سیستوکارپ نیمه کروی در سطح ریسه های بالغ آن مشاهده گردید و تتراسپوروفیت ها ریسه های منشعب پر پشت تری داشته و ۱۰-۶ سانتیمتر بلندی آن می باشد(شکل ۷).



شکل ۷: نمایش اشکال ایزومورفیک جلبک *G. corticata* a-تتراسپوروفیت ، b-گامتوفیت نر و c-گامتوفیت ماده

بحث

محل رویش جلبک *Gracilaria corticata* در استانهای هرمزگان و سیستان و بلوچستان بر سطح حوضچه های صخره ای در قسمت های میانی و محدوده بین جزر و مدی است. پراکنش کم و بیش در

کل استان های هرمزگان و سیستان و بلوچستان (بریس، لیپار، کچو، گوردیم و تنگ) در فصول تابستان و زمستان می باشد(قرنجیک و روحانی، ۱۳۸۹).

جلبک ها در سواحل Visakhapatnam با دو چرخه رشد شش ماهه در دسترس بوده بطوری که اوج آن در خرداد تا تیر و آبان تا دی می باشد. گیاهان مولد در سراسر سال با فراوانی بیشتری از گیاهان رویشی مشاهده می گردند. بسیاری از کارپوسپورها و تتراسپورها در مدت ۲۴ ساعت بین ساعت ۲ تا ۶ صبح همه ماهه می ریزند و اوج آزاد سازی آنها آذر تا بهمن و مرداد تا مهر می باشد(Subbarangalah, 1983).

در گونه *G. corticata* اغلب بدلیل تنوع در ریخت شناسی گیاه ممکن است با جلبک هایی نظیر *G. foliifera* و *G. millardetii* اشتباه گرفته شود (Iyer et al., 2004). بطوریکه این گونه تا سال ۲۰۰۴ در آفریقای جنوبی گزارش نگردیده بود که احتمالاً بدلیل ظاهر متغییر آن می باشد که مشکلات متعددی را در شناسایی این گونه ایجاد می کند(Iyer et al., 2004). و بر اساس مطالعات فیلوژنی نشان داده شد که در آب های هند *G. foliifera* به گونه *G. corticata* نزدیک تر است در حالی که *G. salicornia* و *G. foliifera* از اجداد مشترک سرچشمه گرفته اند (Pareek et al., 2010).

G. foliifera در آبهای استان های هرمزگان(هرمز، لارک و قشم) و سیستان و بلوچستان (بریس و گوردیم) در فصول زمستان تا اوایل بهار گزارش شده است و از نظر ریخت شناسی اگر چه رنگ آن همانند *G. corticata* قرمز متمایل به ارغوانی تا قهوه ای یا سبز و ریسه های آن نواری و کشیده است ولی انشعابات آن با تقسیمات دوتایی منظم و متوالی بوده و انتهای انشعابات دو شاخه ای با رئوس تیز است و پهنای انشعابات اصلی آن باریکتر از *G. corticata* بوده و ارتفاع آن به ۲۰-۱۰ سانتیمتر می رسد. (قرنجیک و روحانی، ۱۳۸۹).

تشخیص جنسیت بر اساس ساختار آناتومی تنها در جلبک هایی با بلوغ کامل مشاهده شد. از مجموع نمونه های جمع آوری شده از منطقه بستانه در نوبت اول همگی نابالغ بوده و هیچیک از مراحل جنسیتی از طریق خصوصیات ریخت شناسی قابل تشخیص نبود. ولی نمونه هایی که از نظر زمانی به ترتیب با ۱ و ۳ ماه فاصله زمانی در ماههای خرداد و مرداد نمونه برداری شده بود ۴۰٪ و ۱۰۰٪ قابل

تشخیص بود. در بررسی که توسط Iyer و همکاران (۲۰۰۴) در آفریقای جنوبی بر روی *G. corticata* انجام شد هیچکدام از مراحل سیستماتیک گیاه ماده، تتراسپوروفیت و اسپرماتانژیال کانسپتاکل گیاه نر مشاهده نشد که این موضوع احتمالاً، بدلیل عدم رسیدگی جنسی در نمونه های مذکور می باشد.

در تشریح گیاه با استفاده از رنگ آمیزی آبی متیل و کالمن سلول های لایه قشری پوست و سلول های پاراننشیمی که در بر گیرنده لایه مغزی است مشاهده گردید. از نظر رنگ آمیزی رنگ آبی متیل به تنهایی کفایت دارد و نیازی به استفاده از رنگ کالمن نمی باشد. در منابع دیگر از رنگ های سافرانین و آبی تولوئیدین نیز توصیه گردید (Marín-Salgado & Peña-Salamanca, 2011) که نتایج مشابهی با روش فوق داشت.

در بررسی ریشه گیاه گراسیلاریا، تال رویشی شامل دو قسمت پوست و استوانه مرکزی است. سلول های پوست کوچکتر هستند و از یک یا دو لایه تشکیل شده است و سلول های بیرونی دارای رنگدانه می باشند. استوانه مرکزی از سلول های بزرگ پاراننشیمی تشکیل شده است. وضعیت لایه های خارجی، اندازه و تعداد سلول های استوانه مرکزی و تغییر شکل سلول ها از ناحیه پوست به ناحیه مرکزی در تشخیص گونه های گراسیلاریا موثر می باشد (حسینی، ۱۳۸۳). بطوریکه در مقطع ریشه رویشی سلول های برجسته مغزی در ناحیه میانی توسط سلول های پاراننشیمی و قشری (cortex) احاطه می گردد (Marín-Salgado & Peña-Salamanca, 2011). گامتوفیت ماده با مشاهده زوائد سیستماتیک نیمه کروی با چشم غیر مسلح قابل تشخیص می باشد. سیستماتیک بالغ پس از لقاح گامتوفیت نر (اسپرماتانژیال) با گامتوفیت ماده (کارپوگونیال) بر روی ریشه ماده بوجود می آید که پس از رسیدگی روزنه کوچک بر روی آن ایجاد شده که از قسمت انتهایی آن کارپوسپورها خارج می گردند. تشخیص ریشه ماده با استفاده از مطالعات آناتومیکی در تحقیق فوق مقدور نبود که این موضوع در مطالعات سایر محققین نیز عنوان شده است بطوریکه تشخیص ماده بالغ قبل از لقاح بسیار مشکل بوده و پس از تخریب بافت توسط میکروسکوپ تشریحی قابل تشخیص است. ولی بعد از لقاح با گسترش *cystocarp* بر روی تالوس ماده ها قابل تشخیص با چشم غیر مسلح می باشند (Martinez et al., 1999). سیستماتیک به صورت اجزاء کروی شکل در قسمت سطحی ساقه پراکنده شده و ممکن است به

چهار بخش پریکارپ، گونیموبلاست، کارپوسپورانژ و فیلامنتهای جذب کننده که از بافت گونیموبلاست تا لایه پریکارپ امتداد داشته و فقط در برخی گونه ها مشاهده می شود (حسینی، ۱۳۸۳). پریکارپ: شامل تعدادی لایه سلولی است که اغلب لایه ها بهم فشرده و دارای پیگمانهای رنگی می باشند. گونیموبلاست: واقع در مرکز سیستماتیک و شامل سلولهای پاراننشیمی است. کارپوسپورانژ: در بالای گونیموبلاست قرار گرفته است و به اشکال دایره ای یا تخم مرغی دیده می شود. (حسینی، ۱۳۸۳).

Carpospore ها از طریق یک سوراخ کوچک یا دهانه در بالای *cystocarp* آزاد می شوند و به تالوس های *tetrasporic* یا *tetrasporophytes* جوانه می زنند. در مقطع عرضی تتراسپوروفیت برجسته صلیبی در بخش قشری ریشه جلبک با استفاده از رنگ آمیزی آبی متیل مشاهده گردید و در سطح اپیدرمی ریشه نیز بطور متراکم دیده می شود. تتراسپوروفیت بالغ تتراسپورونژیال را ایجاد می کند که عموماً در پوسته تالوس رخ می دهد. تتراسپورونژیوم بطور چلیپایی تقسیم می شود و ۴ اسپور یا تتراسپور که به ۴ تالوس گامتوفیت جوانه می زند که دو تا نر و دو تا تالوس ماده می باشند (Lewmanomont, 1996). در جنس نر *G. corticata* اسپرماتانژها در داخل کانسپتاکل های عمیق تر بیضوی شکل مشاهده گردید. اسپرماتانژها به شکل کروی یا بیضوی و بطور پراکنده در سطح تال دیده می شود. طرز قرار گرفتن کانسپتاکل اسپرماتانژها عامل مهم شناسایی گونه های گراسیلاریا از یکدیگر می باشد (حسینی، ۱۳۸۳).

با توجه به اینکه تشریح ساختار آناتومی توسط مطالعات میکروسکوپی تنها در مورد بالغین این گونه کاربرد دارد و از طرفی کیفیت آگار در جنس های نر، ماده و تتراسپوروفیت متفاوت بوده (Whyte et al., 1981) لذا برای موفقیت در برنامه حفظ ژنتیکی و اصلاح نباتات، و استفاده تجاری از این جلبک دریایی و توسعه کشت آن نیازمند شناسایی صحیح و دانش چرخه زیستی آن می باشد و به لحاظ اهمیت تشخیص تمایز جنسیتی در مراحل ابتدایی زندگی در امر تکثیر و پرورش، ضرورت دارد به تجزیه و تحلیل ساختار جنسیتی این گونه در مراحل ابتدایی زندگی پرداخته شود. با توجه به اینکه در حال حاضر هیچ روش قابل اعتمادی برای افتراق جلبک های تتراسپوروفیت، نر و ماده جنس *G. corticata* در مراحل نابالغی وجود ندارد بکارگیری مارکر های مولکولی در تمایز

- gametophyte (male and female) and sporophyte of *Gracilaria dura* and their marker assisted selection. AQUA-629736; 8P.
- Hagopian, J. C., Reis, M., Kitajima, G. O., Bhattacharya, D. and Oliveira, M., 2004.** Comparative Analysis of the complete plastid genome sequence of the red alga *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* provides insights into the evolution of rhodoplasts and their relationship to other plastids. *Journal of Molecular Evolution*, 59: 464-477.
- Iyer, R., Clerck, O. D., Boltan, J. J. and Coyne, V. E., 2004.** Morphological and taxonomic studies and *Gracilariopsis* species (Gracilariales, Rhodophyta) from South Africa. *South African Journal of Botany*, 70(4): 521-539.
- Lewmanomont, K., 1996.** Report on a regional study and workshop on the taxonomy, ecology and processing of economically important red seaweeds (GCP/INT/FRA) (FAO). 351P.
- Marín-Salgado, H. and Peña-Salamanca, E. J., 2011.** Características histológicas de las fases reproductivas del alga roja *Gracilaria blodgettii* (Gracilariaceae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas*. 35(135): 125-132.
- Martinez, E. A., Destombe, C., Quillet, M. C. and Valero, M., 1999.** Identification of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers highly linked to sex determination in the red alga *Gracilaria gracilis*. *Molecular Ecology*, 8: 1533-1538.
- Narasimha, G. M., 1989.** Seasonal growth, phytomass and spore shedding of *bangiopsis* subsimplex (MONT.) Schmitz. *Mahasgar*, 22(3): 143-146.
- جنسی مراحل زندگی ابتدایی این گونه در برنامه های پرورش و با کاربرد در امر تکثیر پیشنهاد می گردد.
- ### تشکر و قدردانی
- بدینوسیله از ریاست و معاونین موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و کارکنان آزمایشگاه ژنتیک مولکولی و آناتومی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور بویژه سرکار خانم مهندس عباس عظیمی و همچنین آقای دکتر فرهاد کیمرام و کلیه عزیزانی که در مسیر انجام تحقیق از مساعدت آنها برخوردار بودیم، تشکر و قدردانی می گردد.
- ### منابع
- حسینی، م. ر.، ۱۳۸۳. دستورالعمل پرورش گیاه گراسیلاریا (*Gracilaria*) و فرآورده های علفهای دریایی در چین. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. صفحات ۱ تا ۱۴.
- قهرمان، ا.، ۱۳۸۹. گیاه شناسی پایه (جلد ۱). انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۳۵۸-۳۵۷.
- قرنجیک، ب. م. و روحانی قادیکلایی، ک.، ۱۳۸۹. اطلس جلبک های دریایی سواحل خلیج فارس و دریای عمان. ۱۷۰ صفحه.
- Barsanti, L. and Gualtieri, P., 2006.** *Algae Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*.
- Byrne, K., Zuccarello, G. C., West, J., Liao, M. and Kraft, G. T., 2002.** *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta) from southeastern Australia, including a new species, *Gracilaria perplexa* sp. nov: Morphology, molecular relationships and agar content. *Phycology*, 50: 295-311.
- Destombe, C. and Valero, M., 2001.** Population dynamics and stage structure in a haploid diploid red seaweed, *Gracilaria gracilis*. *Journal of Ecology*, 89: 436-450.
- Gupta, V., Baghel, R. S., Kumar, M., Kumari, P., Mantri, V. A., Reddy, C. R. K. and Jha, B., 2011.** Growth and agarose characteristics of isomorphic

- molecular markers belonging to three different genomes. *Journal of Phycology*, 46(6): 1322-1328.
- Whyte, J. N. C., Englar, J. R., Saunders, R. G. and Lindsay, J. C., 1981.** Seasonal variations in the biomass, quantity and quality of agar, from the reproductive and vegetative stages of *Gracilaria* (verrucosa type). *Botanica Marina*, 24:493-501.
- Winchester, A. M., 1969.** Biology and its relation to mankind. Van Nostrand Reinhold Company. Fourth edition. pp. 172-173.
- Yamamoto, H., 1986.** *Congracilaria babae* gen. et sp. nov. (Gracilariaceae), an Adelphoparasite growing on *Gracilaria salicornia* of Japan. *Bulletin of the Faculty of Fisheries Hokkaido University*. 37(4): 28-290.
- Yee, G. S., 1999.** Molecular taxonomic studies of *Gracilaria changii* from various locations using the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. 185 P.
- Pareek, M., Mishra, A., Jha B., 2010.** Molecular phylogeny of *Gracilaria* species inferred from
- Peng, C., Hong, B. O. S., Di, X., Song, Q., 2009.** Progress in gracilaria biology and developmental utilization: Main issues and prospective. *Reviews in Fisheries Science*, 17: 494-504.
- Provasoli, L., 1968.** Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: Watanabe A, Hattori A (eds), *Cultures and collections of algae* Japanese Society of Plant Physiology, Hakone: pp. 63-75.
- Subbarangalah, G., 1983.** Seasonal growth reproduction and spore shedding in *Gracilaria corticata*. *J. Agardh of the Visakapatnam Coast. Proceedings of Indian National Science Academy*, B49 (6)- 711-718.
- To'rje'K. O., Bucherna, N., Kiss, E., Homoki H., 2002.** Novel male-specific molecular markers (MADC5, MADC6) in hemp. *Euphytica*, 127: 209-218.

Morpho - anatomical studies on red alga *Gracilaria corticata* in the Persian Gulf and Oman Sea

Talebzadeh, S. A.^{(1,3)*}; Hesamzade Hejazi, S. M.⁽²⁾; Maghsoodi, H.⁽¹⁾; Valinassab, T.⁽³⁾

* satalebzadeh@gmail.com

1-Department of Biotechnology Payame Noor University, Tehran, P.O.Box 19395-3697

2-Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, P.O.Box 13185-116

3-Iranian Fisheries Research Organization, Tehran, P.O.Box 14155-1661

Keywords: Red algae, *Gracilaria corticata*, Morphology, Anatomy, Persian Gulf, Oman Sea

Received: July 2013

Accepted: November 2013

Abstract:

The specimens of red algae "*Gracilaria corticata*" were collected from the rocky intertidal shores in Bostaneh Port in the Persian Gulf and Lipar in Oman Sea in May, June and August 2013. Anatomical, morphological structures, thallus of vegetative and reproductive samples were studied. Carpogonial and tetrasporangium stages were determined based on histological and morphological methods. The female thallus, the Cystocarp with hemispherical structure through out thallus were observed. The Spermatangial conceptacle was located deeper as the oval shape in male thallus. The tetrasporophytic stage of diploid samples was determined by the presence of tetrasporangium oval shape.