

مطالعه تکوینی فراساختار سلول‌های کلاهک در ریشه گیاه نخود (*Pisum sativum* L.)

علی موافقی *

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

چکیده

سلول‌های کلاهک ریشه در گونه‌های گیاهی، تغییرات تکوینی متفاوتی را متحمل می‌شوند. در این پژوهش، تغییرات تکوینی فراساختار سلول‌های کلاهک ریشه گیاه نخود (*Pisum sativum* L.) مطالعه شد. بدین منظور، نوک ریشه‌های دانه‌رست‌های سه روزه در ماده تثبیت‌کننده نخستین حاوی 5 w/v درصد پارا فرم آلدئید و 2 v/v درصد گلو تار آلدئید در بافر فسفات 100 mM و تثبیت‌کننده ثانویه تتراکسید اسمیوم 1 v/v درصد در همان بافر تثبیت شد. پس از آغشته‌سازی با استفاده از رزین لندن سفید برش‌هایی با ضخامت 60 nm تهیه و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری مطالعه شدند. در این گونه، سلول‌های بخش مرکزی کلاهک یا کلوملا در زیر ناحیه مرستمی با دارا بودن ویژگی‌های متعارف مربوط به استاتوسیت‌ها مشخص می‌شوند. در این سلول‌ها، وجود هسته بزرگ در قطب فوقانی و غشاهای شبکه آندوپلاسمی و آمیلوپلاست‌های فراوان در قطب تحتانی سلول جلب توجه می‌کند. با افزایش سن این سلول‌ها که با نزدیک شدن به ناحیه پیرامونی کلاهک مشخص می‌شود، ساختار آنها در جهت ترشح تخصص‌یابی پیدا می‌کند. با افزایش اندازه سلول‌ها، نسبت نوکلئوپلاسمی کاهش می‌یابد و تعداد دیکتیوزوم‌های گزری و غشاهای شبکه آندوپلاسمی با ساختار توپولی-وزیکولی به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. به تدریج، اندامک‌های موجود در سیتوپلاسم به نواحی پیرامونی رانده می‌شوند و یک بخش عاری از اندامک در قطب فوقانی شکل می‌گیرد. سپس تعدادی از غشاهای شبکه آندوپلاسمی در اطراف منطقه عاری از اندامک، برای تشکیل واکوئل سازمان می‌یابند. به این صورت شبکه آندوپلاسمی را می‌توان به عنوان منشأ واکوئل در سلول‌های کلاهک ریشه نخود معرفی نمود. رشد دستگاه واکوئلی در این سلول‌ها در مراحل نهایی تکوینی انجام می‌گیرد و سلول‌ها در نهایت از کلاهک جدایی می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: استاتوسیت، شبکه آندوپلاسمی، کلاهک ریشه، مطالعه تکوینی، واکوئل

مقدمه

مریستم رأسی، در پاسخ ریشه به نیروی جاذبه یا ژئوتروپیسم و همچنین، تسهیل حرکت ریشه در خاک با تولید و ترشح موسیلاژ نقش دارد (Barlow, 2003).

کلاهک ریشه در بخش انتهایی ریشه‌های اصلی و فرعی قرار می‌گیرد و علاوه بر محافظت فیزیکی

با این که کلاهک در بیشتر گیاهان عالی اندازه کوچکی دارد و فقط از چند لایه سلولی تشکیل شده است، اما تخصص‌یابی فراساختاری و عملکردی در خور توجهی در میان سلول‌های آن دیده می‌شود.

سلول‌های حساس به نیروی جاذبه، که به نام استاتوسیت (statocyte) نیز معرفی می‌شوند، مستقیماً از سلول‌های مریستمی منشأ می‌گیرند و معمولاً در لایه‌های بالایی بخش مرکزی کلاهک یا کلو ملا (columella) در زیر ناحیه مریستمی قرار دارند (Driss-Ecole *et al.*, 2003). در این سلول‌ها هسته نسبتاً درشت در بخش فوقانی و شبکه آندوپلاسمی در بخش پیرامونی سلول (به ویژه در قطب تحتانی) قرار دارند. استاتوسیت‌ها فاقد واکوئل مرکزی هستند و ریزرشته‌ها (microfilaments) و ریزلوله‌ها (microtubules) با تراکم زیادی در بخش مرکزی و تحتانی سلول پراکنده‌اند. استاتوسیت‌ها دارای اندامک‌های نسبتاً درشتی به نام استاتولیت (statolith) هستند که به سمت نیروی جاذبه تغییر مکان می‌دهند. در گیاهان عالی آمیلوپلاست‌های غنی از نشاسته و نسبتاً درشت به عنوان استاتولیت در دریافت نیروی جاذبه دخالت دارند (Stanga *et al.*, 2011). در برخی گیاهان پست نیز وزیکول‌ها و دانه‌های غنی از مواد معدنی به عنوان استاتولیت معرفی شده‌اند (Blancaflor and Masson, 2003). با این که نقش استاتولیت‌ها در پذیرش نیروی جاذبه کاملاً مورد پذیرش است، در مورد مکانیسم عمل آنها هنوز اتفاق نظر حاصل نشده است. به نظر می‌رسد که استاتولیت‌ها به کمک عناصر اسکلت سلولی یعنی ریزرشته‌ها و ریزلوله‌ها انتقال پیام به سایر بخش‌های سلول را بر عهده دارند (Palmieri

and Kiss, 2005; Nakamura *et al.*, 2011) در این ارتباط، باز شدن کانال‌های کلسیم شبکه آندوپلاسمی و در نتیجه فعال‌سازی کالمودولین (calmodulin) به عنوان یکی از آثار حرکت استاتولیت‌ها گزارش شده است (Hayatsu *et al.*, 2012). گزارش‌هایی نیز در زمینه فعال‌سازی پذیرنده‌های موجود در غشای پلاسمایی وجود دارد (Yoder *et al.*, 2001).

سلول‌های ترشح‌کننده موسیلاژ موقعیت سطحی تری دارند و در لایه‌های بیرونی کلاهک قرار می‌گیرند. طی تمایز یابی، استاتوسیت‌ها با تغییرات فراساختاری قابل ملاحظه‌ای نظیر افزایش تعداد اجسام گلژی، تشکیل واکوئل مرکزی و کاهش پلاست‌ها به این سلول‌ها تبدیل می‌شوند (Iijima *et al.*, 2008). در سلول‌های ترشحی کلاهک نقش فعال دیکتیوزوم‌ها در ترشح گرانولوکرین با تولید وزیکول‌های حاوی پلی‌ساکاریدهای موسیلاژی در اکثر ریشه‌ها، به ویژه در ریشه گیاهان تک‌په نظیر ذرت، گزارش شده است (Pimpl *et al.*, 2000; Iijima *et al.*, 2004). تبدیل استاتوسیت‌ها به سلول‌های ترشحی احتمالاً یک فرآیند تمایزی وابسته به سن و موقعیت سلول‌هاست که در آن فاصله زمانی و مکانی از ناحیه مریستمی دارای نقش است. با این حال، گزارش‌ها نشان داده‌اند که در بین گونه‌های گیاهی مراحل تمایز سلول‌های ترشحی در کلاهک دارای تفاوت‌هایی هستند (Moore and McClelen, 1985; Kordyum *et al.*, 1999; Rost, 2011). برای مثال، تعداد لایه‌های سلولی کلاهک، سرعت تمایز سلول‌ها و همچنین، منشأ اندامک‌های سلول‌های ترشحی در میان گونه‌های مطالعه شده متفاوت است.

برخلاف بسیاری از بافت‌های گیاهی، سلول‌های کلاهک ریشه به علت تماس فیزیکی مستقیم با ذرات خاک طول عمر کوتاهی دارند و مدت کوتاهی پس از بلوغ می‌میرند و از سطح آن جدا می‌شوند. از این رو، در بیشتر گیاهان پس از گذشت یک تا چند روز ساختار کلاهک کاملاً تجدید می‌شود. با توجه به طول عمر کوتاه سلول‌ها و از سوی دیگر تخصص‌یابی درخور توجه در لایه‌های مختلف سلولی، کلاهک ریشه برای بررسی برخی ویژگی‌های فراساختاری سلول‌ها نظیر بررسی منشأ و همچنین، تغییر و تحول رشد و نمو اندامک‌ها مناسب است. گیاهان تیره بقولات به علت دارا بودن ریشه‌چه نسبتاً درشت برای مطالعات ساختاری و فراساختاری کلاهک مناسب به نظر می‌رسند. با این حال، تاکنون مطالعات فراساختاری محدودی در زمینه منشأ اندامک‌ها در کلاهک ریشه‌های اعضای این تیره انجام شده است. از سوی دیگر، مطالعات روی بافت‌های گونه‌هایی از این تیره نظیر ماش و عدس نشان داده است که تفاوت‌هایی در تولید اندامک‌هایی نظیر واکوئل طی نمو سلول‌ها وجود دارد (Mesquita, 1969; Amelunxen and Heinze, 1984). از این رو، در پژوهش حاضر، فراساختار سلول‌های رأسی کلاهک ریشه دانه‌رست‌های نخود به عنوان یکی از مهم‌ترین اعضای تیره بقولات مطالعه شده است. گسترش اندامک‌ها طی تمایز یابی سلول‌های ترشحی و به ویژه نحوه شکل‌گیری دستگاه واکوئلی از غشاهای شبکه آندوپلاسمی در این سلول‌ها بحث و بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه نخود (*Pisum sativum* L.) به مدت

۱۲ ساعت در آب مقطر و پس از آن روی کاغذ صافی استریل مرطوب قرار گرفتند. پس از جوانه‌زنی بذر ها در دمای آزمایشگاه، نوک ریشه‌های دانه‌رست‌های ۳ روزه به طول ۲ میلی‌متر بریده شد و نمونه‌ها که دارای کلاهک در انتهای خود بودند، در درون محلول تثبیت‌کننده نخستین حاوی ۱/۵ w/v درصد پارافرم‌آلدئید و ۲ v/v درصد گلو تار آلدئید در بافر فسفات ۱۰۰ mM با اسیدیته ۷ به مدت ۴ ساعت غوطه‌ور شدند. قطعات ریشه تثبیت شده، ۳ بار به مدت ۱۰ دقیقه توسط بافر فسفات شستشو شدند و سپس درون تثبیت‌کننده ثانویه به مدت ۲ ساعت توسط محلول تتراکسید اسمیوم ۱ v/v درصد در بافر فسفات انجام شد. پس از شستشوی نمونه‌ها، آب‌گیری آنها توسط محلول‌های اتانول با غلظت‌های فزاینده (۲۵ تا ۱۰۰ درصد) انجام شد. آغشته‌سازی با استفاده از رزین لندن سفید (London Resin White: LR White) انجام شد و قالب‌گیری نمونه‌ها به مدت ۲۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد در شرایط خلأ ادامه یافت (Robinson et al., 1995).

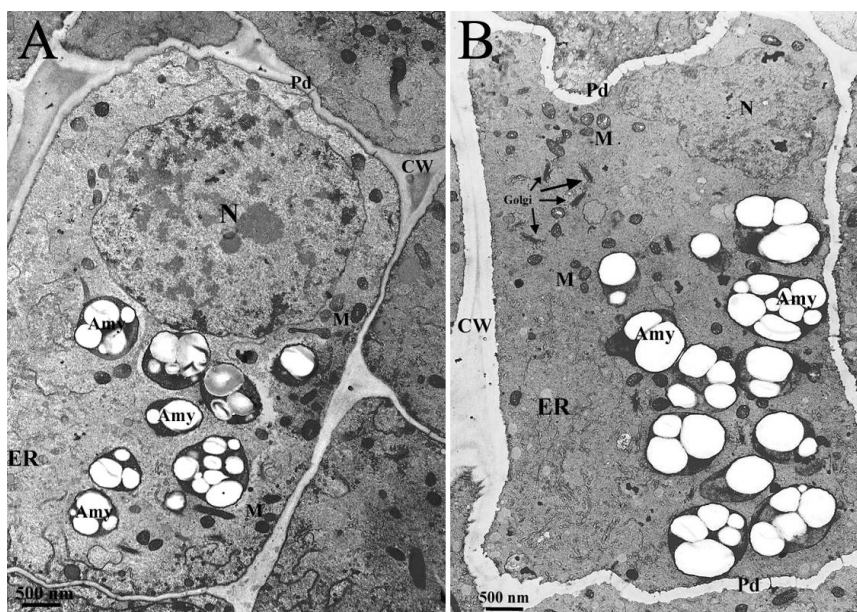
تهیه برش‌های طولی با ضخامت ۶۰ نانومتر با استفاده از میکروتوم Leica و تیغ الماس انجام شد. نمونه‌ها بر روی گریدهای نیکل دارای یک لایه فرم‌وار پوشش داده شده با کربن، جمع‌آوری شدند و رنگ‌آمیزی برش‌ها با استفاده از محلول‌های سیترات سرب و اورانیل استات ۲ w/v درصد هر یک به مدت ۵ دقیقه انجام شد. پس از شستشوی مکرر با آب مقطر و خشک شدن نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه، مشاهده آنها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (LEO 906, Germany) با ولتاژ ۸۰ kV در آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی

دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد. با توجه به این که برش‌ها به طور طولی تهیه شدند و در برگ‌گیرنده همه سلول‌های ناحیه کلاهک بودند، برای تشخیص لایه‌های مختلف کلاهک، ناحیه مریستمی به عنوان محل پیدایش سلول‌ها و پیرامونی‌ترین لایه به عنوان مسن‌ترین بخش، مد نظر قرار گرفت.

نتایج

سلول‌های کلاهک ریشه در دانه‌رست‌های نخود از حدود ۸ تا ۱۰ لایه سلولی تشکیل شده‌اند. از لایه سوم و چهارم زیر ناحیه مریستمی، ویژگی‌های فراساختاری سلول‌های بخش مرکزی یا کلوملا قابل تشخیص است.

سلول‌های این منطقه با دارا بودن ویژگی‌های مربوط به سلول‌های جوان به همراه ویژگی‌های شناخته شده مربوط به استاتوسیت‌ها مشخص می‌شوند. سلول‌ها دارای هسته‌ای درشت در قطب نزدیک یا فوقانی، دیواره‌های سلولی نازک و پلاسمودسماتای متعدد هستند. آمیلوپلاست‌های فراوان در قطب دور یا تحتانی سلول دیده می‌شوند. میتوکندری‌ها با تعداد زیاد، دیکتیوزوم‌های گلژی و غشاهای شبکه آندوپلاسمی در تمام بخش‌های سلول به چشم می‌خورند، اما به علت تراکم سیتوپلاسم در قطب دور این اندامک‌ها در این ناحیه بیشتر جلب نظر می‌کنند (شکل ۱A).



شکل ۱- فراساختار سلول‌های کلاهک ریشه. (A) یک سلول کلاهک جوان در لایه سوم ناحیه مرکزی (کلوملا) با هسته درشت در قطب فوقانی و آمیلوپلاست‌ها در قطب تحتانی؛ (B) سلول مسن‌تر در لایه‌های پایینی ناحیه مرکزی (کلوملا) با نسبت نوکلئوپلاسمیک کمتر و شبکه آندوپلاسمی و دیکتیوزوم‌های در حال گسترش. Amy: آمیلوپلاست؛ CW: دیواره سلولی؛ ER: شبکه آندوپلاسمی؛ M: میتوکندری؛ N: هسته؛ Pd: پلاسمودسماتا.

با افزایش سن این سلول‌ها که با فاصله گرفتن آنها از ناحیه مریستمی و نزدیک شدن به ناحیه پیرامونی

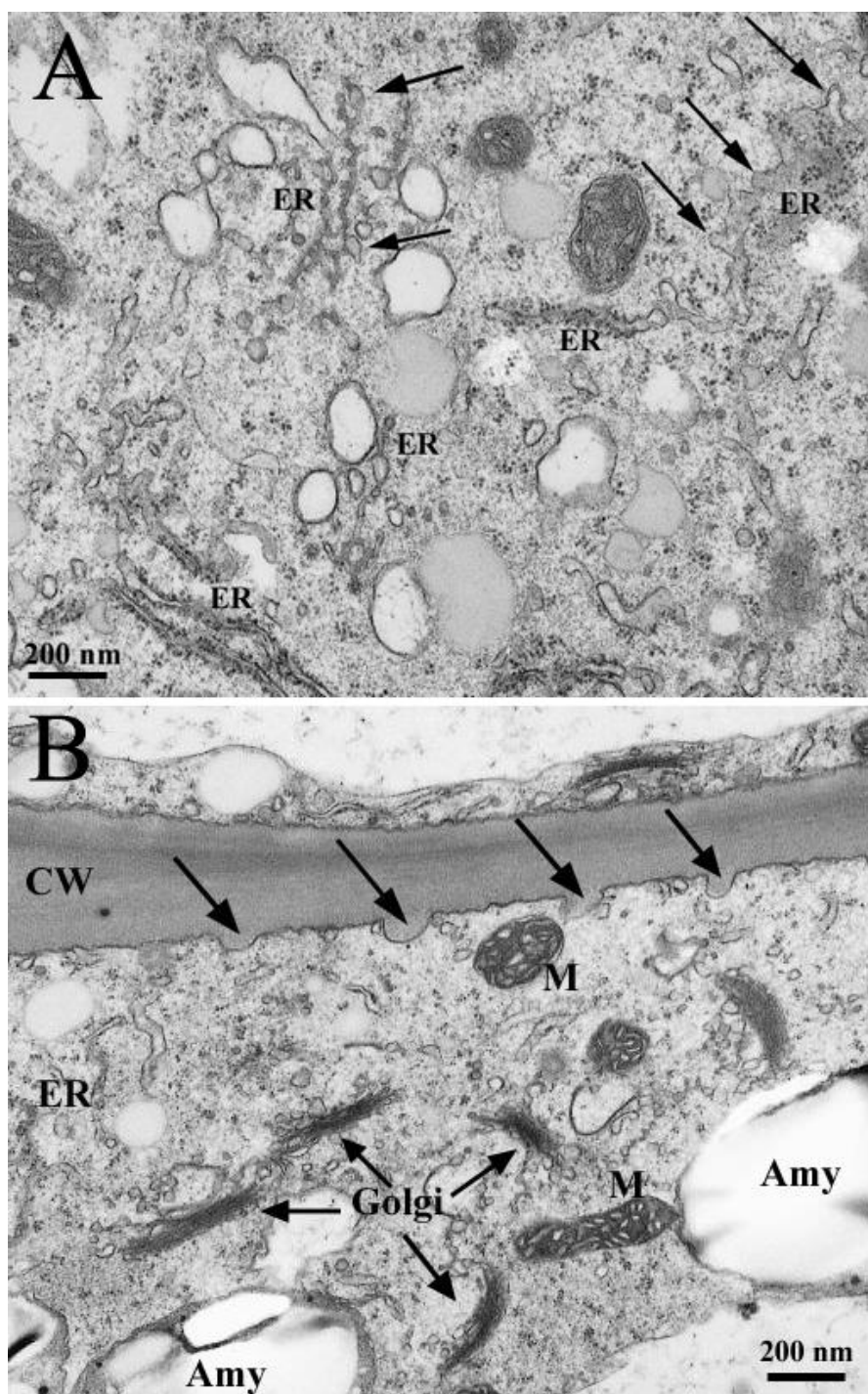
کلاهک مشخص می‌شوند، برخی ویژگی‌های دیگر در آنها ظاهر می‌شود، اندازه سلول‌ها بزرگ‌تر می‌شود

و نسبت نوکلئوپلاسمی کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده افزایش تخصص‌یابی و دور شدن از ویژگی‌های مریستمی است. اندازه آمیلوپلاست‌ها، تعداد دیکتیوزوم‌های گلژی و ضخامت دیواره سلولی به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد، اما در درون آنها نیز واکوئل به چشم نمی‌خورد (شکل ۱B). شبکه آندوپلاسمی با ساختار توبولی-وزیکولی نیز در قطب تحتانی سلول به تدریج گسترش خود را آغاز می‌کند. تولید وزیکول‌ها در اطراف غشاهای شبکه آندوپلاسمی در میکروگراف‌های تهیه شده قابل مشاهده است. ساختارهای ترشحی اطراف شبکه آندوپلاسمی از نقطه نظر چگالی الکترونی متفاوتند و برخی دارای محتوای کاملاً روشن و برخی دیگر به طور مشابه با وزیکول‌های گلژی که در پیوستن دیواره دخالت می‌کنند، دارای محتوای تیره‌تر هستند (شکل ۲A). افزایش تعداد دیکتیوزوم‌های گلژی با وزیکول‌های فراوان در اطراف خود مشخصاً به منظور دخالت در افزایش اندازه و ضخامت دیواره سلولی صورت می‌گیرد. غشای پلاسمایی با ساختاری مواج که گویای پیوستن وزیکول‌های ترشحی به این ساختار است، تأییدی بر این مدعاست. در برخی از قسمت‌های غشای پلاسمایی افزوده شدن مواد دیواره‌ای توسط وزیکول‌ها به طور مشخص قابل مشاهده است (شکل ۲B).

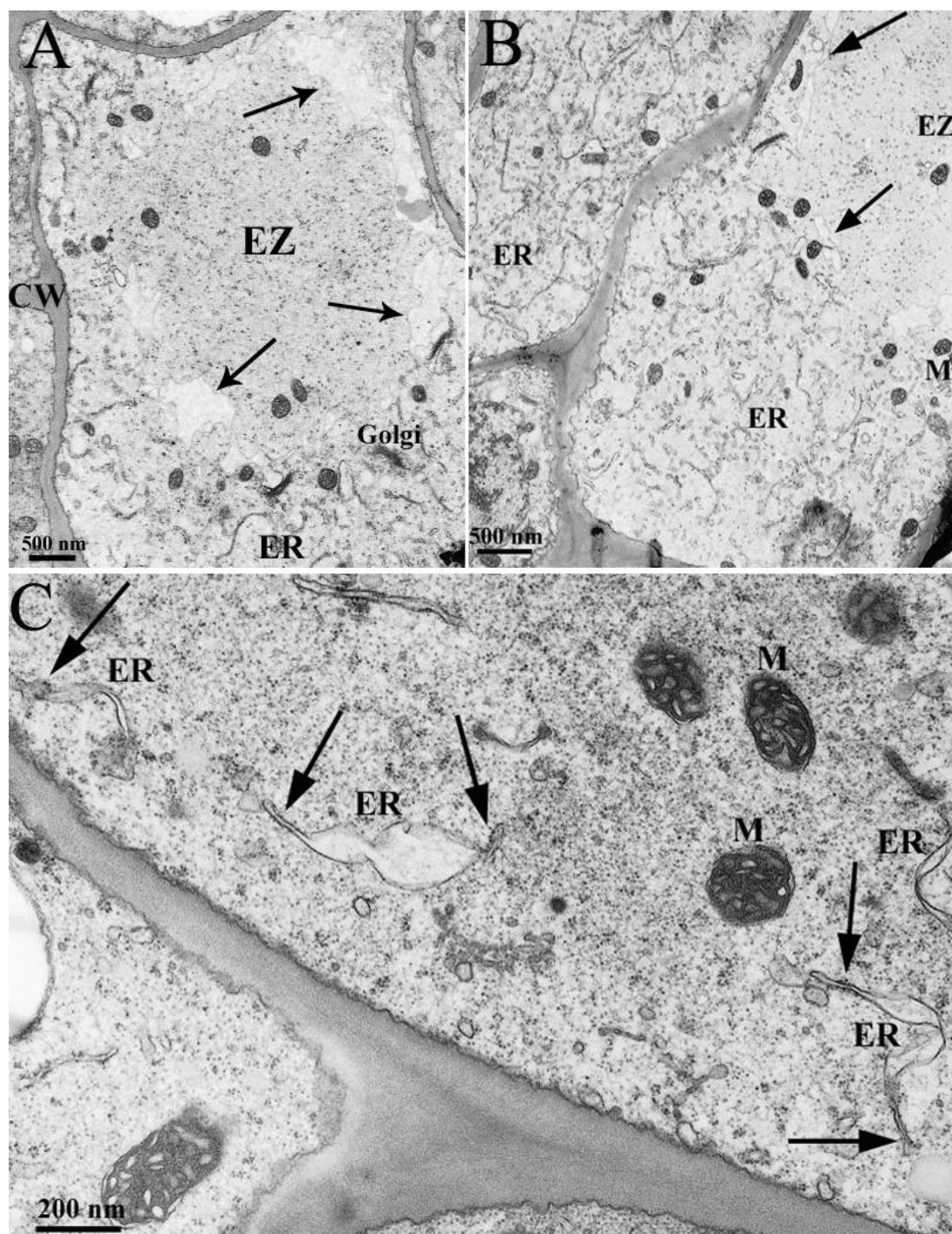
از لایه ششم زیر مریستم به سمت پیرامون، تغییرات بیشتری در سلول‌ها مشاهده می‌شود که در ارتباط با مسن‌تر شدن سلول‌ها و همچنین، تخصص‌یابی آنها برای ترشح است. یکی از مشخص‌ترین تغییرات سلول این است که اندامک‌های موجود در سیتوپلاسم به

تدریج به نواحی پیرامونی رانده می‌شوند و یک بخش عاری از اندامک شکل می‌گیرد (شکل ۳A). تعداد بسیار محدودی از اندامک‌ها نظیر برخی میتوکندری‌ها و دیکتیوزوم‌ها ممکن است در این منطقه مشاهده شوند که طی مراحل بعدی تکوینی به طور کامل از این منطقه خارج می‌شوند. با پیشرفت نمو سلول‌ها به منظور ترشح، غشاهایی با لومن مشخص در بخش‌های پیرامونی منطقه عاری از اندامک آرایش پیدا می‌یابند که به نظر می‌رسد برای تشکیل واکوئل سازمان می‌یابند. این ساختارهای غشایی به تدریج به هم نزدیک می‌شوند و فضای لومن این غشاها عریض‌تر می‌شود. به این صورت با مسن‌تر شدن آنها تشکیل واکوئل درشت مرکزی به طور از نو (*de novo*) قابل مشاهده است. منطقه عاری از اندامک در ناحیه فوقانی سلول‌ها یعنی قطب فوقانی مشاهده می‌شود و در قطب تحتانی غشاهای شبکه آندوپلاسمی توسعه می‌یابند (شکل ۳B).

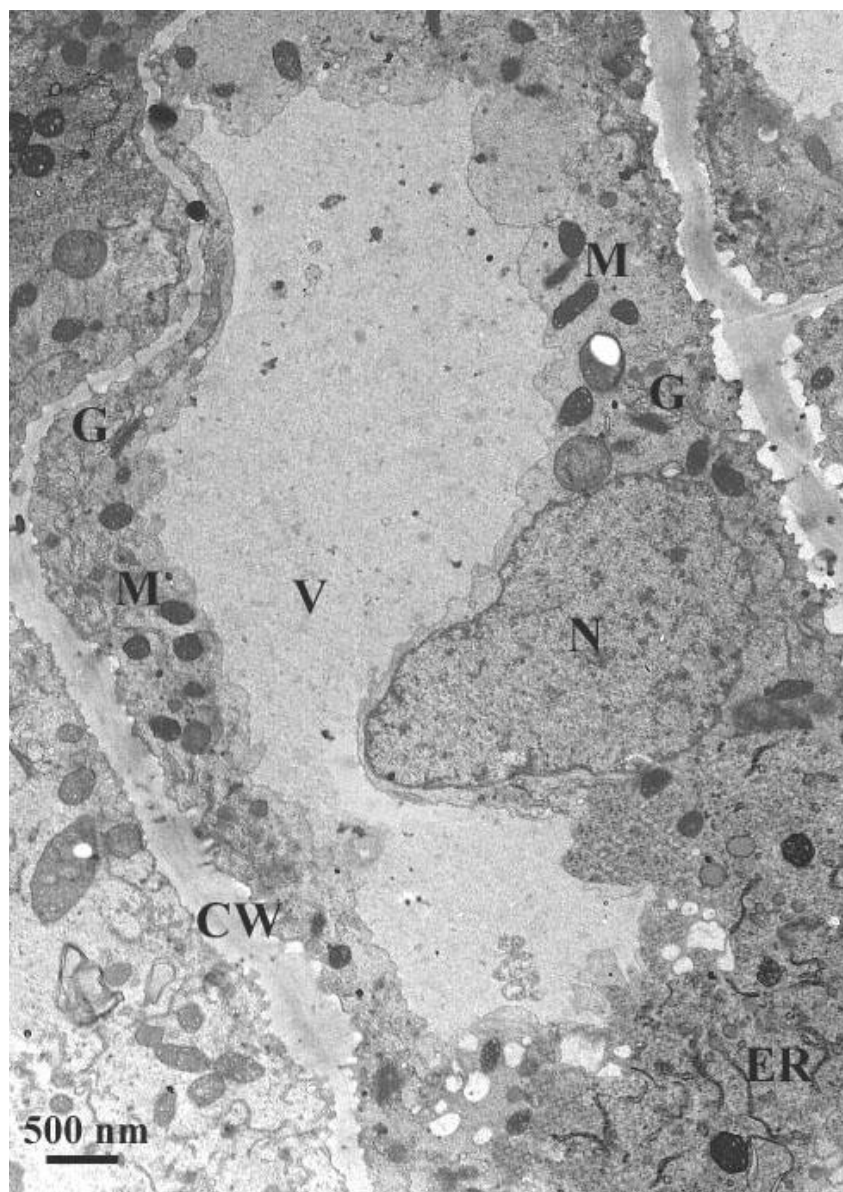
بررسی دقیق برخی از غشاهای اطراف منطقه عاری از اندامک، وجود ریبوزوم‌ها را روی این غشاها و در کناره‌های آنها، در محلی که لومن عریض نشده است، تأیید نمود (شکل ۳C). به این صورت، شبکه آندوپلاسمی را می‌توان به عنوان منشأ غشاهای آرایش یافته در اطراف منطقه عاری از اندامک در سلول‌های کلاهک نخود معرفی نمود. واکوئل تشکیل شده به تدریج به رشد خود ادامه می‌دهد و با کامل شدن رشد سلول‌ها و رسیدن به نواحی پیرامونی کلاهک بخش عمده سلول را به خود اختصاص می‌دهد (شکل ۴). پس از این مرحله، که آخرین مرحله تکوینی است، سلول‌ها از کلاهک جدا می‌شوند.



شکل ۲- تولید وزیکول‌های ترشحی در سلول‌های کلاهک ریشه. (A) وزیکول‌های در حال تشکیل روی غشاهای شبکه آندوپلاسمی (بایکان نشان داده شده است)؛ (B) دیکتیوزوم‌های فراوان در مجاورت غشای پلاسمایی. ملحق شدن وزیکول‌های ترشحی به غشای پلاسمایی مشخص است. Amy: آمیلوپلاست؛ CW: دیواره سلولی؛ ER: شبکه آندوپلاسمی؛ M: میتوکندری.



شکل ۳- دخالت غشاهای منشأ گرفته از شبکه آندوپلاسمی در تشکیل واکوئل در سلول‌های ترشحی کلاهک. (A) احاطه شدن منطقه عاری از اندامک توسط تعدادی از غشاها با لومن مشخص (پیکان‌ها)؛ (B) گسترش شبکه آندوپلاسمی در بخش تحتانی سلول‌ها؛ (C) ریبوزوم‌ها روی غشاهای اطراف بخش عاری از اندامک. CW: دیواره سلولی؛ ER: شبکه آندوپلاسمی؛ EZ: منطقه عاری از اندامک؛ M: میتوکندری.



شکل ۴- یک سلول ناحیه پیرامونی کلاهک با واکوئل درشت مرکزی در حال رشد. CW: دیواره سلولی؛ ER: شبکه آندوپلاسمی؛ G: گلی؛ M: میتوکندری؛ N: هسته؛ V: واکوئل.

بحث

برخی ویژگی‌های فراساختاری مشاهده شده در مورد سلول‌های ستونک مرکزی کلاهک ریشه گیاهک نخود قابل مقایسه با گزارش‌های پیشین در سایر گونه‌های گیاهی است (Driss-Friedrich and Sievers, 1985؛ Arnaud *et al.*, 2010؛ Ecole *et al.*, 2003).

مثال، می‌توان به وجود هسته‌ای نسبتاً درشت در قطب نزدیک، دیواره‌های سلولی نازک دارای پلاسمودسماتای متعدد و آمیلوپلاست‌های فراوان در قطب دور اشاره کرد. با این وجود، تفاوت مهم، متفاوت بودن محل تراکم شبکه آندوپلاسمی و استاتولیت‌هاست. به بیان دیگر، برخلاف آنچه که برای برخی گونه‌های

گیاهی نظیر تره تیزک (*Lepidium sativum* L.)، ذرت (*Zea Mays*) و آرابیدوپسیس (*Arabidopsis*) گزارش شده است (Morre, 1986; Sievers *et al.*, 2002; Leitz *et al.*, 2009). شبکه آندوپلاسمی در این گیاه در اطراف استاتولیت‌ها تجمع نمی‌یابد و محل گسترش مجزا و تفکیک شده‌ای را نشان می‌دهد (شکل‌های ۱-۳ و ۲). به این صورت نمی‌توان در سلول‌های مورد مطالعه وظیفه ایجاد بستر برای ته‌نشین شدن استاتولیت‌ها را برای شبکه آندوپلاسمی قابل شد. غشاهای شبکه آندوپلاسمی در سلول‌های مورد مطالعه دارای ساختار وزیکولی-توبولی هستند که متفاوت از شکل سیستم ترانزپلانتاز شده برای سلول‌های کلاهک ریشه برخی گیاهان نظیر تره تیزک است (Sievers *et al.*, 2002). این ساختار همسو با گسترش مکانی متفاوت آنها در مقایسه با استاتولیت‌هاست که پیش از این، به آن اشاره شد. بنابراین، می‌توان گفت که شبکه آندوپلاسمی موجود در استاتوسیت‌های کلاهک ریشه نخود به طور هماهنگ با دیکتیوزوم‌های گلژی در عمل ترشح شرکت می‌نماید. تراکم قابل ملاحظه ساختارهای وزیکولی در اطراف غشاهای شبکه آندوپلاسمی، این مطلب را تأیید می‌کند. از طرف دیگر می‌توان گفت که شبکه آندوپلاسمی منشأ دستگاه واکوئلی در سلول‌های مورد مطالعه است. در برخی مطالعات روی منشأ دستگاه واکوئلی در سلول‌های گیاهی، ساختارهای خاصی به نام پیش‌واکوئل (*provacuole*) را منشأ تشکیل واکوئل ذکر کرده‌اند (Marty 1997; Zouhar and Rojo, 2009). در این حالت، بخش‌هایی از سیتوپلاسم به آرامی توسط ساختارهای پیش‌واکوئلی در بر گرفته می‌شوند و پس از اتوفازی، واکوئل مرکزی از اتصال و رشد این ساختارها

شکل می‌گیرد. همچنین، گزارش‌هایی در ارتباط با دخالت ساختارهای مجتمع از دستگاه گلژی، شبکه آندوپلاسمی و لیزوزوم‌ها (GERL)، در پیدایش واکوئل وجود دارد (Marty, 1978; Davies *et al.*, 1992). با این حال، در برخی مطالعات نیز شبکه آندوپلاسمی به عنوان منشأ منحصر به فرد واکوئل در نظر گرفته شده است (Amelunxen and Heinze, 1984; Robinson *et al.*, 1995). بنابراین، به نظر می‌رسد در سلول‌های متفاوت گیاهی (حتی بسته به نوع واکوئل) منشأ واکوئل می‌تواند متفاوت باشد (Paris *et al.*, 1996; Marty, 1999; Zouhar and Rojo, 2009). یافته‌های پژوهش حاضر، به طور کاملاً مشخص پیدایش واکوئل را از شبکه آندوپلاسمی در سلول‌های کلاهک ریشه نخود نشان می‌دهد که می‌تواند به عنوان یکی از مکانیسم‌های مطرح شده در نظر گرفته شود. با این حال، مکانیسم پیدایش واکوئل از شبکه آندوپلاسمی در سلول‌های کلاهک ریشه نخود متفاوت از نحوه پیدایش آن در کلاهک ریشه سایر گیاهان تیره بقولات نظیر باقلای مصری سفید (*Lupinus albus* L.) است. در سلول‌های کلاهک ماش تورم قابل ملاحظه لومن شبکه آندوپلاسمی به تشکیل ساختارهای واکوئلی متعدد و درشت منجر می‌شود که قبل از الحاق به همدیگر تا مدتی ارتباط خود را با شبکه آندوپلاسمی حفظ می‌کنند (Mesquita, 1969). شکل‌گیری واکوئل در ریشه نخود با یکی از مکانیسم‌های پیدایش آن در پوسته دانه عدس همخوانی بیشتری دارد (Amelunxen and Heinze, 1984). در این مکانیسم، غشاهای منشأ گرفته از شبکه آندوپلاسمی به هم متصل می‌شوند و به تدریج سیتوپلاسم را از منطقه عاری از اندامک بیرون می‌رانند.

(Marty, 1997, 1999)، رشد دستگاه واکوئلی را در این سلول‌ها می‌توان به عنوان رسیدن سلول به مراحل نهایی تکوینی در نظر گرفت. به نظر می‌رسد با رشد واکوئل و پیرتر شدن سلول‌ها نسبتاً از تراکم شبکه آندوپلاسمی در قطب تحتانی سلول کاسته می‌شود و فعالیت ترشحی آن علی‌رغم ادامه یافتن تا حدود زیادی تضعیف می‌شود. این سلول‌ها در نهایت، از سطح کلاهک جدا می‌شوند و سلول‌های جوان‌تر و فعال از نظر ترشحی جایگزین آنها می‌شوند (Arnaud *et al.*, 2010).

در این حالت غشاهای شبکه آندوپلاسمی دارای ساختار ظریف‌تر با لومن کمتر گسترش یافته هستند که تا مدت زمان نسبتاً طولانی استقلال ساختاری خود را در اطراف منطقه عاری از اندامک حفظ می‌کنند. از این رو می‌توان گفت که گرچه شبکه آندوپلاسمی منشأ اصلی واکوئل رویشی در سلول‌های گیاهی است، اما مکانیسم‌های متفاوتی در بافت‌های گونه‌های مختلف برای تولید آن وجود دارد.

با توجه به این که واکوئل‌های سلول‌های گیاهی اندامک‌هایی با عملکردهای متعدد هستند و در سلول‌های بالغ و پیر گسترش بیشتری نشان می‌دهند

منابع

- Amelunxen, F. and Heinze, U. (1984) On the development of the vacuole in the testa cells of *Linum* seeds. *European Journal of Cell Biology* 35: 343-354.
- Arnaud, C., Bonnot, C., Desnos, T. and Nussaume, L. (2010) The root cap at the forefront. *Comptes Rendus Biologies* 333: 335-343.
- Barlow, P. W. (2003) The root cap: cell dynamics, cell differentiation and cap Function. *Journal of Plant Growth Regulation* 21: 261-286.
- Blancaflor, E. B. and Masson, P. H. (2003) Plant gravitropism. unraveling the ups and downs of a complex process. *Plant Physiology* 133: 1677-1690.
- Davies, K. L., Davies, M. S. and Francis, D. (1992) Vacuolar development in the root meristem of *Festuca rubra* L. *New Phytologist* 121: 581-585.
- Driss-Ecole, D., Lefranc, A. and Perbal, G. (2003) A polarized cell: the root statocyte. *Physiologia Plantarum* 118: 305-312.
- Friedrich, U. and Sievers, A. (1985) Ontogeny of cell polarity in root statocytes of *Lepidium sativum* L. in developing embryo and during germination. *European Journal of Cell Biology* 36: 18-24.
- Hayatsu, M., Ono, M., Hamamoto, C. and Suzuki, S. (2012) Cytochemical and electron probe X-ray microanalysis studies on the distribution change of intracellular calcium in columella cells of soybean roots under simulated microgravity. *Journal of Electron Microscopy* 61: 57-69.
- Iijima, M., Higuchi, T. and Barlow, P. W. (2004) Contribution of root cap mucilage and presence of an intact root cap in maize (*Zea mays*) to the reduction of soil mechanical impedance. *Annals of Botany* 94: 473-477.
- Iijima, M., Morita, S. and Barlow, P. W. (2008) Structure and function of the root cap. *Plant Production Science* 11: 17-27.
- Kordyum, E. L., Martin, G. I., Zaslavsky, V. A., Jiao, S., Hilaire, E. and Guikema, J. A. (1999) DNA content and differentiation of root apical cells of *Brassica rapa* plants grown in microgravity. *Journal of Gravitational Physiology* 6: 119-120.
- Leitz, G., Kang, B. H., Schoenwaelder, M. E. and Staehelin, L. A. (2009) Statolith sedimentation kinetics and force

- transduction to the cortical endoplasmic reticulum in gravity-sensing *Arabidopsis* columella cells. *Plant Cell* 21: 843-860.
- Marty, F. (1978) Cytochemical studies on GERL, provacuoles, and vacuoles in root meristematic cells of *Euphorbia*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 75: 852-856.
- Marty, F. (1997) The biogenesis of vacuoles: insights from microscopy. In: *Advances in botanical research: the plant vacuole* (eds. Leigh, R. A. and Sanders, D.) 1-42. Academic Press, London.
- Marty, F. (1999) Plant vacuoles. *Plant Cell* 11: 587-600.
- Mesquita, J. F. (1969) Electron microscope study of the origin and development of the vacuoles in root-tip cells of *Lupinus albus*. *Journal of Ultrastructure Research* 26: 242-250.
- Morre, R. (1986) A morphometric analysis of the redistribution of organelles in collumella cells of horizontally oriented roots of *Zea mays*. *Annals of Botany* 57: 119-131.
- Moore, R. and McClelen, C. E. (1985) Changes in the distribution of plastids and endoplasmic reticulum during cellular differentiation in root caps of *Zea mays*. *Annals of Botany* 56: 73-81.
- Nakamura, M., Toyota, M., Tasaka, M. and Morita, M. T. (2011) An *Arabidopsis* E3 ligase, SHOOT GRAVITROPISM9, modulates the interaction between statoliths and F-actin in gravity sensing. *Plant Cell* 23: 1830-1848.
- Palmieri, M. and Kiss, J. Z. (2005) Disruption of the F-actin cytoskeleton limits statolith movement in *Arabidopsis* hypocotyls. *Journal of Experimental Botany* 56: 2539-2550.
- Paris, N., Stanley, C. M., Jones, R. L. and Rogers, J. C. (1996) Plant cells contain two functionally distinct vacuolar compartments. *Cell* 85: 563-572.
- Pimpl, P., Movafeghi, A., Caughlan, S., Denecke, J., Hillmer, S. and Robinson, D. G. (2000) *In situ* localization and *in vitro* induction of plant COPI-coated vesicles. *Plant Cell* 12: 2219-2236.
- Robinson, D. G., Hoh, B., Hinz, G. and Jeong, B. K. (1995) One vacuole or two vacuole: do protein storage vacuoles arise *de novo* during pea cotyledon development? *Journal of Plant Physiology* 145: 654-664.
- Rost, T. L. (2011) The organization of roots of dicotyledonous plants and the positions of control points. *Annals of Botany* 107: 1213-1222.
- Sievers, A., Braun, M. and Monshausen, G. B. (2002) The root cap: structure and function. In: *Plant roots: the hidden half* (eds. Waisel, Y., Eshel, A., and Kafkafi U.) 51-75. Marcel Dekker Inc, New York.
- Stanga, J., Strohm, A. and Masson, P. H. (2011) Studying starch content and sedimentation of amyloplast statoliths in *Arabidopsis* roots. *Methods in Molecular Biology* 774: 103-111.
- Yoder, T. L., Zheng, H. Q., Todd, P. and Staehelin, L. A. (2001) Amyloplast sedimentation dynamics in maize columella cells support a new model for the gravity-sensing apparatus of roots. *Plant Physiology* 125: 1045-1060.
- Zouhar, J. and Rojo, E. (2009) Plant vacuoles: where did they come from and where are they heading? *Current Opinion in Plant Biology* 12: 677-684.

The ontogenic study of the ultrastructure in root cap cells of pea plant (*Pisum sativum* L.)

Ali Movafeghi *

Department of Plant Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Abstract

Root cap cells of plant species undergo different developmental changes. In the present study, the ontogeny of the root cap cells of *Pisum sativum* L. was studied. The root tips of 3-day-old seedlings were immersed in primary fixative containing 1.5% (w/v) paraformaldehyde and 2% (v/v) glutaraldehyde in 100 mM phosphate buffer prior to being transferred to a secondary fixative containing 1% (w/v) osmium tetroxide. The fixed materials were embedded in London white resin and 60 nm thick sections were studied using a transmission electron microscope (TEM). The cells of columella were evident under the meristem zone by showing characteristics typical of statocytes. In these cells, a large nucleus occupied a position at the proximal cell pole, whereas the plentiful amyloplasts and endoplasmic reticulum were placed at the distal cell pole. The cells differentiated to the secretory cells as they were shifted to the peripheral side of the root cap. The cells became larger and their nucleoplasmic ratio was reduced. Concurrently, the quantity of membranes of vesicular-tubular endoplasmic reticulum and Golgi dictyosomes increased. Consequently, all of the organelles were moved to the peripheral sides of the cytoplasm and an organelle-free zone in the upper side of the cells was formed. In the next step, a number of endoplasmic reticulum membranes surrounded the organelle-free zone in order to form the central vacuole. Therefore, endoplasmic reticulum could be considered as the origin of vacuole in the root cap cells of *Pisum sativum*. The growth of vacuole was the last ontogenetic stage in the cells, which finally sloughed off from the root cap.

Key words: Statocytes, Endoplasmic reticulum, Root cap, Ontogeny, Vacuole

* Corresponding Author: movafeghi@tabrizu.ac.ir