ارزیابی ناهنجاری های ناشی از توکسیسیته سلولی فلز سنگین مس بر روی جنین توتیای دریایی (Echinometra mathaei) منطقه بندر عباس

الهام محمدی[۱]، ناصر مهدوی شهری[۲]، محمد صدیق مرتضوی[۳]، فرشته قاسم زاده[۲]، لیلی محبی نوذر[۴]، عیسی عبدلعلیان[۵]، وحیده قرآنی[۱]، الهه صدری پور[۱] و مژگان سلطانی[۱]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش اکولوژی مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۵- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش آبزی پروری مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

فلزات سنگین در مقادیرکم از جمله اجزای سازنده نرمال بدن موجودات دریایی هستند و بعضی از آن ها به طور قطعی برای رشد و تکامل نرمال لازم می باشند. به دنبال توسعه صنعتی مقادیر اضافی از این فلزات از طریق مواد زائد صنعتی و فاضلاب ها به سیکل زیستی وارد می شوند و از آنجایی که این فلزات بطور بالقوه سمی هستند ممکن است در اکولوژی یک محیط ویژه اختلال ایجاد کنند. از میان این فلزات مس یک عنصر ضروری برای حیات کلیه جانداران می باشد ، اما مقادیر بالای آن باعث ایجاد مشکلاتی در سلامت آن ها می شود. بنابراین با توجه به اثرات سمی این فلز در مقادیر بالای موجود در برخی نواحی آب دریا و به منظور تشخیص اثرات سمی آن، در این بررسی از جنین توتیای دریایی که در مراحل اولیه رشد و نمو خود بسیار حساس به عوامل تراتوژن می باشد بعنوان یک اندیکاتور محیطی استفاده می شود.

در این پژوهش پس از جمع آوری توتیاهای بالغ ، تخم ریزی بوسیله تزریق ۱ میلی لیترکلرید پتاسیم ۰/۵ مولار به حفره سلومی جانورالقا می گردد. در ادامه ۱ میلی لیترمحلول حاوی اسپرم به ظروف محتوی تخمک اضافه می گردد تا لقاح به صورت آزمایشگاهی انجام شود. محلول فلزی تست با افزودن $CuCl_2(2H_2O)$ در آب دریای فیلتر شده در غلظت های ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و۲۵۶ و با ۵ تکرار آماده سازی می شود و برای نمونه های کنترل از آب دریای فیلتر شده استفاده می شود. تست های سمیت در ظروف حاوی محلول تست و تقریباً ۴۰۰ تخم انجام می شود و بعد از ۴۸ ساعت نمونه ها با افزودن فرمالدهید ۴٪ فیکسه می شوند.

نتایج حاصل از مطالعات مورفولوژی سلولها نشان می دهدکه افزایش غلظت مس اثر سمی داشته و باعث ایجاد ناهنجاری هایی در مراحل سلولی این جاندار می شود از جمله: توقف در مراحل اولیه جنینی، ایجاد بدشکلی درجنین ها، آپوپتوزیس، ایجاد لاروهای ناهنجار و غیره.

کلمات کلیدی: توتیای دریایی، توکسیسیته سلولی، مس، فلزات سنگین، جنین زایی، سیر تکوین، مورفولوژی

ارزیابی توکسیسیته سلولی ناشی از فلز سنگین کادمیوم بر سیر تکوین جنینی توتیای دریایی (Echinometra mathaei) خلیج فارس(منطقه بندر بستانه)

مژگان سلطانی [۱]، ناصر مهدوی شهری[۲]، محمدرضا طاهری زاده[۳] ، فرشته قاسم زاده[۲]، محمد صدیق مرتضوی [۴]، مسعود غریب نیا[۵]، الهه صدری پور [۱]، وحیده قرآنی [۱] و الهام محمدی[۱]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار بخش اکولوژی مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۴- استادیار مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۵- دانش آموخته کارشناسی بخش آبزی پروری مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

آلودگی آب ها توسط آلوده کننده های صنعتی قادر است توان تولید مثلی را در ارگانیسم های بالغ از طریق کاهش در کیفیت گامت ها تضعیف نماید، همچنین می تواند در طی مراحل تکوین جنینی سبب ایجاد ناهنجاری هایی گردد. از مهمترین آلوده کننده های صنعتی فلزات سنگین هستند که در بین آن ها کادمیوم یک آلوده کننده با قدرت سمیت بسیار بالا می باشد و تست سمیت آن در بسیاری از ارگانیسم ها آشکار کرده است که کادمیوم می تواند به عنوان یک موتاژن یا تراتوژن عمل کند. در این بررسی از جنین توتیای دریایی به عنوان یک بیواندیکاتور برای مطالعه تاثیر سمیت غلظت های مختلف کادمیوم بر روی مراحل سلولی اولیه و جنینی این ارگانیسم استفاده می شود .

برای دستیابی به این هدف ابتدا ۱ میلی لیتر کلرید پتاسیم ۰/۵ مولار به منظور القا تخم ریزی به حفره سلومی جانور تزریق می گردد و پس از جمع آوری گامت ها، محلول حاوی اسپرم به بشر های محتوی تخمک اضافه می شود تا لقاح ازمایشگاهی صورت گیرد. محلول فلزی تست با افزودن $CdCl_2\ H_2O$ در آب دریای فیلتر شده در غلظت های ۲۰۰۰ ، ۴۰۰۰ ، ۸۰۰۰ ، ۱۶۰۰۰ و ۳۲۰۰۰ میکروگرم در لیتر و با ۵ تکرار آماده شده و برای نمونه های کنترل از آب دریای فیلتر شده استفاده می شود. تست های سمیت با افزودن تقریباً ۴۰۰ تخم به ویال های تست و کنترل انجام می گردد و نمونه ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۹ درجه انکوبه شده و پس از ان با افزودن فرمالدهید ۴% فیکسه می شوند، سپس نمونه ها برای انجام مطالعات میکروسکوپ نوری آماده سازی می گردند. نتایج حاصل از مطالعات مورفولوژی سلولی نشان می دهد که فلز کادمیوم در غلظت های پایین سبب ایجاد لارو های ناهنجار (ناهنجاری در تعداد بازو و شکل کلی جنینی) و در غلظت های بالاسبب اپوپتوزیس و توقف در مراحل سلولی اولیه می گردد.

واژه های کلیدی: توتیای دریایی (*Echinometra mathaei*)، توکسیسیته سلولی، سیر تکوین، *کادمیوم*، فلزات سنگین، بیو اندیکاتور

بررسی سیر تکوین توتیای دریایی (Echinometra mathaei) به منظور تست سمیت فلز سنگین مس موجود در آبهای خلیج فارس (منطقه بندر عباس) بر اساس تکنیک های سیتوشیمیایی

الهام محمدی[۱]، ناصر مهدوی شهری[۲]، محمد صدیق مرتضوی[۳]، فرشته قاسم زاده[۲]، لیلی محبی نوذر[۴]، عیسی عبدلعلیان[۵]، وحیده قرآنی[۱]، الهه صدری پور[۱] و مژگان سلطانی[۱]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش اکولوژی مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۵- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش آبزی پروری مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

با استفاده از روش شیمی سلولی (سیتوشیمی) می توان موقعیت اجزاء شیمیایی ویژه را در سلول ها تعیین کرد. در این روش معرف به گونه ای طراحی شده است که در نتیجه انجام فعالیت آنزیمی، کنش و واکنش های شیمیایی مربوط به اجزاء مورد نظر یک رسوب نامحلول فلزی یا رنگی در محل واکنش ایجاد می گردد.

در این تحقیق با استفاده از تکنیک سیتوشیمی اثر سمیت افزایش غلظت فلز مس بر سیر تکوین توتیای دریایی به عنوان یک اندیکاتور محیطی مورد بررسی قرار گرفت.

در این طرح پس از جمع آوری توتیاهای بالغ، تخم ریزی بوسیله تزریق ۱ میلی لیتر کلریدپتاسیم ۰/۵ مولار به حفره سلومی جانورالقا می گردد. در ادامه ۲ میلی لیتر محلول حاوی اسپرم به ظروف محتوی تخمک اضافه می گردد تا لقاح صورت گیرد. محلول فلزی تست با افزودن $CuCl_2(2H_2O)$ در آب دریای فیلتر شده در ۵ غلظت و ۵ تکرار آماده سازی می شود و برای نمونه های کنترل از آب دریای فیلتر شده استفاده می شود. تست های سمیت در ظروف حاوی محلول تست و تقریباً ۳۰۰ تخم انجام می شود و بعد از ۴۸ ساعت نمونه ها با افزودن فرمالدهید ۴٪ فیکسه می شوند. به منظور آشکارسازی فلز مس ابتدا نمونه ها را به مدت یک تا چند ساعت در محلول هماتوکسیلین قرار داده و سپس به مدت یک ساعت با آب جاری شستشو انجام می شود و در ادامه مراحل آبگیری با الکل انجام شده و نمونه ها جهت مطالعات میکروسکوپی بر روی لام مونتاژ می شوند.

نتایج نشان می دهد که افزایش غلظت مس باعث ایجاد ناهنجاری هایی در سیر تکوین این جاندار می شود، همچنین بررسی های سیتوشیمیایی تفاوت شدت رنگ را در گروه تست نسبت به گروه کنترل نشان می دهد که احتمالاً به حضور عنصر فلزی مس در نمونه تست مربوط می باشد.

کلمات کلیدی : توتیای دریایی، سیتوشیمی، مس، فلزات سنگین، سیر تکوین، تست سمیت

بررسی میزان سمیت سلولی فلز سنگین سرب بر سیر تکوین جنینی و رشد لاروی اولیه توتیای دریایی (Echinometra mathaei) سواحل خلیج فارس (منطقه بندر بستانه)

وحیده قرآنی[۱]، ناصر مهدوی شهری[۲] ، محمد صدیق مرتضوی[۳] ، فرشته قاسم زاده[۲] ، عیسی کمالی[۴] ، کورس رادخواه[۵]، الهام محمدی[۱] ، مژگان سلطانی[۱] و الهه صدری پور[۱]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش ارزیابی ذخایر مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۵- دانش آموخته دامپزشکی بخش بیماری های مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

یون های فلزی اغلب در عملکرد آنزیم هایی نقش دارند که کنترل کننده واکنش های شیمیایی موثر در حیات جانداران می باشند. افزایش غلظت این یون های فلزی به ویژه فلزات سنگین در آب دریا منجر به تجمع زیستی آن ها در بدن موجودات زنده شده و می تواند اثرات کشندگی داشته باشند. در میان فلزات سنگین سرب یکی از عناصری است که حتی در غلظت های کم دارای اثرات قابل توجهی روی تکامل موجودات زنده می باشد. در این مطالعه اثرات سمی افزایش فلز سرب در آب دریا بر روی مراحل سلولی و رشد لاروی اولیه جنین توتیای دریایی (*Echinometra mathaei*) به عنوان یک اندیکاتور محیطی مورد بررسی قرار گرفت.

در این تحقیق گامت های نر و ماده از طریق تزریق ۱ میلی لیتر کلرید پتاسیم ۰/۵ مولار به حفره سلومی جانور به دست آورده شدند و سپس با افزودن محلول حاوی اسپرم به بشرهای محتوی تخمک لقاح صورت گرفت. در گروه تست محلول های فلزی با حل کردن $pb(NO_3)_2$ درآب دریای فیلتر شده با غلظت های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم در لیتر و با ۵ تکرار در هر غلظت آماده سازی شد. در گروه شاهد آب دریای فیلتر شده مورد استفاده قرار گرفت. ۴۰۰ تخم به هر یک از ویال های محتوی محلول تست و کنترل اضافه گردید و در ادامه ویال های محتوی تخم های لقاح یافته در دمای ۲۹ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. بعد از سپری شدن دوره انکوباسیون نمونه ها با فرمالین ۴٪ فیکس شدند و در پایان، درصد لارو پلوتئوس چهار بازویی تکامل یافته در هر ویال ثبت شد. به منظور تعیین میزان سمیت سلولی غلظت های متفاوت سرب بر روی مراحل سلولی اولیه و لارو پلوتئوس، نمونه ها تحت مطالعات میکروسکوپی قرارگرفتند.

نتایج مطالعات توکسیسیته سلولی نشان داد که افزایش غلظت فلز سرب، سیر تکوین جنینی را در مراحل سلولی اولیه متوقف کرده و منجر به ایجاد ناهنجاری هایی در رشد لاروی اولیه می شود.

کمات کلیدی: توتیای دریایی ، سمیت سلولی، سرب ، فلزات سنگین ، رشد لارو، سیر تکوین جنینی، تست سمیت

بهره گیری از تکنیک سیتومورفولوژی به منظور مطالعه سیر تکوین جنین توتیای دریایی (Echinometra mathaei)

الهه صدری پور[۱]، ناصر مهدوی شهری[۲]، محمد صدیق مرتضوی[۳]، فرشته قاسم زاده[۲]، فرشته سراجی[۴]، حجت الله فروغی فرد[۵]، مژگان سلطانی[۱]، الهام محمدی[۱] و وحیده قرآنی[۱]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش ارزیابی ذخایر مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۵- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش آبزی پروری مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

یکی از متداولترین روش ها برای مطالعه سلول ها و بافت ها تهیه گسترش و رنگ آمیزی نمونه ها است طوریکه بتوان آن ها را با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار داد. این تکنیک در مطالعات سلول شناسی و آسیب شناسی بسیار کاربردی و حائز اهمیت است. غالب رنگ های مورد استفاده در این مطالعات همچون اسید ها و باز ها عمل می کنند و تمایل به ایجاد اتصال الکتروستاتیک با ریشه های قابل تبدیل به یون موجود درسلول ها و بافت ها دارند. توتیای دریایی جانوری از شاخه خارپوستان است. بعضی از اعضای این شاخه از نظر اقتصادی بسیارحائز اهمیت هستند و برخی دیگر در دوره جنینی نسبت به عوامل سمی بسیار حساسند طوریکه از آن ها به عنوان یک مدل اندیکاتور جهت بررسی اثر سمیت مواد مختلف استفاده می شود. توتیای دریایی در سیر تکوین جنینی چندین مرحله را طی می کند که عبارتند از مراحل تسهیم، مرولا، بلاستولا، گاسترولا، پیش لاروی و لارو پلوتئوس.

به منظور بررسی و مشاهده مراحل مختلف سیر تکوین جنینی در ابتدا توتیاهای بالغ جمع آوری شده به آزمایشگاه منتقل شدند و گامت های نر و ماده از طریق تزریق ۱میلی لیتر کلرید پتاسیم ۰/۵ مولار به حفره سلومی جانور به دست آورده شد و سپس با افزودن محلول حاوی اسپرم به محلول تخمک لقاح صورت گرفت. بعد از گذشت زمان لازم برای طی هر یک از مراحل مقداری از جنین ها در هر مرحله برداشته شده با فرمالین ۴٪ فیکسه می شود. در مرحله بعد از هر یک از نمونه های فیکسه شده مربوط به مراحل مختلف جنینی یک قطره بر روی لام های ژلاتینه آماده شده قرار داده، به مدت ۱۰ دقیقه در هوای آزاد قرار می دهیم تا سطح لام خشک شود. سپس به منظور حذف کریستال های نمک، لام ها در آب مقطر شستشو داده می شوند. به منظور رنگ آمیزی نمونه های مونتاژ شده بر روی لام ها از روش رنگ آمیزی گیمسا ۲٪ به مدت ۳ دقیقه و پیکروفوشن (۱ گرم پودر پیکروفوشین در ۱۰۰ میلی لیتر اسید پیکریک) به مدت ۱۰ ثانیه استفاده می کنیم.

با استفاده از لام های رنگ آمیزی شده بررسی و مطالعه مورفولوژی مراحل مختلف جنینی توتیای دریایی به خوبی امکان پذیر است. در جمع بندی کلی تکنیک فوق به منظور تهیه نمونه های دائمی برای استفاده های آموزشی در آزمایشگاه های زیست تکوینی بسیار حائز اهمیت است. از این تکنیک بیشتر برای تهیه گسترش از سلول های خونی استفاده می شد که در این تحقیق برای مطالعه سیر تکوین جنینی استفاده شد.

کلمات کلیدی: میکروسکوپ نوری، تهیه گسترش، توتیای دریایی، گیمسا، پیکروفوشین

کاربرد تکنیک مورفومتریک به منظور مطالعه شکل واندازه میکروسکوپی مراحل سلولی و لاروی جنین توتیای دریایی (Echinometra mathaei) سواحل خلیج فارس (منطقه بستانه)

وحیده قرآنی[۱]، ناصر مهدوی شهری[۲] ، محمد صدیق مرتضوی[۳] ، فرشته قاسم زاده[۲] ، عیسی کمالی[۴] ، کورس رادخواه[۵]، الهام محمدی[۱] ، مژگان سلطانی[۱] و الهه صدری پور[۱]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش ارزیابی ذخایر مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۵- دانش آموخته دامپزشکی بخش بیماری های مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

تکنیک مورفومتریک عبارت از مطالعه تغییرات ایجاد شده در شکل و اندازه ارگانیسم ها می باشد. روش های مختلفی برای استخراج داده ها از شکل وجود دارد که از آن جمله می توان به اندازه گیری طول نمونه ها اشاره نمود. روش مورفومتریک بطور عمومی در مقایسه با مطالعات میکروسکوپی مستقیم از دقت بیشتری برخوردار بوده و امکان بررسی های آماری سهل تری را فراهم می کند. این روش در مواردی که نمونه ها غیرطبیعی به نظر می رسند ولی درجه بندی آنها توسط دید دوچشمی مشکل باشد کاربرد بسیاری دارد.

در این تحقیق با توجه به کوچک بودن اندازه مراحل سلولی و لاروی جنین توتیای دریایی (*Echinometra mathaei*) ، مطالعات مورفومتریک به روش میکروسکوپی انجام می پذیرد ، لذا هدف از انجام این پژوهش کاربرد تکنیک مورفومتریک در مطالعات مربوط به اندازه گیری مراحل سلولی و لاروی جنین میکروسکوپی توتیای دریایی می باشد.

بدین منظور، ابتدا گامت های نر و ماده از طریق تزریق کلرید پتاسیم ۰/۵ مولار به حفره سلومی جانور به دست آورده شده و پس از انجام لقاح، جنین ها در شرایط دمایی مناسب جهت سپری کردن مراحل تکوینی نرمال انکوبه می شوند. با گذشت زمان لازم، نمونه ها در هر یک از مراحل تکوینی با فرمالدئید ۴٪ فیکس شده و سپس از هر مرحله تعدادی نمونه به صورت تصادفی انتخاب و بر روی لام مونتاژمی گردد. در مرحله بعد از نمونه های مونتاژ شده توسط یک دوربین دیجیتال تعبیه شده بر روی میکروسکوپ نوری معمولی فتوگراف تهیه کرده و سپس اندازه نمونه ها از طریق یک برنامه اندازه گیری تصویر، سنجش می شود و یا در روشی دیگر اندازه نمونه های مونتاژ شده به صورت مستقیم تحت یک میکروسکوپ نوری مجهز به میکرومتر چشمی اندازه گیری می گردد.

نتایج بررسی میکروسکوپی جنین ها از نظر کیفی وکمی نشان می دهد که شکل و اندازه جنین ها طی مراحل تکوینی در نتیجه رشد بدن و ایجاد بازوها تغییر می یابد. به این ترتیب با کاربرد تکنیک مورفومتریک توضیح شکل یک نمونه در ساده ترین روش ممکن انجام می پذیرد و در نتیجه انجام مقایسات کمی بین اشکال مختلف به سهولت امکان پذیر می گردد، همچنین با این روش می توان به سادگی و با دقت نسبت بخش های مختلف در یک نمونه را محاسبه نمود. بنابراین در جمع بندی کلی می توان نتیجه گرفت که علاوه بر کاربرد تکنیک مورفومتریک در زمینه های مختلف بیولوژی، می توان از آن در مطالعات سیتولوژی و همچنین مطالعات مربوط به سیر تکوین جانورانی با جنین های میکروسکوپی بهره گرفت.

کلمات کلیدی : مطالعات مورفومتریک، توتیای دریایی، اندازه میکروسکوپی، سیر تکوین جنینی

کاربرد میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ به منظور مطالعات سیر تکوین جنین توتیای دریایی(Echinometra mathaei) سواحل خلیج فارس (منطقه بستانه)

مژگان سلطانی [۱]، ناصر مهدوی شهری[۲]، محمدرضا طاهری زاده[۳] ، فرشته قاسم زاده[۲]، محمد صدیق مرتضوی [۴]، مسعود غریب نیا[۵]، الهه صدری پور [۱]، وحیده قرآنی [۱] و الهام محمدی[۱]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار بخش اکولوژی مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۴- استادیار مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۵- دانش آموخته کارشناسی بخش آبزی پروری مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

میکروسکوپ اسکنینگ از سال ۱۹۶۵ مورد استفاده قرار گرفت و به علت اینکه امکان بررسی تقریبا سه بعدی سطح سلول ها، بافت ها و اندام ها رافراهم می آورد حائز اهمیت است در این میکروسکوپ یک اشعه بسیار باریک حدود ده نانومتر به سطح نمونه برخورد کرده و با اتم های ماده وارد واکنش می شود و باعث تفرق الکترون ها، ایجاد اشعه X و الکترون های ثانویه می گردد. نقاط برجسته و فرو رفته به ترتیب الکترون های ثانویه پر انرژی و کم انرژی ایجاد می کنندکه از این الکترون ها برای نقشه برداری سطح شی استفاده می شود.

در این تحقیق هدف مطالعه مورفولوژی ساختارهای سطح جنین توتیای دریایی *Echinometra mathaei* در مراحل مختلف سیر تکوین از جمله تسهیم، مورولا، بلاستولا، گاسترولا، مرحله پیش لاروی و لاروی می باشد.

برای دستیابی به این هدف ابتدا گامت ریزی با تزریق کلرید پتاسیم ۰/۵ مولار القا می گردد. بعد از لقاح گامت ها، درطی مدت زمان لازم مراحل تکوینی سپری می گردد. در ادامه جنین ها در مراحل مختلف با استفاده از گلوترآلدئید ۲/۵٪ فیکس شده سپس قطعاتی از لام را تهیه می کنیم که قابل نصب بر روی stub باشد. یک قطره از جنین های فیکس شده را برروی لام قرار می دهیم و نمونه را برای مدت ده دقیقه در هوای آزاد گذاشته تا خشک گردد. سپس نمونه ها را با آب مقطر شستشو داده تا کریستال های نمک حذف گردد. در نهایت نمونه را برروی stub قرار داده و با پوشش طلا به مدت ۶۰ ثانیه در ۵ میلی ولت پوشش دهی می کنیم و تحت مطالعات میکروسکپی قرار می دهیم.

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که مطالعات میکروسکوپی تمامی مراحل سیر تکوین در جنین توتیای دریایی گونه غالب بندر عباس با مطالعات میکروسکوپی گونه های دیگر از جنین این جانور قابل مقایسه است. در روش بکار گرفته شده در این مطالعه که برای اولین بار در آماده سازی نمونه ها برای میکروسکوپ اسکنینگ مورد استفاده قرار گرفت در مقایسه با روش متداول نیاز به استفاده از اتانول و فیکساتور ثانویه نداشته، همچنین کم هزینه تر، درمدت زمان کوتاه تر و با استفاده از مواد و امکانات کمتری انجام می پذیرد. از آنجایی که ساختارهای لاروی به علت دارا بودن اسکلت و اسپیکول های بسیار حساس و شکننده در مراحل آبگیری با اتانول دچار تخریب می گردند لذا می توان از روش ذکرشده در بالا برای آماده سازی نمونه های لاروی استفاده کرد.

کلمات کلیدی : میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ، جنین توتیای دریایی، سیر تکوین، آماده سازی

مطالعه ناهنجاری های ایجاد شده بر روی سلول های جنین توتیای دریایی (Echinometra mathaei) ناشی از سمیت فلز سنگین جیوه

الهه صدری پور[۱]، ناصر مهدوی شهری[۲]، محمد صدیق مرتضوی[۳]، فرشته قاسم زاده[۲]، فرشته سراجی[۴]، حجت الله فروغی فرد[۵]، مژگان سلطانی[۱]، الهام محمدی[۱] و وحیده قرآنی[۱]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش ارزیابی ذخایر مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

۵- دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش آبزی پروری مرکز تحقیقات پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

تراتولوژی یکی از شاخه های جنین شناسایی است که عبارت است از مطالعه رشد و تکامل غیر طبیعی جنین . در تست تراتولوژی ماده شیمیایی مورد آزمایش را از مراحل ابتدایی جنینی در مجاورت جنین قرار می دهند و سپس تغییرات و ناهنجاری های ایجاد شده را مورد بررسی قرار می دهند. جیوه یکی از فلزات سنگین است که در آلاینده های آب دریا وجود دارد.

در این تحقیق به منظور بررسی اثرات تراتولوژیک فلز جیوه از جنین توتیای دریایی استفاده می شود. توتیای دریایی از گروه خارپوستان است و از آنجائی که مراحل سلولی و جنینی این جانور به عوامل تراتوژن بسیار حساس است از آن به عنوان یک مدل اندیکاتور مناسب استفاده می شود. به این منظور توتیاهای بالغ جمع آوری شده و برای القاء گامت ریزی ۱ میلی لیترمحلول کلرید پتاسیم ۰/۵ مولار به حفره سلومیک جانور تزریق گردید. سپس با افزودن محلول حاوی اسپرم به محلول حاوی تخمک لقاح صورت گرفت . پنج غلظت از فلز جیوه ، در محدوده ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ و ۶۴ میکروگرم در لیتر با حل کردن $Hg(NO_3)_2$ در آب دریای فیلتر شده آماده شد. آزمایش با پنج تکرار، برای هر غلظت انجام شد و از آب دریای فیلتر شده به عنوان کنترل استفاده شد. سپس حدود ۴۰۰ جنین به ظروف تست و کنترل افزوده شد. پس از ۴۸ ساعت به منظور پایان تکوین جنینی و حفاظت از نمونه ها از فرمالین ۴٪ به عنوان فیکساتور استفاده گردید. از نمونه های تست و کنترل، لام های دائمی تهیه شد و مورد ارزیابی های کیفی و کمی قرار گرفت.

مطالعه اثر سمیت این فلز بر روی سلول های جنینی توتیای دریایی نشان داد که فلز جیوه در غلظت های بالا سیر تکوین جنینی را در مراحل سلولی اولیه متوقف کرده و در غلظت های پایین تر باعث ناهنجاری هایی در لارو های ایجاد شده می شود.

کلمات کلیدی : توتیای دریایی، *Echinometra mathaei* ، *توکسیسیته سلولی*، جیوه، تراتولوژی، فلزات سنگین، سیر تکوین جنینی