فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب 1

فهرست شکل ها... 6

فهرست جدول ها..... 8

فصل اول..... 9

1- مقدمه..... 10

1-1- معرفی کرم های خاکی..... 10

1-1-1- رده بندی کرم های خاکی..... 11

1-1-2- ویژگیهای عمومی کرم های خاکی 12

1-1-2-1- ویژگی های ظاهری کرم خاکی 12

1-1-2-2- دستگاه گوارش در کرم های خاکی..... 13

1-1-2-3- دستگاه تولیدمثل در کرم های خاکی..... 15

1-1-2-4- حفرهی عمومی (سلوم) کرم های خاکی..... 17

1-2- سلوموسیتها 18

1-3- نقش کرم های خاکی در پزشکی 20

1-4- نانو 20

1-4-1- تاریخچه ی فناوری نانو 20

1-4-2- قلمرو فناوری نانو 21

1-4-3- منابع تولید نانوذرات 21

1-4-4- خواص مواد در مقیاس نانو..... 21

1-4- 5- فناوری نانو و محیط زیست..... 22

1-4-6- کاربرد نانو ذرات..... 23

1-4-6-1- کاربرد نانو ذرات در کشاورزی..... 23

1-4-6-2- کاربرد نانوذرات در پزشکی و بهداشت عمومی..... 23

1-5- نانوذرات دی اکسید تیتانیوم 26
1-5- 1- روش های صنعتی تولید نانو دی اکسید تیتانیوم..... 27
1- 5-2- کاربرد های نانوذرات دی اکسید تیتانیوم 28
1-5-2-1- نانوپوشش دهی پارچه های پنبه ای با دی کسیدتیتانیوم..... 28
1-5-2-2- دی اکسید تیتانیوم به عنوان یک فتوکاتالیست در تصفیه آب و فاضلاب های شهری وصنعتی..... 28
1-5-2-3- کاربرد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در صنعت..... 29
1-5-2-4- کاربرد نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم در درمان سرطان..... 29
1-6-1- پراکسیداسیون لیپید های غشایی سلول ها و اندامک های درون غشایی..... 33
1-6-2- عوامل محرک پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی..... 37
1-6-2-1 ROS 37
1-6-2-2- آب اکسیژنه..... 37
1-6-3- مکانیسم های دفاعی در مقابله با پراکسیداسیون لیپید های غشایی 37
1-6-3-1- مکانیسم های دفاعی آنزیمی 38
1-6-3-2- مکانیسم های دفاعی غیر آنزیمی..... 38
1- 8- ظرفیت آنتی اکسیدانی تام(TAC)..... 41
فصل دوم 42
2- مواد و روش ها..... 43
2-1- تهیه و آماده سازی کرم های خاکی مورد مطالعه..... 43
2-2- تهیه و آماده سازی خاک مصنوعی و محیط آزمایش 44
2-3- تهیه و آماده سازی مواد غذایی 44
2-4- نانوذرات مورد استفاده..... 45
2-5- نحوه ی تعیین LD_{50} 46
2-5-1- شرح آزمایش..... 46
2-6- آزمایش تیمار کرم ها..... 47
2-7- مراحل مربوط به آماده سازی و تهیه ی عصاره ی بافتی و مایع سلومی از کرم های خاکی قرمز..... 48

2-7-1- ترکیب مایع ضد انعقاد مایع سلومی (ARS)..... 50
2-7-2- تهیه ی هوموژنیت از کرم های خاکی مورد آزمایش..... 50
2- 8- مراحل انجام آزمایش سنجش MDA (اندازه گیری پراکسیداسیون لیپید های غشایی)..... 52
2- 8-1- نحوه ی تهیه محلول یک درصد TBA (درسود 0/05 نرمال)..... 53
2- 8-2- نحوه ی تهیه محلول 10درصد TCA..... 53
2-9 - مراحل انجام آزمایش سنجش فعالیت کاتالاز.(EC.۱.۱۱.۱.٦)..... 53
2- 10- مراحل انجام آزمایش میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPx,EC.۱.۱۱.۱.۱۲)..... 54
2-10- 1- تهیه بافر فسفات پتاسیم(۵۰mM,pH۷.٤) 55
2-11- مراحل انجام آزمایش سنجش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD,EC.۱.۱۵.۱.۱)..... 55
2-12- روش اندازه گیری میزان پروتئین های موجود در هوموژنیت های کرم های خاکی قرمز..... 56
2-12-1- محلول های مورد استفاده..... 57
2-13- آزمایش گریز از محل..... 58
2-14- آزمایش تعیین میزان انتشار DNA..... 60
2- 15- آماده‌سازی نمونه هاجهت الکتروفورزبه روش SDS-page..... 61
2- 15-1 -روش کار 63
2-15-2- رنگ آمیزی با کوماسی بلو ۲۵۰- G 65
2-16- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدان های تام(TAC) مایع سلومی کرم خاکی به روش احیای آهن فریک 65
2-16-1- مبانی روش FRAP 65
2-16-2- روش کار..... 66
2-17- تجزیه و تحلیل داده ها..... 66
فصل سوم..... 67
3- نتایج 67
3-1- مقدمه 68
3-2- نتیجه ی آزمایش تعیین LD۵۰ 69
3-3- نتایج مربوط به آزمایش پراکسیداسیون لیپید ها..... 71

3-4- نتایج مربوط به آنزیم های آنتی اکسیدانی 72
3-4-1- نتایج مربوط به فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) 72
3-4-2- نتایج مربوط به فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)..... 73
3-4-3- نتایج مربوط به فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز(SOD)..... 74
3-5- نتایج مربوط به آزمایش اندازه گیری میزان انتشار DNA ی سلوموسیت های مایع سلومی کرم خاکی قرمز.75
3-6- نتایج مربوط به آزمایش گریز از محل..... 77
3-7- نتایج مر بوط به آزمایش تعیین میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی مایع سلومی به کمک روش FRAP….78
3-8- نتایج مربوط به الکتروفورز پروتئین های موجود در هوموژینت کرم های خاکی قرمز..... 78
الف) تغییرات در محدوده ی باند پروتئینی 18/4 کیلودالتون.....80
ب) تغییرات در محدوده ی باند پروتئینی 45/9 کیلودالتون…… 80
ج) تغییرات در محدوده ی باند پروتئینی 66 کیلودالتون …….. 80
فصل چهارم..... 82
4-1- مقدمه 83
4-2- بحث و نتیجه گیری در مورد تغییرات پر اکسیداسیون لیپید ها در تیمارهای مختلف نانوذرات TiO_2 85
4-3- بحث و نتیجه گیری در مورد تغییرات فعالیت های آنزیم های آنتی اکسیدانی در تیمارهای مختلف نانوذرات86
4-4- بحث ونتیجه گیری در مورد اثرات نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر ساختار DNA در روش آزمایش انتشار DNA..... 88
4-5- بحث و نتیجه گیری در مورد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر آزمایش گریز از محل 90
4-6- بحث و نتیجه گیری در مورد اثر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر آزمایش اندازه گیری قدرت آنتی اکسیدانی تام مایع سلومی به روش FRAP 91
4-7- بحث ونتیجه گیری مربوط به تاثیر نانوذرات دی اکسیدتیتانیوم برالگوی پروتئینی هوموژنیت..... 93
پیشنهادات..... 95
پیوست..... 97
منابع..... 101
چکیده ی انگلیسی..... 110

فهرست شکل ها

شماره ی شکل و موضوع **صفحه**

شکل 1- 1: نمایی ظاهری ازکرم خاکی قرمز..... 12

شکل 1-2 : نمایی از قسمتهای مختلف دستگاه گوارش در کرمخاکی..... 15

شکل 1- 3 : دستگاه تولید مثلی در کرم خاکی..... 16

شکل 1-4 : تصویری از سلوموسیت های موجود در حفره سلومی *Lumbricus rubellus*..... 19

شکل1-5 : عبور نانو ذرات دارویی از سد خونی مغزی و مبارزه با سلول های سرطانی..... 24

شکل1-6: سیستم های عرضه کننده ی آنتی ژن..... 25

شکل1-7:جذب نانو کپسول های پلی آلکیل سیانو آکریلات انسولین به وسیله ی سلول های پوششی دستگاه گوارش..... 26

شکل 1 - 8 : الف)ساختارهای بلوری الف) آناتاس، ب) روتایل و ج) بروکیت 27

شکل 1-9: مسیر های اصلی پراکسیداسیون غشایی..... 36

شکل 2- 1 : کرم های خاکی انتخاب شده برای انجام آزمایش ها 43

شکل 2-2 : پودر غذای تهیه شده 44

شکل 2- 3:عکس TEM بلورها نانوذرات TiO_2 45

شکل 2-4: محل نگهداری تیمار ها درون آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه شهرکرد 48

شکل 2-5: طرز قرار دادن کرم خاکی درون لوله جمع آوری مایع سلومی..... 49

شکل 2-6: طرز تهیه مایع سلومی از کرم خاکی به روش شوک الکتریکی..... 49

شکل 2-7 : خرد کردن کرم های خاکی بدون مایع سلومی 51

شکل 2- 8 : تهیه ی هوموژنیت با استفاده از هموژنایزر برقی در محیط یخ دار..... 51

شکل 2-9:ظروف آماده شده جهت تست گریز از محل..... 59

شکل 3-1: میزان مرگ ومیر کرم های خاکی قرمز باتغییر در غلظت نانو ذرات TiO_2 70

شکل 3-2 : اثرغلظت های مختلف نانوذرات دی اکسید تیتانیوم برمیزان پراکسیداسیون لیپید های غشایی..... 71

شکل 3-3: اثر غلظت های مختلف ازنانوذرات دی اکسید تیتانیوم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز..... 72

شکل 3-4: اثر غلظت های مختلف از نانوذرات دی اکسید تیتانیوم برمیزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز..... 73

شکل 3-5 : بررسی اثر غلظت های مختلف نانوذرات دی اکسید تیتانیوم برفعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز

74.....

شکل 3- 6 : تصویر سلوموسیت های آسیب دیده 75

شکل 3-7 : درصد سلول های واجد هاله (سلول های آپوپتاتیک)تحت تاثیر غلظت های مختلف از نانوذرات

دی اکسید تیتانیوم 76

شکل 3-8 : مقایسه ی ژل های مربوط به تیمار های مختلف نانوذرات TiO_2درکنارگروه کنترل و پروتئین مارکر.. 79

شکل 3-9 : دیاگرام بررسی و مقایسهی تعداد و پهنای باندهای پروتئینی با استفاده از نرم افزار ImageJ 81

فهرست جدول ها

شمارهی جدول و عنوان **صفحه**

جدول 1- 1 :رده بندی سه گروه از کرم های خاکی مورد مطالعه در پژوهش های علمی..... 12

جدول 2-1 : مشخصات نانوذرات دی اکسید تیتانیوم..... 45

جدول 2-2 :مقدار نانوذرات مورد استفاده برحسب میلی گرم..... 46

جدول2-3 :مقدارنا نوذرات مورداستفاده برحسب میلی گرم به **50**گرم ماده خشک..... 47

جدول 2-4 : تهیه 12 میلی‌لیتر محلول ژل پائین با غلظت‌های مختلف..... 63

جدول 2-5 : تهیه محلول ژل بالا..... 64

جدول 3-1:نتایج آزمایش گریز از محل..... 77

جدول3-2:داده های مربوط به میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مایع سلومی کرم های خاکی قرمز در تیمار با غلظت های مختلف از نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم 78

فصل اول

مقدمه

فصل اول

1- مقدمه

1- 1- معرفی کرم های خاکی

در طبقهبندی جانوران، که در آغاز قرن 19 قرن انجام گرفت، تمام جانورانی که دارای بدنی دراز و فاقد ضمائم واضح بودند، کرم نام گرفتند.این جانوران به علت داشتن یک انتهای قدامی (سر) که دارای اندامهای حسی است، و به قصد برخورد و روبرو شدن با محیط به طرف جلو حرکت می‌کنند و یک انتهای خلفی (دُم)، با اسفنجها و مرجآن ها و شانه‌داران اختلاف و تمایز دارند. ردهی کمتاران [1] ، رده‌ای از کرم ها هستند؛ که به صورت حلقوی بوده و در هر حلقه چندین تار [2] دارند.

کرم های خاکی یک جزء اصلی از اکوسیستمهای خاکی هستند [7]. این موجودات در خاکهای اسیدی به طور معمول بر بیمهرگان خاک چیره میشوند، به خصوص در خاکهای جنگلی از طریق ساختمانسازی در محیط خاک، به عنوان مهندسین اکوسیستم [3] عمل میکنند [8]. کرم های خاکی هنگام ایجاد کانالهای زیرزمینی با تولید فضولات و مخلوط سازی لاشبرگ سطحی و خاک (تخریب بیولوژیکی [4]) بر پایداری خاک دانهها، ساختمان خاک، نفوذ آب، هوا دهی لایههای عمیق خاک، چرخهی عناصر غذایی، معدنی شدن عناصر غذایی، تودهی زیستی [5] میکروبی و دیگر بیمهرگان تأثیرگذار هستند [9,7].

---

[1] Oligochaeta
[2] setae
[3] Ecosystem enginneering
[4] Biodegradation
[5] Biomass

کرم خاکی موجودی همه چیزخوار [۶] بوده و راه به دست آوردن غذا توسط کرم خاکی به صورت ماده زمینه ای خوار [۷] است یعنی در داخل یا روی منبع غذایی زندگی می کند واز مواد درون مسیرش تغذیه می کند .

آن ها در مسیر شان از مواد آلی نیمه پوسیده تغذیه می کنند با این عمل به خاک هوا می دهند وآن را برای گیاهان مناسب می سازند و در مسیر حرکت شان رد مدفوع [۸] را به جا می گذارند [1] . یکی از نقشهای مهم مکانیکی فیزیکی کرم های خاکی اختلاط ذرات جامد خاک شامل مواد آلی و ذرات معدنی در لایههای مختلف می باشد، اما درجهی این مخلوط سازی، بر حسب گونههای کرم های خاکی متفاوت است؛ بر این اساس این جانوران به سه گروه اکولوژیکی اصلی شامل : گونه های اپیجیک [۹] ، اندوجیک [۱۰] و آنجیک [۱۱] طبقه بندی میشوند [7] .

الف) گونههای اپیجیک مانند اِیزنیا فتیدا [۱۲] ، بیش تر بر روی خاک و درون لاشبرگها زندگی میکنند و سبب مخلوط محدود لایههای آلی و معدنی خاک می شوند. این کرم ها توانایی حفر کانال در خاک را ندارند. کرم های این گروه از لحاظ اندازه نسبت به بقیهی گروهها کوچک می باشد.

ب) گونههای اندوجیک در لایههای معدنی خاک تحتانی و کانالهای افقی خاک زندگی میکنند و در حالت معمول بر روی خاک دیده نمیشوند. این کرم ها از ریشهی گیاهان مرده و دیگر مواد آلی موجود در خاک تغذیه میکنند. کرم خاکی لومبریکوس روبللوس در این گروه قرار دارد.

ج) گونههای آنجیک مانندکرم خاکی معمولی [۱۳] قادر به تشکیل کانالهای عمودی دائمی با بیش از دو متر عمق بوده و لاش برگ را از سطح خاک به درون لایههای عمیق منتقل و مواد معدنی خاک را از طریق تولید فضولات به سطح جابجا میکنند. این گروه از کرم های خاکی بیش تر در شب به سطح خاک میآیند؛ و در روز به زیر خاک میروند.

در ادامه برای آشنایی بیش تر با این موجودات، جایگاه آن ها را در میان جانوران و نیز ویژگیهای عمومی آن ها را مورد بررسی قرار میدهیم.

1-1-1- رده بندی کرم های خاکی

کرمخاکی قرمز از شاخهی کرم های حلقوی و متعلق به خانوادهی لومبریسیده [۱۴]است. کرم های خاکی دیگر از جمله، کرمخاکی معمولی و کرم های خاکی اِیزنیا فتیدا [۱۵] نیز در این خانواده قرار دارند. بیش ترین

---

[۶] Omnivores
[۷] Substrate feeders
[۸] Feces
[۹] Epigeic
[۱۰] Endogeic
[۱۱] Anegeic
[۱۲] Lumbricus terrestris
[۱۲] Eisenia foetida
[۱۳] Lumbricus terrestris
[۱۴] Lumbricidae
[۱۵] Eisenia foetida

مطالعات در حیطهی علوم کشاورزی، دامی و زیستپزشکی بر روی اِیزنیا فیتیدا به انجام رسیده است. کرم های خاکی قرمز برای اولین بار توسط هافمیستر [۱۶]در سال 1843 میلادی شناسایی و نامگذاری شدند. در جدول 1-1 طبقهبندی علمی این سه نوع کرمخاکی آورده شده است. حدود 15000 گونه آنلید وجود دارد که اندازه ی آن ها از کمتر از یک میلی متر تا سه متر طول در کرم های ساکن استرالیا متغیر است[1] .

شکل 1- 1 : نمایی ظاهری ازکرم خاکی قرمز(لومبریکس روبللوس)

جدول 1- 1: رده بندی سه گروه از کرم های خاکی مورد مطالعه در پژوهش های علمی.

Kingdom:	Animalia	Animalia	Animalia
Phylum:	Annelida	Annelida	Annelida
Class:	Clitellata	Clitellata	Clitellata
Subclass:	Oligochaeta	Oligochaeta	Oligochaeta
Order:	Haplotaxida	Haplotaxida	Haplotaxida
Family:	Lumbricidae	Lumbricidae	Lumbricidae
Genus:	*Lumbricus*	*Lumbricus*	*Eisenia*
Species:	*terrestris*	*rubellus*	*Foetida*

1-1-1- ویژگیهای عمومی کرم های خاکی

در این بخش ویژگیهای عمومی کرم های خاکی از جمله ویژگی های ظاهری ، دستگاههای گوارش، تولیدمثل و حفرهی عمومی (سلوم[۱۷]) بررسی شده است.

1-1-2-1- ویژگی های ظاهری کرم خاکی

[۱۶] Hoffmeister
[۱۷] Coelom

بدن این کرم از بسیاری قطعات حلقه ای تشکیل شده که هر قطعه را یک بند یا سومیت [۱۸] یا سگمنت[۱۹] می گویند.بند های تشکیل دهنده ی کرم خاکی همانند یکدیگرند و از این نظر هومونوم [۲۰] نامیده می شوند. تعداد بند ها از 100 تا 175 عدد متغیر است . بند ها توسط شیار ها یا جدار های عرضی [۲۱] از یکدیگر مجزا هستند. حالت بند بند ی بودن (سگمانتاسیون)،علاوه بر شکل ظاهری ، در برخی از دستگاه های درونی نیز نمایان است.شکل خارجی کرم خاکی استوانه ای است که در دو انتها ی بدن باریک ترشده است.در برش عرضی ،شکل بدن کرم معمولاً به صورت پنج وجهی است .سطح پشتی بدن کرم خاکی تیره تر و سطح شکمی آن مسطح و روشن تر از سطح پشتی است.

سر مشخص و متمایزی در جانور وجود ندارد. دهان کرم در حلقه اول است و در بالای آن یک قطعه ی گوشتی به نام پیشدهان (پروستومیوم [۲۲]) آویزان است. پروستومیوم ممکن است در بعضی از کرم های خاکی کاملا بزرگ ومشخص و یا در برخی دیگر کوچک تر به نظر برسد.چنان چه دهان کرم قابل مشاهده نباشد ، می توان به وسیله ی سوزن پیشدهان را به سمت بالا برد تا در زیر آن دهان ظاهر شود .مخرج دفع جانور بیضی شکل و بزرگ است و در بند آخر بدن به گونه ای دیده می شود که محور بزرگ آن به طور عمودی قرار دارد[2 و15] .

1 -1-2-2- دستگاه گوارش در کرم های خاکی

ضخامت و ساختار دیوارهی این دستگاه در همه جای بدن یکسان نیست. اما وقتی بدن کشیده است، مانند لولهای است که در لولهی بدن جای دارد؛ به طوری که از دهان شروع شده و به مخرج ختم میشود. به طور دقیقتر میتوان گفت، که این دستگاه از دهان واقع در سطح شکمی پریستومیوم [۲۳] شروع و به یک حفرهی دهانی کوتاه با دیوارهی نازک منتهی میشود؛ که در سطح پشتی آن یک فرورفتگی مژهدار و در سطح شکمی آن یک کیسهی فاقد مژه یافت می شود. حفرهی دهانی به یک حلق راه دارشته و تا بند ششم امتداد دارد؛ در ضمن دیوارهی آن عضلانی بوده و یک فرورفتگی یا دایورتیکولوم [۲۴] پشتی مژهدار و چند تودهی مژهدار درونی دارد.

یاختههای گابلت و خوشههایی از یاختههای غدهای در دیوارهی پشتی و دیوارههای جانبی حلق یافت میشود. این غدد، سفید رنگ یا مایل به سفید بوده و ترشح کنندهی موکوس و آنزیمهای هضم کنندهی پروتئین میباشند. بعد از حلق، مری امتداد دارد، که به نسبت ظریف بوده و از نظر ساختار بافتی به سه بخش جلویی، میانی و عقبی قابل تقسیم است. در نتیجهی فرورفتگیهای دیوارهی مری، تغییراتی برای جایگزینی

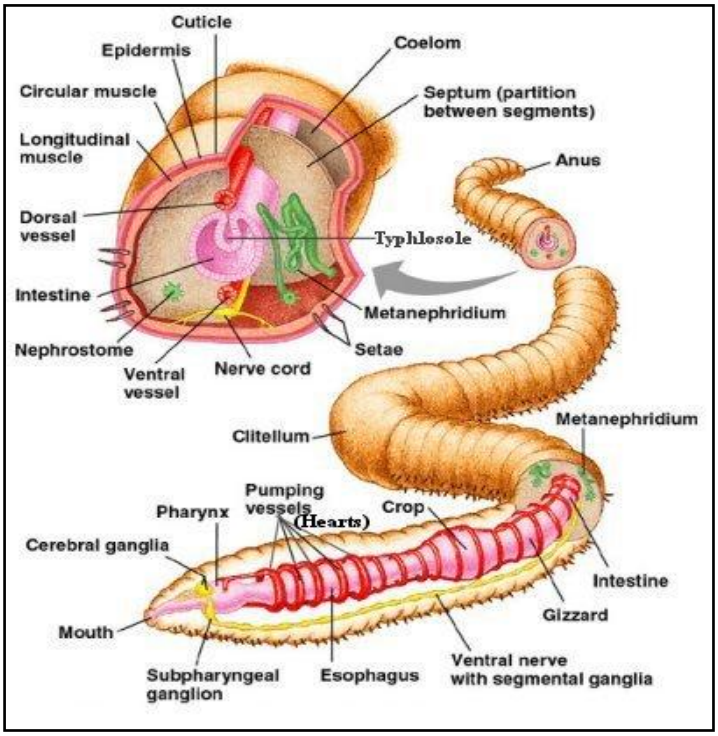
[۱۸] Somit
[۱۹] Segment
[۲۰] Homonom
[۲۱] Septom
[۲۲] Prostomium
[۲۳] Peristomium
[۲۴] Diverticulum

غدد آهکی یا کلسیفروس [۲۵] حاصل شده است، که به کیسههای نگه دارندهی این غدد معروف هستند. منفذ این کیسهها دریچهدار بوده و به حفرهی میانی یا فضای داخلی لولهی گوارش راه دارد. این غدد محل ذخیرهی کربنات کلسیم اضافی جذب شده از غذا می باشند، و در تنظیم pH مایعات بدن نقش دارند .

لولهی گوارش در میانهی راه کمی متسع شده و چینهدان [۲۶] را می سازد. دیوارهی چینهدان با انتهای مری تداخل دارد؛ چنان که غذای وارد شده در آن به مری پس زده نمیشود. دیوارهی درونی چینهدان بسیار پُرچین و چروک بوده و سطح تماس مواد غذایی را با پوشش داخلی آن افزایش میدهد. پس سطح جذب مواد غذایی افزایش مییابد. بعد از چینهدان، سنگدان [۲۷] قرار دارد که یک دیوارهی عضلانی ضخیم و پوشش داخلی کوتیکولی دارد. در این مکان سنگریزههایی نیز یافت می شوند. بعد از سنگدان، روده قرار دارد که طولانی - ترین بخش لولهی گوارش بوده و به علت وجود متراکم تر یاختههای کُلراگوژن [۲۸] معادل با کبد در این قسمت؛ دیوارهی آن زرد رنگ است.

در دو سوم اولیهی روده یک چین بنام تایفلوسُل [۲۹] وجود داشته و به علت وجود این چین، فضای داخل لولهی گوارش به صورت U شکل دیده میشود. در ضمن در قسمت دیوارهی روده، پیش آمدگیهای کیسه مانند نیز یافت میشود؛ که منبسط و منقبض می شوند. پوشش بقیهی طول روده صاف است. پوشش تایفلوسُل حاوی یاختههای غدهای و مژهدار است. بعضی از یاختههای غدهای، ترشح کنندهی مواد موکوپلیساکاریدی [۳۰] هستند که در صورت انتشار در سطح شکمی روده، سخت میشوند و غشای پوشاننده و تغذیهای برای روده ایجاد می کنند. عضلات اطراف روده را عضلات طولی خارجی و عضلات حلقوی داخلی تشکیل میدهند که در تایفلوسُل امتداد ندارند. خارجی ترین لایهی اطراف روده، لایهی احشایی [۳۱] سلوم است که بافت کُلراگوژن از آن منشاء می گیرد(شکل 1-2).

[۲۵] Calciferous glands
[۲۶] Crop
[۲۷] Gizzard
[۲۸] Chloragogen
[۲۹] Typhlosole
[۳۰] Mocopolysaccharide
[۳۱] Peritoneum



شکل 1-2 : نمایی از قسمتهای مختلف دستگاه گوارش در کرمخاکی.

کرمخاکی از مواد آلی موجود در خاک مانند برگهایی که در حال پوسیدن است، تغذیه میکند. غذای بلعیده شده ابتدا، توسط ترشحات بزاقی غدهی حفرهی دهان مرطوب میشود، سپس توسط حرکات حلق مکیده شده، از مری میگذرد؛ و اگر حاوی اسیدهای آلی باشد، اسیدیتهی آن توسط ترشحات غدهی آهکی خنثی میگردد. غذا به طور موقت در چینهدان، انبار شده و سپس توسط حرکات عضلانی و سنگ ریزهای سنگدان خُرد و آسیاب میشود و در نهایت در روده قسمت قابل جذب آن جذب، و بقیه ی مواد از راه مخرج دفع خواهند شد[6,4] .

1-1-2-3- دستگاه تولیدمثل در کرم های خاکی

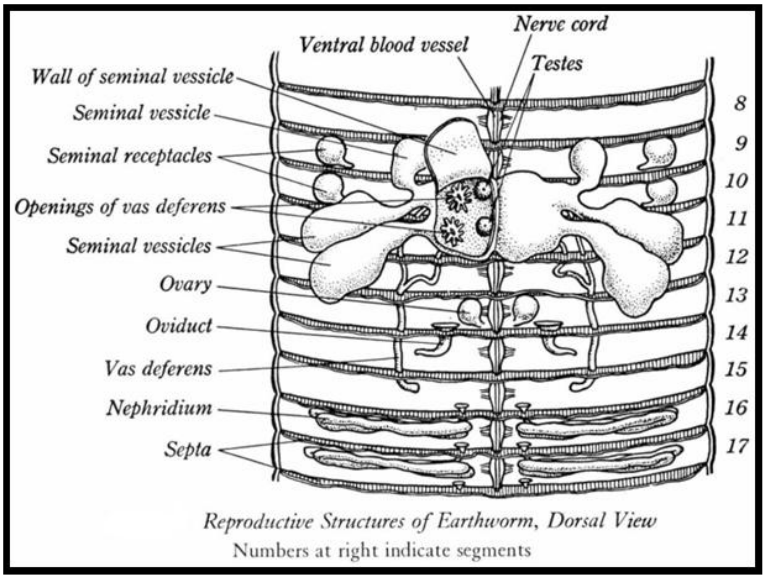
کرم خاکی موجودی تک جنسی (هرمافرودیت [۳۲]) بوده است ولی اقدام به جفت گیری با فرد هم گونه خود میکنند. و تخمهای آن به صورت محصور در پوششی به نام کوکون [۳۳](پیله) به محیط آزاد می شوند. اجزای تولید مثلی در چند بند جلویی بدن متمرکز هستند. این اجزاء شامل غدد جنسی (مشتق از پوشش سلوم)، لولههای جنسی (لولهی سلومی) و کلیتلوم [۳۴] است. دو جفت بیضه که ساختاری پهن شده دارند و همیشه در حال رشد هستند. پوشش سلومی (کیسهی اسپرم) هر بیضه را از بقیه سلوم جدا میکند.

[۳۲] Hermaphrodite
[۳۳] Cocoon
3Clitellum

کیسهی اسپرمی فوقانی به دو جفت کیسهی ذخیرهی اسپرم یا وزیکول سمینال [۳۵] و کیسه ی پایینی (تحتانی) به یک جفت کیسهی ذخیرهی اسپرم متصل اند. کیسههای اسپرمی حاوی مواد غذایی و اسپرم های در حال تکوین و یا رسیده هستند. در ناحیهی عقبی هر یک از کیسههای اسپرمی، یک قیف مژهدار وجود دارد که به یک لولهی پُر پیچ و خم (مجرای آوران اسپرم [۳۶]) منتهی میگردد.

دو مجرای آوران هر سمت بعد از پیوستن به هم، یک مجرای برندهی اسپرمی را ایجاد میکنند که به منفذ جنسی نر منتهی می شوند. به این ترتیب اسپرمها آزاد شده در کیسهی اسپرمی، توسط قیفهای مژهدار و سپس مجاری به منفذ راه می یابد. دو تودهی هویج مانند، در انتهای پسین پرده موجود است که این ها تخمدانها [۳۷] هستند. تخمدانها دارای کیسههای تخمدانی بوده به صورت فرورفتگیهایی وجود دارند. این کیسه ها تخمکهای رسیده را پس از آزاد شدن گرفته و در خود ذخیره میکنند. در نزدیکی این کیسهها ، قسمت قیف مانند لولهی تخمکبر (اویداکت[۳۸])که یک لولهی کوتاه است قرار دارد .

دو جفت کیسهی دریافت کنندهی اسپرم (اسپرماتکا [۳۹]) به صورت شکمی – طرفی وجود داشته که از طریق لولههای کوتاهی از این بند ها به بیرون راه می یابند. این کیسه ها در زمان جفت گیری اسپرم ها را دریافت می کنند (شکل 1-3).



شکل 1- 3 : دستگاه تولید مثلی در کرم خاکی.

[۳۵] Seminal vesicle
[۳۶] Afferent Sperm duct
[۳۷] Ovary
[۳۸] Oviduct
[۳۹] Spermateca

کلیتلوم به صورت یک حلقه ی ناقص زین مانند بوده و دارای پوششی ضخیمی از اپیدرم بوده و در سمت پشتی و جانبی قرار داشته و دارای غدههای فراوانی بوده که برخی از این غدد موکوس را ترشح میکنند. بعضی دیگر از این غدد ذرات یا دانههای خشن هستند و کوکون را می سازند. یاخته های حاوی دانه های ظریف، مترشحهی آلبومین هستند که در کوکون ترشح و باعث نگه داشته شدن تخم ها می گردد. در اطراف بندها ی کلیتلوم نیز غددی وجود دارند که مواد مترشحهی آن ها باعث چسبیدن بهتر دو کرم در هنگام جفت گیری میشوند. جفت گیری به طور معمول در شب و در خاک و یا در میان مواد آلی سطح خاک انجام می گیرد[3,5,6] .

1-1-2-4- حفرهی عمومی (سلوم) کرم های خاکی

حفرهی عمومی حاوی مایع سلومی بوده که یاختههای آمیب مانند و بیگانه خوار فراوانی در آن شناور هستند. این حفره از مزودرم (صفاق) مفروش شده است. از لایهی داخلی پوشاننده ی این حفره (لایه ی احشایی)، بافتی بنام کلراگوژن منشاء میگیرد که عبارت از یک توده ای زرد رنگ است. این بافت که در سطح پشتی روده واقع است، رگ خونی پشتی را احاطه نموده است؛ عمل آن همانند مکانی برای متابولیسم آمینواسیدها و دی آمینه کردن اسیدهای آمینه و تبدیل آمونیاک (آمونیا [۲]) به اوره در آن جا اتفاق می افتد. هم چنین در آن جا کربوهیدراتهای اضافی به مولکولهای پر انرژی گلیکوژن و چربی تبدیل می شوند. یاختههای این بافت دارای ذرات سیلیسی بوده که از روده جذب شده اند. هم چنین در این مکان رنگیزه های لیپیدی یا چربی نیز وجود داشته که بعد از مرگ به درون سلوم ریزش نموده و توسط یاختههای موجود در این حفره بیگانه خواری میشوند و به صورت تودههای رنگی در بخش هایی از بدن (به ویژه در انتهای بدن) جمع می شوند. سلوم به واسطهی وجود پردهها (سپتومها [۳]) به فضاهایی تقسیم شده اند. هر پرده دارای یک پوشش دولایهای صفاقی و دستجات متعدد و متقاطع عضلانی است. ارتباط بین حفرات سلومی توسط یک دریچه در پشت طناب عصبی امکانپذیر است. در حالت طبیعی عضلات این دریچه ها منقبض بوده، یعنی بین حفرات سلومی ارتباطی برقرار نیست. این حفرات توسط منافذ پشتی، نفریدیوپورها و منافذ جنسی به بیرون در ارتباط هستند. بین بند های اول و دوم هیچ ارتباطی وجود ندارد.

در کل حفره ی بدنی [۴۰] دارای مزایای زیر است:

1- داشتن حفره ی درونی به جای پر بودن آن جانور را قادر می سازد که قابلیت انعطاف پذیری داشته و بدین ترتیب به راحتی بلغزد و یا بغلتد.

2- هم چنین به اندام های داخلی اجازه می دهد که مستقل از دیواره ی بدن رشد کرده و تحرک داشته باشد .

[۴۰] Body cavity

3- مایع موجود در حفره ی بدن بالشتکی حفاظتی برای اندام های داخلی ایجاد می کند که در جلوگیری از آسیب رسیدن به قسمت های داخلی زمانی که حیوان در معرض ضربه و فشارقرار می گیرد نقش دارد .

4- مایع درون حفره ی بدن کرم خاکی به عنوان اسکلت عمل می کند که ماهیچه ها برای حر کت دادن بدن به آن نیرو وارد می کنند .

5-این مایع در انتقال مواد مغذی و اکسیژن در سراسر بدن و کمک به دفع مواد زائد نقش دارد .سلول های آمیبی شکلی که در درون این مایع قرار دارند به انجام این وظائف کمک می کنند[1].

1-2- سلوموسیتها [41]

فضای درونی قطعات بدن کرم خاکی از مایع سلومی پر شده است. در این مایع سلولهایی به نام سلوموسیت یا لنفوسیت وجود داشته که در شرایط خاص زیستی ترشح کنندهی ترکیبات پروتئینی و گلیکوپروتئینی مختلف نظیر: اوپسونینها [42] آگلوتینینها [43] و لیزینها [44] هستند [10,11]. دو نوع اصلی از سلوموسیتها موسوم به آمیبوسیت [45] و کلوراگوسیت [46] (ائوسیت [47]) هستند. این سلولها همانند سلولهای پوششی، سطح بیرونی لولهی گوارشی کرم خاکی را در بر میگیرند؛ با این وجود تعداد زیادی از آن ها در مایع سلومی شناور هستند. سلولهای کلوراگوسیت به سبب داشتن رنگدانههای زرد از سایر سلوموسیت ها متمایز هستند. وظیفه ای که برای این سلولها در نظر می گیرند این است که، آن ها همانند سلولهای تروفوسیت [48] می توانند ترکیبات غذایی هم چون پروتئینها، لیپیدها و گلیگوژن را گرفته و آن ها را وارد کلوراگوزوم [49] کرده و از طرفی انتقال این مواد را به مایع سلومی تسهیل میکنند . لیبمن [50] در سال 1942 پیشنهاد داد که این سلول ها ممکن است موادی را آزاد کنند که در التیام زخم و فرآیند ترمیم مشارکت داشته باشند [14].

امروزه با بهرهگیری از روشهای مختلف آزمایشگاهی، کاربردهای فارماکولوژیکی و ایمونولوژیکی زیادی نظیر: اثرات همولیتیک و ضدباکتریایی برای ترکیبات موجود در مایع سلومی کرم های خاکی در نظر گرفته شده است. کرم های خاکی با بهرهگیری از خواص ایمونولوژیکی مایع سلومی خود به سرعت در ترمیم و بازسازی قطعات از دست رفته بدنشان وارد عمل میشوند [13,14] .

همان طور که اشاره شد، سلوموسیت ها متشکل از جمعیتهای سلولی درون مایع سلومی هستند؛ که هر گروه از نظر اندازه ، خواص سیتوشیمیایی و اعمالی که انجام میدهند متفاوت هستند. خاستگاه این سلولها از

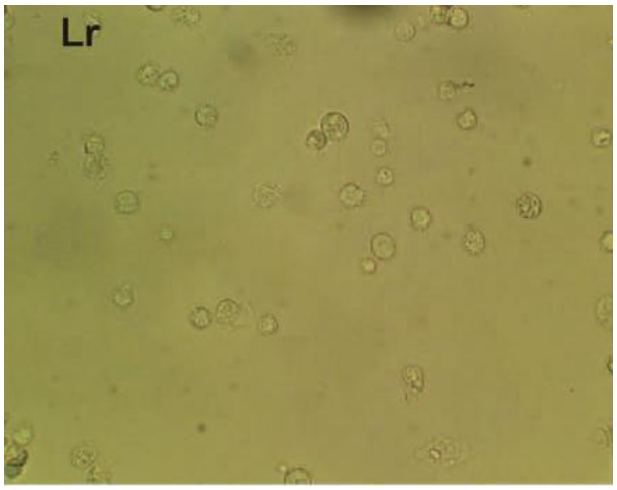
---

[41] Coelomocytes
[42] Opsonins
[43] Aglutinins
[44] Lysins
[45] Amoebocyte
[46] Chloragocyte
[47] Eleocyte
[48] Trophocytes
[49] Chloragosome
[50] Liebmann

لایهی مزانشیمی بوده و مهم ترین وظایف آن ها دخالت در دستگاه ایمنی ، انجام فاگوسیتوز ، NK-like cytotoxicty و فرآیند التهاب است.

دسته بندی سلوموسیت ها موضوع بسیار جالبی است که روی آن بررسی های فراوان شده و در اغلب این تحقیقات برای دسته بندی، از اندازه ی هستهی سلول، محتوا و طبیعت شیمیایی دانههای موجود در آن هم چون چسبندگی و کیموتاکسیسیته[۵۱] بحث می شود[17,18].

در شکل 1-4 تصویری از سلوموسیت های موجود در حفره عمومی کرم خاکی مشاهده میشود. با استفاده از روشهای استاندارد رنگ آمیزی هم چون روشی که در رنگ آمیزی سلول های خونی بکار میرود توانستند سلوموسیتها را به اسیدوفیل ها ، بازوفیل ها و نیز نوتروفیل ها دسته بندی کنند[16].



شکل 1-4 : تصویری از سلوموسیت های موجود در حفره سلومی.

بسیاری از گزارشهای علمی در مورد سلوموسیت های کرم خاکی معمولی بوده ولی در مورد سایر کرم هایخاکی از جمله اِیزنیا فتیدا نیز پژوهشهایی صورت گرفته است. البته مطالعات جدید ی که انجام شده، بیش تر بر روی فعالیت های ایمونولوژیکی این سلولها به عنوان مدلی جدید برای تکنیک های زیست پزشکی متمرکز شده است.

1-3- نقش کرم های خاکی در پزشکی

کاربردهای پزشکی کرم خاکی نشان داده که این علم تاریخی حدود 4000 ساله داشته و مردمان شرق دور از این جانور در درمان بسیاری از بیماری های خود سود می برده اند. بر طبق طب سنتی چین، کرم های خاکی دارای اثراتی هم چون : ضد تب[۵۲]،

---

[۵۱] Chemotaxis
[۵۲] Antipyretic

ضد تشنج [۵۳]، ادرارآور[۵۴]، ضد افزایش فشارخون [۵۵]، ضد آلرژی [۵۶]، ضد آسم [۵۷]، رفع مسمومیت [۵۸] می باشد. طبیبهای چینی ها از کرم های خاکی در درمان بیش از 80 نوع بیماری از قبیل، صرع و سرطان استفاده می کنند[12] .

1-4-1- نانو

1-4-1- تاریخچه ی فناوری نانو

اولین جرقه ی فناوری نانو[۵۹] در سال1959 زده شد .در این سال ریچارد فایمن [۶۰] درطی یک سخنرانی با عنوان " فضای زیادی در سطوح پایین وجود دارد" [۶۱]ایده ی فناوری نانو را مطرح نمود .وی این نظریه را ارائه داد که در آینده ای نزدیک می توانیم مولکول ها و اتم ها را به صورت مستقیم دست کاری کنیم[19].

طبق تعریف جوامع علمی مرتبط با نانوتکنولوژی، یک نانوذره به ذره ای گفته می شود که ابعادی بین یک تا100 نانومتر داشته باشد [19]. یک نانومتر یک بیلیونیم متر یا به عبارتی حدود 80000 بار باریک تر از یک تار موی انسان است[20].برای سنجش طول پیوند های کربن _ کربن ،یا فاصله ی میان دو اتم 12 تا 15 نانو متر به کار می رود . از سوی دیگر کوچک ترین باکتری سلول دار 200 نانومتر است اگر بخواهیم برای دریافتن مفهوم اندازه ی نانو متر نسبت به متر سنجشی داشته باشیم می توانیم اندازه ی آن را مانند اندازه ی یک تیله به کره ی زمین بدانیم [21].

فناوری نانو را می توان به دو صورت زیر تعریف نمود:

1- به طراحی، تعیین ویژگی ها، تولید و کاربرد مواد ، ابزار آلات و سیستم ها با کنترل شکل و اندازه در مقیاس نانو می گویند.

2- به دستکاری کنترل شده، جایگیری دقیق، اندازه گیری، مدل سازی و تولید مواد در مقیاس نانو می گویند و هدف آن تولید مواد، ابزار و سیستم هایی با ویژگی های بنیادی و عملکردهای جدید می باشد.

1-4-2- قلمرو فناوری نانو

فناوری نانو رشته ای از دانش کاربردی و فناوری است . در واقع نانوتکنولوژی فهم و به کارگیری خواص جدیدی از مواد و سیستم هایی در ابعاد نانو است که اثرات فیزیکی جدیدی (عمدتا متاثر از خواص کوانتومی

---

[۵۳] Antispasmodic
[۵۴] Diuretic
[۵۵] Antihypertensive
[۵۶] Antialegic
[۵۷] Antiasthmatic
[۵۸] Detoxic
[۵۹] Nanotechnology
[۶۰] Finman
[۶۱] There is plenty of room in the room.

بر خواص کلاسیک) از خود نشان می دهند. فناوری نانو یک دانش میان رشته ای بوده و به رشته هایی چون فیزیک کاربردی ،مهندسی مواد ، ابزارهای نیم رسانا ، شیمی ابر مولکولی و حتی مهندسی مکانیک ، مهندسی برق ومهندسی شیمی نیز مربوط است.پس فناوری نانو به علوم مختلفی وابسته است ، بنابراین کاربرد های متفاوتی مانند کاربرد های الکترونیکی ، پزشکی ، زیستی و ... را می توان برای آن متصور شد.

1-4-3- منابع تولید نانوذرات

منابع تولید نانو ذرات گوناگون بوده و می توان در یک تقسیم بندی به موارد زیر اشاره نمود:

1- نانوذرات طبیعی: این ذرات در هوا ،خاک و آب وجود دارند.

2- ذرات نانو با تولید تصادفی مثل ذرات حاصل از خاکستر های آتشفشانی و یا ذراتی که از آتش منشا می گیرند.

3- نانو ذرات مهندسی شده: تولید با هدف خاص با اشکال منظم وطراحی شده (کروی ،فیبری ،لوله ای و حلقوی) مثل فولرین ها ،نانوذرات فلزی مثل طلا ، نقره و دی اکسیدتیتانیوم.

1-4-4- خواص مواد در مقیاس نانو

با کوچک شدن ذرات ، خواص کلی آن ها تغییر می کند. برای مثال ذرات سیلیکن در این ابعاد از خود نور ساطع می کنند و لایه های فولاد در این مقیاس در قیاس با صفحات بزرگ تر این فلز از استحکام بیش تری برخوردار است. در تکنولوژی نانو اولین اثر کاهش اندازه ی ذرات افزایش سطح است . افزایش نسبت سطح به حجم نانوذرات باعث می شود که اتم های واقع در سطح، نسبت به اتم های درون حجم ذرات ، بر خواص فیزیکی ذرات اثر بسیار بیشتری داشته باشند. این ویژگی واکنش پذیری نانو ذرات را به شدت افزایش می دهد. علاوه بر این افزایش سطح ذرات فشار سطحی را تغییر می دهد و به تغییر فاصله ی بین ذرات یا ایجاد فاصله بین اتم های ذرات منجر می شود . بنابراین خصوصیات ذاتی آن ها از جمله رنگ ، استحکام ، مقاومت در برابر خوردگی و ... تغییر می یابد[24].

1-4- 5- فناوری نانو و محیط زیست

محصولات فناوری نانو به دلیل خصوصیات منحصر به فردی مانند اندازه ی خیلی کوچک آنان و نسبت سطح به جرم زیادشان ،موجودات زنده را در معرض خطرات جدید و فزاینده ای قرارداده و مشکلات بهداشتی زیادی را به دنبال دارند، به دلیل اندازه ی خیلی کوچک نانوذرات ،این ذرات می توانند مکانیسم های دفاعی بدن را مهار نموده و ذراتی با اندازه بزرگ تر را تشکیل دهند. ذرات نانو در مقایسه با ذرات بزرگ تر ، نسبت سطح به جرم بسیار بزرگ تری داشته و ممکن است به درون سلول های بدن موجودات زنده نفوذ کنند و ساختارهای متفاوت،در مقیاس بزرگ تر تشکیل دهند. تماس با ترکیبات نانو از طریق استنشاق نیز انجام