

مطالعه تشریحی ساقه گونه‌های سس (*Cuscuta* L., Convolvulaceae) در استان‌های خراسان

جمیل واعظی^{۱*}، زهرا رنجبر^۲، حمید اجتهادی^۲ و فرشید معماربانی^۳
^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
^۳ پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

گیاه سس از انگل‌های عمومی است که می‌تواند به چندین گونه گیاهی حمله کند و مکینه‌های خود را به طور ویژه، وارد آوند آبکش گیاه میزبان نماید. در مطالعه حاضر، ساختار تشریحی ساقه شش گونه و دو وارته *Cuscuta* از استان‌های خراسان رضوی، شمالی و جنوبی، شامل: *C. brevistyla*، *C. campestris*، *C. epithymum*، *C. kotschyana*، *C. pedicellata*، *C. monogyna* و *C. lehmannaiana* var. *lehmannaiana* و *C. babylonica* var. *babylonica* مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری، در محلول FAA تثبیت شده سپس، با روش دستی برش‌گیری انجام شد. مقاطع با رنگ آبی تولوئیدین رنگ‌آمیزی شد و در نهایت، با میکروسکوپ مطالعه شدند. نتایج نشان داد که صفات تشریحی قطر برش عرضی، طرز قرارگیری و پراکنش آوندها، تعداد لایه‌ها و ضخامت آوندها و تعداد لایه‌های پارانشیم پوست صفاتی کارآمد در جداسازی تاکسونومیک این گونه‌ها هستند. همچنین، در این مطالعه ارتباط گیاه انگل با گیاه میزبان نیز بررسی شد.

واژه‌های کلیدی: سس، انگل، مکینه، میزبان، آبی تولوئیدین

مقدمه

Kooij *et al.*, 2000) هستند که برای تأمین آب و کربوهیدرات‌ها به طور کامل به گیاه میزبان وابسته‌اند (Hibberd and Jeschke, 2001). سس‌ها انواع مختلفی از گیاهان از جمله: جلبک سبز کارا، سرخس‌ها و انواع مختلفی از گیاهان گل‌دار را آلوده می‌کنند (Dawson *et al.*, 1994). توانایی تهاجم به گونه‌های

سس‌ها (*Cuscuta*) از موفق‌ترین و رایج‌ترین گیاهان انگل هستند که می‌توان آنها را در هر جایی بر روی گیاهان زراعی و غیر زراعی مشاهده نمود (Kujit, 1969). سس‌ها گیاهانی بدون ریشه و کلروفیل با ساقه‌های نازک نخی و برگ‌های تحلیل رفته (Van der

صورت می گیرد. بین آوند چوب انگل و میزبان یک اتصال پیوسته باز وجود دارد (Kollmann and Dörr, 1969؛ Dawson *et al.*, 1994).

مطالعه ریخت‌شناسی و تشریحی مکینه در گونه *C. campestris* Yunck. نشان داد که در ساقه علاوه بر روزنه‌ها، برجستگی‌های مخروطی غیرعملکردی دیگری نیز وجود دارد که در رأس خود دارای منفذ هستند و در اصطلاح مکینه کاذب نامیده می‌شود. مکینه کاذب، سلول‌های بنیادی هستند که تقسیمات آنها یک پریموردیوم اندوفیتی ایجاد می‌کند که شامل سلول‌های مرستمی است و با توسعه مکینه بافت‌های مختلفی را مورد تهاجم قرار می‌دهد (Hong *et al.*, 2011).

مطالعات تشریحی معدودی روی ساقه *Cuscuta* انجام شده است. از مهم‌ترین آنها، مطالعه هیستوآناتومیکی ساقه و مکینه سه‌گونه *C. epilinum* C. *europaea* L. و *C. epithimum* Murray, Weihe. به همراه میزبان‌های متنوعی از گونه‌های دولپه‌ای است که توسط Toma و همکاران (۲۰۰۵) انجام شده است. مطالعه تشریحی ساقه این سه گونه نشان داد که دستجات آوندی در ساقه سس تپیک و به صورت روی هم پیوسته (collaterally closed) نیست. بافت‌های مکانیکی وجود ندارد یا به شکل ضعیفی توسعه یافته است. مکینه نیز به طور ویژه وارد بافت آبکش می‌شود و گاهی تا پارانشیم مغز نفوذ می‌کند. آوند چوب مکینه نیز با چوب میزبان ارتباط پیدا می‌کند.

جنس *Cuscuta* از اعضای تیره پیچک (Convolvulaceae)، از جنس‌هایی است که پیچیدگی‌های تاکسونومیک زیادی دارد. Dumortier, Osbrnova, Takhtjan و Cronquist سس را به علت داشتن صفات تخصص یافته متعدد، از جمله: کاهش

مختلف نشان می‌دهد که این گیاهان دارای مکانیسم‌های متنوعی برای اتصال به گیاه میزبان هستند (Vaughn, 2002).

انگل یک پل فیزیکی-فیزیولوژیکی به نام مکینه (haustorium) با میزبان ایجاد می‌کند. این اندام شامل آوندهای چوب و آبکش سس است که با آوندهای چوب و آبکش گیاه میزبان برای انتقال آب، ترکیبات نیتروژن‌دار، مواد تثبیت شده و حتی پروتئین‌ها، RNA و ویروس‌های گیاهی ارتباط پیدا می‌کند (Bleischwitz *et al.*, 2010). مکینه اغلب به دو قسمت تقسیم می‌شود، مکینه فوقانی یا صفحه چسبنده که شامل بافت هوایی سس است و خارج از اندام‌های میزبان قرار می‌گیرد و مکینه داخلی (endophyte) که به درون اندام‌های میزبان نفوذ می‌کند (Lee and Lee, 1989؛ Dawson *et al.*, 1994). در هنگام آلوده شدن گیاه میزبان، مکینه گیاه انگل به درون بافت میزبان نفوذ می‌کند و مانند یک هیف جستجوگر در بین و درون سلول‌های میزبان رشد می‌کند (Vaughn, 2002). پس از رسیدن سلول‌ها به دستجات آوندی، هیف جستجوگر تمایز قابل توجهی را متحمل می‌شود که طی آن سلول‌های انتهایی مجاور عناصر چوب به عناصر چوب تمایز می‌یابند. همچنین، سلول‌های انتهایی مجاور عناصر آبکش اصطلاحاً به هیف جذب‌کننده تمایز می‌یابند که با آوندهای آبکش میزبان ارتباط پیدا می‌کنند (Dörr, 1990). در این زمان، سس به یک مکنده قوی تبدیل می‌شود که برای دریافت مواد تثبیت شده با میزبان رقابت می‌کند. علاوه بر این، انگل باعث افزایش سطح فتوسنتز میزبان می‌شود (Jeschke and Hilpert, 1997). انتقال آب و مواد معدنی از میزبان به بافت چوب انگل بدون نیاز به انتقال از طریق یک غشا

C. brevistyla A. Braun و var. *babylonica* Auch. ex A. Rich. از زیرجنس *Cuscuta* و دو گونه *C. lehmanniana* var. *lehmanniana* Bunge. و *C. monogyna* Vahl از زیرجنس *Monogyna* هستند. همچنین، ارتباط سس با میزبان نیز در هر گونه بررسی و در پایان یک کلید شناسایی بر اساس صفات تشریحی برای گونه‌های این جنس ارائه گردید.

مواد و روش‌ها

برای بررسی ساختار تشریحی، نمونه‌ای از ساقه تاکسون‌های *C. brevistyla*، *C. campestris*، *C. monogyna*، *C. kotschyana*، *C. epithymum* و *C. pedicellata* var. *babylonica*، *C. lehmanniana* var. *lehmanniana* از رویشگاه طبیعی آنها جمع‌آوری شد (جدول ۱) و به مدت یک هفته در محلول FAA قرار گرفتند. سپس، با روش دستی و با استفاده از تیغ‌های تجاری برش‌گیری انجام شد. برش‌ها به مدت ۳-۵ دقیقه در محلول آب ژاول ۱۰ درصد قرار گرفته، تا زمان رنگ آمیزی در الکل اتیلیک ۵۰ درصد نگهداری شدند. در ادامه با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین، رنگ آمیزی شده، پس از تثبیت بر روی لام مطالعه میکروسکوپی آغاز شد. در مجموع، ۱۶ صفت (۱۴ صفت کمی و ۲ صفت کیفی، جدول ۲) برای تاکسون‌های مورد مطالعه با نرم‌افزار Dino Capture (نسخه ۲) اندازه‌گیری و بررسی شد. برای صفات کیفی کدگذاری صفات به صورت دو حالت (صفر و یک) انجام شد و صفات کمی نیز به منظور تحلیل مؤلفه‌های اصلی و خوشه‌ای استاندارد شدند (میانگین = ۰ و واریانس = ۱). برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار میان صفات در تمایز تاکسون‌های مورد مطالعه، تحلیل

مقدار کلروفیل، برگ‌های تحلیل رفته فلسی شکل و وجود مکینه در خانواده‌ای مجزا به نام Cuscutaceae قرار دادند (Garcia and Martin, 2007). (۱۹۸۹) بر اساس صفات گل نشان داد که *Cuscuta* قرابت نزدیکی با سایر اعضای تیره پیچک دارد. سرانجام بررسی‌های مولکولی (بر پایه توالی DNA کلروپلاستی نشان داد که *Cuscuta* از اعضای تیره Convolvulaceae است (Stefanovic et al., 2002).

Engelmann (۱۸۵۹) سس را در تیره پیچک، در سه زیرجنس و نه بخش تنظیم کرد. زیرجنس *Cuscuta* که دارای دو خامه مساوی و کلاله‌های کشیده است، چهار بخش *Cletoococca*، *Cuscuta*، *Epistigma* و *Pachystigma* را شامل می‌شود. زیرجنس دارای دو خامه نامساوی و کوتاه و کلاله‌های گرد است و شامل بخش‌های *Eugrammica*، *Cleistogrammica* و *Lobostigma* است. این زیرجنس بیشترین غنای گونه‌ای را دارد و از نظر مورفولوژیکی دارای تنوع بالایی است. زیرجنس *Monogyna* دو خامه به هم چسبیده و کلاله تخم‌مرغی یا مخروطی شکل دارد و شامل دو بخش *Callianche* و *Monogyna* می‌شود.

با توجه به شباهت بالای ریخت‌شناسی برخی از گونه‌های سس، همچنین اندازه کوچک و کاهش صفات ریخت‌شناسی و ناکارآمدی آنها در جداسازی گونه‌ها، در مطالعه حاضر سعی بر این شد تا با استفاده از تاکسونومی عددی، نقش و کاربرد صفات تشریحی در تفکیک و رده‌بندی شش گونه و دو وارسته *Cuscuta* متعلق به سه زیرجنس در استان‌های خراسان تعیین شود. این تاکسون‌ها شامل: *Cuscuta campestris* از زیرجنس *C. kotschyana*، *C. epithymum*؛ *Grammica* *C. babylonica*، *C. pedicellata* Ledeb.، Boiss.

نرم افزار CANOCO (Ter Braak and Šmilauer, 2002) و تحلیل خوشه‌ای (UPGMA) در نرم افزار NTSYS نسخه ۲ قرار گرفتند. در پایان، تلاش شد تا کلیدی از صفات مناسب تشریحی برای جداسازی تاکسون‌های مورد مطالعه تهیه گردد.

One-way Anova و Kruskal-Wallis به ترتیب برای صفات کمی و کیفی انجام شد. این تحلیل‌ها با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ با سطح اطمینان ۹۵ درصد روی داده‌های صفات مطالعه شده انجام گرفت. پس از آن، داده‌ها تحت تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) در

جدول ۱- فهرست نمونه‌های مطالعه شده و مشخصات آنها

ردیف	گونه	رویشگاه	گیاه میزبان	شماره هر بار یومی
۱	<i>C. campestris</i>	کلات- آب گرم	<i>Alhagi</i>	۱۵۶۵
۲	<i>C. brevistyla</i>	بجنورد- رئين	<i>Acantophyllum</i>	۱۵۶۲
۳	<i>C. kotschyana</i>	مشهد- قله زشک	<i>Centaurea</i>	۱۵۹۵
۴	<i>C. lehmanniana</i> var. <i>lehmanniana</i>	سرخس- پاسگاه مرزی	<i>Alhagi</i>	۱۵۹۲
۵	<i>C. monogyna</i>	قوچان- دربادام	<i>Alhagi</i>	۱۵۵۴
۶	<i>C. epithymum</i>	سرخس- روستای قرقره	<i>Medicago</i>	۱۵۶۳
۷	<i>C. babylonica</i> var. <i>babylonica</i>	گراوه- جاده درگز به کلات	<i>Prosopis</i>	۱۵۵۹
۸	<i>C. pedicellata</i>	مشهد- روستای فریزی	<i>Malcolmia</i>	۱۵۵۸

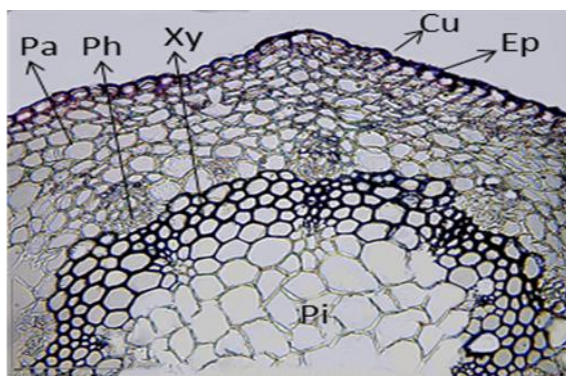
جدول ۲- فهرست صفات تشریحی اندازه گیری شده و نام اختصاری آنها

ردیف	عنوان صفت	اختصار	عنوان صفت	مقیاس / حالت‌ها
۱	ضخامت بافت چوب	XYTH	Xylem thickness	میکرومتر
۲	ضخامت بافت آبکش	PHTH	Phloem thickness	میکرومتر
۳	تعداد لایه‌های چوب	NOXY	Number of xylem layers	عدد
۴	تعداد لایه‌های آبکش	NOPH	Number of phloem layers	عدد
۵	ضخامت پارانشیم مغز	PITH	Pith thickness	میکرومتر
۶	طول سلول اپیدرمی	EPLE	Epidermis length	میکرومتر
۷	عرض سلول اپیدرمی	EPWI	Epidermis width	میکرومتر
۸	تعداد لایه‌های اپیدرم	NOEP	Number of epidermis layers	عدد
۹	قطر مقطع عرضی	CRDI	Cross section diameter	میکرومتر
۱۰	ضخامت کوتیکول	CUTH	Cuticle thickness	میکرومتر
۱۱	تعداد لایه‌های پارانشیم پوست	NOPA	Number of Parenchyma	عدد
۱۲	تعداد دستجات آوندی در یک حلقه	NOBU	Number of vascular bundles	عدد
۱۳	فاصله بین دستجات	SPBU	Space between vascular bundles	میکرومتر
۱۴	ضخامت پارانشیم پوست	PATH	Parenchyma thickness	میکرومتر
۱۵	نوع دستجات آوندی	BUTY	Vascular bundles type	پیوسته ۰/ ناپیوسته ۱
۱۶	حضور سلول‌های کلانشیمی	PRCO	Presence of collenchyma cells	حضور ۰/ عدم حضور ۱

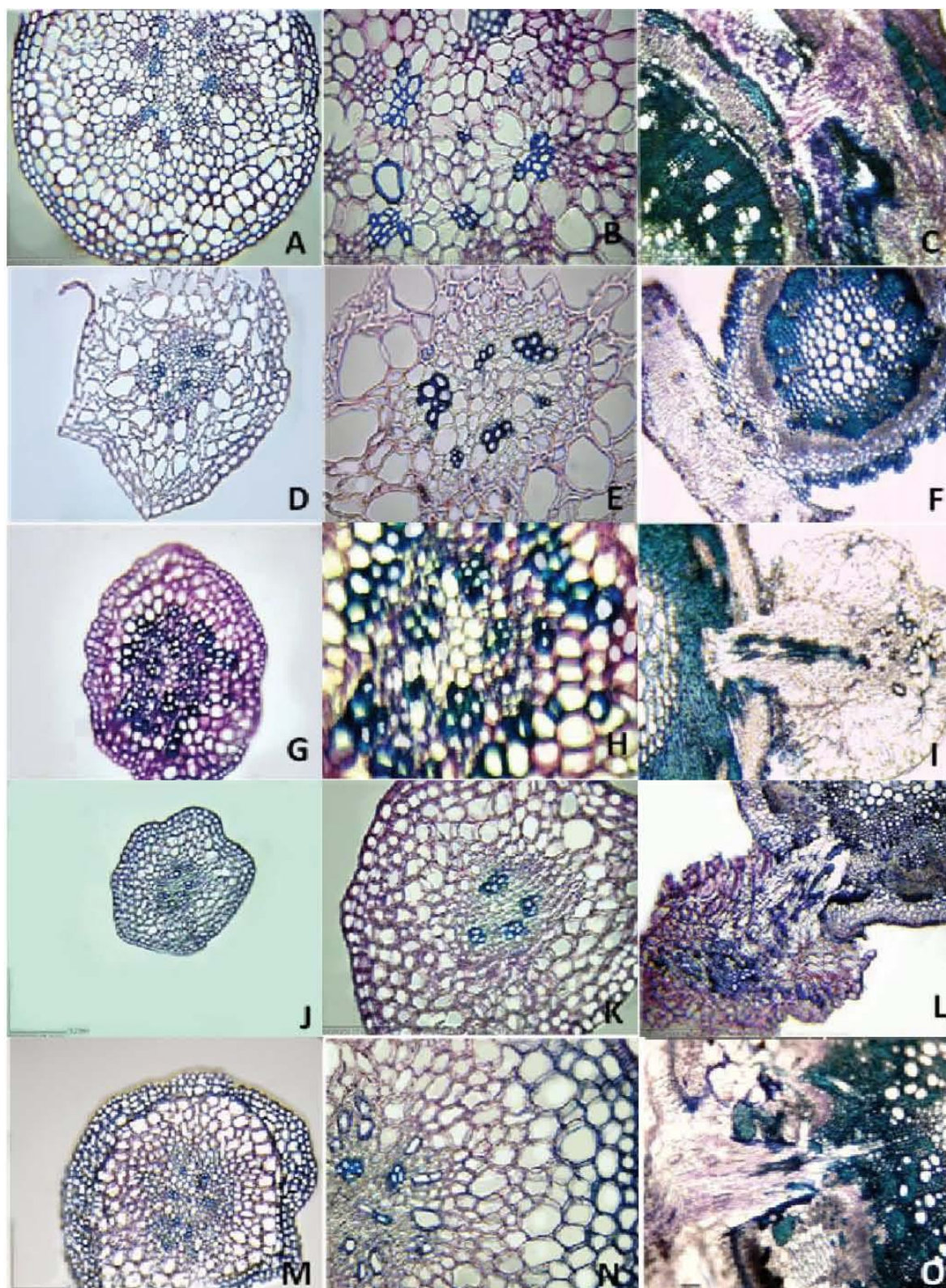
نتایج

در مقطع عرضی، ساقه دایره‌ای تا بیضوی شکل است. سلول‌های اپیدرمی اغلب مستطیلی شکل هستند که کوتیکول نازکی سطح آنها را پوشانده است و تعداد روزنه‌ها بسیار اندک است. پارانشیم پوست ضخیم‌ترین قسمت را تشکیل می‌دهد و از سلول‌هایی با دیواره سلولزی تشکیل شده است که این سلول‌ها در ردیف‌های میانی بزرگ‌تر به نظر می‌رسند. استوانه مرکزی اغلب شکل منظمی ندارد و تقریباً بیضوی است. لایه‌های اندودرم و دایره محیطیه به سختی از یکدیگر قابل تشخیص هستند. دستجات آوندی آرایش منظمی نداشته، اغلب ناپیوسته و فضای بین آنها را سلول‌هایی از پارانشیم مغز پر می‌کند. بافت‌های مکانیکی اغلب حضور ندارد یا کمتر توسعه یافته‌اند. مکینه تقریباً از درونی‌ترین لایه پارانشیم پوست در مجاورت آوندهای استوانه مرکزی منشأ گرفته، به سلول‌های اپیدرمی و پارانشیمی میزبان نفوذ می‌کند. پس از آن، رشته‌ای از آوندهای سس از مسیر این پل ارتباطی وارد دستجات آوندی میزبان به ویژه آوندهای آبکش می‌شوند (شکل‌های ۱ و ۲).

نتایج حاصل از تحلیل‌های One-way Anova و Kruskal-Wallis نشان داد که تمام صفات انتخاب شده و اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری را در بین گونه‌ها نشان می‌دهند. تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) با استفاده از ۱۴ صفت کمی و ۲ صفت کیفی جدایی خوبی را برای بعضی از گونه‌ها نشان داد (شکل ۳). در طول نخستین مؤلفه اصلی (PC1) با میزان تغییرات ۹۹/۲ درصد، *C. lehmanniana var. lehmanniana* و *C. monogyna* در سمت راست به طور کامل از سایر گونه‌ها جدا شدند. گونه‌های *C. epithymum* و *C. brevistyla* در بالا سمت چپ نمودار در نزدیکی هم و از سوی دیگر دو تاکسون *C. campestris* و *C. babylonica var. babylonica* نیز در پایین سمت چپ نمودار در مجاورت هم قرار گرفتند. صفات: نوع دستجات آوندی، قطر مقطع عرضی، ضخامت بافت چوب، تعداد لایه‌های چوب و ضخامت بافت آبکش نسبت به سایر صفات بیشترین بارگذاری را در طول PC1 داشتند. در طول دومین محور اصلی (PC2) با میزان تغییرات ۰/۶ درصد، *C. pedicellata* و *C. kotschyana* نیز تقریباً جدا شدند.

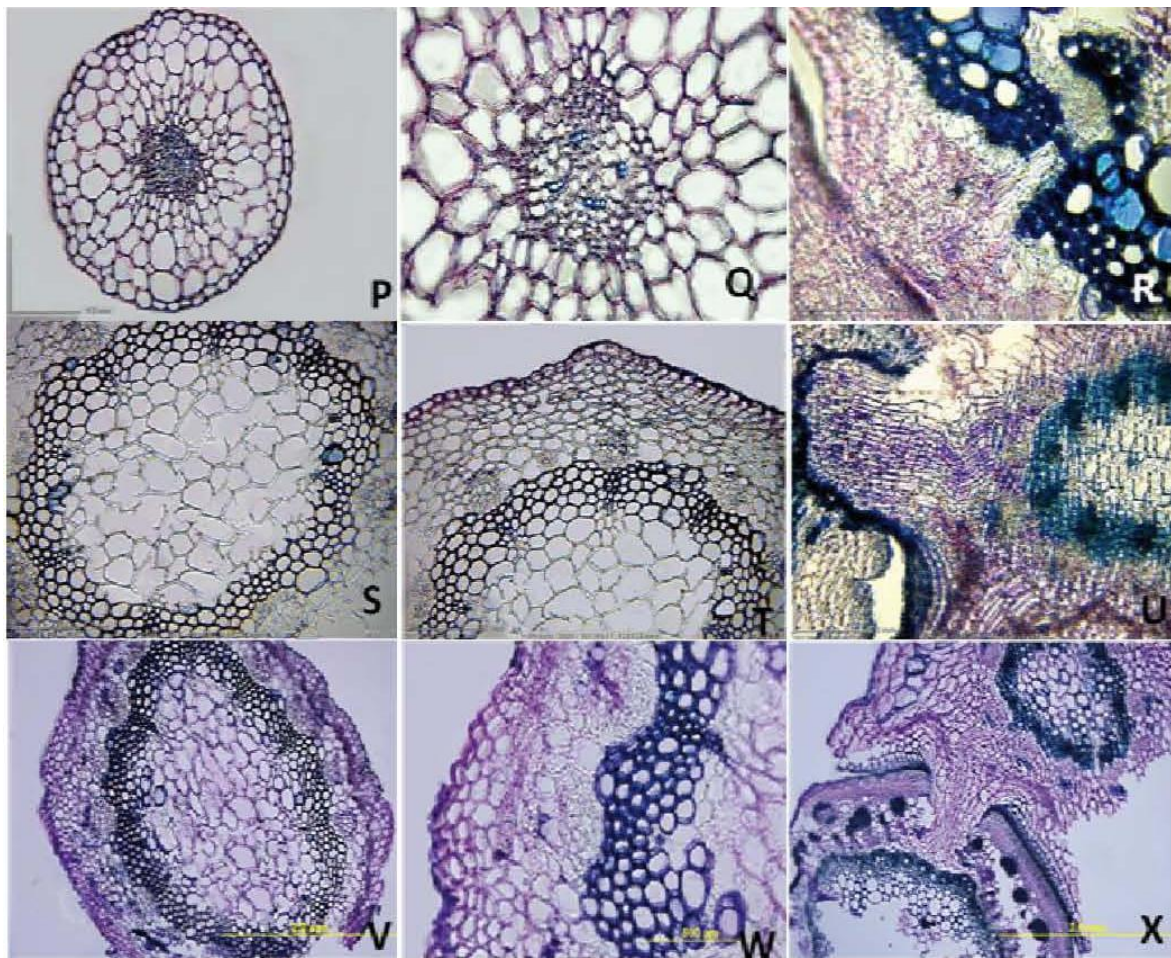


شکل ۱- قسمت‌های مختلف برش عرضی ساقه *Cuscuta monogyna*: Cu: کوتیکول، Ep: اپیدرم، Pa: پارانشیم پوست، Ph: آوند آبکش، Xy: آوند چوب، Pi: پارانشیم مغز. رنگ آمیزی با روش آبی تولوئیدین.

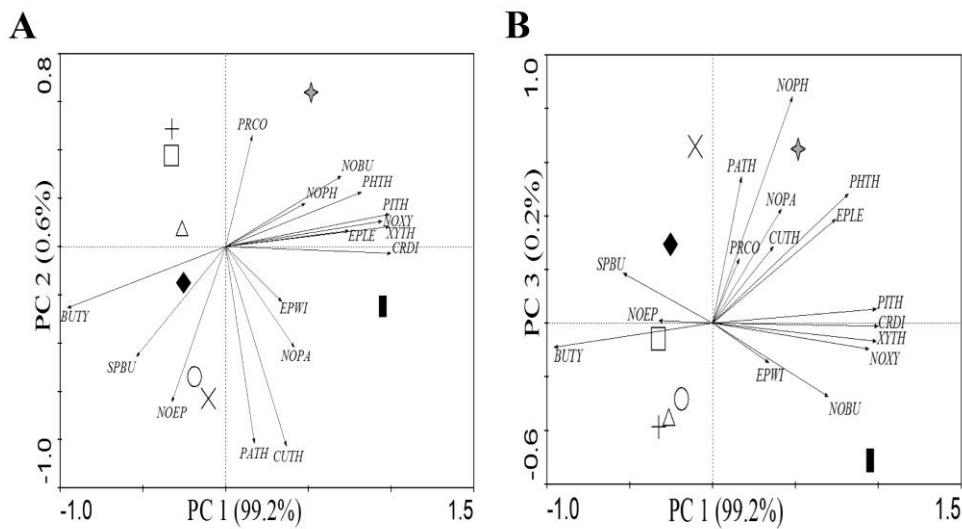


شکل ۲- تصاویر برش عرضی ساقه سس. در هر ردیف دو تصویر اول مربوط به ساقه سس و تصویر سوم (سمت راست) ارتباط سس با میزبان را نشان می‌دهد (مقیاس تصاویر در ستون اول و سوم ۰/۲ میلی‌متر، در ستون دوم ۰/۱ میلی‌متر).

C. campestris: M-O ؛ *C. epithymum*: J-L ؛ *C. brevistyla*: G-I ؛ *C. kotschyana*: D-F ؛ *C. babylonica*: A-C



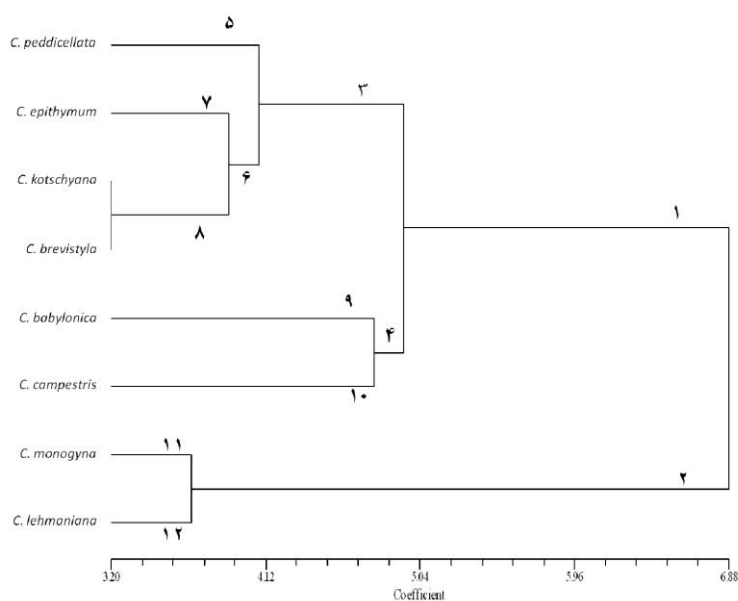
ادامه شکل ۲- ... P-R: *C. pedicellata*; S-U: *C. monogyna*; V-X: *C. lehmanniana*



شکل ۳- نمودار حاصل از آنالیز PCA در ابعاد (۲و) و (۳و) با استفاده از صفات تشریحی ساقه. \square : *C. epithymum*; \circ : *C. campestris*; \blacksquare : *C. brevistyla*; $+$: *C. babylonica* var. *babylonica*; \times : *C. kotschyana*; \triangle : *C. monogyna*; \blacklozenge : *C. lehmanniana* var. *lehmanniana*; \blacklozenge : *C. pedicellata*

C. brevistyla و *C. kotschyana* و در خوشه بعد (شماره ۴) *C. campestris* و *C. babylonica* var. *babylonica* در کنار هم قرار می‌گیرند. آنالیز خوشه‌ای تمایزی بین گونه‌های *C. brevistyla* و *C. kotschyana* قایل نشد (شماره ۸) در صورتی که در تحلیل PCA (شکل ۳) در طول PC2 این دو گونه به وضوح از هم تفکیک شدند.

آنالیز خوشه‌ای (شکل ۴) نیز که با روش UPGMA انجام شد نتایج آنالیز PCA را تأیید کرد. گونه‌ها در ابتدا در دو شاخه گروه‌بندی می‌شوند. *C. lehmanniana* و *C. monogyna* var. *lehmanniana* در شاخه پایین (شماره ۲) در کنار هم و سایر گونه‌ها در شاخه بالایی (شماره ۱) قرار می‌گیرند. در گروه بالایی در خوشه اول (شماره ۳) *C. pedicellata*، *C. epithymum*، *C. kotschyana*، *C. brevistyla*، *C. babylonica*، *C. campestris*، *C. monogyna* و *C. lehmanniana* قرار می‌گیرند.



شکل ۴- کلاودوگرام حاصل از تجزیه و تحلیل خوشه‌ای UPGMA با استفاده از صفات آناتومی ساقه سس

معتقد است که این مواد واقعاً کوتیکول نبوده، بلکه موادی هستند که از سلول‌های اپیدرمی به صورت مواد دفعی خارج می‌شوند.

مشاهده آناتومی مکینه و ارتباط سس با گیاه میزبان در گونه‌های مطالعه شده، تفاوت چندانی را نشان نمی‌دهد. در همه گونه‌ها مکینه از سلول‌های پارانشیمی نسبتاً بزرگی تشکیل شده که معمولاً تا بافت آبکش میزبان نفوذ می‌کنند و دستجات آوندی سس را به دستجات آوندی میزبان پیوند می‌دهد. فقط در گونه

بحث و نتیجه‌گیری

بیشتر بررسی‌هایی که تاکنون روی آناتومی سس انجام شده است فرآیندهای قسمت اندوفیت را نسبت به قسمت دیگر مکینه شرح می‌دهند. به علاوه، برخی از پژوهش‌ها در مورد مکینه فوقانی با هم تناقض دارند؛ برای نمونه Weinert و Barckhaus (۱۹۷۵) در مطالعه‌ای نشان دادند، موادی که بین سس و میزبان قرار می‌گیرند، شامل قطعاتی از کوتیکول هستند که از اپیدرم جدا شدند. اما Heide-Jorgensen (۱۹۸۷)

فاصله با سلول‌های پارانشیم مغز پر می‌شود. به نظر می‌رسد که این شکاف در بین دستجات به دلیل نسبت قطر ساقه به حجم مکینه باشد. در این گونه‌ها ساقه بسیار نازک بوده، مکینه نسبت به قطر ساقه، حجم نسبتاً زیادی دارد که در *C. lehmanniana* var. *lehmanniana* و *C. monogyna* این وضعیت به چشم نمی‌خورد. همچنین، دو گونه *C. lehmanniana* var. *lehmanniana* و *C. monogyna* با صفاتی نظیر تعداد لایه‌های چوب و آبکش و ضخامت آنها، به لحاظ تشریحی از یکدیگر جدا می‌شوند. در وارسته *C. lehmanniana* var. *lehmanniana* ضخامت و تعداد لایه‌های چوب بیشتر اما تعداد لایه‌ها و ضخامت بافت آبکش کمتر از گونه *C. monogyna* است.

تاکسون‌های *C. babylonica* var. *babylonica*، *C. kotschyana*، *C. epithymum*، *C. brevistyla* و *C. pedicellata* متعلق به زیرجنس *Cuscuta* هستند، که *C. babylonica* var. *babylonica*، *C. brevistyla* و *C. epithymum* در بخش *Cuscuta* و *C. kotschyana* و *C. pedicellata* در بخش *Epistigma* قرار می‌گیرند که تقریباً در تحلیل PCA (شکل ۳-۱) این قرابت قابل تشخیص است (این تاکسون‌ها همراه با گونه *C. campestris* در طول PC1 در یک راستا قرار می‌گیرند).

گونه *C. campestris* در زیرجنس *Grammica* قرار دارد. این گونه در تحلیل خوشه‌ای نیز در کنار *C. babylonica* var. *babylonica* قرار می‌گیرد. نزدیکی دو گونه اخیر احتمالاً به دلیل شباهت صفات کمی نظیر قطر مقطع عرضی ساقه، فاصله بین دستجات آوندی و ضخامت پارانشیم پوست است. همچنین، در

C. kotschyana آوندهای سس در هنگام نفوذ مکینه به میزبان یک نظم افقی پیدا می‌کنند و سپس از نزدیک‌ترین دسته آوندی، آوندها در مکینه به سمت میزبان امتداد می‌یابند (شکل ۲، D-F). در حالی که در سایر گونه‌ها در زمان نفوذ مکینه به میزبان طرز قرارگیری آوندها تقریباً به هم می‌خورد.

گونه‌های *C. lehmanniana* var. *lehmanniana* و *C. monogyna* متعلق به زیرجنس *Monogyna* از نظر مورفولوژیکی نیز تفاوت مشخصی را با سایر گونه‌ها نشان می‌دهند. دارای ساقه‌های قطورتر به رنگ قرمز تا قهوه‌ای تیره هستند. در نمودار حاصل از PC1 و PC2 (شکل ۳) این دو گونه به وسیله صفاتی نظیر: قطر مقطع عرضی، تعداد و نوع دستجات آوندی، ضخامت پارانشیم مغز، ضخامت بافت چوب و بافت آبکش، در سمت راست نمودار از سایر گونه‌ها جدا می‌شوند. در *C. lehmanniana* var. *lehmanniana*، طول مقطع عرضی، ضخامت پارانشیم مغز، ضخامت و تعداد لایه‌های بافت چوب و بافت آبکش اندکی بیشتر از *C. monogyna* است. این جدایی در تحلیل خوشه‌ای (شکل ۴) نیز تأیید شد. تاکسون‌های *C. pedicellata*، *C. brevistyla*، *C. kotschyana*، *C. epithymum* و *C. babylonica* var. *babylonica* در طول PC1 (شکل ۳) در سمت چپ نمودار قرار گرفتند. مهم‌ترین صفتی که باعث این تجمع شده است نوع دستجات آوندی است. در ساقه این تاکسون‌ها برخلاف *C. lehmanniana* var. *lehmanniana* و *C. monogyna*، دستجات آوندی به صورت collaterally closed نبوده، بین آنها فاصله وجود دارد (این حالت haustorium gap نامیده می‌شود). این

می تواند در تفکیک این دو گونه مؤثر باشد، صفت تعداد دستجات آوندی است. در *C. epithymum* تعداد دستجات آوندی تنها به چهار عدد می رسد، آوندهای آبکش بسیار کم و نامشخص هستند و حتی در مطالعه Toma و همکاران (۲۰۰۵) آورده شده است که در این گونه دایره محیطیه و اندودرم وجود ندارد. به نظر می رسد در این مورد اشتباه کرده است چون به طور کلی در سس به دلیل وجود اندام مکینه، دستجات آوندی نظم مشخصی ندارند و همچنین تشخیص اندودرم نیز بسیار مشکل است. در گونه *C. brevistyla* تعداد دستجات آوندی بیشتر است و دایره محیطیه از اندودرم به خوبی قابل تشخیص است، اما این دو گونه در طول سومین محور اصلی (شکل ۳-۳) با صفت تعداد دستجات آوندی جدایی خوبی را نشان می دهند که توسط تحلیل خوشه‌ای نیز تأیید می گردد.

دو گونه *C. pedicellata* و *C. kotschyana* متعلق به بخش *Epistigma* هستند و این نزدیکی در شکل ۳-۳ نیز دیده می شود. از تفاوت‌های این دو گونه می توان گفت که در *C. pedicellata* ضخامت پارانشیم پوست بیشتر و تعداد دستجات آوندی کمتر از گونه *C. kotschyana* است. جدایی این دو گونه در طول سومین محور اصلی در شکل ۳-۳ با این صفات تأیید می شود.

به طور کلی، به نظر می رسد که مطالعه آناتومی ساقه سس تفاوت‌هایی را در سطح گونه نشان می دهد که در جدایی تاکسونومیک گونه‌های آن بسیار مفید است. این صفات به جدایی گونه‌هایی که شباهت‌های مورفولوژی زیادی با یکدیگر دارند نیز کمک می کند.

این دو گونه، دستجات آوندی نسبت به سایر تاکسون‌هایی که در تحلیل PCA (شکل ۳) در سمت چپ قرار گرفتند، آرایش منظم تری دارند. در ساقه *C. campestris* پس از اپیدرم، چند لایه سلولی (آبی رنگ) وجود دارد که ضخامت دیواره آنها تقریباً مانند ضخامت دیواره سلول‌های پارانشیمی (بنفش رنگ) است که بعد از آنها قرار گرفتند. به نظر می رسد که این سلول‌ها به سمت کلانشیمی شدن می روند. حتی برای اطمینان از صحت نتایج، در این مطالعه مقاطعی از این گونه با روش رنگ آمیزی سافرانین-فست گرین رنگ آمیزی شد، نتایج وجود چهار لایه سلولی را در حد فاصل بین سلول‌های اپیدرمی و پارانشیم پوست نشان داد که از نظر رنگ پذیری با سلول‌های ناحیه پوست متفاوت بودند. این سلول‌ها با رنگ آمیزی اخیر رنگ پذیری بهتری داشتند و به خوبی با فست گرین به رنگ سبز درآمده بودند، در حالی که سلول‌های پارانشیمی رنگ پذیری خیلی کمتری با فست گرین داشتند و می توان مانند شکل ۲-۳ M مرز مشخصی را بین این دو لایه سلولی مشاهده نمود. دو تاکسون *C. campestris* و *C. babylonica* var. *babylonica* در طول سومین محور اصلی (شکل ۳-۳) جدایی خوبی را نشان می دهند که با تحلیل خوشه‌ای (شکل ۴) نیز تأیید می گردد.

دو گونه *C. epithymum* و *C. brevistyla* که در صفات مورفولوژی نیز شباهت‌هایی به هم دارند (مانند رنگ گلبرگ، حالت گل و شکل گلبرگ)، در صفات آناتومیک نیز این نزدیکی را نشان می دهند. این دو گونه ساقه بسیار باریکی دارند و ضخامت پارانشیم پوستی در این دو گونه کم است. مهم‌ترین صفتی که

شرح کوتاهی از آناتومی گونه‌های بررسی شده

شبه کلانشیمی و سلول‌های پارانشیمی پوست)، طرز قرارگیری دستجات آوندی تقریباً منظم.

C. brevistyla: شکل مقطع عرضی ساقه دایره‌ای، قطر مقطع ساقه ۰/۴۹ میلی متر، دستجات آوندی در دو لایه قرار گرفته و تعداد آنها ۱۰ عدد، تعداد لایه‌های پارانشیم پوست ۳ لایه، ضخامت بسیار کم و حدود ۰/۰۴ میلی متر.

C. kotschyana: در مقطع عرضی ساقه بیضوی و دارای چین خوردگی، قطر مقطع ساقه ۰/۶۶ میلی متر، دارای سلول‌های پارانشیمی بزرگتری نسبت به سایر گونه‌ها، تعداد دستجات آوندی ۶ عدد.

C. pedicellata: در مقطع عرضی دایره‌ای شکل، قطر مقطع ساقه ۰/۶۸ میلی متر، ضخامت ناحیه مغز به طور مشخصی کم (۰/۰۶ میلی متر)، تعداد دستجات آوندی ۴ عدد.

C. epithymum: در مقطع عرضی تقریباً بیضوی، قطر مقطع ساقه ۰/۴۸ میلی متر، ضخامت ناحیه مغز به طور مشخصی کم (۰/۰۴۸ میلی متر)، تعداد دستجات آوندی ۴ عدد.

C. monogyna: شکل کلی مقطع عرضی ساقه بیضوی، قطر مقطع ساقه بیشتر از ۱/۵ میلی متر، دستجات آوندی به صورت collaterally closed، ضخامت بافت چوب ۰/۱۵ میلی متر، ضخامت بافت آبکش ۰/۱۲ میلی متر.

C. lehmanniana var. *lehmanniana*: شکل کلی مقطع عرضی ساقه بیضوی دارای کمی چین خوردگی، قطر مقطع ساقه بیشتر از ۱/۵ میلی متر، دستجات آوندی به صورت collaterally closed، ضخامت بافت چوب ۰/۲۵ میلی متر، ضخامت بافت آبکش ۰/۰۹ میلی متر.

C. babylonica var. *babylonica*: شکل مقطع عرضی ساقه دایره‌ای، قطر مقطع ساقه ۱/۰۷ میلی متر، ضخامت پارانشیم پوست ۰/۳ میلی متر، طرز قرارگیری دستجات آوندی منظم، ضخامت بافت چوب و آبکش بیشتر از ۰/۰۴ میلی متر.

C. campestris: شکل مقطع عرضی ساقه دایره‌ای، چین خورده، قطر مقطع ساقه بیشتر از ۰/۸ میلی متر، وجود دو نوع لایه سلولی در ناحیه پوست (سلول‌های

کلید شناسایی گونه‌های *Cuscuta* در استان‌های خراسان رضوی شمالی و جنوبی بر اساس صفات تشریحی

- ۱a. قطر مقطع ساقه بیشتر از ۱/۵ میلی متر، دستجات آوندی collaterally closed ۲
- ۱b. قطر مقطع ساقه کمتر از ۱/۵ میلی متر، دستجات آوندی non collaterally closed ۳
- ۲a. ضخامت بافت چوب ۰/۲۵ میلی متر، ضخامت بافت آبکش ۰/۰۹ میلی متر
C. lehmanniana var. *lehmanniana* ۲
- ۲b. ضخامت بافت چوب ۰/۱۵ میلی متر، ضخامت بافت آبکش ۰/۱۲ میلی متر *C. monogyna*
- ۳a. ضخامت پارانشیم پوست ۰/۳ میلی متر، قطر مقطع ساقه ۱/۰۷ میلی متر، ضخامت بافت چوب و آبکش بیشتر از ۰/۰۴ میلی متر *C. babylonica* var. *babylonica*

- ۳b. ضخامت پارانثیم پوست کمتر از ۰/۲۵ میلی متر، قطر مقطع ساقه کمتر از ۰/۹ میلی متر، ضخامت بافت چوب و آبکش کمتر از ۰/۰۳ میلی متر ۴
- ۴a. وجود دو نوع لایه سلولی در ناحیه پوست (سلول‌های شبه کلانشیمی و سلول‌های پارانثیمی پوست)، قطر مقطع ساقه بیشتر از ۰/۸ میلی متر *C. campestris*
- ۴b. وجود تنها سلول‌های پارانثیمی در ناحیه پوست، قطر مقطع ساقه کمتر از ۰/۷ میلی متر ۵
- ۵a. تعداد دستجات آوندی ۱۰ عدد، تعداد لایه‌های پارانثیم پوست ۳ لایه *C. brevistyla*
- ۵b. تعداد دستجات آوندی ۶ عدد یا کمتر، تعداد لایه‌های پارانثیم پوست بیشتر از سه لایه ۶
- ۶a. تعداد دستجات آوندی ۶ عدد *C. kotschyana*
- ۶b. تعداد دستجات آوندی ۴ عدد ۷
- ۷a. تعداد لایه‌های سلولی ناحیه پوست ۴ عدد، ضخامت پارانثیم مغز ۰/۰۶ میلی متر *C. pedicellata*
- ۷b. تعداد لایه‌های سلولی ناحیه پوست ۶ عدد، ضخامت پارانثیم مغز ۰/۰۴۸ میلی متر *C. epithimum*

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی بصیری تکنسین محترم آزمایشگاه سیستماتیک دانشکده مشهد که حمایت مالی این پژوهش را با پژوهانه شماره ۳/۱۷۰۷۰ قبل نمود همچنین، آقای علی اصغر مساعدت نمودند، قدردانی می‌نمایند.

منابع

- Bleischwitz, M., Albert, M., Fuchsbauer, H. L. and Kaldenhoff, R. (2010) Significance of Cuscutain, a cysteine protease from *Cuscuta reflexa*, in host-parasite interactions. *BMC Plant Biology* 10: 1-8.
- Dawson, J. H., Musselman, L. J., Wolswinkel, P. and Dorr, I. (1994) Biology and control of *Cuscuta*. *Review Weed Science* 6: 265-317.
- Dörr, I. (1990) Sieve elements in haustoria of parasitic angiosperms. In: Sieve elements—comparative structure (Eds. Behnke, H. D. and Sjolund, R. D.) 239-256. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York.
- Engelmann, G. (1859) Systematic arrangement of the species of the genus *Cuscuta*, with critical remarks on old species and descriptions of new ones. George Knapp Press, St. Louis.
- Garcia, M. A. and Martin, M. P. (2007) Phylogeny of *Cuscuta* subgenus *Cuscuta* (Convolvulaceae) based on nrDNA ITS and chloroplast *trnL* intron sequences. *Systematic Botany* 32: 899-916.
- Hassan, S. (1989) Morphological studies on some Convolvulaceae. Msc thesis, University of Ain Shams, Cairo, Egypt.
- Heide-Jorgensen, H. S. (1987) Changes in cuticle structure during development and attachment of the upper haustorium of *Cuscuta* L., *Cassytha* L., and *Viscum* L.. In: Parasitic flowering plants (Eds. Weber, H. C. and Forstreuter, W.) 319-334. Proceedings of the 4th Symposium on Parasitic Flowering Plants, Marburg, Federal Republic of Germany.
- Hibberd, J. M. and Jeschke, W. D. (2001) Solute flux into parasitic plants. *Journal of Experimental Botany* 52: 2043-2049.

- Hong, L., Shen, H., Chen, H., Li, L., Hu, X., Xu, X., Ye, W. and Wang, Z. (2011) The morphology and anatomy of the haustoria of the holoparasitic angiosperm *Cuscuta campestris*. *Pakistan Journal of Botany* 43: 1853-1859.
- Jeschke, W. D. and Hilpert, A. (1997) Sink-stimulated photosynthesis and sink-dependent increase in nitrate uptake: nitrogen and carbon relations in the parasitic association *Cuscuta reflexa-Ricinus communis*. *Plant, Cell and Environment* 20: 47-56.
- Kollmann, R. and Dörr, I. (1969) Strukturelle Grundlagen des zwischenzelligen Stoffaustausches. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 96: 117-132.
- Kujit, J. (1969) The biology of parasitic flowering plants. University of California Press, Berkeley.
- Lee, K. B. and Lee, C. D. (1989) The structure and development of the haustorium of *Cuscuta australis*. *Canadian Journal of Botany* 67: 2975-2982.
- Stefanovic, S., Krueger, L. and Olmstead, R. G. (2002) Monophyly of the Convolvulaceae and circumscription of their major lineages based on DNA sequences of multiple chloroplast loci. *American Journal of Botany* 89: 1510-1522.
- Ter Braak, C. J. F. and Šmilauer, P. (2002) CANOCO version 4.0: Reference manual and user's guide to Canoco for Windows. Wageningen, The Netherlands.
- Toma, C., Andronache, A. and Toma, I. (2005) Histo-anatomical investigations on some *Cuscuta* species. *Romanian Journal of Biology-Plant Biology* 49-50: 41-46.
- Van der Kooij, T., Krause, K., Dörr, I. and Krupinska, K. (2000) Molecular, functional and ultrastructural characterisation of plastids from six species of the parasitic flowering plant genus *Cuscuta*. *Planta* 210: 701-707.
- Vaughn, K. (2002) Attachment of the parasitic weed dodder to the host. *Protoplasma* 219: 227-237.
- Weinert, H., Barckhaus, R. H. (1975) Fortified synthesis of cutin at the contact-zones between *Cuscuta odorata* and *Pelargonium zonale*. *Cytobios* 13: 17-22.

A stem anatomical investigation of *Cuscuta* L. (Convolvulaceae) species in Khorassan provinces

Jamil Vaezi ^{1*}, Zahra Ranjbar ², Hamid Ejtehadi ² and Farshid Memariani ³

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

² Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

³ Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

Cuscuta is a common plant parasite and is able to attack several host species. Its haustoria could be penetrated into the phloem of host plant. In this study, the stem anatomy of six species and two varieties of *Cuscuta* (*Cuscuta campestris*, *C. monogyna*, *C. brevistyla*, *C. kotschyana*, *C. epithymum*, *C. pedicellata*, *C. lehmanniana* var. *lehmanniana* and *C. babylonica* var. *babylonica*) distributed in Khorassan provinces were investigated using the blue toluidine staining. Cross sections were provided by hand. Results showed that anatomical characters including stem diameter, position and distribution of vessels, number and size of vessels and number of parenchymatous layers were effective traits to taxonomically separate the species under study. Furthermore, the anatomical relationship between parasite and its host plant was examined.

Key words: *Cuscuta*, Parasite, Haustorium, Host, Blue toluidine staining