

مقایسه ویژگی های دانه گرده گونه گیاهی *Colutea gifana* Parsa با گونه های خویشاوند

فرزانه علیزاده^۱، جمیل واعظی^{۲*}، حمید اجتهادی^۳، فرشید معماریان^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی گیاهی گرایش سیستماتیک و اکولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- *دانشیار، سیستماتیک گیاهی مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- استاد، اکولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۴- استادیار، سیستماتیک گیاهی، گروه پژوهشی گیاه شناسی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
*نویسنده مسئول: vaezi@um.ac.ir

Comparison of pollen characteristics of *Colutea gifana* Parsa and its related species

Farzaneh Alizadeh¹ - Jamil Vaezi^{2,*} - Hamid Ejtehad - Farshid Memariani

¹MSc. Student, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

^{2,*}Associate Prof., Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

⁴Assistant Prof., Department of Botany, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

*Corresponding author: vaezi@um.ac.ir

ABSTRACT

Colutea gifana Parsa (Fabaceae) is an endemic species distributed in north-central parts of North Khorassan province, northeastern Iran. So far no palynological studies have been done on this species. In this study, pollen characteristics of *C. gifana* were investigated and compared with its related species including *C. buhsei* and *C. porphyrogramma* using light microscope and scanning electron microscope. Nine quantitative traits were evaluated for 20 pollens of each species. To perform univariate statistical analyses, the data matrix was first prepared and then the traits with significantly statistical differences were identified among the three species. These traits were then used in the Multi-dimensional scaling (MDS) analysis. The results obtained from the univariate and multivariate analyses showed a significant differentiation between the three species. In overall, the results showed that the pollen of the species is Prolate and Tricolporate with Perforate surface.

Keywords: Palynology, light microscope, scanning electron microscope, endemic, Khorassan, Fabaceae.

خلاصه

Colutea gifana Parsa از تیره Fabaceae گونه‌ای اندمیک (بومزاد) در استان خراسان شمالی در شمال شرق ایران می‌باشد. تاکنون هیچ‌گونه مطالعه کرده‌شناسی بر روی این گونه انجام نشده است. در این مطالعه، خصوصیات دانه‌گرده این گونه با گونه‌های خویشاوند آن شامل *C. buhsei* و *C. porphyrogramma* با استفاده از میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ الکترونی نگاره، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. ۹ صفت کمی در ۲۰ دانه‌گرده از هر گونه اندازه‌گیری شد. برای انجام آنالیزهای آماری تک متغیره، ابتدا ماتریس داده‌ها تهیه شد و سپس صفاتی که تفاوت معنی‌دار بین هر دو گونه از این سه گونه ایجاد می‌کنند، شناسایی شدند. صفات اندازه‌گیری شده‌ای که بین گونه‌ها تفاوت معنی‌دار نشان دادند، به‌منظور انجام آنالیز چند متغیره (MDS) مورد استفاده قرار گرفتند. ۹ صفت اندازه‌گیری شده، تفاوت معنی‌داری را بین این سه گونه نشان دادند و باعث تفکیک این سه گونه از یکدیگر شدند. نتایج نشان داد که شکل دانه‌گرده در این گونه‌ها بیضوی و کشیده (Prolate)، دارای سه شکاف و سه منفذ (Tricolporate) و سطح آن‌ها Perforate می‌باشد.

کلمات کلیدی: کرده‌شناسی، میکروسکوپ نوری، میکروسکوپ الکترونی نگاره، بومزاد، خراسان، Fabaceae.

۱. مقدمه

تیره باقلا (Fabaceae) سومین تیره بزرگ نهان‌دانگان پس از Compositae و Orchidaceae با حدود ۷۵۱ جنس و ۱۹۵۰۰ گونه می‌باشد [6] و در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها یافت می‌شود. بر اساس سیستم طبقه‌بندی APG IV (۲۰۱۶)، تیره باقلا به سه زیرتیره Caesalpinoideae, Mimosoideae و Faboideae (Papilionoideae) تقسیم می‌شود و سرده *Colutea* L. متعلق به زیرتیره Faboideae می‌باشد [2]. سرده *Colutea* شامل حدود ۲۸ گونه برگ‌ریز می‌باشد که در جنوب اروپا، شمال شرقی و شرق آفریقا و غرب و مرکز آسیا پیدا شده‌اند [4,5,11,12] و در ایران شامل ۹ گونه می‌باشد که ۵ گونه‌ی آن اندمیک ایران می‌باشند [3,4,8,9,14]. گونه *Colutea gifana* Parsa (دغدغک گیفانی) انحصاری استان خراسان شمالی در شمال شرق ایران می‌باشد [10] درختچه‌ای کوتاه با شاخه‌چه‌های جوان سبز مایل به زرد، بدون کرک و در حالت مسن‌تر خاکستری می‌باشد، دارای برگ‌های جفت و بدون کرک، گل‌آذین به طول متوسط ۱۸-۲۵ میلی‌متر، با ۴-۵ گل زردرنگ می‌باشد [1,4].

پروین و همکاران (۱۹۹۸) دانه‌گرده ۱۵۷ گونه متعلق به ۳۷ سرده از تیره Papilionoideae را از پاکستان بررسی کردند و ۱۰ نوع دانه‌گرده را شناسایی کردند که یکی از آن‌ها نوع *Colutea armata* می‌باشد که در آن دانه‌های گرده Tricolporate, Zonoaperturate و دارای شکل کشیده تا نیمه کشیده و تکتوم بیشتر Rugulate-fossulate یا Fossulate-rugulate و به‌ندرت Fossulate-Reticulate می‌باشد [13].

دو گونه‌ی دیگر از سرده *Colutea*، به نام‌های *C. porphyrogramma* Rech.f. و *C. buhsei* (Boiss.) Shap. در خراسان پراکندگی دارند. بین این سه گونه از لحاظ برخی صفات ریخت‌شناسی شباهت‌ها و تفاوت‌هایی وجود دارد. با توجه به اینکه گونه *C. gifana*، گونه‌ای اندمیک می‌باشد و تاکنون مطالعه‌ای بر روی آن صورت نگرفته است، بنابراین مقایسه دانه

گرده این ۳ گونه با استفاده از میکرو سکوپ نوری و میکرو سکوپ الکترونی نگاره، برای بررسی روابط تاکسونومیکی بین آنها ضروری به نظر می رسد.

۲. مواد و روش ها

برای مطالعه دانه گرده گونه های *C. gifana*، *C. buhsei* و *C. porphyrogramma* نمونه های تازه ای از رویشگاه های آنها طی دوره رویشی سال ۱۳۹۵ جمع آوری شد (جدول ۱). به منظور تعیین نقاط پراکندگی این گونه ها در استان های خراسان، از داده های هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد (FUMH) و منابع معتبر فلورستیک استفاده شد. این نمونه ها با استفاده از منابع مختلف از جمله فلورا ایرانیکا [16] شناسایی شدند. برای مطالعه دانه های گرده با میکرو سکوپ نوری از روش ارتمن (۱۹۶۰) استفاده شد [7]. برای مشاهده ی گرده ها با میکرو سکوپ نوری لام ها با استفاده از ژله گلیسرین حاوی رنگ سافرانین آماده سازی شد. سپس لام ها، با استفاده از میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی $100\times$ مشاهده و از دانه های گرده با دوربین مدل Olympus DP71 تصویربرداری شد و اندازه گیری ها به کمک نرم افزار DinoCapture 2.0 صورت گرفت. به منظور بررسی دانه های گرده با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)، ابتدا دانه های گرده از بساک ها جدا شد و به طور مستقیم بر روی سطح پیک های آلومینیومی ریخته و سپس طلا پوش شدند. تصاویر دانه های گرده با میکروسکوپ الکترونی مدل EDS (SC 7620 sputter coater-Au-pd) (England) SEM با بزرگنمایی $5000\times$ و $40000\times$ تهیه شد.

جدول ۱- فهرست اسامی گونه های مورد مطالعه، شماره هرباریومی، مختصات جغرافیایی، تاریخ و محل جمع آوری.

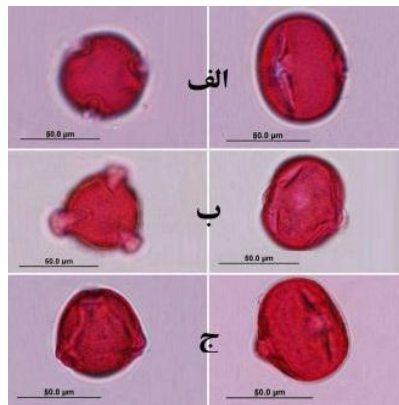
ردیف	نام علمی گونه	شماره هرباریومی	مختصات جغرافیایی	محل جمع آوری	جمع آوری کننده	تاریخ جمع آوری
۱	<i>C. gifana</i>	۹۳۲۷	N 37°37'42.8" E 57°23'54.9"	شمال شرق بجنورد، کیلومتر ۱۸ جاده گیغان از پتروشیمی، ۹۶۰ متر	معماریانی، بصیری، علیزاده	۹۵/۲/۵
۲	<i>C. buhsei</i>	۹۳۳۲	N 36°04'54.5" E 59°17'19.8"	دیزباد نیشابور، کیلومتر ۸۳ دیزباد از پلیس راه مشهد، ارتفاع ۱۷۸۹ متر	بصیری، رمودی	۹۵/۳/۱
۳	<i>C. porphyrogramma</i>	۹۳۳۳	N 37°37'48.1" E 57°23'49.6"	شمال شرقی بجنورد، کیلومتر ۱۸ جاده گیغان از پتروشیمی، ۹۳۱ متر	بصیری، علیزاده	۹۵/۲/۵

برای شناسایی دانه های گرده از سایت PalDat و واژه شناسی پانت و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد [15]. در این مطالعه ۹ صفت کمی بر روی ۲۰ دانه گرده از هر گونه اندازه گیری شد. برای انجام آنالیزهای آماری تک متغیره، ابتدا داده ها وارد نرم افزار IBM SPSS Statistics v23 شد. سپس جهت تعیین صفات کمی با توزیع نرمال یا غیر نرمال، چون صفات مورد نظر کمتر از ۲۰ تا بودند از آزمون شاپیرو-ویلک (Shapiro-Wilk test) استفاده شد و برای تعیین صفاتی که تفاوت معنی داری بین هر دو گونه از سه گونه مورد نظر نشان می دهند، چون تمامی صفات توزیع غیر نرمال داشتند از آزمون من-ویتنی (Mann-Whitney U Test) استفاده شد. در نهایت صفاتی که تفاوت معنی داری را بین سه گونه نشان دادند برای آنالیزهای آماری

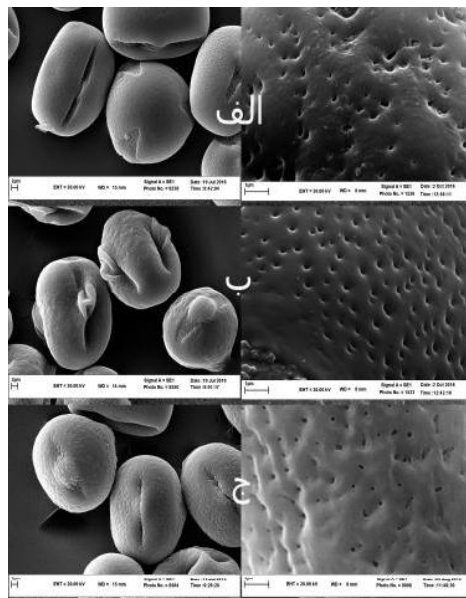
چند متغیره انتخاب شدند. آنالیز چند متغیره (MDS) Multi-dimensional scaling برای دستیابی به دید کلی در الگوی تنوع صفات گرده شناسی در بین سه گونه موردنظر استفاده شد. به منظور انجام آنالیز MDS، صفات اندازه گیری شده ای که بین گونه ها تفاوت معنی دار نشان دادند وارد نرم افزار Past شدند.

۳. نتایج و بحث

تصاویر میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره (شکل ۱ و شکل ۲) از دانه گرده *C. gifana* و دو گونه خویشاوند آن یعنی *C. buhsei* و *C. porphyrogramma*، نشان داد که شکل دانه گرده این گونه ها بی ضوی و کشیده (Prolate)، دارای سه شکاف و سه منفذ (Tricolporate) و سطح آن ها Perforate می باشد.



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ نوری دانه گرده (الف) *Colutea gifana*، (ب) *C. buhsei* و (ج) *C. porphyrogramma* با بزرگنمایی ۱۰۰x.

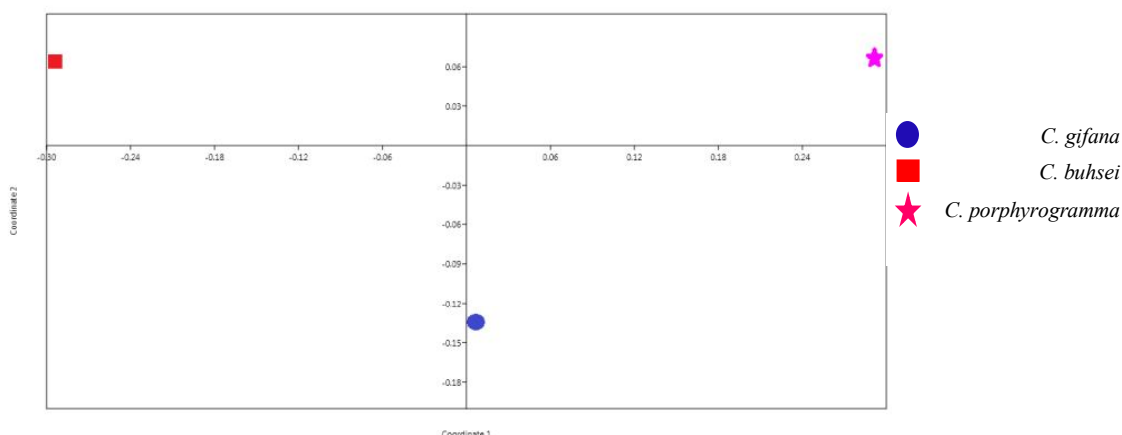


شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی دانه گرده (الف) *C. gifana*، (ب) *C. buhsei* و (ج) *C. porphyrogramma* (تصاویر سمت راست با بزرگنمایی ۴۰۰۰X و تصاویر سمت چپ با بزرگنمایی ۵۰۰X).

نتایج حاصل از آنالیز آماری تک متغیره من-ویتنی نشان داد که ۹ صفت کمی اندازه گیری شده (جدول ۲)، تفاوت معنی داری را بین این سه گونه نشان می دهند و نتایج حاصل از آنالیز چند متغیره MDS نشان داد که الگوی تنوع این ۹ صفت باعث تفکیک سه گونه مورد نظر از یکدیگر می شوند. (Error! Reference source not found.).

جدول ۲- صفات اندازه گیری شده در دانه گرده گونه های مورد مطالعه (اندازه ها بر حسب میکرومتر می باشد).

ردیف	صفات اندازه گیری شده	<i>C. gifana</i>	<i>C. buhsei</i>	<i>C. porphyrogramma</i>
۱	طول محور قطبی	۲۹/۵۹	۲۹/۴۹	۲۲/۰۲
۲	طول محور استوایی	۲۳/۲۹۵	۲۵/۴۱	۱۵/۴۷
۳	نسبت طول محور قطبی به استوایی	۱/۲۷	۱/۱۶	۱/۴۲
۴	ضخامت آگزین در نمای قطبی	۱/۲۹	۱/۲۵	۱/۲۱
۵	اندازه لومن ها	۰/۲۳	۰/۲۲	۰/۱۵
۶	میانگین فاصله بین لومن ها	۰/۵۹	۰/۴۲	۰/۶۴
۷	تعداد لومن ها در سطح گرده (بزرگنمایی X ۴۰۰۰۰)	۸۳	۱۰۷	۸۷
۸	نسبت ضخامت آگزین به طول محور قطبی	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۵
۹	نسبت ضخامت آگزین به طول محور استوایی	۰/۰۵	۰/۴۹	۰/۰۷



شکل ۳- نمودار رسته بندی MDS برای ۹ صفت گرده شناسی از سه گونه *C. porphyrogramma* و *C. buhsei*، *C. gifana*.

۴. منابع

- [۱] مظفریان، و. ا. (۱۳۸۳)، درختان و درختچه های ایران، چاپ فرهنگ معاصر، چاپ اول.
- [2] APG IV, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV (2016), Botanical Journal of the Linnean Society, 181, pp 105-121.

- [3] Boissier, E. (1872), Leguminosae, *Colutea* section II: *Oreophysa*, Flora Orientalis, 2, pp 196.
- [4] Browicz, K. (1984), *Colutea*, In: Rechinger, K.H. (eds), Flora Iranica, Papilionaceae II, Akademische Druck- u. Verlagsanstalt, Graz, Austria, 157, pp 68-79
- [5] Browicz, K. (1968), *Colutea*, In: Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burgess, N.A, Valentine, D.H., Walters, S.M. and Webb, D.A. (eds), Flora Europaea, Rosaceae to Umbelliferae, Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- [6] Christenhusz, M.J.M. and Byng, J.W. (2016), The number of known plants species in the world and its annual increase, Phytotaxa, Magnolia Press, 261(3), pp 201-217.
- [7] Erdtman, G. (1960), The acetolysis method: A revised description, Svensk, Botany, Tidskr, 54, pp 561-564.
- [8] Ghahremaninejad, F. and Ghahremani, M.A. (2008), *Colutea komarovii* (Fabaceae), a new record from NW Iran, Iranian Journal of Botany, 14(2), pp 102-104.
- [9] Kazempour Osaloo, S., Kazemi Nooreini, M., Maassoumi, A.A. and Rastegar Pouyani, E. (2006), Phylogenetic status of *Oreophysa microphylla* (Fabaceae-Galegeae) based on nrDNA (ITS region) and cpDNA (trnL intron/trnL-trnF intergenic spacer) sequences, Rostaniha, 7, pp 177-188.
- [10] Kiani, M., Zarghami, H., Tehranifar, A. and Memariani, F. (2010), Conservation of *Colutea gifana*, a rare and potential ornamental species, using in vitro method, Journal of Cell and Molecular Research, 2(2), pp 81-85.
- [11] Krussmann, G. (1984), Manual of Cultivated Broad-Leaved Trees and Shrubs, Vol. 1, A–D. Beaverton, OR: Timber Press.
- [12] Mabberley, D.J. (2008), The Plant-Book, Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- [13] Perveen, A. and Qaiser, A. (1998). Pollen Flora of Pakistan–VIII Leguminosae (Subfamily: Papilionoideae). Turkish Journal of Botany, 22: 73-97.
- [14] Pooyan, P., Ghahremaninejad, F. and Assadi, M. (2014), A synopsis of the genus *colutea* (Fabaceae) in Iran, Edinburgh journal of botany, 71(1), pp 35-49.
- [15] Punt, W., Blackmore, S., Nilsson, S. and Thomas, A.L. (2007), Glossary of pollen and spore terminology, Review of Palaeobotany and Palynology, 143, pp 1-81.
- [16] Rechinger, K.H. (Ed.), (1963–2015), Flora Iranica, vol. 1–181, Akademische Druck- u. Verlagsanstalt, Graz; vol. 175, Akademische Verlagsgesellschaft, Salzburg, vol. 176–181, Verlag des Naturhistorischen Museums, Wien.