

Pollen Morphology & Endocarp Studies of *Rhamnus cathartica* L., and *Rhamnus pallasii* Fisch. & C. A. Mey (Rhamnaceae) in North of Iran

Ali Sattarian^{1*}, Samaneh Mahdiyani², Meisam Habibi³

¹ Department of Biology, Faculty of Science, University of Gonbad-e- Kavous, Gonbad-e- Kavous, Iran

² Department of Biology, Faculty of Science, University of Gonbad-e- Kavous, Gonbad-e- Kavous, Iran

³ Department of Biology, Faculty of Science, University of Gonbad-e- Kavous, Gonbad-e- Kavous, Iran

Abstract

Pollen morphology of *Rhamnus pallasii* and *Rhamnus cathartica* from the family of Rhamnaceae in North of Iran was examined under LM and SEM. Polar axis (P). Equatorial axis (E) and P/E were measured under LM. Exile ornamentation and endocarps of seeds were observed by scanning electron microscope. Based on pollen data, *Rh.pallasii* the shape is spheroidal and subtriangular in polar view; moreover, subprolate and tricolprate shapes were observed in equatorial view. Ornamentation of exine was obscure or indistinctly reticulate in *Rh. pallasii* subsp. *iranica* and *Rh. X spathulifolia*. Fruit of examined species was dropped with 2-3 seeds. All seeds were presented in ovate shape with light-brown color. Ornamentation of endocarp was foveolate and promaninted spotty. The biggest seed was presented in *Rh. Pallasii* and the smallest was observed in *Rh. Pallasii* subsp. *.Pallasii*. The results of current research showed that ornamentation of exine is a valuable taxonomic character in the examined species; in addition, endocarp of seeds was to a great extent similar.

Key words: Rhamnaceae, *Rh. cathartica* , *Rh.pallasii*, Iran, Endocarp, Palynology.

* sattarian.ali@gmail.com

بررسی گرده‌شناسی و ریزریخت‌شناسی سطح اندوکارپ دانه دو گونه تنگرس

Rhamnus pallasii Fisch. & C. A. Mey. و *Rhamnus cathartica* L.

از تیره Rhamnaceae در شمال ایران

علی ستاریان^{۱*}، سمانه مهدیان^۲، میثم حبیبی^۳

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
^۳ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

چکیده

در پژوهش حاضر، دو گونه *Rhamnus cathartica* و *Rhamnus pallasii* از تیره Rhamnaceae در شمال ایران از نظر ریزریخت‌شناسی سطح دانه و گرده‌شناسی بررسی شدند. ویژگی‌هایی از جمله محور قطبی (P)، محور استوایی (E) و نسبت طول محور قطبی به طول محور استوایی (P/E) گرده با میکروسکوپ نوری، شکل کلی دانه گرده در نمای قطبی و استوایی، تزئینات سطح آگزین و سطح اندوکارپ (درون بر میوه) دانه با عکس برداری میکروسکوپ الکترونی (SEM) بررسی شدند. نتایج نشان دادند شکل عمومی دانه گرده گونه *Rh. pallasii* از دید قطبی کروی Spheroidal تا سه گوش Subtriangular و از دید استوایی subprolate، سه‌شیاره (tricolporate) و دارای پل‌های عرضی استوایی در محل شیارهاست. تزئینات خارجی در زیر گونه *Rh. pallasii* subsp. *sintensisii* مشبک توخالی با ابعاد متفاوت، در زیر گونه *Rh. pallasii* subsp. *iranica* مشبک پر با سطح صاف و در *Rh. × spathulifolia* مشبک و میزان تراکم شبکه‌ها کم است. در تمام تاکسون‌های فروگونه‌ای، میوه شفت شامل ۲ تا ۳ دانه، دانه تخم‌مرغی شکل به رنگ قهوه‌ای روشن و تیره، دارای یک شیار در سطح شکمی و تزئینات سطح آن Foveolate (دارای چاله‌های آبله‌گون و برجستگی‌های نامنظم) است. بزرگ‌ترین دانه در گونه *Rh. pallasii*، طولانی‌ترین شیار در زیر گونه *Rh. pallasii* subsp. *pallasii*، کوچک‌ترین دانه در زیر گونه *Rh. pallasii* subsp. *sintensisii*، کوتاه‌ترین شیار در *Rh. × spathulifolia* و گونه *Rh. cathartica* و بزرگ‌ترین دانه در وارسته *Rh. cathartica* var. *cathartica* مشاهده شد. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند تزئینات سطحی دانه گرده برای جداسازی زیرگونه‌ها و وارسته‌ها مفید است و طبقه‌بندی کلاسیک در مورد زیرگونه یا بخش را تأیید می‌کند؛ ازسویی، اندوکارپ دانه صفت تاکسونومیک مناسبی برای تقسیم‌بندی زیرگونه‌ها نیست و صفتهای بررسی شده بین تاکسون‌ها بسیار مشابه هستند.

واژه‌های کلیدی: Rhamnaceae، *Rh. cathartica*، *Rh. pallasii*، ایران، سطح اندوکارپ دانه، گرده‌شناسی.

* sattarian.ali@gmail.com

8. *Rh. minuta* Grub.

Rh. × *spathulifolia* Fisch. & C. A. Mey.,
Ind. Sem. Hort. Petrop.

تابه حال بررسی علمی جامعی درباره جمعیت‌های گونه‌های این سرده انجام نشده است. نگاهی دقیق به مجموعه منابع یادشده نشان می‌دهد از بین گونه‌های سرده *Rhamnus* دو گونه *Rh. cathartica* L. و *Rh. pallasii* Fisch. & C. A. Mey. پراکنش جغرافیایی وسیع و تنوع درون‌گونه‌ای پیچیده‌ای در ایران دارند (Soufiyan and dinarvand, 2007). گسترش این دو گونه عمدتاً در مناطق دامنه استپی - خشک، پوشیده از بوته، جنگل‌های خشک پهن‌برگ، رودخانه‌های شیب‌دار، دامنه‌های صخره‌ای، تپه‌ها و کوهپایه‌ها، شکاف سنگ و دیواره دره از ارتفاع ۱۰۰۰ تا ۱۷۰۰ متر است (Shishkin and Bobrov, 1974). در مجموعه فلورهای ایران، دو وارینه *Rh. cathartica* var. *caucasica* و *Rh. cathartica* var. *cathartica* Kusn., Bull بر اساس وضعیت کرک در شاخه‌ها، دم‌برگ‌ها و برگ‌ها برای گونه *Rh. Cathartica* و سه زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *pallasii* (Rech. f.) Browicz & J. Zielinski. و *Rh. pallasii* subsp. *sintensisii* (Rech. f.) Browicz & J. Zielinski. (Hauskn, in Bornm.) و *Rh. pallasii* subsp. *iranica* J. Zielinski. با توجه به تنوع شکل و اندازه برگ‌ها و رنگ شاخه‌های مسن برای *Rh. pallasii* تشخیص داده شده‌اند و به *Rh. × spathulifolia* اشاره شده که هیبریدی از دو گونه یادشده است (Browicz and Zielinski, 1977; Soufiyan and Dinarvand, 2007). مطالعه‌های بسیاری نشان داده‌اند صفت‌های ریزریخت‌شناسی سطح دانه و گرده‌شناسی کارایی بسیاری در تاکسونومی دارند. علم گرده‌شناسی ابزار مناسبی در پژوهش‌های

مقدمه

تنگرس با نام علمی *Rhamnus* L. یکی از بزرگ‌ترین و اصلی‌ترین سرده‌های خانواده Rhamnaceae است (Mabberley, 1987) که حدود ۱۰۰ تا ۱۲۵ گونه با پراکنش در مناطق گرمسیری تا معتدل جهان و نیمه‌کاره‌ای نیمکره شمالی دارد (Kurylo et al., 2007). این گیاه به‌طور عمده بومی شرق آسیا و شمال آمریکاست و به‌شکل محلی در نیمه گرمسیری نیمکره جنوبی، در بخش‌هایی از آفریقا و جنوب آمریکا دیده می‌شود. بر اساس فلور ایران، ۸ گونه از این سرده در مناطق زاگرسی ایران و تورانی و خزری انتشار دارند (Soufiyan and dinarvand, 2007) که از نظر شکل رویشی درختان کوتاه، درختچه، اغلب خاردار و به‌ندرت علفی هستند. بررسی منابع فلورهای ایران و کشورهای هم‌جوار اختلاف نظر گیاه‌شناسان در تعیین روابط بین‌گونه‌ای و تعداد گونه‌های این تاکسون را نشان می‌دهد؛ به‌طوری‌که Boissier (۱۸۷۲) در فلورا اورینتالیس (فلور شرق) ۲۵ گونه (۶ گونه برای ایران)، Shishkin و Bobrov (۱۹۷۴) در فلور روسیه U.S.S.R (شوروی سابق) ۱۹ گونه (۵ گونه در ایران)، Browicz و Zielinski (۱۹۷۷) در فلورا ایرانیکا ۶ گونه و ۱ هیبرید در ایران و Mobayen (۱۹۹۵) در رستنی‌های ایران ۶ گونه برای این سرده معرفی کرده‌اند. در مطالعه‌های اخیر، Soufiyan و Dinarvand (۲۰۰۷) این سرده را به ۸ گونه و ۱ هیبرید در ایران رده‌بندی کرده‌اند؛

1. *Rh. cornifolia* Boiss. & Hohen.
2. *Rh. cathartica* L.
3. *Rh. pallasii* Fisch. & C. A. Mey.
4. *Rh. kurdica* Boiss. & Hohen.
5. *Rh. persica* Boiss.
6. *Rh. prostrata* Jacquem.
7. *Rh. oleoides* L.

رسیده قرمز تا سیاه رنگ، دانه‌ها ۲ تا ۴ عدد، به قطر ۲ تا ۴ میلی‌متر و دارای شیار پشتی و به رنگ زرد استخوانی است (Soufiyan and dinarvand, 2007). جوانه‌زدن دانه بیرون خاک (Mozaffarian, 2004) و رویش دانه *Epige* است (Mobayen, 1995). هدف پژوهش حاضر، بررسی ریزریخت‌شناسی زیرگونه‌های مختلف دو گونه مورد مطالعه و دستیابی به تفاوت‌های ریخت‌شناسی برای تفکیک زیرگونه‌ها با توجه به دانه گرده و سطح اندوکارپ دانه و مطالعه روابط بین گونه‌ای است.

روش کار

به منظور انجام بررسی‌های ریزریخت‌شناسی درباره جمعیت‌های گوناگون دو گونه *Rh. pallasii* و *Rh. cathartica* متعلق به جنس *Rhamnus L.* در ایران (شمال، شمال‌غرب، غرب، مرکز و شرق) با توجه به بیشترین پراکنش، نمونه‌ها از عرصه‌های انتشار طبیعی در نقاط مختلف شمال کشور (از محدوده گردنه حیران تا پارک ملی گلستان) طی سال ۹۴-۱۳۹۳ جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده در هرباریوم دانشکده علوم پایه دانشگاه گنبد کاووس (GKUH) نگهداری می‌شوند. برای تکمیل بررسی به‌ویژه در شرایط فقدان برخی نمونه‌ها یا کمبود آنها در رویشگاه‌های مختلف، از نمونه‌های هرباریوم ایستگاه پژوهش‌های اکولوژیک نوشهر استفاده شد (جدول‌های ۱ و ۲). شناسایی نمونه‌ها بامراجعه به فلور شرق (Boissier, 1872)، فلور روسیه (شوروی سابق) (Shishkin and Bobrov, 1974)، فلورا ایرانیکا (Browicz and Zielinski, 1977)، فلور ایران (Soufiyan and dinarvand, 2007) و کتاب رستنی‌های ایران (Mobayen, 1995) انجام شد. در

تاکسونومی گیاهی برای تعیین روابط خویشاوندی گیاهان است و برای تشخیص و تعیین تمایز خانواده‌ها، تاکسون‌ها، گونه‌ها و حتی زیرگونه‌ها استفاده می‌شود (Erdtman, 1952). برخی گونه‌های تیره *Rhamnaceae* و جنس *Rhamnus* از دیدگاه گرده‌شناسی مطالعه شده‌اند. نخستین بار Erdtman (۱۹۵۲) الگوی ریخت‌شناسی دانه گرده را به‌طور علمی بررسی کرد. Papagiannes (۱۹۷۴) گرده بسیاری از جنس‌های خانواده *Rhamnaceae* را با میکروسکوپ الکترونی بررسی کرد. El-Ghazaly (۱۹۹۱) ریخت‌شناسی دانه گرده خانواده *Rhamnaceae* را در کشور قطر مطالعه کرد. مطالعه ریخت‌شناسی گرده ۲۵ گونه از این تیره در چین با میکروسکوپ نوری LM و میکروسکوپ الکترونی SEM انجام شد و بررسی‌ها نشان دادند شکل عمومی دانه گرده نیم‌بیضی، سه‌ضلعی یا مثلثی شکل در منظر محور قطبی و سه‌شیاره با تزیینات اگزین مشبک است (Zhang Yu-Long, 1992). Naimat و همکاران (۲۰۱۲) ریخت‌شناسی دانه گرده برخی گونه‌های جنس‌های منتخب خانواده *Rhamnaceae* را مطالعه و شکل سطح اگزین، ریخت‌شناسی دانه گرده و نسبت طول محور قطبی به طول محور استوایی (P/E) را به‌عنوان صفت‌های مهم و ابزاری برای رده‌بندی بین‌گونه‌ای استفاده کردند؛ آنها نتیجه گرفتند اندازه، شکل و ریخت‌شناسی دانه گرده جنس و گونه‌های مختلف این خانواده به‌طور درخور توجهی متفاوت است. تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر پژوهش درباره ریخت‌شناسی دانه گرده و سطح اندوکارپ (درون‌بر میوه) دانه دو گونه مورد مطالعه منتشر نشده است. سرده *Rhamnus* از نظر ریخت‌شناسی دارای میوه شفت کروی تا بیضی‌شکل، در حالت

نوری بررسی شد. در نهایت، از دید قطبی و استوایی به طور میانگین ۲۰ عدد دانه گرده از هر زیرگونه با دوربین دیجیتال عکس تهیه شد. اندازه گیری با نرم افزار Image Tools ver 3.0 انجام شد.

میکروسکوپ SEM امکان تهیه تصویر سه بعدی را فراهم می کند؛ این امر برای تشخیص شکل دانه گرده بسیار باارزش است. وضوح بسیار خوب میکروسکوپ الکترونی ممکن است امکان مشاهده اشکالی را فراهم کند که با میکروسکوپ نوری دیده نمی شوند (Major, 1986). برای مطالعه تزیینات سطح دانه گرده با میکروسکوپ الکترونی، گل های سالم و رسیده گونه های مورد مطالعه جمع آوری و بساک ها با سوزن پنس زیر لوپ باز شدند و دانه های گرده به سوزن چسبیدند. استاپ ها به اندکی چسب آغشته شدند و سپس مقدار زیادی گرده روی استاپ ها قرار گرفتند. پس از آن، استاپ ها در دستگاه لایه نشان گذاشته و پس از ۱۵ دقیقه از دستگاه خارج شدند و داخل دستگاه SEM، مدل VEGA// TESCAN-LMU با ولتاژ ۱۵ و ۲۲ کیلوولت در مرکز پژوهش متالورژی رازی تهران بررسی شدند. تصویربرداری از دانه های گرده با بزرگ نمایی های متفاوت انجام شد. پس از اندازه گیری صفت های یاد شده، تعیین طبقه، اندازه و شکل دانه گرده بر اساس طبقه بندی Erdtman (۱۹۴۳) انجام شد.

بررسی حاضر، روش Erdtman (۱۹۴۳) برای استولیز دانه های گرده استفاده شد.

به منظور تهیه دانه گرده، یک گل سالم و مناسب از هر بوته انتخاب و زیر استریومیکروسکوپ، پرچم ها از سایر قسمت های گل جدا شدند. برای جلوگیری از آلودگی به گرده های سایر گیاهان سعی شد بساک هایی انتخاب شوند که شکوفا نشده باشند. سپس بساک ها داخل آب مقطر و با نوک سوزن شکافته شدند تا گرده ها در آب پخش شوند و در مرحله بعد، از صافی عبور داده شدند. دانه های گرده به میکروتیوب های ۰/۵ میلی لیتری منتقل و به ترتیب با آب مقطر و استیک اسید گلاسیال طی سه مرحله و هر مرحله به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از آن، محلول استولیز (۹ قسمت انیدریک اسید: ۱ قسمت سولفوریک اسید) به هر لوله اضافه و لوله تا زمان قهوه ای شدن محلول در دستگاه بنماری قرار داده شد؛ سپس به ترتیب دو مرحله با استیک اسید و الکل، یک مرتبه با آب مقطر و در نهایت با محلول (نسبت ۱ به ۱ گلیسرین با آب مقطر) سانتریفیوژ شد. پس از آن، مواد داخل لوله دور ریخته شد و قطعه کوچکی از گلیسرین ژلی به رسوبات ته لوله سانتریفیوژ آغشته شد، روی لام گذاشته و حرارت داده شد و سپس با عدسی شیئی ۱۰۰ میکروسکوپ

جدول ۱- لیست گونه ها و جمعیت های مطالعه شده در مطالعه های گرده شناسی

مشخصات هر بار یومی	محل جمع آوری	نام گونه	ردیف
802521-GKUH	گلستان، محور آزادشهر به شاهرود، ۳۵ کیلومتری خوش بیلاق، ۶۸۱ متر، مهدی یانی، کسلخه	<i>Rh. pallasii</i> subsp. <i>sintenisi</i>	۱
802538-GKUH	گلستان، ۹۰ کیلومتری گنبد کاووس، اطراف زیارتگاه خالدنپی، ۵۶۸ متر، مهدی یانی، کسلخه	<i>Rh. pallasii</i> subsp. <i>iranica</i>	۲
802618-GKUH	مازندران، بابلسر، روستای میررود، ۶ متر، حبیبی	<i>Rh. × spathulifolia</i>	۳

ION COATER منتقل شدند. نمونه‌ها با میکروسکوپ الکترونی SEM مدل PEMTRON با ولتاژ ۱۵ و ۲۲ کیلوولت تصویربرداری شدند. سپس طول و عرض بذر و طول شیار با نرم‌افزار Image tools ver 3.0 اندازه‌گیری شد.

برای مطالعه سطح اندوکارپ، ابتدا میوه‌ها در آب قرار داده شدند و دانه‌ها جدا و شسته شدند و پس از خشک شدن به روش مرسوم آبگیری، روی صفحه‌های مخصوص (stage) چسبانده شدند. بذرها پس از ثابت شدن روی پایه به منظور طلااندود شدن به دستگاه

جدول ۲- لیست گونه‌ها و جمعیت‌های بررسی شده از نظر ریخت‌شناسی اندوکارپ میوه

ردیف	نام گونه	محل جمع‌آوری	ویژگی‌های هر بارئومی
۱	<i>Rh. pallasii</i> subsp. <i>pallasii</i>	گیلان، لوشان به جیرنده، روستای بیورزین، نزدیک امامزاده حنفیه، ۱۰۲۰-۱۰۰۵ متر، مهدی یانی، حبیبی	802592-GKUH
۲	<i>Rh. pallasii</i> subsp. <i>sintensisii</i>	گلستان، محور آزادشهر به شاهرود، ۳۵ کیلومتری خوش‌یلاق، ۱ کیلومتری روستای نرگس چال، ۵۷۱ متر، مهدی یانی، حبیبی، کسلخه	802628-GKUH
۳	<i>Rh. pallasii</i> subsp. <i>iranica</i>	مازندران، رویان، ۲۰ کیلومتری گلندرود، ۵۲۸ متر، مهدی یانی، حبیبی	802613-GKUH
۴	<i>Rh. × spathulifolia</i>	مازندران، بابلسر، روستای میررود، ۶- متر، مهدی یانی، حبیبی، کسلخه	802618-GKUH
۵	<i>Rh. cathartica</i> var. <i>cathartica</i>	مازندران، نوشهر، منطقه کجور بعد از کندلوس- نیچکوه، ۲۲۰۰ متر، امینی، زارع	3639-HNBNB
۶	<i>Rh. cathartica</i> var. <i>caucasica</i>	مازندران، رامسر، اشکوارات، پوده، ۱۹۰۰-۱۷۰۰ متر، امینی، زارع	3641-HBNG

نتایج

نتایج مطالعه‌های گرده‌شناسی

در مطالعه حاضر، صفت‌هایی مانند طول محور قطبی (P)، قطر استوایی (E)، نسبت P/E، طول شیار، عرض شیار و ضخامت آگزین اندازه‌گیری شدند. نتایج اندازه‌گیری‌ها در جدول (۳) ارائه شده است.

Rh. pallasii subsp. *sintensisii*: دانه‌های گرده از دید استوایی بیضوی شکل تا حدودی کروی و از دید قطبی کروی و سه‌لویی هستند. نسبت P/E بر اساس روش استولیز ۱/۱۷ میکرومتر، subprolate و بر اساس میکروسکوپ الکترونی SEM ۱/۷۶ میکرومتر، prolate است. تیپ گرده‌ای سه‌شیاره (tricolporate)، جورقطب (isopolar) با تقارن شعاعی

(radiosymmetric) است. شیارها در محور استوایی کشیده و ۷۲ درصد محور قطبی را تشکیل داده‌اند. عرض شیارها به طور متوسط ۳/۸۳ میکرومتر است. شیار طویل و در انتها تیز و دارای عمق زیاد است. در میانه گرده، پل‌های عرضی استوایی در شیارها تشکیل شده‌اند که کاملاً مشخص هستند. کل ضخامت آگزین ۱/۳۰ تا ۱/۸۰ میکرومتر است و دارای تزئینات خارجی مشبک توخالی با ابعاد متفاوت و فرورفتگی و برآمدگی است؛ به طوری که برجستگی‌هایی توسط شبکه در قسمت آگزین دیده می‌شوند (شکل ۱، A1 و A2 و شکل ۲، A1-A4)

Rh. pallasii subsp. *iranica*: دانه‌های گرده از دید استوایی بیضوی شکل و از دید قطبی سه‌گوش و سه‌لویی،

هستند. نسبت P/E بر اساس روش استولیز ۱/۱۸ میکرومتر، subprolate و بر اساس میکروسکوپ الکترونی SEM ۱/۷۱ میکرومتر، prolate است. شیارها در محور استوایی کشیده و ۷۴ درصد محور قطبی را تشکیل داده‌اند. عرض شیارها به طور متوسط ۴/۰۵ میکرومتر است. شیار طویل و در انتها تیز و عمق شیارها زیاد است. پل‌های عرضی استوایی به طور مشخص تشکیل شده‌اند. کل ضخامت اگزین ۱/۱۲ تا ۲/۰۰ میکرومتر است. تزئینات خارجی مشبک و میزان تراکم شبکه‌ها کم و داخل شبکه با بافت خارجی گرده پر شده است (شکل 1، C1 و C2 و شکل 2، C1-C4).

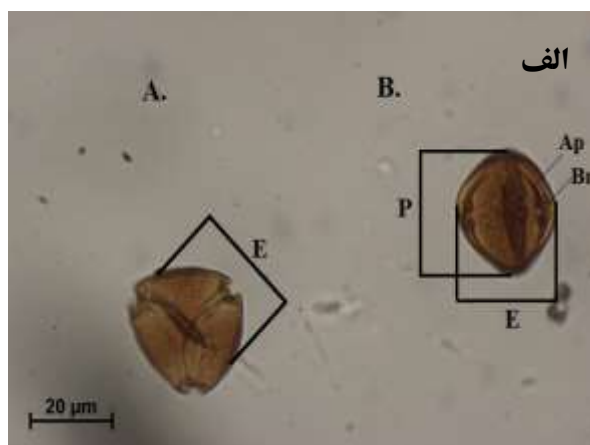
بساک زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *pallasii* و گونه *Rh. cathartica* برای مطالعه دانه گرده در دسترس نبود.

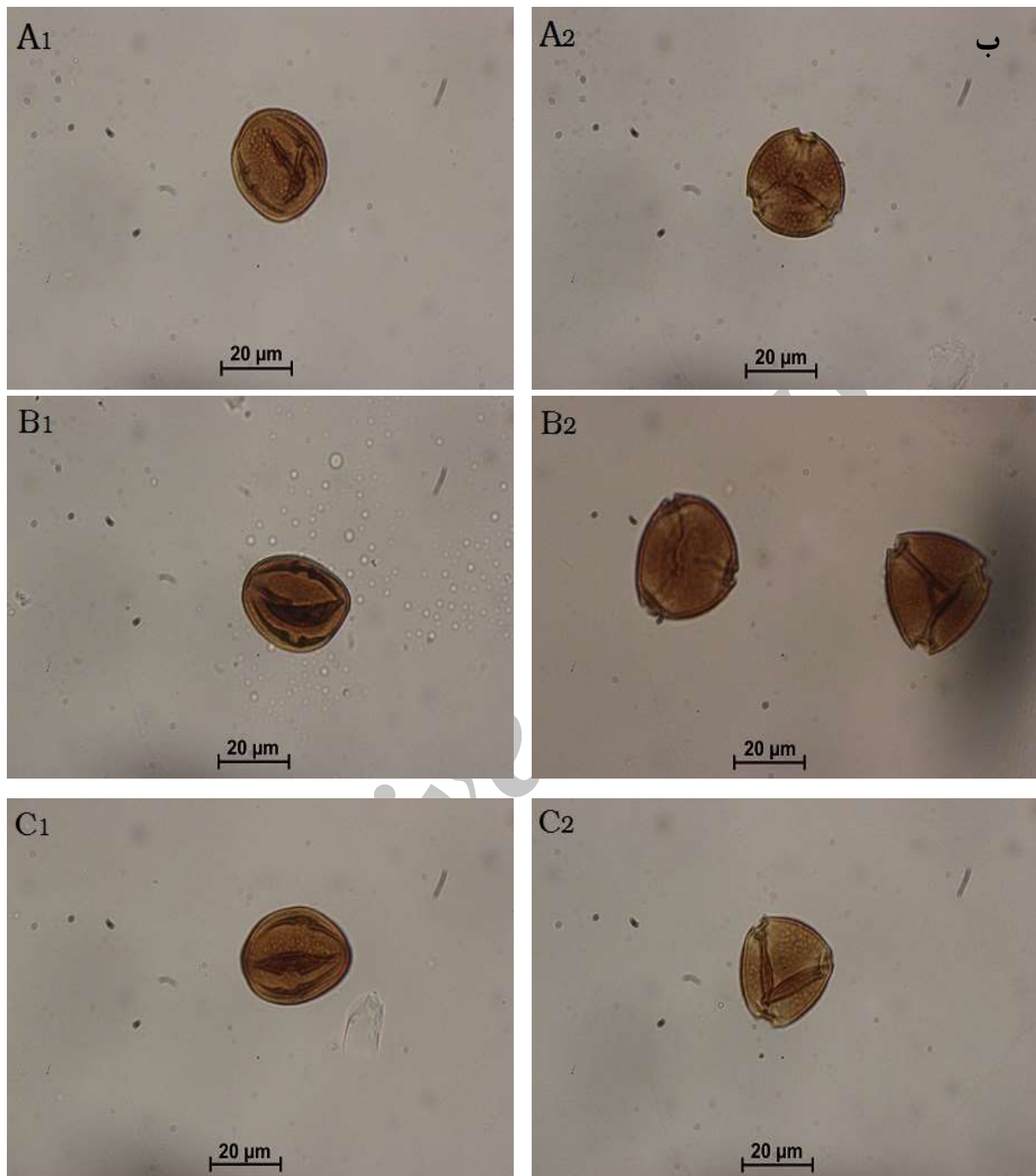
سه‌شیاره، جورقطب با تقارن شعاعی هستند. نسبت P/E بر اساس روش استولیز ۱/۱۶ میکرومتر، subprolate و بر اساس میکروسکوپ الکترونی SEM ۱/۷۸ میکرومتر، prolate است. شیارها در محور استوایی کشیده و ۷۹ درصد محور قطبی را دربر گرفته‌اند. عرض شیارها به طور متوسط ۶/۴۳ میکرومتر است. شیار طویل و در انتها تیز و دارای عمق زیاد است. پل‌های عرضی استوایی به طور مشخص تشکیل شده‌اند. کل ضخامت اگزین ۱/۴۳ تا ۲/۲۲ میکرومتر و دارای تزئینات خارجی مشبک پر با سطح صاف است؛ به طوری که بافت میان شبکه‌ها پر شده است (شکل 1، B1 و B2 و شکل 2، B1-B4).

Rh. × spathulifolia: دانه‌های گرده از دید استوایی بیضوی و از دید قطبی سه گوش تا حدودی کروی و سه‌لویی، سه‌شیاره، جورقطب با تقارن شعاعی

جدول ۳- صفت‌های اندازه‌گیری شده در دانه گرده گونه *Rh. pallasii* بر اساس میکروسکوپ نوری

گونه	طول محور قطبی		قطر محور استوایی		نسبت P/E	عرض شیار		ضخامت اگزین
	میانگین ± انحراف معیار	بیشینه - کمینه	میانگین ± انحراف معیار	بیشینه - کمینه		میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
<i>Rh. pallasii</i> subsp. <i>sintensis</i>	۴۰/۶۹ ± ۲/۹۱	۴۵-۳۶	۳۴/۶۳ ± ۳/۲۸	۳۹-۲۹	۱/۱۷	۲۹/۶ ± ۲/۳۱	۳/۸۳ ± ۱/۲۲	۱/۳۰-۱/۸۰
<i>Rh. pallasii</i> subsp. <i>iranica</i>	۴۳/۹۷ ± ۳/۳۲	۴۷-۳۷	۳۷/۶۲ ± ۴/۳۷	۴۳-۲۸	۱/۱۶	۳۵/۰۷-۳/۴۹	۶/۴۳ ± ۲/۸۴	۱/۴۳-۲/۲۲
<i>Rh. × spathulifolia</i>	۴۲/۰۲ ± ۳/۴۲	۴۶-۳۵	۳۵/۴۰ ± ۱/۹۶	۴۱-۳۱	۱/۱۸	۳۱/۴۷ ± ۳/۳۸	۴/۰۵ ± ۲/۱۳	۱/۱۲-۲/۰۰



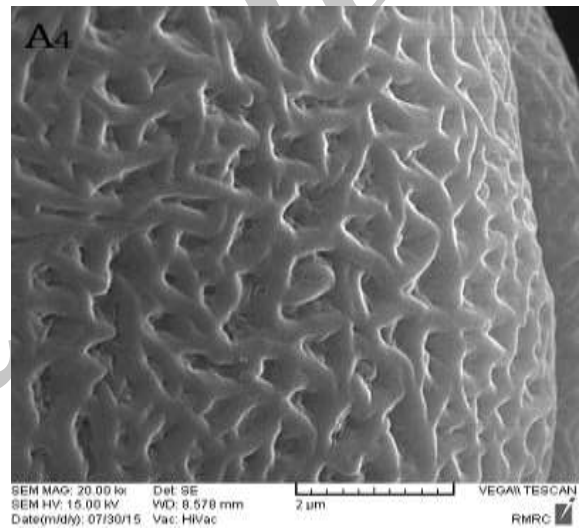
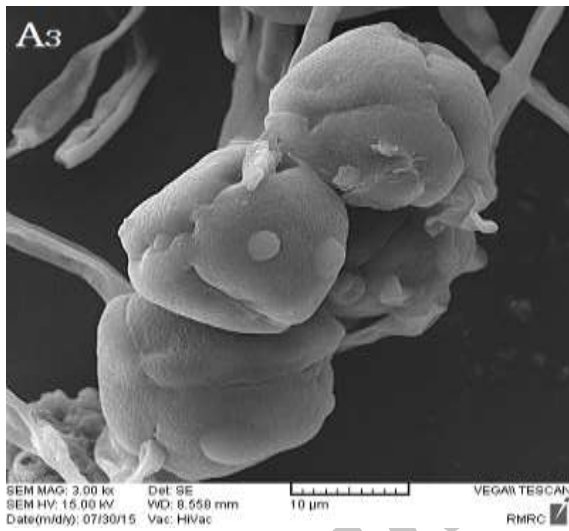
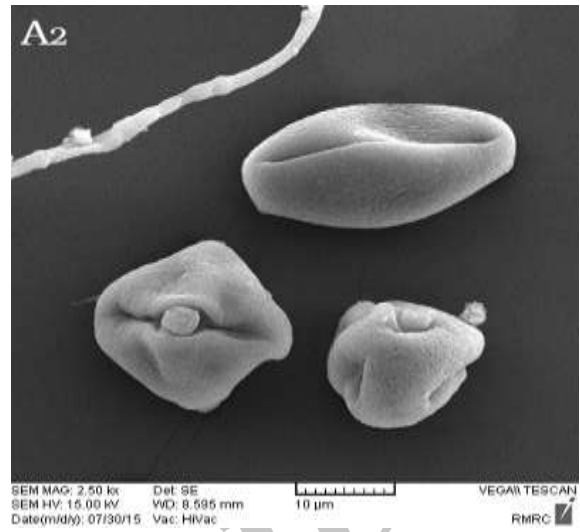
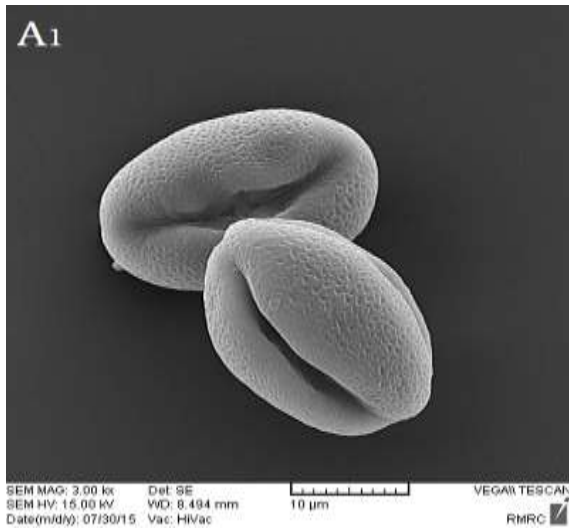


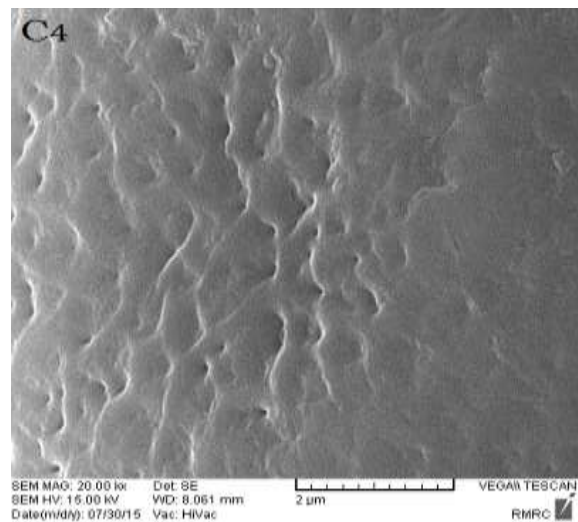
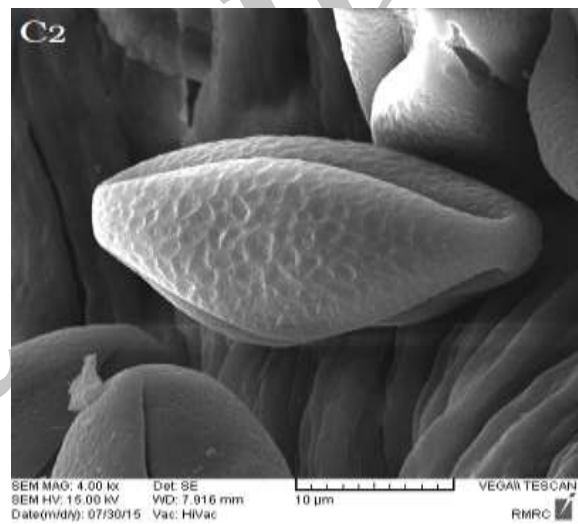
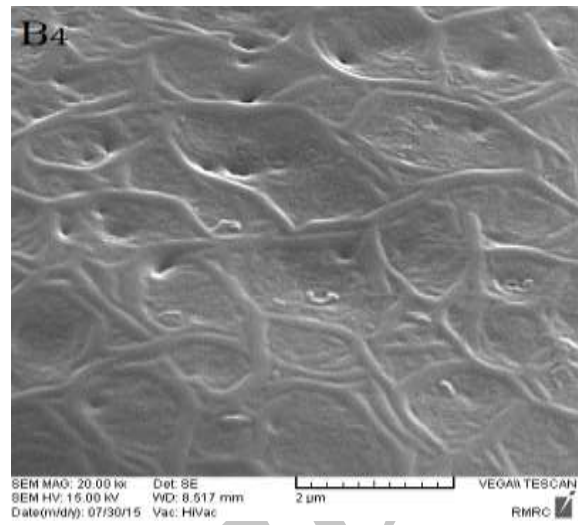
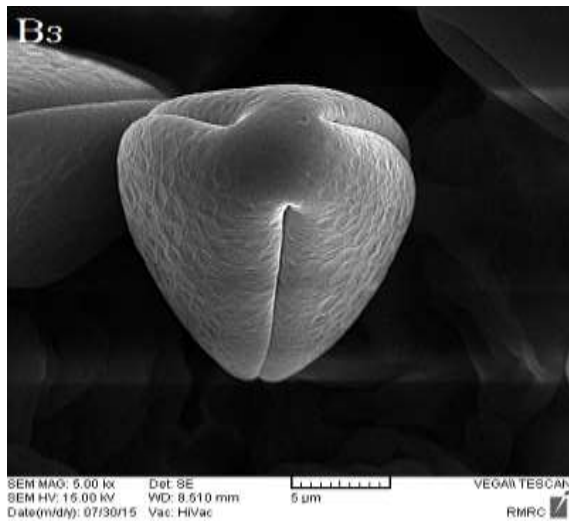
شکل ۱- الف- دانه گرده *Rh. × spathulifolia*

(A. Polar view, B. Equatorial view, P. Length of polar axis, E. Length of equatorial axis, Ap. aperture, Br: bridge)

ب. تصاویر میکروسکوپ نوری (×۱۰۰) دانه گرده گونه *Rhamnus pallasii* A1. دید استوایی، A2. دید قطبی. *Rh. pallasii* subsp.

B1؛ *sintensisii* دید استوایی، B2. دید قطبی *Rh. pallasii* subsp. *iranica*؛ C1 دید استوایی، C2. دید قطبی *Rh. × spathulifolia*





شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) دانه گرده. A1-A2. دید استوایی، A3. دید قطبی، A4. تزئینات سطح دانه گرده *Rh. pallasii* (subsp. *sintenisii*); B1-B2. دید استوایی، B3. دید قطبی، B4. تزئینات سطح دانه گرده *Rh. pallasii* subsp. *iranica*; C1-C2. دید استوایی، C3. دید قطبی، C4. تزئینات سطح دانه گرده *Rh. × spathulifolia*

مشاهده‌ها و نتایج مطالعه‌های ریخت‌شناسی اندوکارپ

دانه تخم‌مرغی شکل به رنگ قهوه‌ای روشن در زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *pallasii* و قهوه‌ای تیره در دو زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *sintenisii* و *Rh. pallasii* subsp. *iranica* مشاهده می‌شود که طول آن حدود ۳ تا ۵ میلی‌متر است. زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *pallasii* با میانگین طول و عرض دانه به ترتیب ۵/۰۱ و ۲/۷۴ میلی‌متر بزرگ‌ترین دانه را دارد (شکل ۳، A و شکل ۴، A1-A4)، *Rh. pallasii* subsp. *sintenisii* با میانگین طول و عرض دانه به ترتیب ۴/۰۴ و ۲/۸۵ میلی‌متر کوچک‌ترین دانه را دارد (شکل ۳، B و شکل ۴، B1-B4) و *Rh. pallasii* subsp. *iranica* دارای میانگین طول و عرض دانه به ترتیب ۴/۳۲ و ۲/۹۲ میلی‌متر است (شکل ۳، C، شکل ۴، C1-C4)؛ یک شیار در سطح شکمی دانه وجود دارد. طولانی‌ترین شیار با طول ۴/۱۱ میلی‌متر به زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *pallasii* مربوط است. طول شیار در زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *sintenisii* ۳/۶۳ میلی‌متر و در زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *iranica* ۳/۹۱ میلی‌متر است. شکل بذر از قاعده به سمت ناف باریک می‌شود. تزئینات سطح اندوکارپ میوه Foveolate (دارای چاله‌های آبله‌گون و برجستگی‌های نامنظم) است.

دانه در *Rh. × spathulifolia* تخم‌مرغی شکل و رنگ آن قهوه‌ای تیره است. یک شیار در سطح شکمی به طول ۳/۳۳ میلی‌متر وجود دارد. میانگین طول و عرض دانه به ترتیب ۳/۸۳ و ۲/۳۸ میلی‌متر است. فرم بذر از قاعده به سمت ناف باریک می‌شود. تزئینات سطح اندوکارپ دانه Foveolate (دارای چاله‌های آبله‌گون و برجستگی‌های نامنظم) است (شکل ۳، D و شکل ۴، D1-D4).

دانه در گونه *Rh. cathartica* تخم‌مرغی شکل و قهوه‌ای تیره است. میانگین طول و عرض دانه به ترتیب ۵/۴۴ و ۳/۲۲ میلی‌متر است. واریته *Rh. cathartica* var. *cathartica* دارای میانگین طول و عرض دانه به ترتیب ۵/۴۴ و ۳/۲۲ میلی‌متر و واریته *Rh. cathartica* var. *caucasica* دارای میانگین طول و عرض دانه به ترتیب ۵/۴۲ و ۳/۵۷ میلی‌متر است. ناف مشخص و تزئینات سطح اندوکارپ دانه در واریته *Rh. cathartica* var. *cathartica* به شکل چروک‌های ریز است و در واریته *Rh. cathartica* var. *caucasica* به علت استفاده از نمونه‌های هر بایومی و قدیمی بودن بذر نامشخص است و به وضوح دیده نمی‌شود (شکل ۴، F1-F2 و E1-E4).

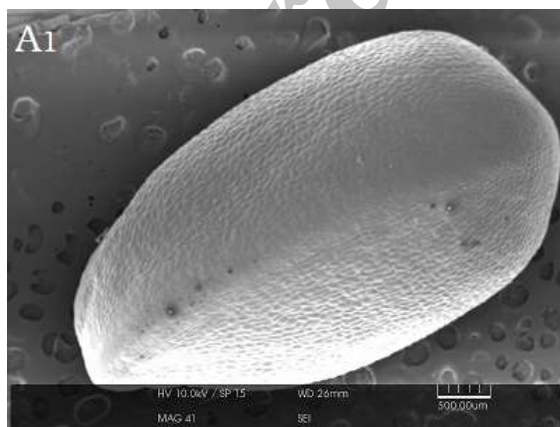
صفت‌های بررسی شده در جدول (۴) ارائه شده‌اند.

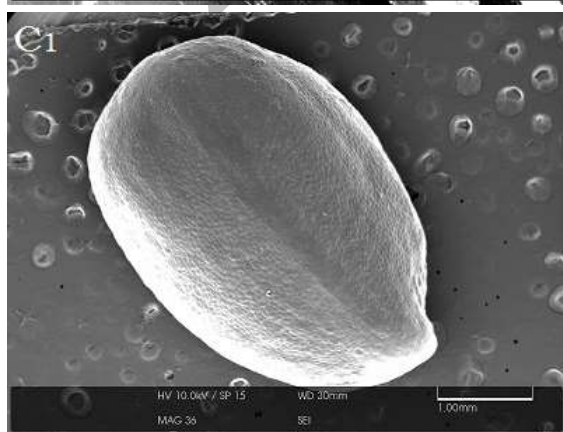
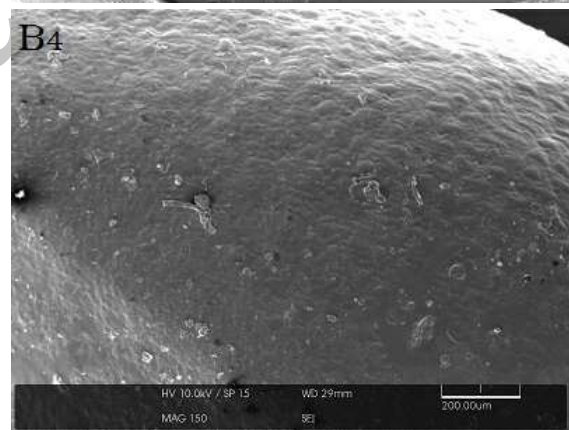
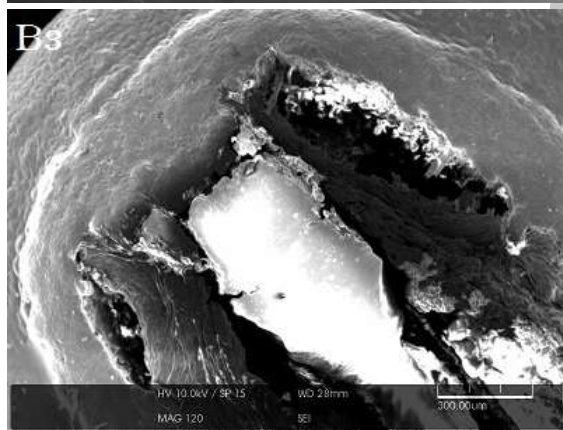
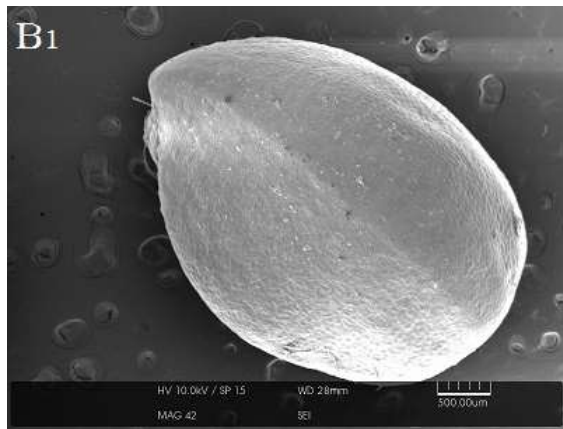
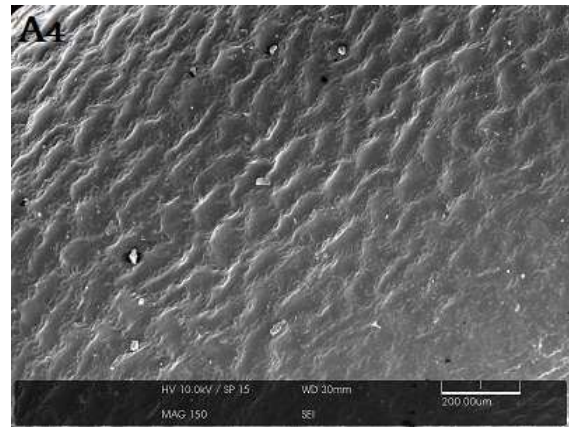
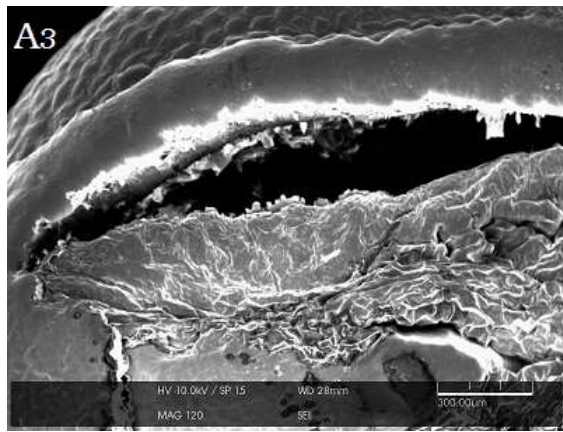
جدول ۴- لیست صفت‌های بررسی شده از نظر ریخت‌شناسی اندوکارپ میوه در دو گونه *Rh. cathartica* و *Rh. pallasii* (اعداد میانگین داده‌ها هستند)

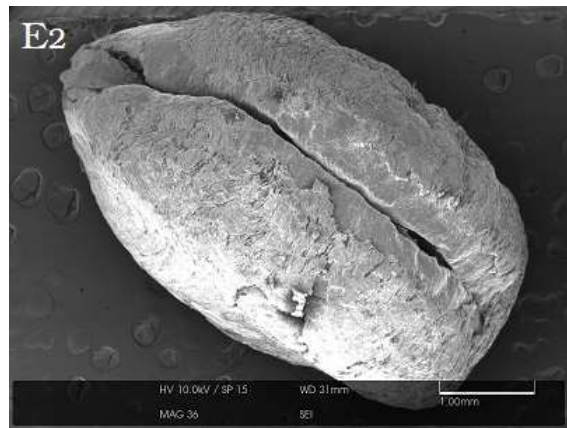
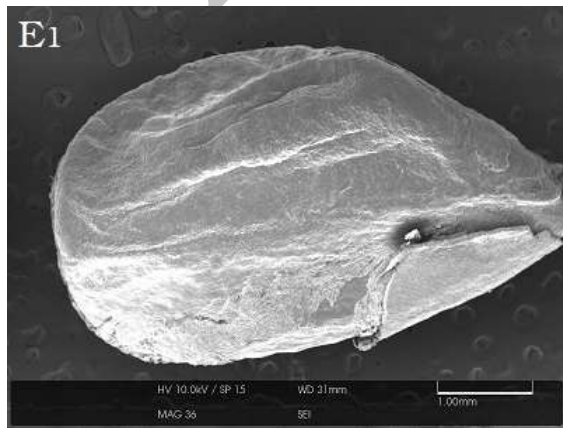
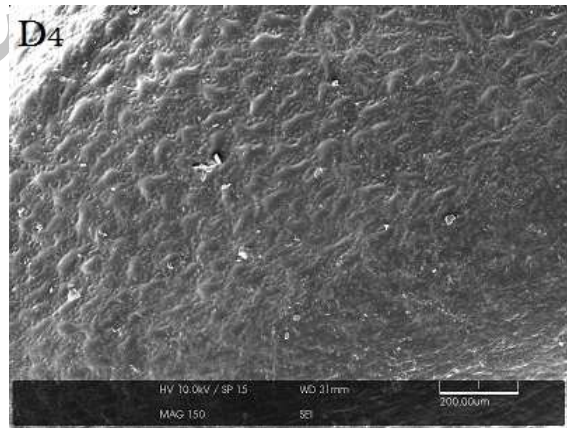
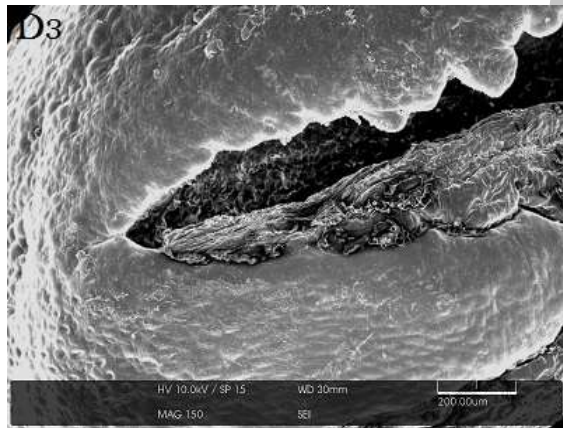
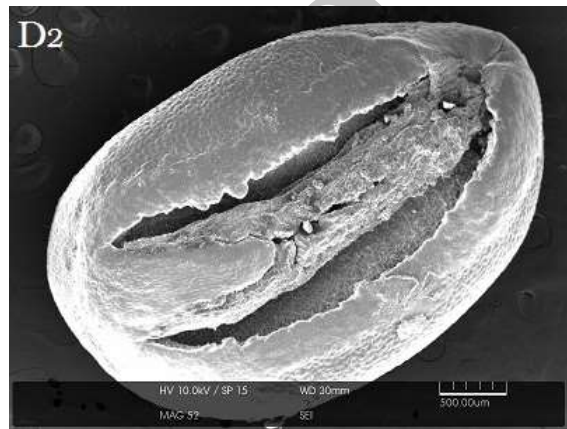
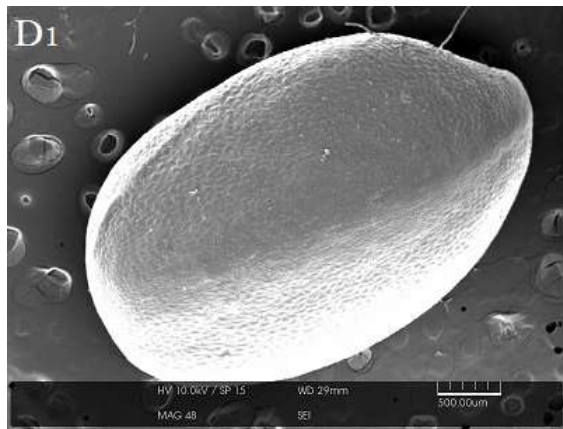
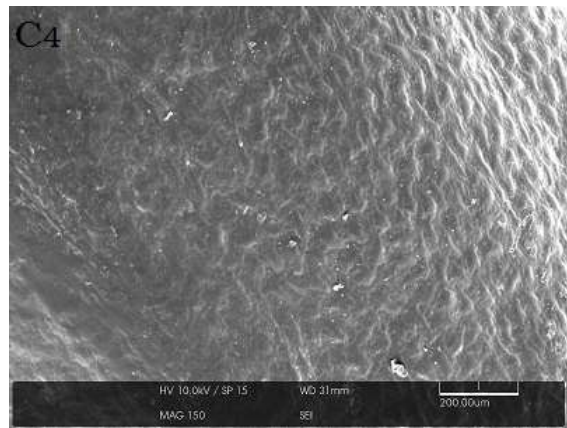
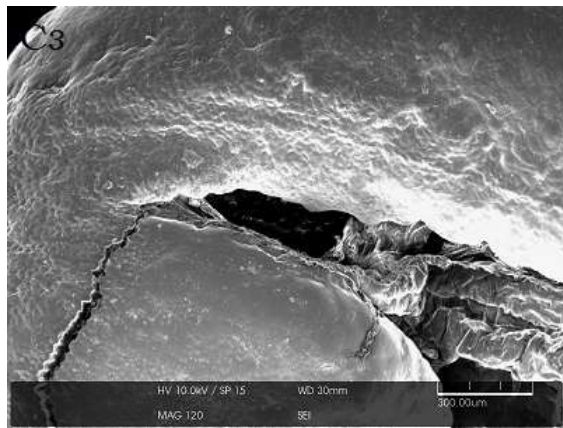
تزیینات سطح دانه	رنگ دانه	شکل دانه	تعداد شمار	طول شمار (L) (mm)	نسبت L/W	عرض دانه (mm)	طول دانه (L) (mm)	گونه	ردیف
Foveolate (دارای چاله‌های آبله‌گون و برجستگی‌های نامنظم)	قهوه‌ای روشن	تخم‌مرغی	۱	۴/۱۱±۰/۰۳	۱/۸۲	۲/۷۴±۰/۰۰	۵/۰۱±۰/۰۲	<i>Rh. pallasii</i> subsp. <i>pallasii</i>	۱
Foveolate (دارای چاله‌های آبله‌گون و برجستگی‌های نامنظم)	قهوه‌ای تیره	تخم‌مرغی	۱	۳/۶۳±۰/۰۰	۱/۴۱	۲/۸۵±۰/۰۰	۴/۰۴±۰/۰۲	<i>Rh. pallasii</i> subsp. <i>sintensisii</i>	۲
Foveolate (دارای چاله‌های آبله‌گون و برجستگی‌های نامنظم)	قهوه‌ای تیره	تخم‌مرغی	۱	۳/۹۱±۰/۰۱	۱/۴۷	۲/۹۲±۰/۰۲	۴/۳۲±۰/۰۱	<i>Rh. pallasii</i> subsp. <i>iranica</i>	۳
Foveolate (دارای چاله‌های آبله‌گون و برجستگی‌های نامنظم)	قهوه‌ای تیره	تخم‌مرغی	۱	۳/۳۳±۰/۰۱	۱/۶۰	۲/۳۸±۰/۰۲	۳/۸۳±۰/۰۲	<i>Rh. ×</i> <i>spathulifoli</i> <i>a</i>	۴
دارای چروک‌های ریز	قهوه‌ای تیره	تخم‌مرغی	۱	۵/۰۷±۰/۰۱	۱/۶۸	۳/۲۲±۰/۰۳	۵/۴۴±۰/۰۱	<i>Rh.</i> <i>cathartica</i> var. <i>cathartica</i>	۵
-	قهوه‌ای تیره	تخم‌مرغی	۱	-	۱/۵۱	۳/۵۷±۰/۰۱	۵/۴۲±۰/۰۱	<i>Rh.</i> <i>cathartica</i> var. <i>caucasica</i>	۶

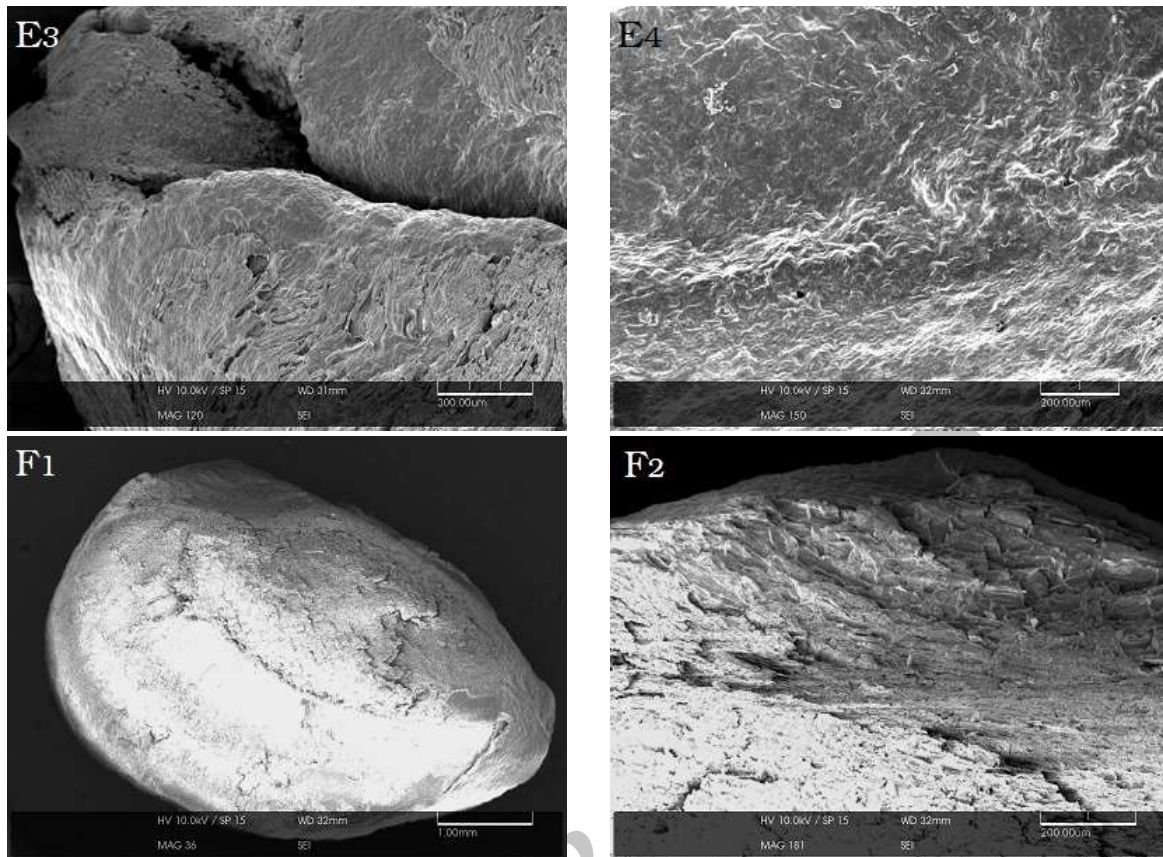


شکل ۳- تصاویر بذر گونه *Rh. pallasii* subsp. *pallasii* .A *Rh. pallasii* subsp. *sintenisii* .B *Rh. pallasii* subsp. *iranica* .D *Rh. pallasii* subsp. *iranica* × *spathulifolia* .C









شکل ۴- تصاویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) اندوکارپ (درون بومیه). A1-A4؛ *Rh. pallasii* subsp. *Pallasii*. B1-B4؛ *Rh. pallasii*. C1-C4؛ subsp. *sintensisii*. D1-D4؛ *Rh. pallasii* subsp. *iranica*. E1-E4؛ *Rh. cathartica* var. *cathartica*. F1-F2؛ *Rh. cathartica* var. *caucasica*

بحث و نتیجه گیری

(طول محور قطبی و محور استوایی به ترتیب برابر ۴۰/۶۹ و ۳۴/۶۳ میکرومتر) و بزرگ‌ترین دانه گرده در زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *iranica* (طول محور قطبی و محور استوایی به ترتیب برابر ۴۳/۹۷ و ۳۷/۶۲ میکرومتر) مشاهده می‌شود که اختلاف چندانی نشان نمی‌دهند. طولانی‌ترین شیار ۳۵/۰۷ میکرومتر طول و به گونه *Rh. pallasii* subsp. *iranica* تعلق دارد. میزان ضخامت اگزین در زیرگونه‌های مختلف بین ۱/۱۲ تا ۲/۲۲ میکرومتر متغیر است. دانه‌های گرده در تاکسون‌های مطالعه‌شده سه‌شیاره (tricolporate) و دارای پل‌های عرضی استوایی در محل شیارها هستند. تزئینات خارجی در زیرگونه *Rh. pallasii* subsp.

نتایج بررسی دانه گرده با میکروسکوپ نوری و الکترونی نشان می‌دهند شکل کلی بیشتر دانه‌های گرده مطالعه‌شده از دید قطبی کروی (Spheroidal) تا سه‌گوش (Subtriangular) و از دید استوایی بیضوی شکل است. نسبت طول محور قطبی به طول محور استوایی (P/E) بر اساس روش استولیز در محدوده ۱/۱۶ تا ۱/۱۸ میکرومتر و از نظر میکروسکوپ الکترونی SEM در محدوده ۱/۷۱ تا ۱/۷۸ میکرومتر است و شکل گرده‌ها طبق طبقه‌بندی Erdtman (۱۹۴۳) از subprolate تا prolate متفاوت است. کوچک‌ترین دانه گرده در زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *sintensisii*

تیره دیده می‌شود و یک شیار در سطح شکمی مشاهده می‌شود. تزئینات سطح اندوکارپ دانه Foveolate دارای چاله‌های آبله‌گون و برجستگی‌های نامنظم) است که در تمام آرایه‌های درون‌گونه‌ای یکسان است. در گونه *Rh. pallasii* subsp. زیرگونه *Rh. pallasii* با میانگین نسبت طول به عرض $1/82$ میلی‌متر بزرگ‌ترین دانه را دارد و زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *sintensisii* با میانگین نسبت طول به عرض $1/41$ میلی‌متر دارای کوچک‌ترین دانه است. طولانی‌ترین شیار به طول $4/11$ میلی‌متر در زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *pallasii* و کوتاه‌ترین شیار به طول $3/33$ میلی‌متر در *Rh. × spathulifolia* مشاهده می‌شود. در گونه *Rh. cathartica*، تزئینات سطح اندوکارپ دانه واریته *Rh. cathartica* var. *cathartica* به شکل چروک‌های ریز است و بزرگ‌ترین دانه را با نسبت طول به عرض $1/68$ میلی‌متر را دارد. دانه‌ها در بیشتر موارد مشابه هستند و در نتیجه، صفت‌های بررسی شده در دانه شاخص مناسبی برای شناسایی زیرگونه‌های مختلف این دو گونه نیستند.

نتایج مطالعه‌های گرده‌شناسی وجود تنوع درون‌گونه‌ای در گونه *Rh. pallasii* را تأیید می‌کنند و با طبقه‌بندی Soufiyan و Dinarvand (۲۰۰۷) بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی مطابقت دارند. گفتنی است در کنار بررسی گرده‌شناسی و سطح اندوکارپ دانه در این پژوهش، مطالعه‌های جامع بیوسیستماتیکی با توجه به ویژگی‌های ریخت‌شناسی، تشریحی، سلول‌شناسی و ... انجام شده‌اند و با در نظر گرفتن نتایج آنها، باید ویژگی‌های گرده‌شناسی و اندوکارپ دانه همراه با سایر ویژگی‌ها برای دستیابی به گروه‌بندی مناسب در این پژوهش به کار برده شوند.

sintensisii مشبک توخالی با ابعاد متفاوت است؛ به طوری که برجستگی‌هایی توسط شبکه در قسمت‌های زیرگونه *Rh. pallasii* subsp. *iranica* دارای تزئینات خارجی مشبک پر با سطح صاف است؛ به طوری که بافت میان شبکه‌ها پر شده است. در *Rh. × spathulifolia* تزئینات خارجی مشبک، میزان تراکم شبکه‌ها کمتر و داخل شبکه با بافت خارجی گرده پر شده است. این یافته‌ها با مطالعه‌های Zhang Yu-Long (۱۹۹۲) که تزئینات خارجی جنس *Rhamnus* را مشبک و شبکه‌ای گزارش کرده‌اند هم‌خوانی دارد.

یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج مطالعه‌های Perveen و Qaiser (۲۰۰۵) روی ۱۱ گونه از ۵ جنس تیره Rhamnaceae مطابقت دارند؛ آنها بیان کرده‌اند دانه گرده این خانواده صفتی تشخیصی و ثابت است که عموماً منفرد، دارای تقارن شعاعی، جورقطب و به شکل subprolate و شیاردار است. Punt و Marks (۱۹۹۵) در مطالعه دانه گرده این جنس در شمال غرب اروپا، تیپ *Rhamnus catharticus* L. را به واسطه شکل سه‌ضلعی مشخص آن در منظر قطبی، شکل بیضی خوابیده در منظر استوایی و تزئینات ناپیدای ریز مشبک تا مشبک مشخص معرفی کرده‌اند که با مطالعه‌های انجام شده در پژوهش حاضر مشابهت دارد. دانه گرده این تیره stenopalynous است (Erdtman, 1952). بررسی دانه گرده مانند سایر رشته‌ها بخش مهمی در مسائل مدرن طبقه‌بندی گیاهی است (Bashir and Khan, 2003). بر اساس مطالعه‌های انجام شده، زیرگونه‌های مورد مطالعه از نظر تزئینات خارجی از هم تفکیک می‌شوند.

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، دانه در تاکسون‌های فروگونه‌ای تخم‌مرغی شکل و به رنگ قهوه‌ای روشن و

Rhamnus pallasii.....radiosymmetric
 - تزئینات سطح خارجی مشبک توخالی با ابعاد
Rhamnus متفاوت، دارای برجستگی
pallasii subsp. *Sintenisii*
 - تزئینات سطح خارجی مشبک پر با سطح
Rhamnus pallasii subsp. *Iranica*..... صاف
 - تزئینات سطح خارجی با تراکم کم شبکه‌ها، داخل
 شبکه‌ها پر شده توسط بافت خارجی
Rh. × spathulifolia..... گرده

کلید شناسایی گونه‌های *Rh. pallasii* و *Rh. cathartica*
 بر اساس *Rh. × spathulifolia*

ریخت‌شناسی دانه گرده و دانه

۱. رنگ دانه قهوه‌ای تیره، تزئینات سطح اندوکارپ
 دانه به شکل چروک‌های ریز..... *Rhamnus cathartica*
 - رنگ دانه قهوه‌ای روشن و تیره، تزئینات سطح
 اندوکارپ دانه Foveolate (دارای چاله‌های آبله‌گون و
 برجستگی‌های نامنظم..... ۲
 ۲. دانه گرده؛ Spheroidal- Subtriangular، P/E:
 isopolar، tricolporate، subprolate- prolate

منابع

- Bashir, S. and Khan, M. A. (2003) Pollen morphology as an aid to the identification of medicinal plants: *Trianthema portulacastrum* L., *Boerhaavia procumbens* Banks ex Roxb. and *Alternanthera pungens* Kunth. *Hamdard Medicus*, 46(1): 7-9.
- Boissier, E. (1872) *Flora Orientalis*, vol 2, Reimpression fac similee A. Asher & Co, 11-22. Georg, Geneva and Basel.
- Browicz, K. and Zielinski, J. (1977) *Flora Iranica*, Akademische Druck-U Verlagsanstalt, Graz.
- El-Ghazaly, G. (1991) *Pollen flora of Qatar*. Aio Print Ltd, Odense.
- Erdtman, G. (1943) *An introduction to pollen analysis*. Chronica Botanica Co., Waltham.
- Erdtman, G. (1952) *Pollen morphology and plant taxonomy: Angiosperms*. Chronica Botanica Co., Waltham.
- Kurylo, J. S., Knight, K. S., Stewart, J. R. and Endress, A. G. (2007) *Rhmnus cathartica*: Native and naturalized distribution and habitat preferences. *The Journal of the Torrey Botanical Society* 134(3): 420-430.
- Mabberley, D. I. (1987) *The Plant Book*. Cambridge University Press, New York.
- Major, C. J. (1986) *Seed size variation in Rhamnus cathartica* L. Unpublished BSc. thesis, University of Western Ontario, London.
- Mobayen, S. (1995) *Flora of vascular plants*, vol. 4. Tehran University Press, Tehran (in persian).
 Mozaffarian, V. (2004) *Trees and shrubs Iran*. Farhange Moaser Publication, Tehran (in persian).
- Naimat, R., Khan, M. A., Khan, K. Y., Ali, B. and Zahidullah Mazari, P. (2012) Palynomorphological characterization of some species of selected genera of family Rhamnaceae. *Research in Plant Biology* 2(3): 04-09. ISSN: 2231-5101.
- Papagiannes, E. (1974) *Genera of Rhamnaceae*. MSc thesis, University of Illinois, Chicago.
- Perveen, A. and Qaiser, M. (2005) *Pollen flora of Pakistan-XLIV. Rhamnaceae*. *Pakistan Journal of Botany* 37(2): 195-202.
- Punt, W. and Marks, A. (1995) *Rhamnaceae*. In: *The Northwest European Pollen Flora-VIII* (Eds. Punt, W., Blackmore, S., Hoen, P. P. and Stafford, P.J.) 123: 57-66. Elsevier, Amsterdam.

- Shishkin, B. K. and Bobrov, E. G. (1974) Flora of the U.S.S.R. vol. 14. Russian Academy of Sciences, 494-516.
- Soufiyan, K. H. and Dinarvand, M. (2007) Flora of Iran. No. 55: Rhamnaceae. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran (in persian).
- Zhang Y. L. (1992) A study on pollen morphology of Tribe Rhamnaceae in China. Acta Phytotaxonomica Sinica 30(1): 73-81.

Archive of SID