

Seed Coat Ornamentation of some Species of *Vicia* L. Genus and their Practical Value in Classification

Mohammad Hossein Ehtemam^{1*}, Seid Ali Mohammad Mirmohammady Maibody²

¹ Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

² Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Abstract

Microcharacters of seed coat and its surface patterns are valuable in the systematic consideration in some genera. The aim of this study was to introduce the application of these data in assisting the identification of *Vicia* L. species. Micromorphological traits of 90 seeds from 20 species of the genera of the *Vicia* were studied in order to answer some systematic questions regarding this genus. The morphology of the surface of these species were examined using a scanning electron microscope (SEM). The results of the observations and analyses indicated that the pattern of seed coat ornamentation was of Papillose type and their SEM pattern varied within and between accessions in terms of tip-shape of the papillae, size (height), and amount of conation of papillae side ride. These traits can be used in taxonomic revision of the *Vicia* genus. Based on these seed coat ornamentation traits, four categories namely Colliculate with Tuberculate, Aculate projections from projections peaks, Aculate and Tuberculate from below the peak were identified. These analyses can provide good evidence for the close relationship of related species from the different species in a genus. It presents a comprehensive guide regarding variety classification and cultivar introduction.

Key words: Seed Coat, Micromorphology, Plant Systematic, *Vicia*.

* hehtemam@iut.ac.ir

تزئینات پوشش دانه برخی از گونه‌های جنس *Vicia L.* و ارزش عملی آنها در طبقه‌بندی

محمد حسین اهتتام^{۱*}، سیدعلی محمد میرمحمدی میبدی^۲
^۱ استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران
^۲ استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

چکیده

الگوهای ریزریخت‌شناسی و تزئینات پوشش دانه در برخی از جنس‌ها، ارزش بسیاری در مطالعات سیستماتیک دارد. این مطالعه با هدف معرفی کاربرد این داده‌ها در کمک به شناسایی گونه‌های جنس ماشک (*Vicia L.*) انجام شد. صفات ریزریخت‌شناسی ۹۰ نمونه دانه مختلف از ۲۰ گونه جنس ماشک برای پاسخ به برخی از سؤالات سیستماتیک این جنس مطالعه شد. ریخت‌شناسی سطح دانه گونه‌های این جنس با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) مقایسه شد. نتایج مشاهدات و تجزیه‌ها نشان داد ویژگی‌های تزئینات پوشش دانه در گونه‌های مختلف به صورت برجستگی از نوع Papillose و الگوی SEM آنها در داخل و بین نمونه‌ها از لحاظ شکل، ارتفاع و نحوه بهم پیوستن برجستگی‌ها متنوع بوده است و می‌تواند در بازنگری دسته‌بندی جنس ماشک استفاده شود. براساس ویژگی‌های تزئینات پوشش دانه، گونه‌ها به چهار گروه گونه‌های تپه‌ماهوری با آرایش زگیلی، کله‌قندی از نوک قله منشأگرفته، کله‌قندی از پایین‌تر از نوک قله منشأگرفته و زگیل‌دار تقسیم شدند. این تجزیه‌ها ممکن است شواهد خوبی را از ارتباط نزدیک گونه‌های مختلف، میان مجموعه‌ای از گونه‌های این جنس فراهم کند و راهنمای مجمل دسته‌بندی واریته‌ها و معرفی واریته‌های زراعی باشد.

واژه‌های کلیدی: پوشش دانه، ریزریخت‌شناسی، سیستماتیک گیاهی، *Vicia*.

مقدمه

رشدی (Indeterminate type nodulating plant) از گیاهان جنس *Vicia* در کم‌وبیش مشابهند. از گیاهان جنس *Vicia* در کشاورزی برای علوفه، کود سبز، در تغذیه انسان (گونه *V. faba*، باقلا) و نیز صنایع داروسازی استفاده می‌شود

ایران یکی از منابع ذخیره وراثتی گیاهی جنس *Vicia* است (Smýkal et al., 2015). بیشتر گیاهان این جنس از نظر ریخت‌شناسی و محدودبودن عادت

* hehtemam@iut.ac.ir

Buss *et al.*, 2001; el-Elain *et al.*, 2007 می توان برای اطمینان از صحت نمونه‌هایی که قبلاً متخصمان به‌عنوان وارسته شناسایی کرده‌اند (Jaaska and Leht, 2007; Jalilian *et al.*, 2014) و همین‌طور برای شناسایی الگوهای تنوع داخل گونه‌ای استفاده کرد (Mayer, 1991; Maxted, 1995). این مطالعات مثالی از بهره‌برداری از مطالعات SEM پوشش دانه‌ها است که در جنس *Petunia* توسط Bahadur و همکاران (۱۹۸۹)، در جنس *Orthocarpus* از قبیلۀ Pedicularae (Chuang and Heckard, 1991) و جنس *Psophocarpus* (Ray *et al.*, 2014) برای بازنگری سیستماتیک استفاده شده است؛ همین‌طور ویژگی‌های ریزریخت‌شناسی ۲۰ جنس در خانواده آلاله (Ranunculaceae) (Hoot, 1991) و جنس‌های *Hibiscus* و *Axonopus*، *Erysimum*، *Brassica* Koul *et al.*, 2000; Caas, 2001; El-Kholy *et al.*, 2013; Ghaempanah *et al.*, 2013) مطالعه و بررسی شده است. اگرچه از تکنیک‌های دیگری نظیر آنالیزهای بیوشیمیایی دانه (Lestern, 1979)، ایمینوشیمیایی پروتئین دانه (Lehle and Tanner, 1977; 1973)، مطالعه کاربولوزیکی (Turner, 1977; 1973) و نشانگرهای مولکولی نیز (Ruffini Castiglione *et al.*, 2011; Caputo *et al.*, van de Wouw *et al.*, 2001; Frediani *et al.*, 2004; Shiran *et al.*, 2014; Wouw *et al.*, 2001) در شناسایی و طبقه‌بندی گونه‌ها و وارسته‌های گیاهی جنس *Vicia* استفاده شده است، با این حال با توجه به نتایج متفاوت هر یک از این روش‌ها و فراوانی وجود تشابهات ریخت‌شناسی، این مطالعات نتوانسته است به‌خوبی اختلاف‌نظرهای فراوان موجود در این جنس، در رده‌بندی‌های انجام‌شده را حل کند (Boissier, 1888; Engler, 1892) و هنوز

Holt Campeol *et al.*, 2000; Duc *et al.*, 2010) اگرچه گونه‌های جنس *Vicia* (and Birch, 1984) پراکنندگی وسیعی در رویشگاه‌های مختلف و شرایط مختلف بوم‌شناختی دارد (Davis and Plitmann, 1970; Mayer, 1991) و نیام دارای تنوع بسیاری است و از آن برای شناسایی تاکسونومیکی بسیاری از گونه‌های این جنس استفاده شده (Maxted, 1995)، گاهی تفکیک گونه‌های این جنس به‌سختی امکان‌پذیر است (Büyükkartal *et al.*, 2013).

برای تقسیم‌بندی گونه‌ها به بخش‌های مختلف از روش‌های متفاوتی استفاده شده است؛ برای مثال Boissier (۱۸۸۸) جنس *Vicia* را به دو بخش و Engler (۱۸۹۲)، این جنس را به چهار بخش تقسیم کرد. علاوه بر این دانشمندان مختلف تقسیم‌بندی‌های دیگری را ارائه کرده‌اند (Fedchko, 1984). در سال‌های اخیر در بررسی‌های تاکسونومیکی این جنس، به‌جای نیام، بیشتر از دانه‌ها و ویژگی‌های ریزریخت‌شناسی تزئینات سطح آنها به‌دلیل ثابت بودن و امکان شناخت بهتر استفاده شده است (Hosseinzadeh, 2013; Büyükkartal *et al.*, 2008). اهمیت مطالعه ساختار تشریحی دانه و دست‌یابی به الگوهای فراساختاری (Ultrastructure) تزئینات سطح دانه با استفاده از عکس‌های میکروسکوپ الکترونی نگاره (اسکن) به‌عنوان ویژگی‌های تاکسونومیکی (Abdel Khalik *et al.*, 2008; Nabeh *et al.*, 2013) و حل مشکلات رده‌بندی به‌خوبی شناخته شده است (Günes, 1989; Bahadur *et al.*, 2011; Ali, 2011)؛ برای مثال می‌توان به استفاده از ویژگی‌های ریزریخت‌شناسی دانه در شناسایی آسان شباهت‌های بین گونه‌ای و تنوع فرگونه‌ای و جداسازی وارسته‌ها اشاره کرد (Adou-

جنبه‌های مختلف اکولوژیک و زراعی این جنس به‌ویژه معرفی واریته‌ها مطلوب باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۹۰ نمونه از ۲۰ گونه مختلف بومی از جنس ماشک، از مناطق مختلف ایران، جمع‌آوری و بخشی از آنها در هرباریوم دانشگاه صنعتی اصفهان، نگهداری و بخش دیگر برای استفاده در مطالعات مقایسه‌ای، در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان کشت شدند. بسیاری از نمونه‌ها از زیستگاه‌های طبیعی جمع‌آوری و تعداد کمی نیز از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع دریافت شدند. دانه‌های مطالعه‌شده و محل دریافت و نگهداری آنها در جدول ۱ فهرست شده است. ریخت‌شناسی دانه‌های گیاهان کشت شده ارزیابی شد. با کلید شناسایی موجود در فلورا ایرانیکا (Chertkova - Zertova, 1979) کلیه نمونه‌ها به ۴ بخش Sect. *Cracca* (Medik)، *Anatropostylia* Plitm. Sect. *Vicia* و Sect. *Ervilia* Link، S.F. Gray گروه‌بندی شدند. دست کم سه دانه از هر نمونه، انتخاب و با میکروسکوپ نوری (بینو کولر) و ویژگی‌های ریخت‌شناسی آنها نظیر اندازه، شکل کلی، قطر و تزیینات کلی اندازه‌گیری و ثبت شد؛ همچنین سه دانه از هر گونه برای مطالعات SEM و تهیه الگوی عمومی تزیینات دانه در نظر گرفته شد. بدین منظور دانه‌ها از نیام‌ها جدا و تمیز شدند و بدون هرگونه خشک کردن اضافی روی فلز رسانای دوجداره از جنس آلومینیم چسبانده شدند؛ سپس به کمک دستگاه BAL-TEC (Baizers) و SCD 005 Sputter coater با لایه‌ای از طلا به ضخامت تقریبی (۸ تا ۳۰ نانومتر) پوشانده شدند. نمونه‌های آماده‌شده درون اتاقک مخصوص گذاشته

این مشکلات پابرجاست. اگرچه دانسته‌های کمی درباره تزیینات سطح دانه به‌ویژه در جنس *Vicia* وجود دارد (Roti - Michelozzi and Valenti, 1981)، مطالعات ریزریخت‌شناسی محدود با میکروسکوپ الکترونی نگاره (Roti - Michelozzi and Valenti, 1981; Hosseinzadeh et al., 2008) و برخی از گونه‌های جنس عدس و خانواده آن (Voronchikhin, 1988) اطلاعات خوبی را درباره تاکسون‌های آنها ارائه کرده است. به کارگیری ویژگی‌های ریزریخت‌شناسی حاصل از SEM در مطالعات مختلف به دلیل فقدان دستورالعمل‌های (descriptor) مناسب برای تفسیر عکس‌های میکروسکوپی، تا حد زیادی پیچیده است. برخی از پژوهشگران برای تجزیه و تحلیل داده‌های مطالعات ریزریخت‌شناسی از آنالیزهای چندمتغیره کمک گرفته‌اند (van de Wouw et al., 2003; Shiran et al., 2014). کمی کردن مقادیر مربوط به صفات شکل و اندازه نتوانسته است به خوبی طبقات و دسته‌ها را از هم تفکیک کند (Muszynski et al., 1986)؛ برای مثال کاربرد تجزیه‌های چندمتغیره نشان داده است تنوع ممتد و گروه‌های طبیعی، براساس ریزریخت‌شناسی تشخیص داده نمی‌شوند (McVaugh, 1943). این مطالعه برای بررسی وضعیت طبقه‌بندی موجود جنس *Vicia* در داخل جنس، با استفاده از اطلاعات ریزریخت‌شناسی دانه به‌عنوان ملاک احتمالی سیستماتیک برای گروه‌بندی‌های جنس *Vicia* در سطح گونه، طراحی شد. هدف دیگر این مطالعه، ارزیابی برخی از صفات قابل استفاده در شناسایی گونه‌های مختلف جنس *Vicia* و به کارگیری صفات ریز (میکرو) در تدوین کلید شناسایی جنس ماشک است. نتایج این بررسی‌ها ممکن است در مطالعات بعدی درباره

ویژگی‌های مفید دیگر نظیر ارتفاع برجستگی‌ها، شکل آنها، تعداد و تیزی لبه‌های آنها نیز اندازه‌گیری و ثبت شد. از سه گونه متفاوت از لحاظ مورفوتیپ، نمونه‌های برگ تهیه و از شکل کرک و روزنه‌ها با میکروسکوپ الکترونی SEM عکس تهیه و تجزیه و تحلیل شد که به دلیل مشاهده نکردن تفاوت مشخص بین گونه‌ها از صفات اخیر در دسته‌بندی استفاده نشد. در توصیف تصاویر از واژه‌شناسی استفاده شده به وسیله Stearn (۱۹۸۳) و Beentje (۲۰۱۰) استفاده شد.

شدند و عکس برداری با میکروسکوپ الکترونی SEM مدل Philips XL 30 در دو جهت روبرو و از پهلو انجام شد. از بررسی مقایسه‌ای عکس‌های موجود با یکدیگر کلید شناسایی براساس اختصاصات ریزریخت‌شناسی سطح دانه‌ها تدوین شد. از بررسی تزئینات دانه روی صفحه نمایش، تراکم پستی و بلندی‌ها در هر میلی‌متر مربع در یک بزرگنمایی مشخص (۹ سانتی‌متر مربع مساحت در بزرگنمایی ۱،۰۰۰، برای نماینده ۹۰۰ میکرومتر) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- فهرست دانه گونه‌های مطالعه شده با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

شماره	تعداد نمونه	نام گونه و بخش	محل جمع‌آوری و محل نگهداری نمونه
Sect. Anatrophyllia			
۱	۴	<i>V. koeieana</i> Rech.	باختران ۱۵ کیلومتری کامیاران به سنندج - HIUT, 2510 ¹
Sect. Cracca			
۲	۴	<i>V. aucheri</i> Joub. & Spach.	مازنداران - چالوس - TARI, 5698 ²
۳	۴	<i>V. akhmaghanica</i> Kazar	آذربایجان غربی - ارومیه - TARI, 3774
۴	۴	<i>V. cappadocica</i> Boiss. & Balansa	آذربایجان - جاده خوی - TARI, 19571
۵	۵	<i>V. ciceroidea</i> Boiss.	تهران - توچال - TARI, 12292
۶	۴	<i>V. cinerea</i> M. Bieb.	بندرعباس - ۴۰۰ کیلومتری حاجی‌آباد به سیستان - TARI, 49536
۷	۴	<i>V. crocea</i> (Desf.) Fritsch	گرگان - TARI, 12781
۸	۵	<i>V. multijuga</i> (Boiss.) Rech.	تهران - کوه البرز - دیزین - TARI, 51707
۹	۴	<i>V. persica</i> Boiss.	بانک ژن ملی ایران (بذر) - آذربایجان - ارسباران - HIUT, 273
۱۰	۴	<i>V. variabilis</i> Freyn & Sint.	فارس - نورآباد - TARI, 45924
۱۱	۵	<i>V. variegata</i> Willd.	تهران - کیلومتر ۲۹ جاده فیروز کوه - سمنان - TARI, 56630
۱۲	۴	<i>V. villosa</i> Roth	لرستان - شل‌آباد - TARI, 26316

Sect. Ervilia

TARI, 63125 - ده دز - خوزستان	<i>V. ervilia</i> (L.) Willd.	۴	۱۳
TARI, 28867 - ۱۱ کیلومتری جنوب شرقی اسلام شهر	<i>V. tetrasperma</i> (L.) Schreb.	۴	۱۴

Sect. Vicia

TARI, 60254 - گیلان - حاشیه رودخانه قزل‌اوزون	<i>V. angustifolia</i> L.	۴	۱۵
TARI, 52953 - سیستان و بلوچستان - تفتان	<i>V. angustifolia</i> L.	۴	۱۶
HIUT, 7/4 - اصفهان - دانشگاه صنعتی - محوطه جنگل	<i>V. hircanica</i> Fisch. & C. A. Mey.	۵	۱۷
HIUT, 20/2 - اصفهان - دانشگاه صنعتی - محوطه جنگل	<i>V. michauxii</i> Spreng.	۵	۱۸
HIUT, 3373 - چهار محال و بختیاری - شهرکرد - بروجن	<i>V. narbonensis</i> L.	۴	۱۹
HIUT, 24/2 - اصفهان - دانشگاه صنعتی - محوطه جنگل	<i>V. peregrina</i> L.	۵	۲۰
HIUT, 8714 - مازندران - قائم شهر	<i>V. sativa</i> L.	۴	۲۱

TARI-2 هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

HIUT-1 هرباریوم دانشگاه صنعتی اصفهان

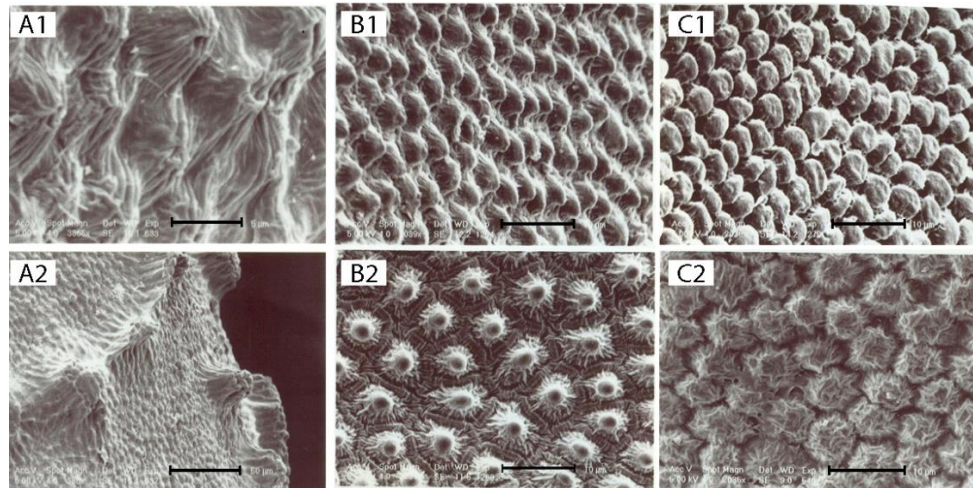
نتایج

آنها از نوک قفل منشأ گرفته و تا پایین سطح زمینه ادامه داشت؛ ولی حالت برجستگی به صورت کله‌قندی دیده شد. دسته سوم شامل دانه‌هایی بود که دارای برجستگی‌های منشأ گرفته از پایین تر از نوک و حالت برجستگی کله‌قندی بودند و در نهایت گروه چهارم که برجستگی‌های آنها از پایین تر از نوک منشأ گرفته و حالت برجستگی آنها از نوع زگیلی بود، مشاهده شد. شکل‌های ۱ و ۲ نشان‌دهنده وجود الگوی متنوع Papillose در جنس ماشک بود. در نمونه‌های مطالعه شده حالات برجستگی‌ها به یکی از دو صورت برجستگی‌های اولیه و برجستگی‌های ثانویه روی برجستگی‌های اولیه مشاهده شد. برجستگی‌های اولیه به یکی از سه شکل کله‌قندی (Aculeate) (شکل ۱، B و ۲)، زگیلی (Tuberculate) و تپه‌ماهوری

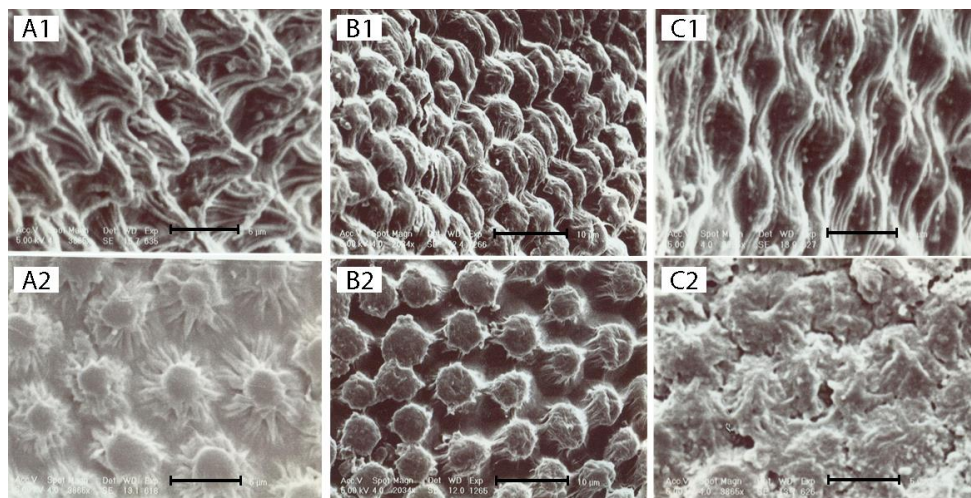
اگرچه بسیاری از نمونه‌های جنس ماشک که در این مطالعه بررسی شد دارای ویژگی‌های ماکرومورفولوژی مشابهی بودند، هیچ‌کدام از گونه‌های مطالعه شده در این جنس دارای پوشش دانه‌ای مشابهی نبودند. برجستگی‌ها از نوع Papillose و شکل و ارتفاع برجستگی‌ها و نحوه به هم پیوستن آنها به یکدیگر متنوع و متمایز بود. براساس اندازه دانه‌ها و ریزریخت‌شناسی پوشش آنها چهار دسته مختلف شناسایی و کلید شد. نخستین دسته شامل پوشش دانه‌هایی بود که برجستگی‌های سطح دانه آنها از نوک قفل منشأ گرفته و تا پایین سطح زمینه ادامه داشت؛ به گونه‌ای که حالت برجستگی به صورت تپه‌ماهوری زگیلی مشاهده شد. دومین دسته شامل پوشش دانه‌ای بود که برجستگی‌های

برجستگی‌ها به یکی از شکل‌های گرد یا خورشیدی (Rounded)، بیضی (Elliptic) و ستاره‌ای شکل (Stellate) دیده شد. ارتفاع لبه‌ها (Ridges) در دسته سوم بسیار متنوع بود؛ برای مثال ارتفاع برجستگی‌ها در گونه *V. aucheri* حدود ۷/۵ میکرومتر و در گونه *V. villosa* حدود ۳/۵ میکرومتر (شکل ۱، B2) بود. واریته زراعی *V. sativa* دارای بیشترین تراکم برجستگی‌ها بود.

(Colliculate) (شکل ۱، A) بود که از یکدیگر تفکیک پذیر بودند. قسمت انتهایی برجستگی‌ها به طور عمودی به یکی از شکل‌های نوک تیز (Acute)، نوک کند (Obtuse)، نوک فرورفته (Retusus)، نوک بریده (Turncate) و نوک خیلی تیز (Pungens) و در صورت مشاهده از کنار به یکی از دو شکل نوک خمیده (Curved) یا نوک راست (Erect) دیده شد. وضعیت نوک برجستگی‌ها نسبت به تزیینات زمینه‌ای در تصاویر گرفته شده از سطح بالای



شکل ۱- A) تزیینات *V. koeieana*. در این گونه دو نوع برجستگی اولیه و ثانویه به صورت برجستگی‌های تپه‌ماهوری با شیارهایی که از نوک تا پایین ادامه می‌یابند مشاهده شد (A1 و A2 تصویر از پهلو). علامت بار در A1 معادل ۵ میکرومتر و در A2 معادل ۵۰ میکرومتر است. B) برجستگی‌های اولیه در *V. villosa*. این برجستگی‌ها به شکل کله‌قندی از نوع خورشیدی و حالت خمیده بودند که شیارهای موجود در آن از پایین تر از نوک منشأ گرفته بودند و تا پایین ادامه داشتند (B1 تصویر از پهلو و B2 تصویر از روبرو). علامت بار معادل ۱۰ میکرومتر است. C) نمونه‌ای از برجستگی‌های اولیه در *V. crocea* به صورت زگیل دار، که از نوع گرد تا نامنظم روی بذر دیده شد. در این گونه، شیارهای موجود در آن از نوک منشأ گرفته و به صورت میله‌هایی تا پایین ادامه می‌یابد (C1 تصویر از پهلو و C2 تصویر از روبرو). علامت بار معادل ۱۰ میکرومتر است.



شکل ۲- A) برجستگی‌های اولیه در *V. multijuga*، به شکل کله‌قندی، از نوع خورشیدی و حالت راست که شیارها از پایین تر از نوک منشأ گرفته و تا پایین ادامه یافته است (A1 تصویر از پهلو و A2 تصویر از روبرو). علامت بار معادل ۱۰ میکرومتر است. B) برجستگی‌های اولیه در *V. hircanica*، به شکل زگیلی، از نوع کوتاه و حالت بیضی تا نامنظم، شیارها در این گونه از پایین تر از نوک منشأ گرفته و نوک برجستگی‌ها فرورفته دیده شد (B1 تصویر از پهلو و B2 تصویر از روبرو). علامت بار معادل ۱۰ میکرومتر است. C) برجستگی‌های اولیه در *V. tetrasperma*، به شکل تپه‌ماهوری، از نوع کوتاه و حالت بیضی تا نامنظم، شیارها در این گونه از نوک منشأ گرفته تا پایین ادامه یافته است (C1 تصویر از پهلو و C2 تصویر از روبرو). علامت بار معادل ۵ میکرومتر است.

بحث

ارتباطات تاکسونومیک دانه‌های جنس ماشک را معرفی و براساس تصاویر ارائه شده از ویژگی‌های ریزریخت‌شناسی پوسته دانه و ریخت‌شناسی در یک بزرگنمایی زیاد، تاکسون‌های موجود را با یکدیگر مقایسه کرده است. با وجود امکان دسترسی به عمق میدان بالا، حد بیشتر تفکیک و بزرگنمایی زیاد که سه مزیت استفاده از SEM است، به دلیل استفاده از ابعاد مشخص نمونه‌های مطالعه شده و مراحل آماده‌سازی حساس آنها، بررسی ریزریخت‌شناسی سطح دانه گونه‌های جنس ماشک نشان داد که صفات اندازه، تعداد، شکل، رنگ و تزیینات سطح دانه در تفکیک سه زیرگونه ذکر شده کارآمد هستند. معرفی الگوی اصلی تزیینات پوسته دانه به صورت زگیل دار در این مطالعه، با کارهای حسین زاده و همکاران مطابقت دارد (Hosseinzadeh et al., 2008). با وجود ادعای حسین زاده و همکاران (۲۰۰۸) مبنی بر وجود تنوع کم بین

مقایسه شکل‌های گیاهی از حد چشم غیر مسلح تا SEM به عنوان نقطه اتکای بیشتر تفسیرهای تاکسونومیک و راه‌گشای حل مسائل طبقه‌بندی در منابع مختلف انجام شده است (Hosseinzadeh et al., 2008). برخی مانند Turner (۱۹۷۷) در این باره استفاده از داده‌های شیمیایی را توصیه کرده‌اند. Mayer (۱۹۹۱) به استقلال مطالعات ریز تاکسونومی به عنوان علم گونه‌ها از موضوع ماکروتاکسونومی (Voronchikhin, 1988) به عنوان علم طبقه‌بندی معتقد است. برای دسته‌بندی گیاهان براساس هر یک از این نظریات باید تفاوت‌های ریخت‌شناسی (ماکرو و میکرو) زیادی را شناسایی و استفاده کرد. این مطالعه در کنار مطالعات Boissier (۱۸۸۸)، Lehle و Tanner (۱۹۷۳) و Hosseinzadeh و همکاران (۲۰۰۸) به کمک میکروسکوپ الکترونی ننگاره (SEM) بخشی از

تفکیک آنها برای طبقه‌بندی آسان نیست، به طوری که گونه‌های زیادی وجود دارد که به آسانی امکان مطالعه جزئی آنها وجود ندارد؛ حتی بسیاری از مشاهدات معرفی شده برای آنها از دید امروزی‌ها اشتباه و یا به غلط تفسیر شده است؛ به همین دلیل Pakravan و همکاران (۲۰۰۱)، بر ویژگی‌های تزئینات ریز پوشش دانه به‌عنوان صفات شناسایی‌کننده به‌ویژه در گونه‌های نزدیک چون صفات ریزریخت‌شناسی موم، کرک، اسپور و ساختمان اپیدرم برای شناخت گونه‌ها یا جنس‌ها تأکید کردند. با وجود اینکه تزئینات دانه‌های مطالعه شده در این پژوهش به‌طور کلی مشابه بودند، تفاوت‌های تشخیص‌پذیر و ویژه‌ای نظیر ساختارهای حفره‌مانند روی پوشش دانه آنها، در ایجاد تمایز بین گونه‌ها، بسیار مهم دیده شد. این یافته با یافته Pakravan و همکاران (۲۰۰۱) که تزئینات پوشش دانه‌ها را در گونه‌های نزدیک، تمایزشدنی دانستند مطابقت دارد. با توجه به اینکه امروزه در عصر ژنومی، هنر سیستماتیک مدرن به استفاده از روش‌های مرسوم و تلفیق آن با دیگر روش‌ها از جمله صفات ریزریخت‌شناسی متکی است و از ریخت‌شناسی پوشش دانه برای درک ارتباطات سیستماتیکی در داخل گونه‌های برخی از جنس‌ها مانند گیاهان Hawaiian Lobelioideae استفاده شده است (Buss et al., 2001)، پیشنهاد می‌شود با استفاده از کارهای قبلی انجام‌شده روی تاکسونومی *Vicia* به‌عنوان مدل و نتایج این مطالعه و تزئینات پوشش دانه به‌ویژه اندازه و شکل برجستگی‌های سطح خارجی، پوشش دانه را یکی از صفات مهم سیستماتیکی تلقی کرد و با تصویربرداری‌های مکرر، از تکنیک پردازش تصویر (Image analysis) در طبقه‌بندی‌های جدید و

گروه‌های نزدیک در جنس *Vicia*، امکان تقسیم‌بندی ۲۰ گونه مختلف در ۴ دسته براساس ویژگی‌های ریزریخت‌شناسی در این مطالعه نشان داد پوشش دانه، انعکاسی از تفاوت‌های ژنتیکی بوده است که می‌تواند در تقسیم‌بندی گونه‌ها به‌خوبی استفاده شود. این مطالعه همانند نظر Barthlott (۱۹۸۴) و Mirzaei و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که ویژگی‌های ریزریخت‌شناسی تزئینات سطح دانه در مقایسه با بسیاری از ساختارهای رویشی و گل، انعطاف‌پذیری بسیار کمی دارد و ممکن است تنوع بین گونه‌ها را در نمونه‌های مطالعه شده به‌خوبی و تا حد زیادی تفکیک کند. تصاویر گرفته شده از تزئینات پوسته دانه با تقسیم‌بندی این جنس به ۴ بخش به‌خوبی مطابقت داشت؛ همچنین دسته‌بندی ارائه شده در این مطالعه نشان داد که مشخصه‌های ریزریخت‌شناسی از طریق کلید شناسایی ارائه شده در آخر همین مقاله از هم تفکیک‌پذیر است. این کار را قبلاً Bullter (۱۹۸۸) برای صفات عرض، عمق ناف (hilum) و *Tracheid bar* در طایفه *Vicieae* گزارش کرده بود. آنالیز گونه‌های بیشتر *Vicia* ممکن است انواع متفاوت تری از پوشش دانه را نشان دهد. در طبقه‌بندی برخی از گونه‌های *Vicia* براساس ویژگی‌های دانه، نیز این موضوع تأیید شده است (Chertkova- Zertova, 1979). با این حال بیشتر شناسایی‌های دسته‌بندی‌های این جنس تاکنون براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی مانند شکل، اندازه دانه و محل قرار گرفتن ناف انجام شده است (Gunn, 1982; Voronchikhin, 1988). در گیاهان دیگر نیز مطالعه گسترده ویژگی‌های ریخت‌شناسی به‌طوری است که شاید تعداد کمی از این صفات برای مطالعه باقی مانده است؛ با این حال به دلیل تنوع و تشابهات بسیار فراوان،

سلول‌های اپیدرمی، تعداد لایه‌های Testa و Exotesta که در گونه‌ها متنوع هستند، می‌تواند در بهینه‌سازی کلیدهای شناسایی استفاده شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه صنعتی اصفهان برای پرداخت هزینه انجام طرح پژوهشی تشکر می‌کنند.

درک ارتباط ریخت‌شناسی (Wouw *et al.*, 2001) و تفسیر و تحلیل نتایج استفاده شود. در این باره می‌توان به آنالیزهای PCR (Schaefer *et al.*, 2012; Shiran *et al.*, 2014) و RFLPs و الکتروفورز پروتئین دانه (Lehle and Tanner, 1973; Ven *et al.*, 1993) و ارتباطات تاکسونومیکی بین باقلا (*Vicia faba*) و خویشاوندان آنها و برخی از اعضای جنس ماشک اشاره کرد. علاوه بر ترتینات پوشش، ویژگی‌های شکل

منابع

- Abdel Khalik, K., Abd El-Ghani, M. M. and El Kordy, A. (2008) Fruit and seed morphology in *Galium* L. (Rubiaceae) and importance for taxonomic identification. *Acta Botanica Croatica* 67: 1-20.
- Adou-el-Elain, M. M., Loufty, M. H. A. and Shehata, A. A. (2007) Seed surface characters and their systematic significance in the genus *Lathyrus* (Leguminosae, Papilionoideae, Viciae). *Feddes Repertorium* 118: 269-285
- Bahadur, B., Venkateswarlu, K. and Swamy, N. R. (1989) SEM studies of seeds in nine species of *Petunia* Juss (Solanaceae). *Phytomorphology* 39: 121-128.
- Barthlott, W. (1984) Microstructural features of seed surfaces. In: *Current concepts in palnt taxonomy* (Eds. Heywood, V. H. and Moore, D. M.) 95-105. Academic Press. London. UK.
- Beentje, H. (2010) *The Kew Plant Glossary: An Illustrated Dictionary of Plant Terms*. Kew, Richmond: Royal Botanic Gardens.
- Boissier, E. (1888) Leguminosae., In: *Flora orientalis (supplementum)* (Ed. Buser, R.) 194-195.
- Bullter, E. A. (1988) The SEM and seed identification with particular reference to the Viciae. pp. 215-224, In: *Scanning electron microscopy in archeology* (Ed. Olsen, S. L.). British Series and International Series (BAR. Int. Ser.).
- Buss, C. C., Lammers, T. G. and Wise, R. R. (2001) Seed coat morphology and its systematic implications in *Cyanea* and other genera of Lobelioideae (Campanulaceae). *American Journal of Botany* 88: 1301-1308.
- Büyükkartal, H. N., Çölgeçen, H. and Pınar, N. M., (2013) Seed coat ultrastructure of hard-seeded and soft-seeded varieties of *Vicia sativa*. *Turkish Journal of Botany* 37: 270-275.
- Caas, G. D. (2001) Micromorphological and typological studies in the neotropical genus *Axonopus* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae). In: *Proceeding of Deep Morphology*. 18-21 October 2001. Institute of Botany, University of Vienna. Vienna, Austria.
- Campeol, E., Catalano, S., Cremonini, R. and Morelli, I. (2000) Flavonoids analysis of *Vicia* species of Narbonensis complex: *V. kalakhensis* Khatt., Maxt., Bisby and *V. eristalioides* Maxt. *Caryologia* 53(1): 63-68.
- Caputo P., Frediani M., Gelati M. T., Venora G., Cremonini R., and Ruffini Castiglione, M. (2013) Karyological and molecular characterisation of subgenus *Vicia* (Fabaceae). *New Trends in Plant Cytogenetics and Cytoembryology* 147: 1242-1252.

- Chertkova- Zertova, A. (1979) Papilionaceae 1. *Vicia* and *Faba*. In: Flora Iranica (Ed. Rechinger, K. H.). 140: 16-57. Akademische Druck- und Verlagsanstalt, Graz, Austria.
- Chuang, T. L. and Heckard. L. R. T. (1991) Genetic relignment and synopsis of subtribe Castillejinea (Scrophulariaceae – tribe – pedicularae). Systematic Botany Lawrence 16: 644–666.
- Davis, P. H. and Plitmann, U. (1970) *Vicia* L. In: Flora of Turkey (Ed. Davis, P. H.). 39: 274–325. Edinburgh Univ. Press.
- Duc, G., Bao, S. Y., Baum, M., Redden, B., Sadiki, M. and M. J. Suso. (2010) Diversity maintenance and use of *Vicia faba* L. genetic resource. Field Crops Research 115: 270-278.
- El-Kholy, M. A., Kasem, W. T., Mabrouk, A. S. (2011) Taxonomic evaluation using pollen grain sculpture and seed coat characters of 11 taxa of genus *Hibiscus* (Malvaceae) in Egypt. Annals of Agricultural Science 56: 9–15.
- Engler, A. (1892) Syllabus der pflanzenfamilien. Gebruder Borntraeger, Berlin. Vol. 2.
- Fedchko, B. A. (1984) *Vicia* L. In: Flora of the USSR (Flora SSSR) (Eds. Kamarov, V. L., Shishkin, B. K. and Borov E. G.). 13:309-360. Koeltz Scientific Books. Koenigsteine.
- Frediani, M., Maggini, F. Gelati, M. T. and Cremonini, R. (2004) Repetitive DNA sequences as probes for phylogenetic analysis in *Vicia* genus. Caryologia 57: 379-386.
- Ghaempanah, S., Ejtehadi, H., Vaezi, J. and Farsi, M. (2013) Seed-coat anatomy and microsculpturing of the genus *Erysimum* (Brassicaceae) in Northeast of Iran. Phytotaxa 150 (1): 41–53.
- Günes, F., Ali, C. (2011) Seed characteristics and testa textures some taxa of genus *Lathyrus* L. (Fabaceae) from Turkey. International Journal of Agriculture and Biology 13: 888–894.
- Gunn, Ch. R. (1982) Seed topography in the Fabaceae. Seed Science and Technology 9: 737-757.
- Holt, J. and Birch, N (1984) Taxonomy, evolution and domestication of *Vicia* in relation to aphid resistance. Annals of Applied Biology 105: 547–556.
- Hoot, S. B. T. (1991) Phylogeny of the Ranunculaceae based on epidermal microcharacters and macromorphology. Systematic Botany Lawrence 16: 741–755.
- Hosseinzadeh, Z., Pakravan, M. and Tavassoli. (2008) A. micromorphology of seed in some *Vicia* species from Iran. Rostaniha 9: 96-107.
- Jaaska, V. and Leht, M. (2007) Phylogenetic relationships between and within sections Hypechusa, Narbonensis and Peregrinae of genus *Vicia* (Fabaceae) based on evidence from isozymes and morphology. Central European Journal of Biology 2: 137-155.
- Jalilian, N., Rahiminejad, M. R., Maassoumi, A. A. and Maroofi, H. (2014) Taxonomic revision of the genus *Vicia* L. (Fabaceae) in Iran. The Iranian Journal of Botany 20(2): 155-164.
- Koul, K. K., Nagpal, R., Raina, S. N. (2000) Seed coat microsculpturing in *Brassica* and allied genera (subtribes Brassicinae, Raphaninae, Moricandiinae). Annals of Botany 86: 385–397.
- Lehle, L. and W. Tanner. (1973) The function of myo-inositol in the biosynthesis of raffinose – purification and characterization of galactinol: sucrose 6-galactosyltransferase from *Vicia faba* seeds. European Journal of Biochemistry 38(1): 103–110.
- Lestern, N. R. (1979) A distinctive seed coat pattern in the *Vicia* (Papilionoidae, Leguminosae). In: The Proceedings of the Iowa Academy of Science 86: 102–104.
- Maxted, N. (1995) An Ecogeographical Study of *Vicia* subgenus *Vicia*. Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Genepools, No. 8. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Mayer, S. S. T. (1991) Morphology variation in Hawaiian Wikstroemia (Thymelaeaceae). Systematic Botany Lawrence 16: 693–704.
- McVaugh, R. (1943) Campanulaceae (Lobelioideae). North american flora. 32A: 1-134.

- Mirzaei, L., Assadi, M., Nejadstari, T. and Mehregan, I. (2015) Seed surface morphology in some species of the *Colutea* L. (Fabaceae) in Iran. *Advances in Bioresearch* 6(5): 105-109.
- Muszynski, S., Kocon, J. and Guzowski, W. (1986) Scanning electron microscopic analysis of the seed surface in wild and cultivated petunias (*Petunia axillaris* Juss. and *Petunia hybrida* hort. Vilm.). *Acta Agrobotanica* 39: 189-194.
- Nabeh, K., Abdel Khalik, I., and Al-Gohary, H. (2013) Taxonomic relationships in some *Vicia* species from Egypt, based on seed morphology and SDS-PAGE of seed proteins. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 35(4): 603-611.
- Pakravan, M. K., Hayel Moghaddam, A. Ghahreman. (2001) Use of micromorphological data for classification in the genus *Alcea* (Malvaceae). In: *Proceeding of Deep Morphology 18–21 October 2001*. Institute of Botany, University of Vienna, Vienna, Austria.
- Ray, S., Sinhababu, A. and Tah, J. (2014) Morphological and micromorphological studies of seeds of ten accessions of *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC. *Environmental and Experimental Biology* 12: 101–106.
- Roti – Michelozzi, G. and Valenti, G. S. (1981) Seed characteristics in Italian species of genus *Vicia* section *Ervum* and their value. *Seed Science and Technology* 14: 391–402.
- Ruffini Castiglione, M., Frediani, M., Gelati, M. T., Ravalli, C., Venora, G., Caputo, P. and Cremonini, R. (2011) Cytology of *Vicia* species. X. Karyotype evolution and phylogenetic implication in *Vicia* species of the sections *Atossa*, *Microcarinae*, *Wiggersia* and *Vicia*. *Protoplasma* 248: 707–716.
- Schaefer, H., Hechenleitner, P., Santos-Guerra, A., Menezes de Sequeira, M., Pennington, R. T., Kenicer, G. and Carine. M. A. (2012) Systematics, biogeography, and character evolution of the legume tribe Fabeae with special focus on the middle-Atlantic island lineages. *BMC (BioMedical Central) Evolutionary Biology* 12: 250.
- Shiran, B., Kiani, S., Sehgal, D., Hafizi, A., Chaudhary, M. and Raina, S. N. (2014) Internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA resolving complex taxonomic history in the genus *Vicia* L. *Genetic Resources and Crop Evolution* 61:909–925.
- Smykal, P., Coyne, C. J., Ambrose, M. J., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M. W., Berger, J., Greene, S. J., Nelson, M. W., Besharat, N., Vymyslický, T., Toker, C., Saxena, R. K., Roorkiwal, M., Pandey, M. K., Hu, J., Li, Y. H., Wang, L. X., Guo, Y., Qiu, L. J., Redden, R. J. and Varshney, R. K. (2015) Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34: 43–104.
- Stearn, W. T. (1983) *Botanical Latin*, 3rd ed. Thomas Nelson, London.
- Turner, B. L. (1977) Chemosystematics and its effects upon the traditionalist. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 64: 233-242.
- van de Wouw, M., Maxted, N., Chabane, K. and Ford-Lloyd, B. V. (2001) Molecular taxonomy of *Vicia* ser. *Vicia* based on amplified fragment length polymorphism. *Plant Systematics and Evolution* 229: 91–105.
- van de Wouw, M., Maxted, N. and Ford-Lloyd, B. V. (2003) A multivariate and cladistic study of *Vicia* ser. *Vicia* (Fabaceae) based on analysis of morphological characters. *Plant Systematics and Evolution* 237: 19–39.
- Ven, W., vande, T. G., Duncan, N., Ramsay, G., Phillips, M., Powell, W. and Waugh, R. (1993) Taxonomic relationship between *V. faba* and its relative based on nuclear and mitochondrial RFLPs and PCR analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 86: 71-80.
- Voronchikhin, V. V. (1988) Identification of certain species of the genus *Vicia* L. from their fruits and seeds. *Vestnik Moskovskogo Universiteta Biologiya* 36: 22-29.

Wouw, M. van de, Maxted, N., Chabane, K. and Ford Lloyd. B. V. (2001) Molecular taxonomy of *Vicia* Sec. *Vicia* based on amplified fragment length polymorphisms. *Plant Systematics and Evolution* 229: 91-105.