

مطالعه ریخت شناسی دانه گرده های چندساله جنس اسپرس (*Onobrychis*) استان خراسان
Study of pollen grain morphology in perennial species of sainfoin
(*Onobrychis*) of Khorasan province

حسن امیر آبادی زاده^۱، آذرنوش جعفری^۲، هما محمود زاده آخرت^۳ و فرنگیس قنواتی^۴

چکیده

امیر آبادی زاده، ح.، آ. جعفری، ه. محمودزاده آخرت و ف. قنواتی. ۱۳۸۸. مطالعه ریخت شناسی دانه گرده های چندساله جنس اسپرس (*Onobrychis*) استان خراسان. مجله علوم زراعی ایران: ۱۱ (۱): ۱۴-۱.

در این تحقیق ریخت شناسی دانه گرده ۸ تاکسون چندساله از جنس *Onobrychis* (اسپرس) استان خراسان، به منظور مطالعه روابط گونه ها با یکدیگر و استفاده از این صفت در مطالعات سیستماتیک مورد مطالعه قرار گرفت. این تحقیق نشان داد که دانه های گرده مورد بررسی از نوع سه شیاری، پرولیت و پرپرولیت بودند که در آنها اکتوکولپی طویل، کم عمق یا عمیق و در قطبین باریک و غشای شیار (colpi) با گرانول های ریز و درشت پوشیده شده بود. تزئینات سطح اگزین از نوع مشبک (reticulate) و لومن از نظر شکل و اندازه متفاوت بود. دانه گرده در منظر استوایی از نوع کشیده، بیضی تا مستطیلی لب گرد بوده و از منظر قطبی کروی، سه وجهی لب گرد یا کاملاً سه وجهی بود. دانه های گرده براساس اندازه، شکل از منظر قطبی و استوایی و تزئینات سطح اگزین به دو گروه کروی تا مثلثی نوک گرد با شیارهای کم عمق در سطح قطبی که در آن قطر لومن به سمت لبه شیار کاهش می یابد و گرده مثلثی نوک گرد تا مثلثی با شیارهای عمیق در سطح قطبی که در آن فضای لومن تزئینات تا لبه شیار هم اندازه اند، تقسیم شدند. گونه های *O. amoena* subsp. *meshhedensis*، *O. amoena* subsp. *amoena*، *O. cornuta*، *O. chorassanica* و *O. ptychophylla* در گروه اول و واریته های *O. lipskyi* var. *lipskyi* و *O. lipskyi* var. *rechingeri* در گروه دوم دسته بندی شدند. با توجه به اینکه زیر گونه *O. amoena* subsp. *amoena* شباهت ریخت شناسی بسیار زیادی به زیر گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* دارد و با توجه به وجود تیپ های حد واسط، تفکیک آنها براساس صفات رویشی و نیام بسیار مشکل و در برخی موارد غیرممکن است، بنابراین مطالعات ریخت شناسی دانه گرده امکان تشخیص و تفکیک این زیر گونه ها را فراهم می کند. شباهت ریخت شناسی دانه گرده در دو واریته *O. lipskyi* var. *lipskyi* و *O. lipskyi* var. *rechingeri* نیز موید ارتباط تنگاتنگ این دو واریته بوده و نظر رشینگر مبنی بر مترادف بودن این دو واریته را تایید می نماید.

واژه های کلیدی: اسپرس، دانه گرده، ریخت شناسی و خراسان.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۸/۲۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

۲- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

۳- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

۴- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج (مکاتبه کننده)

محیطی و بیماری‌ها و افزایش عملکرد کمی و کیفی محسوب می‌شود.

بر اساس منابع موجود، در رده‌بندی گونه‌های مختلف جنس *Onobrychis* تناقض‌هایی به چشم می‌خورد. گونه‌های این جنس از نظر بخش زایشی و صفات مربوط به نیام شباهت‌های زیادی با یکدیگر دارند که شناسایی تاکسونومیک آن‌ها را با مشکل مواجه می‌سازد. در مطالعات مربوط به رده‌بندی، شکل دانه گرده شاخص مناسبی برای گیاه‌شناسان محسوب می‌شود. آنچه باعث شده تا توجه گیاه‌شناسان به بررسی دانه گرده جلب شود، وجود برخی صفات منحصر به فرد در دانه گرده مانند تنوع در شکل، تزئینات سطح انگزین و تعداد زیاد دانه‌های گرده تولید شده در هر گیاه است (Moore et al., 1991). ریخت شناسی دانه گرده جنس اسپرس تاکنون بطور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است و اطلاعات موجود عمدتاً به صورت کلی و مربوط به کل تیره *Papilionaceae* است (Erdtman, 1966; Ghanavati et al., 2007; Melhem, 1971; Ohashi, 1971; Pire, 1974). متعلق به تیپ *Onobrychis* و از نوع سه شیاری و تزئینات سطح انگزین فوق مشبک می‌باشد (Faegri, 1956; Faegri and Iversen, 1989; Moore et al., 1991). بیشترین اطلاعات مربوط به مورفولوژی دانه گرده در جنس اسپرس مربوط به تحقیقات پاولوا و مانوا (Pavlova and Manova, 2000) است. در این تحقیق ریخت شناسی دانه گرده ۱۲ گونه از جنس *Onobrychis* و دو گونه از جنس *Hedysarum* بلغارستان با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که دانه‌های گرده از نوع سه شیاری با اندازه متوسط تا بزرگ و تزئینات سطح انگزین از نوع مشبک می‌باشد. تفاوت دانه‌های گرده مربوط به ابعاد، شکل شکاف و لایه بندی انگزین آنها می‌باشد که بر همین اساس سه زیر تیپ گرده بر اساس اندازه و تزئینات تشخیص داده

جنس اسپرس به خانواده *Fabaceae* و طایفه *Hedysareae* تعلق دارد. این جنس با دارا بودن بیش از ۱۳۰ گونه چندساله و یکساله در نواحی معتدله شمالی گسترش دارد و مرکز تنوع آن شرق مدیترانه و غرب آسیا می‌باشد. بواسیه (Boissier, 1872) این جنس را به دو بخش *Euonobrychis* و *Sisyrosema* تقسیم و ۲۴ گونه را در این دو بخش قرار داد. رشینگر (Rechinger, 1984)، ۷۷ گونه را در قالب دو زیرجنس و ۹ بخش معرفی کرد. زیر جنس *Sisyrosema* شامل ۵ بخش: *Heliobrychis*, *Anthyllium*, *Afghanica*, *Insignes* و *Hymenobrychis* بوده و زیرجنس *Onobrychis* دارای ۴ بخش: *Laxiflora*, *Dendrobrychis*, *Onobrychis* و *Lophobrychis* می‌باشد. رنجبر و همکاران (Ranjbar et al., 2004; Ranjbar et al., 2006; Ranjbar et al., 2007) و امیرآبادی زاده و همکاران (Amirabadizadeh et al., 2006) نیز چند گونه از جنس *Onobrychis* را به عنوان گونه‌های جدید از ایران معرفی کردند. در ایران جنس اسپرس دارای ۶۳ گونه یکساله (۱۳ گونه) و چند ساله (۵۰ گونه) می‌باشد که بیش از ۳۰ گونه آن انحصاری ایران بوده و در مناطق مختلف آب و هوایی پراکنش یافته‌اند. تعدادی از گونه‌های این جنس دارای ارزش علوفه‌ای بوده و در کنترل فرسایش و یا بعنوان گیاهان جلب کننده زنبور عسل مورد استفاده قرار می‌گیرند. برخی از گونه‌های این جنس نیز بعنوان گیاهان زینتی کشت می‌شوند (Lock and Simpson, 1991; Mabberley, 1997; Yakovlev et al., 1996). این گونه‌ها تنوع ژنتیکی بالایی داشته و به عنوان یک ذخیره ژنتیکی غنی و ارزشمند می‌توان از آنها برای اصلاح گونه‌های زراعی استفاده کرد. انجام تلاقی بین انواع غیرزراعی با گونه زراعی اسپرس، روش مناسبی برای فائق آمدن بر نارسایی‌های اسپرس‌های زراعی و افزایش مقاومت نتاج به تنش‌های

کشور (TARI) موجود هستند، مورد استفاده قرار گرفتند.

مطالعه دانه های گرده با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی

به منظور مطالعه دانه گرده، گل های سالم و مناسب از هر گونه انتخاب و با استفاده از استریومیکروسکوپ، پرچم ها از سایر قسمت های گل جدا شدند. برای اجتناب از اختلاط دانه های گرده سایر گیاهان، از بساک های شکفته نشده استفاده شد. بساک ها بر روی لام قرار داده شده و نوک آنها با سوزن شکافته و به آرامی تکان داده شدند تا دانه های گرده روی لام قرار گیرند. سپس با ریختن یک قطره آب مقطر روی آنها با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

در بررسی دانه های گرده با میکروسکوپ الکترونی سطح آنها با استفاده از دستگاه Polaron-SC7620 Spotter Coater با لایه نازکی از طلا پوشانده شد. سپس پایه حامل دانه های گرده درون محفظه میکروسکوپ الکترونی (Bruker, O-1455 VP, Germany) قرار داده شد. برای هر گونه، دانه های گرده از دو منظر قطبی و استوایی مورد بررسی قرار گرفتند. برای هر صفت ۱۰ نمونه با بزرگنمایی ۴۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ برابر مورد مطالعه قرار گرفتند. صفات کمی مانند طول محور قطبی (P)، طول محور استوایی (E)، نسبت طول محور قطبی به طول محور استوایی (P/E)، طول شیار (L)، عرض شیار (S)، مزوکلپیوم (M) و آپوکلپیوم (A) لومن بر روی هر یک از نمونه ها اندازه گیری و صفات کیفی مانند شکل و تزئینات سطح اگزین مورد بررسی قرار گرفتند. اصطلاحات گرده براساس (Faegri and Iversen, 1989) و (Punt et al., 1994) بکار برده شد.

محاسبات آماری شامل تجزیه واریانس، مقایسه میانگین صفات (آزمون دانکن) محاسبه ضرایب همبستگی و تجزیه کلاستر با استفاده از نرم افزار SAS و SPSS انجام شدند.

شدند. آنها همچنین نشان دادند که ریخت شناسی دانه گرده ارتباط زیادی با گونه های هر دو جنس دارد. گونه های جنس *Hyoscyamus* L. توسط خاتم ساز و زنجیریان (Khatamsaz and Zanjirian, 1998) گونه های جنس *Nepeta* L. بوسیله عزیزیان و همکاران (Azizian et al., 2001) و گونه های جنس *Diplotaenia* Bioss. توسط عزیزیان و همکاران (Azizian et al., 2003) مطالعه و تفکیک شده اند. قنواتی و همکاران (Ghanavati et al., 2007) با مطالعه دانه گرده گونه های جنس *Medicago*، دو گونه *M. rigiduloides* و *M. tornata* و یوسف زاده و همکاران (Yosefzadeh et al., 2006) با مطالعه دانه گرده جنس *Terrataenium* در ایران دو گونه *T. lasiopetalum* و *T. nephrophyllum* را شناسایی و معرفی کردند.

در تحقیق حاضر، ویژگی های دانه گرده گونه های چند ساله جنس اسپرس در استان خراسان که تقریباً همگی آنها برای ایران و یا جهان انحصاری می باشند، به منظور مطالعه روابط گونه ها با یکدیگر و استفاده از این صفات در مطالعات سیستماتیک مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفته است.

مواد و روش ها

مواد گیاهی

در این تحقیق اسپرس های چندساله خراسان شامل *O. arnacantha* Bungei., *O. cornuta* (L.) Desve., *O. lipskyi* Korov. var. *lipskyi*, *O. lipskyi* var. *rechingeri* Širj. , *O. ptycophyla* (Del.) DC., *O. amoena* M. Pop. et Vved. subsp. *amoena*, *O. amoena* subsp. *meshhedensis* Širj. & Rech.f., *O. chorassanica* Bunge. جمع آوری شده از رویشگاه های اصلی در مناطق مختلف استان (جدول ۱) که در هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مشهد (MRCH) و موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع

جدول ۱- اسامی گونه‌های مورد مطالعه جنس *Onobrychis* و رویشگاه های آن‌ها در استان خراسان

Table 1. Studied species of *Onobrychis* and their habitats in Khorasan province

گونه گیاهی Species	رویشگاه Habitat
1 <i>O. amoena</i> subsp. <i>amoena</i>	بجنورد، شغان، ارتفاع ۲۰۰۰ متر، ۳۷۶۰ [†] Bojnord, Shoghan, altitude 2000m
2 <i>O. amoena</i> subsp. <i>meshhedensis</i>	فریمان، اره کمر، ارتفاع ۱۹۰۰ متر، ۱۱۱۸۳ [†] Fariman, arreh kamar, altitude 1900m
3 <i>O. arnacantha</i>	نیشابور، شمال دیزباد علیا، ارتفاع ۲۵۰۰ متر، ۷۴۸۹ [†] Neishabour, north of Dizbade Olya, altitude 2500m
4 <i>O. cornuta</i>	مشهد، دهبار، ارتفاع ۲۶۰۰ متر، ۷۱۷۴ [†] Mashhad, Dehbar, altitude 2600m
5 <i>O. ptychophylla</i>	باجگیران، ارتفاعات آسلمه، ارتفاع ۲۲۴۰-۲۲۰۰ متر، ۷۷۴۳ [†] Bajgiran, Asalme, altitude 2200-2240m
6 <i>O. lipskyi</i> var. <i>lipskyi</i>	شیروان، زیارت به نامانلو و گلول سرائی، ارتفاع ۱۸۵۰ متر، ۷۷۴۳ [†] Shirvan, Ziarat to Namanlo and Golole Sarani, altitude 1850m
7 <i>O. lipskyi</i> var. <i>rechingeri</i>	تربت حیدریه، بزق، ارتفاع ۲۵۰۰-۲۰۰۰ متر، ۴۷۹۷ [†] Torbat Heidarie, Bezgh, altitude 2000-2500m
8 <i>O. chorassanica</i>	مشهد، قرق کردیان، ارتفاع ۱۲۵۰ متر، ۷۸۰۵ [†] Mashhad, Kordian altitude, 1250m

* Height from sea level

† Specimen No. at MRCH

†† Specimen No. at TARI

* ارتفاع از سطح دریا

† شماره نمونه در هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مشهد

†† شماره نمونه در هرباریوم موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

نتایج

(جدول ۲). مقایسه میانگین طول محور قطبی گونه‌های اسپرس نشان داد که بلندترین دانه گرده (۳۷/۶ میکرون متر) متعلق به واریته *O. lipskyi* var. *lipskyi* و کوتاه ترین آن (۲۷/۵۱ میکرون متر) مربوط به زیرگونه *O. amoena* subsp. *amoena* می‌باشد (جدول ۳). میانگین صفت P/E که نشان دهنده شکل کلی دانه گرده است، در گونه‌های *O. amoena* subsp. *meshhedensis*، *O. arnacantha*، *O. chorassanica*، کمتر از دو بوده و از این نظر از نوع پرولیت و در گونه‌های *O. cornuta* و *O. ptychophylla* var. *lipskyi* و *O. lipskyi* var. *rechingeri* بیش از دو و دانه گرده به شکل پرپرولیت می‌باشد. بین گونه‌های *O. cornuta* و *O. lipskyi* var. *rechingeri*، *O. lipskyi* var. *lipskyi* و *O. ptychophylla*، *O. amoena* subsp. *meshhedensis* و *O. chorassanica* تفاوت معنی داری از نظر شکل کلی دانه گرده وجود

بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که دانه‌های گرده جنس *Onobrychis* از نوع سه شیاری، به شکل پرولیت و پرپرولیت می‌باشند. اکتوکولی طولی، کم عمق یا عمیق و در قطبین باریک است. همچنین غشای شیار (colpi) با تزئینات دانه‌ای زیادی پوشیده شده است. تزئینات سطح اکزین از نوع مشبک (reticulate) و لایه سگزین از نگزین قطورتر می‌باشد، لومن نیز از نظر شکل و اندازه متفاوت است. دانه گرده از منظر استوایی از نوع کشیده، بیضوی تا مستطیلی لب گرد بوده و از منظر قطبی کروی، سه وجهی لب گرد یا کاملاً سه وجهی می‌باشد. صفات کمی مانند طول محور قطبی (P)، طول محور استوایی (E)، نسبت طول محور قطبی به طول محور استوایی (P/E)، طول شیار (L)، عرض شیار (S)، مزوکلپیوم (M) و آپوکلپیوم (A) در جدول یک ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین گونه‌های مختلف اسپرس از نظر کلیه صفات در سطح یک درصد تفاوت معنی دار وجود داشت

جدول ۲- اندازه محور قطبی (P)، محورهاستوایی (E)، طول شیار (L)، عرض شیار (S)، مزوکلپیوم (M)، آپوکلپیوم (A)، نسبت محور قطبی به محور استوایی (P/E) در دانه گرده گونه های اسپرس مورد مطالعه بر حسب میکرون متر

Table 2. Species examined for pollen, with measurements (μm) of the mean ranges for the polar (P) and equatorial (E) axes, length (L) and width (S) of the colpus, mesocolpium (M) and apocolpium (A) and the shape index (P:E) in *Onobrychis* species

گونه گیاهی Species	P	E	L	S	M	A	P/E
1 <i>O. amoena</i> subsp. <i>amoena</i>	26.34 - 40.00†	14.25 - 17.00	22.70 - 26.90	1.40 - 2.70	11.27 - 16.10	3.70 - 4.40	1.60
2 <i>O. amoena</i> subsp. <i>meshhedensis</i>	31.90 - 36.78	17.16 - 19.70	28.20 - 32.80	0.43 - 0.89	14.10 - 14.70	4.50 - 5.00	1.86
3 <i>O. arnacantha</i>	28.23 - 32.77	14.40 - 16.22	20.83 - 26.90	1.40 - 2.81	11.76 - 14.08	6.50 - 9.05	1.98
4 <i>O. cornuta</i>	32.16 - 36.20	15.70 - 16.01	26.06 - 31.70	0.26 - 0.32	14.90 - 15.00	4.58 - 4.80	2.17
5 <i>O. ptychophylla</i>	33.03 - 36.10	13.63 - 14.86	30.56 - 33.40	1.25 - 1.68	10.23 - 11.15	3.02 - 3.20	2.38
6 <i>O. lipskyi</i> var. <i>lipskyi</i>	36.00 - 39.79	14.70 - 17.60	31.70 - 34.97	0.36 - 0.86	10.40 - 11.40	4.09 - 4.90	2.36
7 <i>O. lipskyi</i> var. <i>rechingeri</i>	29.90 - 32.36	13.70 - 16.56	28.38 - 30.00	0.66 - 0.93	9.20 - 9.40	2.86 - 2.88	2.06
8 <i>O. chorassanica</i>	28.75 - 39.53	15.02 - 17.90	29.54 - 30.77	0.88 - 1.58	11.03 - 11.91	6.01 - 6.90	1.94

†، در هر ستون عدد سمت چپ کم ترین و عدد سمت راست بیش ترین ابعاد اندازه گیری شده برای هر صفت هستند

†, The values in each column are the lowest and highest rates for each characteristic shown in left and right, respectively

جدول ۳- تجزیه واریانس اندازه محور قطبی (P)، محورهاستوایی (E)، طول شیار (L)، عرض شیار (S)، مزوکلپیوم (M)، آپوکلپیوم (A)، نسبت محور قطبی به محور استوایی (P/E) در دانه گرده گونه های اسپرس مورد مطالعه

Table3. Analysis of variance for the length of polar (P) and equatorial (E) axes, length (L) and width (S) of the colpus, mesocolpium (M) and apocolpium (A) and the shape index (P:E) of pollen grains in *Onobrychis* species

		میانگین مربعات (MS)							
S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی	P	E	L	S	M	A	P/E
species	گونه گیاهی	df	28.40**	5.54**	31.00**	2.16**	12.35**	8.48**	0.20**
Error	خطا	16.00	4.60	1.20	4.30	0.12	1.20	5.29	0.03
Total	کل	23.00							
CV (%)	ضریب تغییرات (د.صد)		6.56	6.87	7.13	29.15	8.81	11.21	9.77

** : Significant at 1% probability level.

** : معنی دار در سطح احتمال یک درصد

جدول ۴ - مقایسه میانگین صفات اندازه محور قطبی (P)، محوار استوایی (E)، طول شیار (L)، عرض شیار (S)، مزوکلپیوم (M)، آپوکلپیوم (A)، نسبت محور قطبی به محور استوایی (P/E) در دانه گرده گونه های اسپرس مورد مطالعه

Table 4. Mean comparison of length of polar (P) and equatorial (E) axes, length (L) and width (S) of the colpus, mesocolpium (M) and apocolpium (A) and the shape index (P:E) of pollen grains in *Onobrychis* species

گونه گیاهی		P	E	L	S	M	A	P/E
Species								
1	<i>O. amoena</i> subsp. <i>amoena</i>	27.51c	17.14ab	24.97c	2.60a	13.86a	4.1c	1.60c
2	<i>O. amoena</i> subsp. <i>meshhedensis</i>	34.52ab	18.71a	31.22ab	0.68cd	14.34a	4.80c	1.86bc
3	<i>O. arnacantha</i>	30.80bc	15.57bcd	24.02c	2.33a	13.61a	7.95a	1.98b
4	<i>O. cornuta</i>	34.32ab	15.83bcd	28.75b	0.28d	14.97a	4.72c	2.17ab
5	<i>O. ptychophylla</i>	34.18ab	14.38d	31.74ab	1.48b	10.84bc	3.08d	2.38a
6	<i>O. lipskyi</i> var. <i>lipskyi</i>	37.60a	16.08bcd	33.23a	0.53cd	10.93bc	4.6c	2.36a
7	<i>O. lipskyi</i> var. <i>rechingeri</i>	30.76bc	14.99cd	29.13b	0.76cd	9.30c	2.87d	2.06ab
8	<i>O. chorassanica</i>	32.39b	16.83abc	30.10ab	1.15bc	11.57b	6.43b	1.94bc

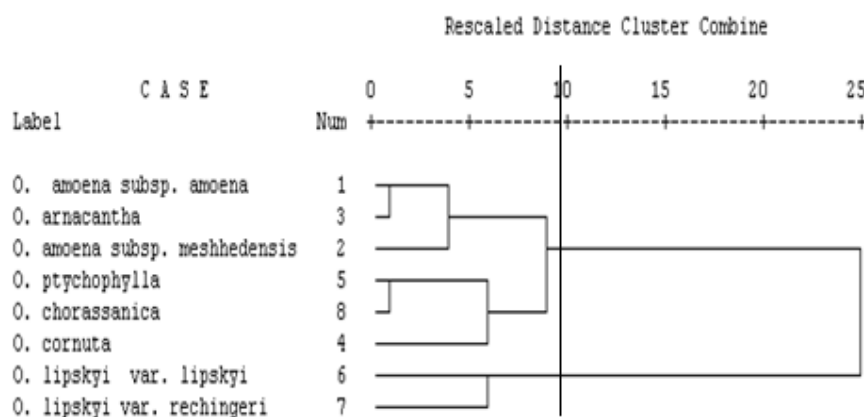
در هر ستون میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی داری ندارند. Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

جدول ۵ - ضرایب همبستگی ساده بین صفات اندازه محور قطبی (P)، محوار استوایی (E)، طول شیار (L)، عرض شیار (S)، مزوکلپیوم (M)، آپوکلپیوم (A)، نسبت محور قطبی به محور استوایی (P/E) در دانه گرده گونه های اسپرس مورد مطالعه

Table 5. Correlation coefficients for the length of the polar (P) and equatorial (E) axes, length (L) and width (S) of the colpus, mesocolpium (M) and apocolpium (A) and the shape index (P:E) of pollen grains in *Onobrychis* species

	P	E	L	S	M	A
E	-0.026 ^{ns}					
L	0.837**	0.002 ^{ns}				
S	-0.755*	-0.035 ^{ns}	-0.750*			
M	-0.123 ^{ns}	0.560 ^{ns}	-0.438 ^{ns}	0.162 ^{ns}		
A	-0.077 ^{ns}	0.242 ^{ns}	-0.445 ^{ns}	0.306 ^{ns}	0.426 ^{ns}	
P/E	0.768*	-0.657 ^{ns}	0.649 ^{ns}	-0.535 ^{ns}	-0.466 ^{ns}	-0.466 ^{ns}

ns: غیرمعنی دار، * و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد
ns: Non-significant, * and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای گونه های اسپرس بر اساس صفات دانه گرده

Fig 1. Dendrogram of cluster analysis of the *Onobrychis* species based on pollen grain characteristics

طویل، عمیق، غشای شیار تا حدودی توسط گرانول‌های کوچک پوشیده شده است. ابعاد $L \times S = 28/38-34/97 \times 0/36-0/93$ میکرون متر است. تزئینات از نوع شبکه‌ای، فضای لومن از نظر شکل و اندازه در اینترکولیوم و در حاشیه شیار یکسان است. قطر بزرگترین لومن در حدود $2/39$ میکرون متر می‌باشد. هر دو زیر گونه *O. lipskyi* var. *lipskyi* و *O. lipskyi* var. *rechingeri* به این گروه تعلق دارند.

این نتایج با یافته‌های اوهاشی (Ohashi, 1971)، فگری و ایورسون (Faegri and Iversen, 1989)، مور و همکاران (Moore et al., 1991) و پاولوا و مانوا (Pavlova and Manova, 2000) بر روی جنس اسپرس، مطابقت دارد. بنابراین بر اساس شکل دانه گرده از منظر قطبی و استوایی و تزئینات آن، این دو گروه قابل تفکیک می‌باشد. نتایج نشان داد که شکل دانه‌های گرده و خصوصیات کمی و کیفی آنها، جهت شناسایی و تفکیک گونه‌های جنس *Onobrychis* حائز اهمیت است. صفات کمی مانند طول محور قطبی (P)، طول محور استوایی (E)، نسبت P/E و صفات کیفی مانند تزئینات سطح اگزین، شکل شیار و شکل دانه گرده، صفاتی کلیدی در تفکیک دانه‌های گرده در این جنس به شمار می‌روند. از این رو گونه *O. cornuta* با وجود اینکه به گروه اول تعلق داشته و شباهت‌های زیادی با سایر گونه‌های این دسته دارد، اما با داشتن دانه گرده مستطیلی شکل از سایر گونه‌ها به سهولت قابل تفکیک می‌باشد. همچنین زیر گونه *O. amoena* subsp. *amoena* که شباهت ریخت شناسی بسیار زیادی به زیر گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* داشته و تفکیک این دو زیر گونه از نظر صفات رویشی و نیام به سختی صورت می‌گیرد و نیز با توجه به وجود تیپ‌های حدواسط که در برخی موارد تشخیص این دو را غیر ممکن می‌سازد، بررسی ریخت‌شناسی دانه گرده نشان داد که از منظر قطبی شکل دانه گرده در زیر گونه

نداشت. همچنین با افزایش طول محور قطبی، طول شیار و نسبت P/E نیز زیاد و عرض شیار کاهش یافت (جدول ۴). بر اساس دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر صفات کمی و کیفی، دانه‌های گرده به دو گروه تقسیم شدند (شکل ۱).

گروه ۱ (شکل ۲، A-F؛ شکل ۳، A-F؛ شکل ۴، A-F)

دانه گرده کروی تا مثلثی نوک گرد، با شیارهای کم عمق در سطح قطبی که در آن قطر لومن به سمت لبه شیار کاهش می‌یابد. دانه گرده از نوع پرولیت و پرپرولیت، $P/E = 1/84-2/39$ و ابعاد آن $P \times E = 26/34-39/79 \times 13/63-19/7$ میکرون متر می‌باشد. دانه گرده در منظر استوایی بیضوی کشیده، اکتوکولی طویل، کم عمق، غشای شیار توسط گرانول‌های کوچک و بزرگ پوشیده شده و ابعاد $L \times S = 0/83-33/4 \times 0/26-2/81$ میکرون متر می‌باشد. اندازه قطر بزرگترین لومن تزئینات شبکه‌ای حدود $3/2$ میکرون متر و اطراف شیار قطر لومن کمتر از یک میکرون متر است که بتدریج سوراخدار (perforate) می‌شود. گونه‌های *O. amoena* subsp. *meshhedensis*، *O. amoena* subsp. *amoena* و *O. cornuta*، *O. chorassanica*، *O. arnacantha* و *O. ptychophylla* به این گروه تعلق دارند. کوچکترین دانه گرده این گروه متعلق به زیر گونه *O. amoena* subsp. *amoena* است، درحالی که بزرگ‌ترین آنها متعلق به زیر گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* می‌باشد. گونه‌ها از نظر تزئینات اگزین نیز متفاوت می‌باشند.

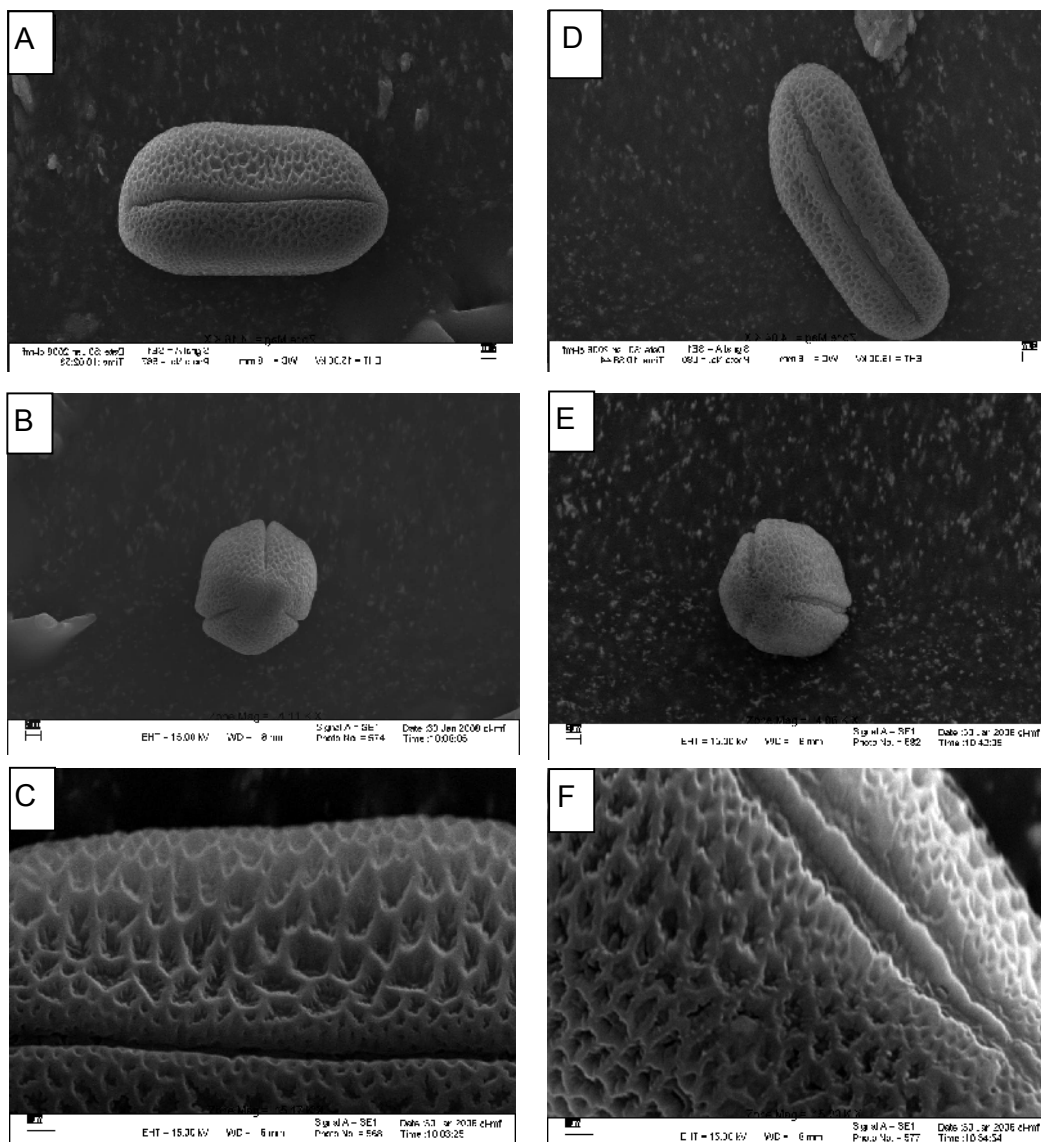
گروه ۲ (شکل ۵، A-F)

دانه گرده مثلثی نوک گرد تا مثلثی، با شیارهای عمیق در سطح قطبی، فضای لومن تزئینات تا لبه شیار هم اندازه‌اند. دانه گرده از نوع پرپرولیت، $2/05-2/35$ و ابعاد آن $P/E = 29/9-39/79 \times 13/7-17/6$ میکرون متر است. دانه گرده در منظر استوایی از نوع بیضوی کشیده تا مستطیلی نوک گرد، اکتوکولی

amoena کروی و در زیر گونه *meshhedensis* مثلثی نوک گرد است. از نظر تزئینات سطح آگزين در زیر گونه *meshhedensis* قطر فضای لومن نسبت به *amoena* بیشتر و لایه سگزين نیز قطورتر می باشد. در ضمن این زیر گونه دارای شکاف هایی عمیق تر و تنها در لبه شکاف تزئینات از نوع سوراخدار است، در حالی که در زیر گونه *amoena* حاشیه سوراخدار شکاف بسیار عریض می باشد، بنابراین می توان این زیر گونه ها را بر اساس ریخت شناسی دانه گرده از یکدیگر تفکیک نمود. شباهت مورفولوژیکی دانه گرده دو واریته *lipkyi* var. *lipkyi* و *O. lipkyi* var. *rechingeri* موید ارتباط تنگاتنگ این دو واریته می باشد، با این حال این دو واریته از نظر اندازه گرده متفاوت هستند. دانه گرده در واریته *lipkyi* به مراتب بزرگ تر از واریته *rechingeri* و در مجموع دارای بزرگ ترین دانه گرده در گونه های مورد بررسی بوده است، بنابراین می توان نتیجه گرفت که این دو واریته مترادف یکدیگر بوده و دیدگاه رشینگر (Rechinger, 1984) در این خصوص تایید

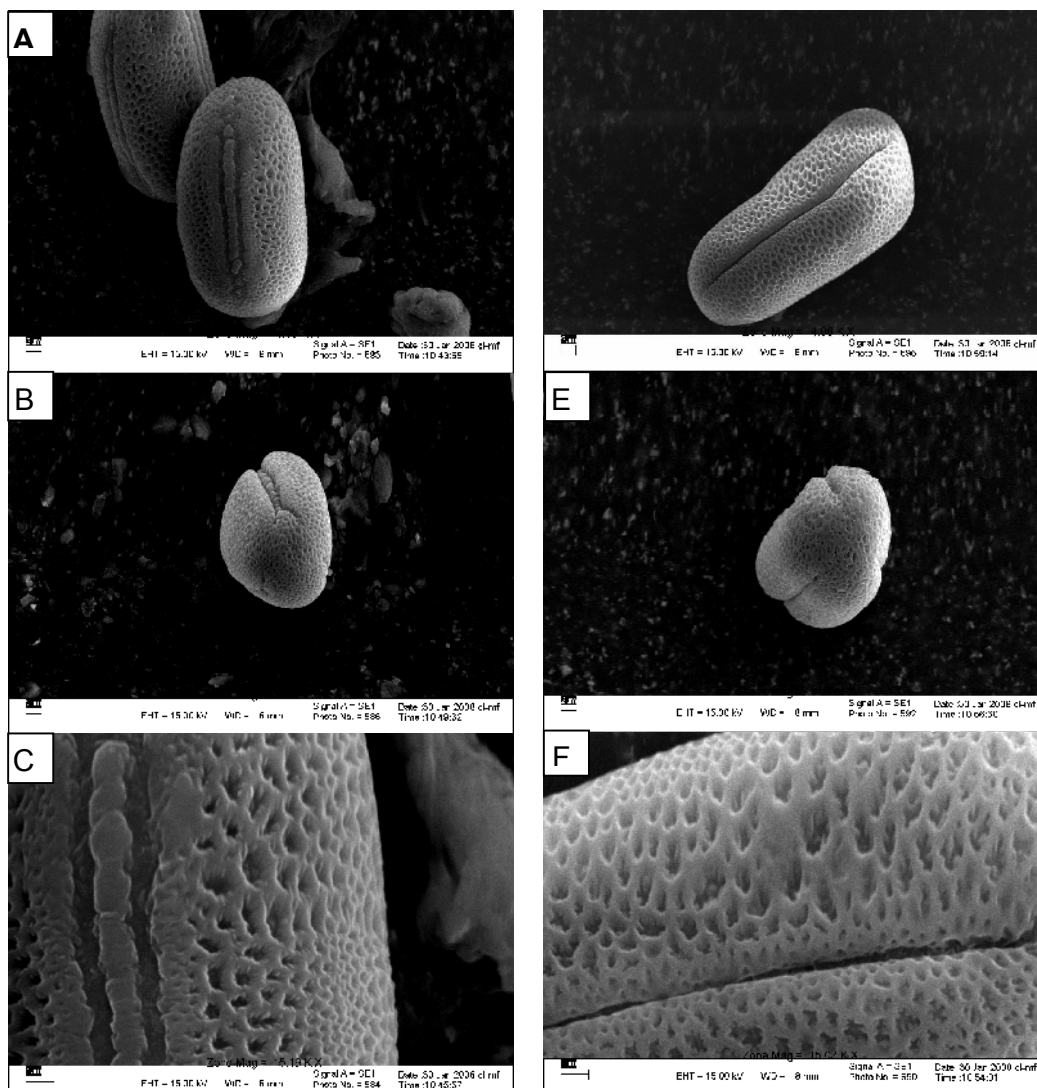
می شود. همچنین دو گونه *O. lipkyi* و *O. ptychophylla* که هر دو متعلق به یک بخش بوده و شباهت های ریخت شناسی زیادی با یکدیگر دارند، از نظر تزئینات سطح آگزين و فضای لومن تفاوت های زیادی با یکدیگر داشته و به سهولت قابل تشخیص می باشند. در گونه *O. ptychophylla* ضخامت سگزين در ناحیه مزو کلیپوم متفاوت، و از کاملاً عمیق تا سطحی، متغیر بود. این مطالعه نشان داد که صفات دانه گرده نیز می تواند به عنوان یکی از مهم ترین ابزارهای شناسایی و تفکیک صحیح گونه های مشابه از یکدیگر محسوب شود.

ایران به علت داشتن شرایط اقلیمی متنوع یکی از بزرگ ترین مراکز پیدایش و تنوع ژنتیکی درون گونه ای جنس اسپرس محسوب می شود و شناسایی این گونه ها امکان انتخاب ژن های مناسب و سازش یافته با هر محیط و انتقال آنها به گونه زراعی به منظور تولید ارقام متحمل به تنش را برای به نژاد گران و متخصصین بیوتکنولوژی فراهم خواهد کرد.



شکل ۲- A-C دانه گرده *O. amoena* subsp. *meshhedensis*. A: منظر استوایی، B: منظر قطبی، C: شیار و تزئینات. D-F: دانه گرده *O. amoena* subsp. *amoena*. D: منظر استوایی، E: منظر قطبی، F: شیار و تزئینات (شاخص معادل دو میکرون متر می باشد)

Fig.2. A-C: pollen grains of *O. amoena* subsp. *meshhedensis*. A: equatorial view, B: polar view, C: colpus and ornamentation. D-F: pollen grains of *O. amoena* subsp. *amoena*. D: equatorial view, E: polar view, F: colpus and ornamentation (Scale bar = 2µm)

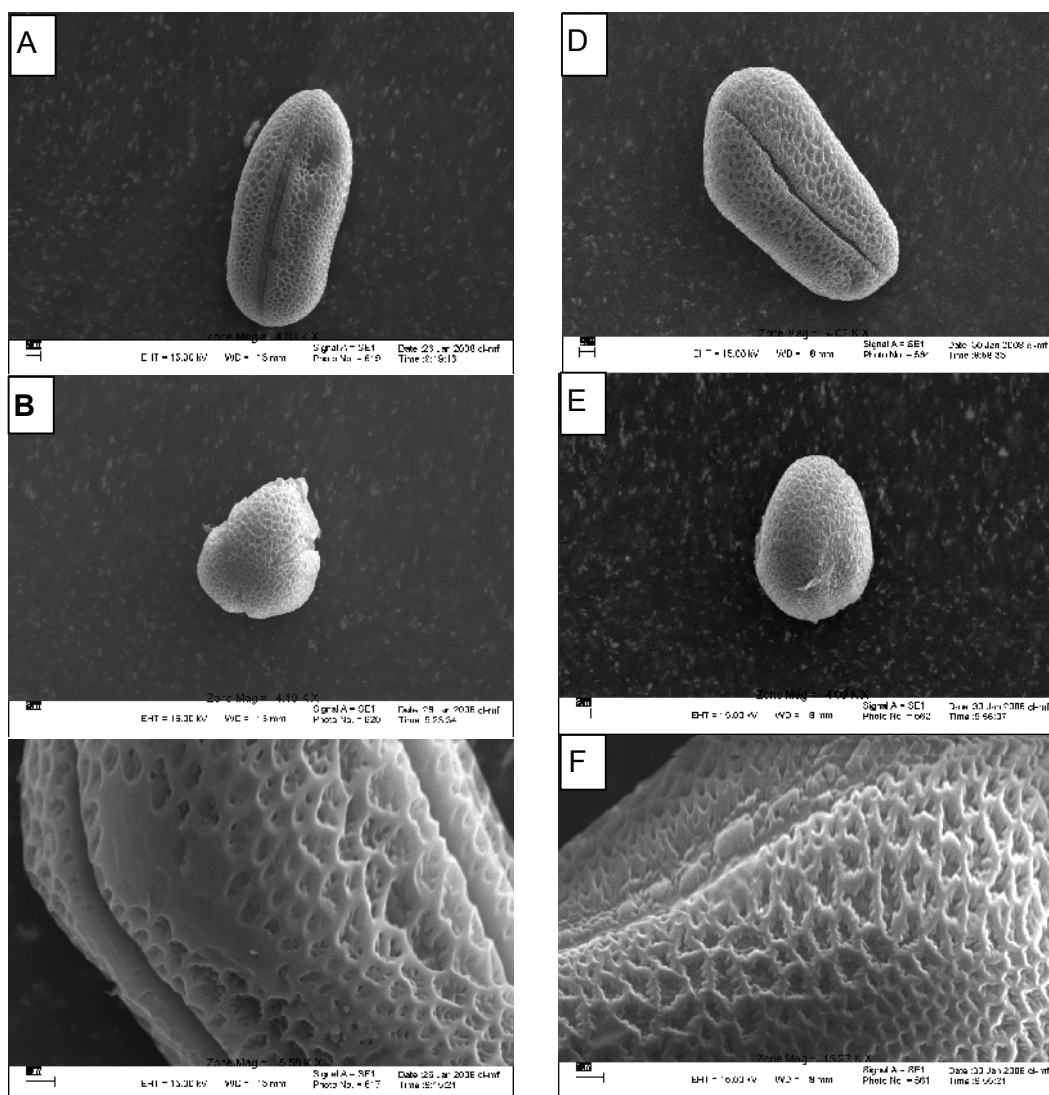


شکل ۳- A-C دانه گرده *O. arnacantha*. A: منظر استوایی، B: منظر قطبی، C: شیار و تزئینات. D-F: دانه گرده *O. cornuta*. D: منظر استوایی، E: منظر قطبی، F: شیار و تزئینات (شاخص معادل دو میکرون متر می باشد)

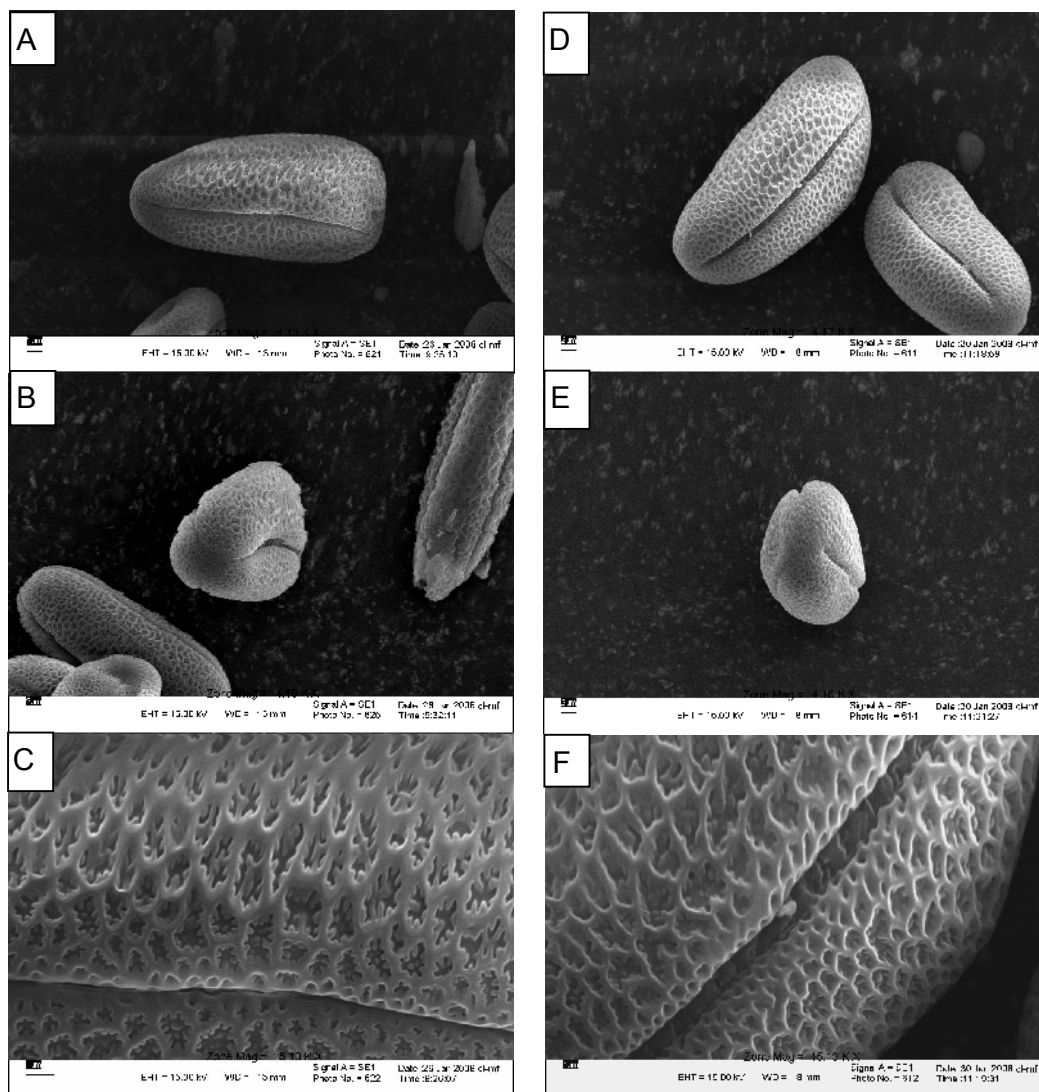
Fig.3. A-C: pollen grains of *O. arnacantha*. A: equatorial view, B: polar view, C: colpus and ornamentation.

D-F: pollen grains of *O. cornuta*. D: equatorial view, E: polar view, F: colpus and ornamentation

(Scale bar = 2μm)



شکل ۴- A-C دانه گرده *O. ptychophylla*. A: منظر استوایی، B: منظر قطبی، C: شیار و تزئینات. D-F: دانه گرده *O. chorassanica*. D: منظر استوایی، E: منظر قطبی، F: شیار و تزئینات (شاخص معادل دو میکرون متر می باشد)
 Fig.4. A-C: pollen grains of *O. ptychophylla*. A: equatorial view, B: polar view, C: colpus and ornamentation.
 D-F: pollen grains of *O. chorassanica*. D: equatorial view, E: polar view, F: colpus and ornamentation
 (Scale bar = 2µm)



شکل ۵- A-C دانه گرده *O. lipskyi* var. *rechingeri*. A: منظر استوایی، B: منظر قطبی، C: شیار و تزئینات. D-F: دانه گرده *O. lipskyi* var. *lipskyi*. D: منظر استوایی، E: منظر قطبی، F: شیار و تزئینات (شاخص معادل دو میکرون متر می باشد)

Fig.5. A-C: pollen grains of *O. lipskyi* var. *rechingeri*. A: equatorial view, B: polar view, C: colpus and ornamentation. D-F: pollen grains of *O. lipskyi* var. *lipskyi*. D: equatorial view, E: polar view, F: colpus and ornamentation (Scale bar = 2µm)

References

منابع مورد استفاده

- Amirabadizadeh, H., M. Abbasi, and M. Ranjbar. 2006.** A new species of *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Tribe *Hedysarae*) from Iran. *Iranian J. Bot.* 13: 55-58.
- Azizian, D., Z. Jamzadeh, and F. Sarpoushian. 2001.** Study of pollen grain of *Nepeta* L. in Iran. . *Iran. Annl. Bot. Fennici.* 1:19-21.
- Azizian, D., M. Yosefzadeh, F. Aftekhar, and M. Aliha. 2003.** Study of pollen grain of *Diplotaenia* Bioss. in Iran. *Iran. Annl. Bot. Fennici.* 10:35-40.
- Boissier, E. 1872.** *Onobrychis* p. 525-553 *Flora orientalis*, Vol. 2. Basilease & Lagundi, Genevae.
- Erdtman, G. 19.** Pollen morphology and plant taxonomy Hafner. New York .220 pp.
- Faegri, K. 1956.** Palynological studies in NW European Papilionaceae. *Bot. Mus. Bergen:*13pp.
- Faegri, K., and J. Iversen. 1989.** Textbook of pollen analysis. John Wiley & Sons, Chichester.15pp.
- Ghanavati , F., J. Mozaffari, A. A. Masoumi, and S. Kazempour. 2007.** Morphological studies of pollen grains of *Medicago* species in Iran. *Iranian J. Crop Sci* 9. 136-145. (In Persian with English abstract).
- Khatamsaz, D., and A .Zanjirian. 1998.** Morphological studies of pollen grains of *Hyoscyamus* L. species in Iran. *Iran. Annl. Bot. Fennici* 1:19-21.
- Lock, J.M., and K. Simpson. 1991.** Legumes of West Asia, Kew. 510 pp.
- Mabberley, D.J. 1997.** The plant book. A portable dictionary of the vascular plants, (ed. 2.) Cambridge. 193 pp.
- Melhem, T. 1971.** Pollen grains of plants of the Cerrado- Leguminosae- *Lotoideae*. Tribe *Phaseoleae*. *Hoehnea* 1:119-151.
- Moore, P., J. Webb, and M. Collinson. 1991.** Pollen analysis (2 ed.) Blachwell Sci. Publ., Oxford. 216 pp.
- Ohashi, H. 1971.** A taxonomic study of the tribe *Coronilleae* (*Leguminosae*) with special reference to pollen morphology. *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo.* 11: 25-92.
- Pavlova, D.K., and V.I. Manova. 2000.** Pollen morphology of the genera *Onobrychis* and *Hedysarum* (*Hedysareae*, *Fabaceae*) in Bulgaria. *Ann. Bot. Fennici.* 37:207-217.
- Pire, S. 1974.** Studio palynologico de la tribu *Hedysareae*(*Leguminosae*). *Bonplandia* 3: 143-168.
- Punt, W., S. Blackmore, S. Nilsson, and A. Le Thomas. 1994.** Glossary of pollen and spore terminology. Lab. Palaeobot. Palynol., Utrecht. 32pp.
- Ranjbar, M., R. Karamian, and M.R. Johartchi. 2006.** Notes on the taxonomy of *Hedysarum* (*Fabaceae*) in Iran. *Annl. Bot. Fennici.* 43:152-155.
- Ranjbar, M., H. Amirabadizadeh, R. Karamian, and M.A. Ghahremani. 2004.** Notes on *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (*Fabaceae*) in Iran. *Willdenowia.* 34:187-190.
- Ranjbar, M., R. Karamian, Z. Tolui, and H. Amirabadizadeh. 2007.** *Onobrychis Assadii* (*Fabaceae*) a new species from Iran. *Annl. Bot. Fennici.* 44:481-484.
- Rechinger, K.H. 1984.** Papilionaceae, p. 387- 464 *Graz, In* K. H. Rechinger, ed. *Flora Iranica* 157. A.
- Yakovlev, G.P., A.K. Sytin, and J.R. Roskov. 1996.** Legumes of Northern Eurasia, a checklist, Kew.12 pp.
- Yosefzadeh, M., D. Azizian, and A.R. Mehrabian. 2006.** Study of pollen grain of *Terrataenium* in Iran. *Iran. Annl. Bot. Fennici.* 12:44-46.

Study of pollen grain morphology in perennial species of sainfoin (*Onobrychis*) of Khorasan province

Amirabadizadeh¹ H., A. Jafari², H. Mahmodzadeh Akherat³ and F. Ghanavati⁴

ABSTRACT

Amirabadizadeh, H., A. Jafari, H. Mahmodzadeh Akherat and F. Ghanavati. 2009. Study of pollen grain morphology in perennial species of sainfoin (*Onobrychis*) of Khorasan province. **Iranian Journal of Crop Sciences**. 11 (1):1-14 (In Persian).

Pollen grain morphology of 8 perennial taxa of the genus *Onobrychis* of Khorassan province was studied-using light and electron microscopy. Major taxonomical attributes of pollen grains were characterized. The pollen grains were 3-colpate, prolate and perprolate. The ectocolpi were elongated, shallow or deep, narrowing at the poles. The colpus membrane was covered by large granules. The ornamentation of axin surface was reticulate, the lumina differed in shape and size. In equatorial view the pollen grains were elongated, elliptic to rectangular-obtuse, and in polar view they were circular, triangular-obtuse or triangular. Based on pollen size and shape in polar and equatorial view as well as ornamentation, two types of pollen grain could be recognized. In the first type pollen grains were circular in polar view with shallow colpi. Lumina of the reticulum sharply decreases in size at the extreme margin of the colpi. *O. arnacantha* and *O. amoena* subsp. *amoena*, *O. amoena* subsp. *meshhedensis*, *O. cornuta*, *O. chorassanica* and *O. ptychophylla* belong to this type. In the second type pollen grains were triangular in polar view with deep colpi, and lumina of the reticulum of the same size at the extreme margin of the colpi. The pollen grains of *O. lipskyi* var. *lipskyi* and *O. lipskyi* var. *rechingeri* belong to this type. The macro-morphological similarity of *O. amoena* subsp. *amoena* and *O. amoena* subsp. *meshhedensis* could be distinguished by their pollen grain. The similarity of pollen grain morphology of *O. lipskyi* var. *lipskyi* and *O. lipskyi* var. *rechingeri* supports their close relationship based on the other characteristics and reconfirms the comment by Rechinger that they are synonyms.

Key words: Khorasan, Morphology, *Onobrychis*, Pollen Grains and Sainfoin.

Received: November, 2008

1- M.Sc. Student, Islamic Azad University, Mashhad Unit, Mashhad, Iran

2- Assistant Prof., Islamic Azad University, Mashhad Unit, Mashhad, Iran

3- Assistant Prof., Islamic Azad University, Mashhad Unit, Mashhad, Iran

4- Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran (Corresponding author)