

ریخت‌شناسی و فراساختار دیواره دانه‌گرده در برخی از جنس‌های تیره Hyacinthaceae و اهمیت تاکسونومیکی آن‌ها

مهدی حیدریان^۱، سید محمد مهدی حمدی^{۲*}، محمد مهدی دهشیری^۳، طاهر نژادستاری^۱ و سید محمد معصومی^۴

^۱ ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه زیست‌شناسی

^۲ ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، گروه زیست‌شناسی

^۳ ایران، بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد، گروه زیست‌شناسی

^۴ ایران، کرمانشاه، دانشگاه رازی، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۱۸



چکیده

در این مطالعه، خصوصیات ریخت‌شناسی دانه‌گرده یازده گونه از جنس‌های *Prospero*، *Othocallis*، *Fessia*، *Autonoe*، *Scilla* و *Zagrosia* به وسیله میکروسکوپ نوری (LM)، میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) و دو گونه *F. bisotunensis* و *Z. persica* با میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) صورت گرفت. بر اساس نتایج، شکل کلی دانه‌های گرده شامل بیضی پهن (oblate) و بیضی کشیده (peroblate) و دانه‌های گرده با اندازه متوسط تا بزرگ طبقه‌بندی شد. تزئینات آگزین در سطح استوایی دانه‌گرده، کنار شیار و تزئینات داخل شیار دارای تنوع بود و به صورت مشبک ریز (microreticulate)، مشبک ریز - چین و چروک‌دار (microreticulate-fossulate)، مشبک ریز - مشبک (microreticulate-reticulate)، مشبک - مشبک ریز (reticulate-microreticulate)، چین و چروک دار (fossulate)، تکمه‌ای ریز (microtuberculate)، تکمه‌ای درشت - مشبک (macro-tuberculate-reticulate)، مشبک - تکمه‌ای (reticulate-tuberculate) و تکمه‌ای (tuberculate) مشاهده گردید. در دو گونه *F. bisotunensis* و *Z. persica* لایه آگزین خارجی semitectate و لایه آگزین درونی (endexine) در گونه *Z. persica* وجود داشت. بر اساس دندوگرام حاصل از صفات کیفی ریخت‌شناسی دانه‌گرده، جنس‌های مورد نظر در سه گروه و شش زیرگروه قرار گرفتند و زیرگروه‌ها با تقسیمات سطح جنس تا حدودی مطابقت داشتند. عدم تطابق مربوط به دو گونه *F. bisotunensis* و *Z. persica* که از دو جنس متفاوت در یک زیرگروه قرار گرفتند، بررسی فراساختار دیواره دانه‌گرده، این دو جنس را نیز از یکدیگر متمایز نمود. بنابراین صفات کیفی ریخت‌شناسی دانه‌گرده همراه با یافته‌های مربوط به فراساختار دیواره دانه‌گرده، دارای ارزش تاکسونومیک هستند و در تعیین تقسیمات جنس‌های مورد نظر می‌توانند مفید واقع گردند.

واژه‌های کلیدی: آگزین درونی، دانه‌گرده، *Zagrosia*، *Fessia*

* نویسنده مسئول، تلفن: پست الکترونیکی: m.hamdi@iauctb.ac.ir

مقدمه

شوند (۱، ۱۳). در فلور ایران از تیره Hyacinthaceae به عنوان تیره جداگانه نام برده نشده و تیره Liliaceae جنس *Scilla* را به خود اختصاص داده است که دارای ۱۹ گونه می‌باشد (۲۸).

اغلب گونه‌های اعضای تیره Hyacinthaceae با اقلیم‌های فصلی سازش یافته و دوره‌ای از زندگی خود را خواب یا در حال کمون هستند، گونه‌های همیشه سبز به جنگل‌های نیمه گرمسیری یا ساوانا و چمنزارهای معتدل محدود می‌-

موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع (TARI) و نمونه‌های جمع‌آوری شده از باغ گیاه‌شناسی مسکو، روسیه (MHA) فراهم گردید (جدول ۱). پرچم‌های هر نمونه گیاهی را در لوله آزمایشگاهی قرار داده سپس به روش آزمایشگاهی Erdtman (۴) دانه‌های گرده استولیز گردید. ابعاد ۲۵ دانه‌گرده هر نمونه گیاهی به کمک میکروسکوپ نوری Leitz مدل HM-LUX3 مورد بررسی قرار گرفت، اندازه‌گیری‌ها شامل محور استوایی یا همان محور بزرگ دانه‌گرده و محور قطبی در حالتی که شیار در کنار قرار می‌گیرد و نتایج در جدول ۲ آورده شده است. در نهایت با استفاده از دوربین Dino Capture نصب‌شده بر روی میکروسکوپ تصاویر تهیه گردید. دانه‌های گرده بر روی چسب نواری مخصوص میکروسکوپ الکترونی قرار داده شد، در مرحله بعد چسب حاوی دانه‌های گرده را به انتهای بلوک‌های خاصی (بلوک شبیه به حرف T) تثبیت شد، در نهایت به مدت ۲۰ دقیقه بلوک‌های آماده شده را درون دستگاه لایه‌نشانی (Sputter coater K450X) با طلا پوشش‌دهی شدند. از نمونه‌های مورد مطالعه با میکروسکوپ الکترونی نگاره (مدل VEGA-TESCAN)، تصاویر با بزرگنمایی ۱۰۰۰-۱۰۰۰۰ برابر تهیه گردید. به‌وسیله این تصاویر می‌توان به جزئیات دیواره از قبیل نوع تزئینات سطحی، تزئینات کنار شیار، تزئینات داخل شیارها، اندازه سوراخ‌ها، ضخامت دیواره‌های تورمانند و تعداد سوراخ‌ها در سطح آگزین پی برد. برای تهیه نمونه‌های میکروسکوپ الکترونی گذاره از روش Weakley (۲۷) استفاده شد و شامل مراحل ذیل می‌باشد: تثبیت کردن با اسید اسمیک، آبیگری با الکل و رنگ‌آمیزی با اورنیل استات، شستشو با استون و تهیه رزی-برای بلوک-گیری دانه‌های گرده. سپس به کمک دستگاه اولترامیکروتوم برش‌های نازکی از دانه‌های گرده تهیه نموده و روی گرید (Grid) نصب و با استات سرب رنگ‌آمیزی شد (۲۱).

تصاویر برش‌های عرضی از دیواره دانه‌گرده گیاهان مورد-بررسی توسط میکروسکوپ الکترونی گذاره (مدل-JEOL)

تیره Hyacinthaceae با تیره Asparagaceae به عنوان تیره مترادف شناخته شد (۳) و هنوز جایگاه این تیره نامشخص می‌باشد. همچنین بر طبق نظر برخی محققان زیر تیره Scilloideae از تیره Asparagaceae بوده و تیره فوق‌الذکر به عنوان تبار Hyacintheae گزارش می‌شوند (۲). بررسی-های مولکولی موقعیت تیره Hyacinthaceae و جنس‌های مربوط به این تیره مشخص کرده است. داده‌های مولکولی چهار کلاد تک‌نیا در تیره Hyacinthaceae تحت عنوان زیر تیره‌های Oziroeoideae، Urgineoideae، Ornithogaloideae و Hyacinthoideae طبقه‌بندی می‌کند (۲۴، ۲۳، ۱۷، ۱۲، ۱۴).

ریخت‌شناسی دانه‌ی گرده‌ی در تیره Hyacinthaceae دارای تنوع است. برخی جنس‌های این تیره در مطالعات گرده‌شناسی مورد بررسی قرار گرفته است و دارای ارزش تاکسونومیک است (۵، ۶، ۷، ۹، ۱۰، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۸، ۱۹، ۲۹، ۳۰، ۳۱، ۳۲).

از آنجایی که شناسایی دقیق تاکسون‌ها و رده‌بندی آن‌ها در مطالعات تاکسونومیک دارای اهمیت است و با توجه به اختلاف نظرهای موجود در ارتباط با جایگاه تاکسونومیکی تیره Hyacinthaceae و گونه‌ها و جنس‌هایی که در تیره فوق‌الذکر بر اساس تحقیقات مولکولی و مورفولوژی اخیر تفکیک شده‌اند (۱۷)، ریخت‌شناسی دانه‌گرده و مورفولوژی فراساختار دیواره دانه‌گرده به عنوان صفاتی کلیدی می‌توانند در تایید یا عدم تایید جنس‌های تفکیک شده مفید واقع شوند. بنابراین در این بررسی ریخت‌شناسی دانه‌گرده ۶ جنس از تیره Hyacinthaceae جهت تعیین حد و مرز جنس‌ها و گونه‌ها و در صورت عدم انطباق با تاکسونومی، رجوع به مورفولوژی فراساختار دیواره دانه‌گرده مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روشها

دانه‌های گرده در این تحقیق از نمونه‌های هرباریومی

JEM-100B فراهم گردید. واژه‌های گرده‌شناسی به کار برده شده برای اطلاعات بدست آمده در این تحقیق برگرفته از منابع (۸، ۲۰، ۲۶) می‌باشد. برای باسازی دندوگرام، خصوصیات کیفی دانه‌گرده کدگذاری شد

(جدول ۴). درنهایت با استفاده از نرم افزار NTSYS به روش UPGMA (روش جفت گروه بدون وزن با میانگین حسابی) دندوگرام ترسیم گردید (۲۲) (شکل ۴).

جدول ۱- لیست جنس‌ها و گونه‌های مورد بررسی به همراه مشخصات آن‌ها

Taxon	Data from examined species
<i>Autonoe latifolia</i> (Willd. ex Schult. f.) Speta.	Moscow, Russia., Kalikov., 3.4.2003., Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (MHA)., Cultivated in botanical garden of Moscow state university
<i>Fessia bisotunensis</i> (Speta.) Speta.	Parrou mont, Kermanshah, Iran., Wendelbo & Assadi., 7.5.1975., Research Institute of Forests & Rangelands Herbarium (TARI), Tehran, Iran., No: 16725
<i>Fessia gorganica</i> (Speta.) Speta.	Gorgan forest, Shahpasand, Gorgan, Iran., Wendelbo & massoumi., 26.6.1998., Research Institute of Forests & Rangelands Herbarium (TARI), Tehran, Iran., No: 3658
<i>Fessia greilhuberi</i> (Speta.) Speta.	Khalkhal, Gilan, Iran., Wendelbo and massoumi., 2.4.1999., Research Institute of Forests & Rangelands Herbarium (TARI), Tehran, Iran., No:19090
<i>Fessia hohenackeri</i> (Fisch. & C. A. Mey.) Speta.	Fandoghlu forest, Ardabil, Iran., Maassoumi & Safavi., 12.4.2007., Research Institute of Forests & Rangelands Herbarium (TARI), Tehran, Iran., No: 90453
<i>Fessia khorassanica</i> (Meikle.) Speta.	Hezarmasjed summit, Chenaran, Khorasan, Iran., Hojjat & Zangooe., 30.4.2000., Research Institute of Forests & Rangelands Herbarium (TARI), Tehran, Iran., No: 32740
<i>Othocallis monanthos</i> (K. Koch.) Speta.	Lesakooti forest, Tonekabon, Mazandaran, Iran., Maassoumi & Safavi., 12.4.1990., Research Institute of Forests & Rangelands Herbarium (TARI), Tehran, Iran., No: 71012
<i>Othocallis siberica</i> (Haw. ex Andr.) Speta.	Moscow, Russia., Kalikov., 30.4.2003., Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (MHA)., Cultivated in botanical garden of Moscow state university
<i>Prospero autumnale</i> (L.) Speta.	Shiraz to Assalohyeh, Bushehr, Iran., Maassoumi & Safavi., 17.11.2002., Research Institute of Forests & Rangelands Herbarium (TARI), Tehran, Iran., No: 83282
<i>Scilla bifolia</i> L.	Moscow, Russia., Kalikov., 13.5.2003., Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (MHA)., Cultivated in botanical garden of Moscow state university
<i>Zagrosia persica</i> (Hauskn.) Speta.	Gardaneh Assadabad, Hamedan, Iran., Assadi & Massoumi., 28.7.1972., Research Institute of Forests & Rangelands Herbarium (TARI), Tehran, Iran., No: 5619

نتایج

ویژگی‌های ریخت‌شناسی دانه‌گرده در جنس‌های بررسی شده در این تحقیق بر طبق مشاهدات میکروسکوپ نوری، میکروسکوپ الکترونی نگاره و میکروسکوپ الکترونی گذاره مشخص گردید و نتایج در جداول ۲ تا ۴ نشان داده شده است. دانه‌های گرده در جنس‌های *Fessia* (به جز گونه *F. hohenackeri*)، *Othocallis*، *Prospero* و *Zagrosia* با اندازه در رده بزرگ (۵۰،۱۰ میکرومتر تا ۵۷ میکرومتر) و در جنس‌های *Autonoe* و *Scilla* دانه‌های گرده با اندازه در رده متوسط (۳۹،۵۵ میکرومتر تا ۴۹،۶۲ میکرومتر) مشاهده گردید (جدول ۲، شکل ۱). شکل کلی دانه‌گرده در جنس *Scilla* به صورت بیضی کشیده (peroblate) (جدول ۲، شکل ۱ j) و در جنس‌های دیگر به صورت بیضی پهن (oblate) بود (جدول ۲، شکل ۱ a: *F. A. latifolia*، شکل ۱ b: *F. bisotunensis*، شکل ۱ c: *F. gorganica*، شکل ۱ d: *F. greilhuberi*، شکل ۱ e: *F. hohenackeri*، شکل ۱ f: *F. khorassanica*، شکل ۱ g: *F. monanthos*، شکل ۱ h: *Othocallis sibirica*، شکل ۱ i: *Prospero autumnale*، شکل ۱ k: *Scilla bifolia* و *Zagrosia persica*).



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ نوری از دانه‌های گرده از جنس‌ها و گونه‌های مورد بررسی

شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ نوری از دانه‌های گرده از جنس‌ها و گونه‌های مورد بررسی

Autonoe latifolia (a), *Fessia bisotunensis* (b), *Fessia gorganica* (c), *Fessia greilhuberi* (d), *Fessia hohenackeri* (e), *Fessia khorassanica* (f), *Othocallis monanthos* (g), *Othocallis sibirica* (h), *Prospero autumnale* (i), *Scilla bifolia* (j) and *Zagrosia persica* (k). (scale bar: 10 μ m).

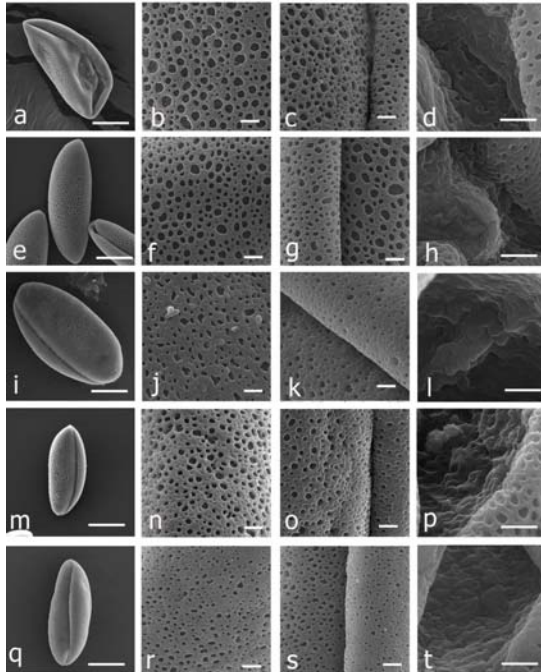
جدول ۲- صفات گرده‌شناسی بررسی شده توسط میکروسکوپ نوری

Taxon	Pollen size (μ m)	Polar axis (μ m) Min-Mean \pm SD-Max	Equatorial axis (μ m) Min-Mean \pm SD-Max	P/E	Pollen shape	Pollen type
<i>A. latifolia</i>	39.55 \pm 3.11	13.00-22.40 \pm 2.86-25.00	35.00-39.55 \pm 3.11-47.50	0.56	Oblate	Medium
<i>F. bisotunensis</i>	53.88 \pm 4.45	20.00-29.88 \pm 3.63-32.50	45.00-53.88 \pm 4.45-60.00	0.55	Oblate	Large
<i>F. gorganica</i>	57.00 \pm 5.55	24.00-33.50 \pm 5.97-42.50	47.50-57.00 \pm 5.55-67.00	0.58	Oblate	Large
<i>F. greilhuberi</i>	51.20 \pm 4.67	24.00-36.29 \pm 4.62-40.00	40.00-51.20 \pm 4.67-64.00	0.70	Oblate	Large
<i>F. hohenackeri</i>	44.21 \pm 5.46	21.00-32.08 \pm 5.05-40.00	32.50-44.21 \pm 5.46-52.00	0.72	Oblate	Medium
<i>F. khorassanica</i>	49.62 \pm 5.04	22.50-32.94 \pm 5.80-40.00	45.00-49.62 \pm 5.04-64.00	0.66	Oblate	Large
<i>O. monanthos</i>	56.55 \pm 8.64	22.00-34.75 \pm 5.41-42.50	40.00-56.55 \pm 8.64-75.00	0.61	Oblate	Large
<i>O. sibirica</i>	46.37 \pm 6.24	19.00-33.94 \pm 5.39-42.50	40.00-46.37 \pm 6.24-68.50	0.73	Oblate	Large
<i>P. autumnale</i>	50.10 \pm 3.78	32.50-34.00 \pm 1.58-40.00	45.00-50.10 \pm 3.78-60.00	0.67	Oblate	Large
<i>S. bifolia</i>	44.56 \pm 4.01	17.50-22.06 \pm 5.22-35.00	37.50-44.56 \pm 4.01-50.00	0.49	Peroblate	Medium
<i>Z. persica</i>	52.11 \pm 3.62	22.00-36.64 \pm 5.28-42.50	45.00-52.11 \pm 3.62-59.60	0.70	Oblate	Large

۲ a-d)، مشبک ریز (microreticulate)، مشبک ریز - چین و چروک‌دار (microreticulate-fossulate)، مشبک ریز - مشبک (microreticulate-reticulate)، تکمه‌ای (tuberculate) و مشبک - تکمه‌ای (reticulate-tuberculate) در جنس *Fessia* (جدول ۳، شکل ۲ i-x)، مشبک - مشبک ریز (reticulate-microreticulate) و

بر اساس مشاهدات میکروسکوپ الکترونی نگاره، الگوی تزئینات در جنس‌های مورد بررسی در نواحی مختلف دانه-گرده شامل تزئینات آگزین در سطح استوایی دانه‌گرده، تزئینات کنار شیار و تزئینات داخل شیار متغیر و شامل مشبک ریز (microreticulate) و تکمه‌ای ریز (microtuberculate) در جنس *Autonoe* (جدول ۳، شکل

بر اساس مشاهدات میکروسکوپ الکترونی نگاره، الگوی تزئینات در جنس‌های مورد بررسی در نواحی مختلف دانه-گرده شامل تزئینات آگزین در سطح استوایی دانه‌گرده، تزئینات کنار شیار و تزئینات داخل شیار متغیر و شامل مشبک ریز (microreticulate) و تکمه‌ای ریز (microtuberculate) در جنس *Autonoe* (جدول ۳، شکل

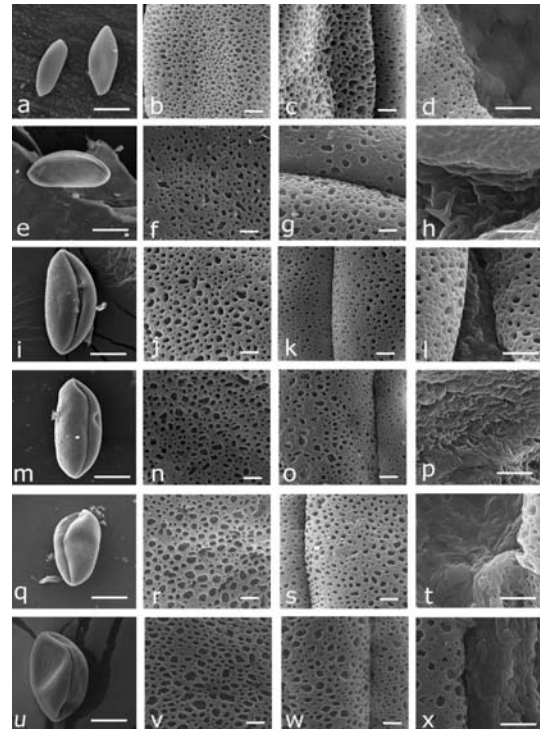


شکل ۳- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه‌های گرده از جنس‌ها و گونه‌های مورد بررسی

Othocallis monanthos (a-d), *Othocallis siberica* (e-h), *Prospero autumnale* (i-l), *Scilla bifolia* (m-p) and *Zagrosia persica* (q-t). Equatorial view: a, e, i, m & q (scale bar: 20 μ m), exine surface ornamentation: b, f, j, n & r (scale bar: 2 μ m), sulcus edge exine ornamentation: c, g, k, o & s (scale bar: 2 μ m), sulcus membrane ornamentation: d, h, l, p & t (scale bar: 2 μ m).

اندازه سوراخ‌ها (lumina) و پهنای دیواره‌ها (muri) نیز در جنس‌های مورد نظر محاسبه گردید و در جدول ۳ آورده شده است. تعداد سوراخ‌ها در سطح ۲ میکرومتر مربع در سطح استوایی دانه‌گرده نیز شمارش گردید و بر اساس این صفت استوایی *P. autumnale* و *A. latifolia* به ترتیب بیشترین (۲۳ روزنه در سطح ۲ میکرومتر مربع) و کمترین (۸ روزنه در سطح ۲ میکرومتر مربع) تعداد روزنه‌ها در سطح مورد بررسی به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

مشبک - تکمه‌ای (reticulate-tuberculate) در جنس *Othocallis* (جدول ۳، شکل ۳ a-h)، چین و چروک دار (fossulate) و تکمه‌ای درشت - مشبک (macrotuberculate-reticulate) در جنس *Prospero* (جدول ۳، شکل ۳ i-l)، مشبک ریز (microreticulate) و تکمه‌ای (tuberculate) در جنس *Scilla* (جدول ۳، شکل ۳ m-p)، مشبک ریز - چین و چروک‌دار (microreticulate-fossulate) و تکمه‌ای (tuberculate) در جنس *Zagrosia* (جدول ۳، شکل ۳ q-t).



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه‌های گرده از جنس‌ها و گونه‌های مورد بررسی

Autonoë latifolia (a-d), *Fessia bisotunensis* (e-h), *Fessia gorganica* (i-l), *Fessia greilhuberi* (m-p), *Fessia hohenackeri* (q-t), *Fessia khorassanica* (u-x). Equatorial view: a, e, i, m, q & u (scale bar: 20 μ m), exine surface ornamentation: b, f, j, n, r & v (scale bar: 2 μ m), sulcus edge exine ornamentation: c, g, k, o, s & w (scale bar: 2 μ m), sulcus membrane ornamentation: d, h, l, p, t & x (scale bar: 2 μ m).

جدول ۳- صفات گرده‌شناسی بررسی شده توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره

Taxon	Exorn	Sd	Sm	L (μm)	M (μm)	P
<i>A. latifolia</i>	Micret	Micret	Mictub	0.06–1.10	0.13–1.10	23
<i>F. bisotunensis</i>	Micret–fos	Micret–ret	Ret–tub	0.06–1.51	0.13–1.58	13
<i>F. gorganica</i>	Micret–ret	Micret	Tub	0.06–1.24	0.20–1.24	14
<i>F. greilhuberi</i>	Micret–ret	Micret	Tub	0.06–1.79	0.20–1.10	13
<i>F. hohenackeri</i>	Micret–ret	Micret–ret	Tub	0.13–1.51	0.13–1.51	16
<i>F. khorassanica</i>	Micret–ret	Micret–ret	Tub	0.06–1.86	0.13–1.24	10
<i>O. monanthos</i>	Ret–micret	Ret–micret	Ret–tub	0.06–1.65	0.13–1.44	10
<i>O. sibirica</i>	Ret–micret	Ret–micret	Ret–tub	0.06–1.31	0.20–1.72	13
<i>P. autumnale</i>	Fos	Fos	Mactub–ret	0.20–1.17	0.34–2.55	8
<i>S. bifolia</i>	Micret	Micret	Tub	0.06–1.24	0.13–1.93	9
<i>Z. persica</i>	Micret–fos	Micret–fos	Tub	0.06–0.89	0.20–1.58	12

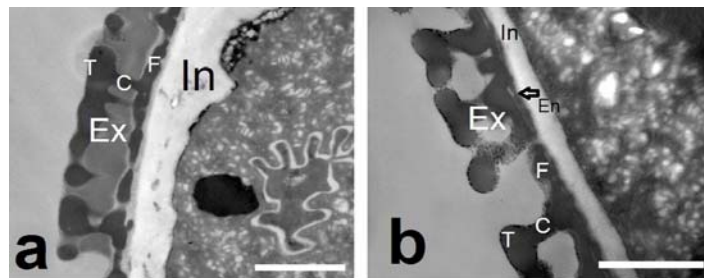
Exorn: Exine equatorial surface ornamentation, Micret: Microreticulate, Fos: Fossulate, Ret: Reticulate, Sd: Sulcus edge exine ornamentation, Sm: Sulcus membrane ornamentation, Mictub: Microtuberculate, Tub: Tuberculate, Mactub: Macrotuberculate, L: Lumina, M: Muri, P: lumina number on the exine surface per $2(\mu\text{m})^2$

جنس *Zagrosia* بود (جدول ۴). در هردو گونه مورد بررسی لایه آگزین خارجی semitectate و ستونی (columellate) بود (شکل ۴). لایه آگزین داخلی به صورت لایه‌ای منقطع در *Z. persica* مشاهده گردید، در حالی که در *F. bisotunensis* این لایه مشاهده نگردید (شکل ۴).

در برش عرضی از دیواره دانه‌های گرده در دو گونه *F. bisotunensis* و *Z. persica*، ضخامت لایه‌های دیواره دانه‌گرده تا حدودی متفاوت بود (جدول ۴). ضخامت اجزای تشکیل دهنده لایه آگزین شامل ضخامت تکتوم، ضخامت ستون‌ها (columellae) و ضخامت foot layer در جنس *Zagrosia* بیشتر از جنس *Fessia* مشاهده گردید (جدول ۴). ضخامت لایه انتین در جنس *Fessia* بیشتر از

جدول ۴- صفات گرده‌شناسی بررسی شده توسط میکروسکوپ الکترونی گذار

Taxon	<i>F. bisotunensis</i> (Min-Max)	<i>Z. persica</i> (Min-Max)
Ectexine thickness (μm)	0.66–0.88	0.68–0.91
Tectum thickness (μm)	0.22–0.35	0.20–0.38
Length of columellae (μm)	0.37–0.48	0.38–0.68
Width of columellae (μm)	0.04–0.11	0.18–0.23
Foot layer thickness (μm)	0.06–0.15	0.09–0.34
Intine thickness (μm)	0.22–0.82	0.18–0.57
Endexine	Absent	Discontinuous

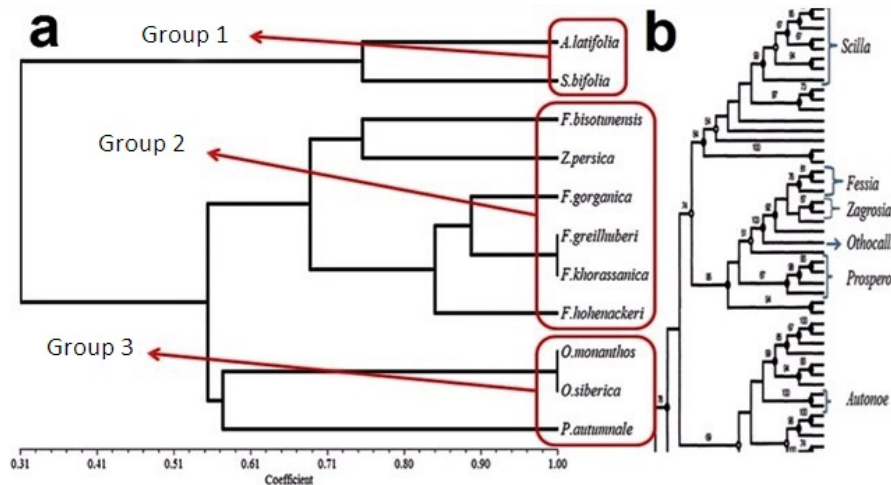


شکل ۴- تصاویر میکروسکوپ الکترونی گذاره از دیواره دانه‌های گرده از جنس‌ها و گونه‌های مورد بررسی

Fessia bisotunensis (a), and *Zagrosia persica* (b). (scale bar: 1 μm). F: Foot layer, C: Columellae, T: Tectum, Ex: Ectexine, In: Intine, En: Endexine.

دو: شامل زیر گروه‌های سه و چهار برای جنس‌های *Fessia* و *Zagrosia* و گروه سه: شامل زیر گروه‌های پنج و شش برای جنس‌های *Prospero* و *Othocallis* (شکل ۵).

بر اساس صفات کیفی دانه‌گرده موجود در جدول ۴، جنس‌های مورد نظر در سه گروه و شش زیرگروه قرار گرفتند که به شرح ذیل است: گروه یک: شامل زیرگروه‌های دو برای جنس‌های *Autonoe* و *Scilla*، گروه



شکل ۵- آنالیز خوشه‌بندی صفات کیفی کدگذاری شده و مقایسه آن با فیلوگرام مربوط به جنس‌ها و گونه‌های مورد بررسی

a. Dendrogram obtained from the examined characters of pollen grain based on the UPGMA method and UN1 similarity coefficient, b. Phylogram showing the relationships of the genera in the recent phylogenetic research (Pfosser and Speta 1999).

جدول ۵- صفات کیفی دانه‌گرده و کدگذاری آن‌ها جهت ساخت دندروگرام

Taxon	Pollen shape (code)	Type of pollen (code)	Exorn (code)	Sd (code)	Sm (code)
<i>A. latifolia</i>	Oblate (1)	Medium (1)	Micret (1)	Micret (1)	Mictub (1)
<i>F. bisotunensis</i>	Oblate (1)	Large (2)	Micret-fos (2)	Micret-ret (2)	Ret-tub (2)
<i>F. gorganica</i>	Oblate (1)	Large (2)	Micret-ret (3)	Micret (1)	Tub (3)
<i>F. greilhuberi</i>	Oblate (1)	Large (2)	Micret-ret (3)	Micret (1)	Tub (3)
<i>F. hohenackeri</i>	Oblate (1)	Medium (1)	Micret-ret (3)	Micret-ret (2)	Tub (3)
<i>F. khorassanica</i>	Oblate (1)	Large (2)	Micret-ret (3)	Micret-ret (2)	Tub (3)
<i>O. monanthos</i>	Oblate (1)	Large (2)	Ret-micret (4)	Ret-micret (3)	Ret-tub (2)
<i>O. sibirica</i>	Oblate (1)	Large (2)	Ret-micret (4)	Ret-micret (3)	Ret-tub (2)
<i>P. autumnale</i>	Oblate (1)	Large (2)	Fos (5)	Fos (4)	Mactub-ret (4)
<i>S. bifolia</i>	Peroblate (2)	Medium (1)	Micret (1)	Micret (1)	Tub (3)
<i>Z. persica</i>	Oblate (1)	Large (2)	Micret-fos (2)	Micret-fos (5)	Tub (3)

Exorn: Exine equatorial surface ornamentation, Micret: Microreticulate, Fos: Fossulate, Ret: Reticulate, Sd: Sulcus edge exine ornamentation, Sm: Sulcus membrane ornamentation, Mictub: Microtuberculate, Tub: Tuberculate, Mactub: Macrotuberculate.

جدول ۶- ضریب شباهت حاصل از صفات گرده‌شناسی بین جنس‌ها و گونه‌های مورد بررسی

Taxon	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
a	1										
b	0.33	1									
c	0.57	0.57	1								
d	0.57	0.57	1	1							
e	0.57	0.57	0.75	0.75	1						
f	0.33	0.75	0.88	0.88	0.88	1					
g	0.33	0.75	0.57	0.57	0.33	0.57	1				
h	0.33	0.75	0.57	0.57	0.33	0.57	1	1			
i	0.333	0.57	0.57	0.57	0.33	0.57	0.57	0.57	1		
j	0.75	0	0.57	0.57	0.57	0.33	0	0	0	1	
k	0.33	0.75	0.75	0.75	0.57	0.75	0.57	0.57	0.57	0.33	1

a: *A. latifolia*, b: *F. bisotunensis*, c: *F. gorganica*, d: *F. greilhuberi*, e: *F. hohenackeri*, f: *F. khorassanica*, g: *O. monanthos*, h: *O. sibirica*, i: *P. autumnale*, j: *S. bifolia*, k: *Z. persica*, T: taxon.

بحث

این تحقیق، از میان گونه‌های مربوط به جنس *Fessia*، گونه *F. bisotunensis* قرابت بیشتری با جنس *Zagrosia* داشت و در یک زیر گروه قرار گرفتند. عامل تمایز این دو جنس براساس فراساختار دیواره دانه‌گرده، حضور و عدم حضور لایه آگزین داخلی در دو جنس مذکور حاصل گردید. حضور لایه آگزین داخلی در جنس *Zagrosia* برای اولین بار در این بررسی گزارش گردید و در گونه *F. bisotunensis* مربوط به جنس *Fessia* در زیر گروه مورد نظر این لایه مشاهده نگردید. عدم حضور لایه آگزین داخلی در گونه‌های دیگر از جنس *Fessia* دارای اهمیت است و در تحقیقات بعدی پیشنهاد می‌گردد. گونه *Scilla persica* که با جنس *Zagrosia* مترادف شده است رابطه خویشاوندی نزدیکی با جنس *Fessia* را نشان می‌دهد (۱۷). بررسی بیشتر ویژگی‌های ریخت‌شناسی دانه‌گرده به همراه فراساختار دیواره‌دانه‌گرده در این بررسی موجب تمایز این دو جنس از یکدیگر شد.

تزیینات دانه‌گرده در سطح استوایی جنس‌های مورد نظر متنوع است (۷). علاوه بر این بر اساس یافته‌های حاصل از این مطالعه، تزیینات در قسمت‌های مختلف دانه‌گرده به خصوص اطراف شیار و داخل شیار نیز متفاوت بود و در گونه‌های جنس *Fessia* این ناهمگونی مشهود بود و در

تعریف جنس‌ها و گونه‌ها در تیره *Hyacinthaceae* تاکنون میست‌ها را دچار آشفتگی کرده است. از زمان لینه بحث در میان تاکنون میست‌ها وجود داشته است و Pfosser and Speta (۱۷) با مطالعه این خانواده سیزده جنس را برای آن تشخیص داد که برخی جنس‌های گزارش شده پلی‌فیلیتیک‌اند. بررسی بیشتر صفات کیفی ریخت‌شناسی دانه‌گرده در این مطالعه در تمایز جنس‌های فوق الذکر، تا حدودی با اطلاعات مورفولوژیک و فیلوژنتیک همسویی داشت. شواهد گرده‌شناسی به عنوان صفت کمکی و تایید کننده در تحقیقات پیشین در تعیین محدوده زیر جنس‌ها و گونه‌ها نیز موثر واقع شده است (۱۱، ۲۵). بر این اساس جنس‌های مورد بررسی به استثنای دو جنس *Fessia* و *Zagrosia* در رده زیر گروه‌ها جای گرفتند که در تطابق با فیلوگرام حاصل از مطالعه فیلوژنتیکی این تیره است. موقعیت این دو جنس در این بررسی، با داده‌های گرده‌شناسی توسط مطالعه پیشین که توسط قوامی و همکاران (۷) نیز تایید شده است. در بررسی قوامی و همکاران (۷) شباهت بین جنس‌های *Fessia* و *Zagrosia* با توجه به ریخت‌شناسی دانه‌گرده نشان داده شد. بررسی بیشتر ریخت‌شناسی دانه‌گرده در

نویسندگان این مقاله از دکتر Svetlana Polevova (دانشگاه دولتی مسکو، بخش میکروسکوپ الکترونی)، دکتر وحید پیرحاجاتی (دانشگاه علوم پزشکی ایران، بخش میکروسکوپ الکترونی)، درفراهم نمودن میکروگراف‌های میکروسکوپ گذاره، موسسه متالورژی رازی در فراهم نمودن میکروگراف‌های میکروسکوپ نگاره، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ایران و باغ گیاه‌شناسی مسکو، روسیه در فراهم نمودن نمونه‌های هرباریومی تشکر و قدر دانی می‌کنیم.

تعیین موقعیت گونه‌های این جنس از حیث صفات گرده و همپوشانی آن با صفات ریخت‌شناسی دیگر مفید واقع شد. گونه‌های *F. greilhuberi*، *F. khorassanica* و *F. hohenackeri* از لحاظ فرم رویشی برگ‌ها، تعداد و رنگ ساقه، شکل و رنگ برگه و مهمیز و نحوه قرارگیری گل‌ها در محور گل دهنده شباهت دارند، آنالیز دندوگرام گرده-شناسی نیز نشان داد که این گونه‌ها به هم نزدیک هستند.

سپاسگزاری

منابع

- 1- Ali, S.S., Yu, Y., Pfosser, M. & Wetschnig, W. 2011. Inferences of biogeographical histories within subfamily Hyacinthoideae using S-DIVA and Bayesian MCMC analysis implemented in RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies). *Annals of Botany* 109: 95-107.
- 2- Chase, M.W., Reveal, J.L. & Fay, M.F. 2009. A subfamilial classification for the expanded asparagalean families, Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 132-136.
- 3- Dahlgren, R.M. & Clifford, H.T. 1982. *The monocotyledons: a comparative study*. Academic Press. London, UK. 378 p.
- 4- Erdtman, G. 1960. The acetolysis technique: a revised description. *Svensk Botany Tidskr* 54: 561-564.
- 5- Ferrauto, G. & Pavone, P. 2015. Pollen morphology and taxonomic implications of *Muscari* Miller (Hyacinthaceae) species from Sicily. *Plant Biosystems* 150: 27-34.
- 6- Firat, M. & Yildirim, H. 2016. *Prospero cudidaghense* sp. nov. (Asparagaceae): a new species from southeastern Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Botany* 40: 388-393.
- 7- Ghavami, E., Jamzad, Z. & Tavasoli, A. 2009. Evaluation of pollen morphology as a taxonomic character for generic delimitation in *Scilla* s. l. (Hyacinthaceae). *Nordic Journal of Botany*. 27: 510-515.
- 8- Hesse, M., Halbritter, H., Zetter, R., Weber, M., Buchner, R., Frosch-Radivo, A. & Ulrich, S. 2009. *Pollen terminology (An illustrated handbook)*. Springer-Verlag. Wien, New York.
- 9- Heydarian, F., Nejdassattari, T., Hamdi, S.M.M. & Assadi, M. 2011. *Ornithogalum khuzestanicum* (Hyacinthaceae), a new species from Iran. *Iranian Journal of Botany* 18: 47-54.
- 10- Jafari, A. & Massoumi, A.A. 2008. A new species of *Bellevalia* (Liliaceae. Hyacinthaceae) from Iran. *Edinb. Journal of Botany* 65: 469-473
- 11- Keshavarzi, M., Taghipour, E. & Nazem Bokae, Z. 2017. Pollen Morphology in *Erodium* (L.) l'Hér (Geraniaceae) species in Iran. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*. 29 (4): 874- 885.
- 12- Malekloo, M., Nejdassattari, T., Hamdi, S.M.M. & Mehregan, I. 2014. *Fessia assadii* (Asparagaceae), a new species from Iran. *Journal of Biological and Environmental Science* 5: 78-85.
- 13- Manning, J.C., Goldblatt, P., Fay, M.F. 2004. A revised generic synopsis of Hyacinthaceae in sub-Saharan Africa based on molecular evidence, including new combinations and the new tribe Pseudoprosperaeae. *Edinburgh Journal of Botany* 60: 533-568.
- 14- Martinez-Azorin, M., Crespo, M.B., Juan, A. & Fay, M.F. 2011. Molecular phylogenetic of subfamily Ornithogaloideae (Hyacinthaceae) based on nuclear and plastid DNA regions, including a new taxonomic arrangements. *Annals of Botany* 107: 1-37.
- 15- Oran, S.A.S. & Muna, O. 2015. Ultrastructure of Pollen Grains of the Genus *Ornithogalum* L. (Hyacinthaceae) in Jordan. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology* 2: 1-6.

- 16- Pehlivan, S. & Ozler, H. 2003. Pollen morphology of some species of *Muscari* Miller (Liliaceae-Hyacinthaceae) from Turkey. *Flora* 198: 200-210.
- 17- Pfosser, M. & Speta, F. 1999. Phylogenetics of Hyacinthaceae based on plastid DNA sequences. *Annals of Missouri Botanical Garden* 86: 852-875.
- 18- Pinar, S.M., Eroglu, H., Fidan, M. 2016. *Bellevalia behcetii* sp. nov. (Asparagaceae): a new species from South Eastern Anatolia, Turkey. *Phytotaxa* 270: 127-136.
- 19- Prathima, P., Shiva Kameshwari, M.N. & Nijagunaiah, R. 2016. Pollen morphology in two *Urgineoid* species of *Drimia* (Baker) Jessop. *Journal of Applied Natural Science* 8: 144-149.
- 20- Punt, W., Hoen, P.P., Blackmore, S., Nilsson, S., Le Thomas, A. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotanical Palynology* 143:1-81.
- 21- Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 17: 208-212.
- 22- Rohlf, F.J. 1993. NTSYS-PC: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Software. Setauket, NY, USA.
- 23- Speta F. 1998a. Hyacinthaceae. In: Kubitzki, K. (ed), *The families and genera of vascular plants*. Springer. 261- 285.
- 24- Speta F. 1998b. Systematic analysis of the genus *L. s. l.*(Hyacinthaceae). *Phyton*(Horn, Austria) 38(1): 1- 141.
- 25- Tabasi, M.S. & Mehrabian, A.R. 2019. The palynological studies of *Crocus* L. (Iridaceae) with emphasis on taxonomy in Iran. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*. 29 (4): 763- 774
- 26- Tokarev, P. 2003. Morphology and ultrastructure of pollen grain. Russia. KMK Sci. Press Ltd, Moscow.
- 27- Weakley, B.S. 1972. *A Beginner's Handbook in biological Electron Microscopy*. Churchill Livingstone. Edinburg.
- 28- Wendelbo P. 1972. *Scilla*. In: Rechinger, K. H. (ed), *Flora Iranica*. Graz. 155, 107-119.
- 29- Yilmaz citak, B., Dural, H., Buyukkartal, H.N. & Pinar, N.M. 2015. Morphological, anatomical, palynological, and micromorphological characters of 2 endemic species of *Ornithogalum* (*O. chetikianum* and *O. demirizianum*) in Turkey. *Turkish Journal of Botany* 139: 48-59.
- 30- Yildirim, H. 2016. *Muscari elmasii* sp. nova (Asparagaceae): a new species from western Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Botany* 40: 380-387.
- 31- Yildirim, H. & Altioğlu, Y. 2017. *Scilla bilgineri* (Asparagaceae: Scilloideae): a new species of *Scilla* L. from eastern Turkey. *Turkish Journal of Botany* 41: 88-95.
- 32- Yildirim, H., Gemici, Y. & Wilkin, P. 2013. *Scilla vardaria* (Asparagaceae subfamily Scilloideae): a threatened new species of *Scilla* L. from Northeast Turkey with a floral corona. *Phytotaxa* 91: 50-60.

Morphology and ultrastructure of pollen grain in some genera of Hyacinthaceae and their taxonomic importance

Heidarian M.,¹ Hamdi S.M.M.,² Dehshiri M.M.,³ Nejadsttari T.¹ and Masoumi S.M.⁴

¹Dept. of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran.

²Dept. of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran.

³Dept. of Biology, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, I.R. of Iran.

⁴Dept. of Biology, Razi University, Kermanshah, I.R. of Iran.

Abstract

In this study, the pollen grain micromorphological characters of eleven species of genera *Autonoe*, *Fessia*, *Othocallis*, *Prospero*, *Scilla* and *Zagrosia* were studied by Light Microscopy (LM), Scanning Electron Microscopy (SEM) and two species of *F. bisotunensis* and *Z. persica* were performed by Transmission Electron Microscopy (TEM). Based on the results, the general shape of the pollen grains was classified as oblate and peroblate and medium to large pollen grain size. Exine ornamentation varied at equatorial surface, sulcus edge and sulcus membrane (microreticulate, microreticulate-fossulate, microreticulate-reticulate, reticulate-microreticulate, fossulate, microtuberculate, macrotuberculate-reticulate, reticulate-tuberculate and tuberculate). In *F. bisotunensis* and *Z. persica*, the ectexine was semitectate and the endexine were seen in *Z. persica*. The dendrogram obtained from pollen grain qualitative characters were placed these taxa in three groups and six subgroups and the subgroups were partly matched by genera level. *F. bisotunensis* and *Z. persica* that belonged to two different genera were placed in one subgroup and the pollen grain ultrastructure was different between them. Therefore, the pollen grain morphological characters with ultrastructure characters have valuable role in the genus level taxonomy.

Key words: Endexine, pollen grain, *Fessia*, *Zagrosia*