



## بررسی فنتیکی گونه‌های جنس *Trifolium* با استفاده از صفات دانه گرده

فهیمة سلیم پور<sup>۱\*</sup>، کلاله مصطفوی<sup>۲</sup>، شادی حاج رسولیها<sup>۳</sup>، فریبا شریف نیا<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

<sup>۳</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد علوم پزشکی، تهران، ایران

E-mail: dsalimpour@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۳۰

### چکیده

کشور ایران با داشتن ۴۹ گونه علفی یکساله و چندساله از جنس *Trifolium*، بعد از ترکیه یکی از مراکز اصلی تنوع گونه‌های این جنس محسوب می‌شود. این جنس مشتمل بر ۶ بخش می‌باشد. بین گونه‌های هر بخش تشابه فراوانی از نظر خصوصیات بخش زایشی بویژه صفات مربوط به کاسه گل به چشم می‌خورد که شناسایی تاکسونومیک آنها را با مشکل مواجه ساخته است. در پژوهش حاضر، به منظور بررسی کارایی صفات دانه گرده در شناسایی و مطالعه روابط گونه‌ها با یکدیگر، ۳۶ گونه این جنس با کمک میکروسکوپ الکترونی لایه نگار (SEM) مورد تحقیق قرار گرفتند. نتایج نشان می‌دهد که دانه گرده سه شیار روزن دار، عمدتاً استوانه‌ای تا استوانه کشیده بوده و تزئینات سطح اگزین از نوع مشبک، چروکیده، حفره‌دار، سوراخدار، نقطه دار یا رگه دار است. گونه‌های نزدیک *T. bullatum* و *T. tomentosum* با توجه به نوع تزئینات به راحتی قابل تفکیک هستند. گونه *T. aureum* با داشتن تزئینات از نوع چروکیده (*Rugulate*) از گونه مشابه *T. campestre* که دارای تزئینات مشبک (*Reticulate*) است قابل تفکیک است. همچنین گونه *T. pilulare* متفاوت ترین تزئینات را در بین گونه‌های این جنس دارا است. برطبق آنالیز خوشه‌ای دو گروه اصلی مشخص گردید. خوشه اول شامل گونه‌هایی از دو بخش *Vesicaria*، *Trifolium* بوده و خوشه دوم به سه زیر خوشه تقسیم شده است. در دندروگرام حاصله گونه‌ها براساس بخش تاکسونومیک خود جدا نشدند. این نشان دهنده ناهمگن بودن جنس می‌باشد.

**کلیدواژه‌ها:** ایران، دانه گرده، شبدر، *Trifolium*

### مقدمه

این جنس خویشاوندی نزدیکی با جنس‌های یونجه و شنبلیله دارد. شبدر علاوه بر اینکه یک گیاه زراعی علوفه‌ای خوب و مناسب است، به دلیل میزان محصول زیاد، کیفیت علوفه و سازگاری نسبت به خاک، یک

شبدر یکی از مهمترین گیاهان در تولید علوفه دامی به شمار می‌رود. این جنس پس از یونجه، دومین گیاه لگوم علوفه‌ای با ارزش کشور محسوب می‌شود.

*T. hybridum*, *T. radicosum*, *T. montanum* و ۲ گونه علفی یکساله *T. nigrescens*, *T. glomeratum* است. بین گونه چندساله *T. ambiguum* و *T. montanum*، از نظر خصوصیات اندام‌های زایشی، تشابه ریختی بالایی وجود دارد که شناسایی و رده‌بندی آن‌ها را با مشکل مواجه می‌سازد.

بخش *Vesicaria* علاوه بر گونه زراعی *T. resupinatum*، مشتمل بر سه گونه یکساله دیگر شامل *T. clusii*، *T. bullatum*، *T. tomentosum* و سه گونه چندساله *T. fragiferum*، *T. tumens*، *T. physodes* می‌باشد [۱۴]. کلیه گونه‌های این بخش از نظر خصوصیت کاسه گل منحصر به فرد هستند به طوری که کاسه گل دارای ۵ دندانه بوده که به هنگام رسیدن میوه به طور نامتقارن رشد کرده، کیسه‌ای و متورم شده و سطح کاسه تورینه‌ای می‌گردد. ۵ دندانه کاسه نیز به شکل دو لب نابرابر مشخص می‌گردند که لب بالا ۲ دندانه‌ای و لب پایین ۳ دندانه‌ای شده، شکل و طول دندانه‌های لب بالایی یکی از ویژگی‌های مهم در شناسایی گونه‌ها به شمار می‌رود. براین اساس،

لگوم مرتعی برتر نیز به شمار می‌رود. از سوی دیگر، از دیدگاه تاکسونومی جنس شبدر به علت داشتن انواع متفاوت گل آذین اعم از چتری، خوشه‌ای، دیهیم، کاپیتول، سنبله، تفاوت در ساختار کاسه گل به صورت متورم و کیسه‌ای یا غیر متورم و نیز تغییرات در غلاف از نظر نوع نیام چند دانه شکوفا یا نیام تک دانه ناشکوفا، سبب شده است تا شبدر (*Trifolium*) به عنوان یک جنس ناهمگن (هتروژن) معرفی گردید [۸، ۹، ۱۴]. این جنس دارای ۸ بخش می‌باشد که ۶ بخش آن در دنیای قدیم و ۲ بخش آن در دنیای جدید پراکنش یافته است. براساس اطلاعات کنونی ۱۱۰ گونه شبدر در قالب ۷ بخش در ناحیه مدیترانه واقع شده‌اند [۱۳]. ایران پس از ترکیه یکی از بهترین مراکز تنوع جنس شبدر با داشتن حدود ۴۹ گونه یکساله و چندساله در قالب ۶ بخش به شمار می‌رود. [۱۰، ۱۱] (جدول ۱).

*Lotoidea* قدیمی‌ترین و ابتدایی‌ترین بخش این جنس به حساب می‌آید. این بخش در ایران شامل ۵ گونه علفی چندساله *T. repens*، *T. ambiguum*

جدول ۱- بخش‌ها و گونه‌های جنس شبدر در ایران و جهان

بخش	تعداد گونه	
	در جهان	در ایران
<i>Lotoidea</i>	۹۹	۷
<i>Mistyllus</i>	۹	۱
<i>Vesicaria</i>	۷	۷
<i>Trifolium</i>	۷۲	۲۶
<i>Trichocephalum</i>	۹	۲
<i>Involucrarium</i>	۲۲	-
<i>Paramesus</i>	۲	-
<i>Chronosemium</i>	۱۷	۶
	۲۴۷	۴۰

تزئینات سطح آگزین و صفات کمی نظیر طول محور استوائی (E) و یا طول محور قطبی (P) و نیز تعداد بالای دانه‌گرده تولید شده در هر گیاه، سبب شده است تا گیاه‌شناسان بیش از پیش از صفات‌گرده در تسهیل‌شناسایی‌های ریخت‌شناسی بهره‌گیرند.

دانه‌گرده در جنس شبدرعموماً از نوع سه‌شکافی روزن‌دار (Trizoncolporate) بوده که شکل عمومی آن از منظر استوایی بیضی‌شکل (Elliptic) یا سه‌گوش‌نوک‌کند (Triangular-obtuse) و از دید قطبی مثلثی سربریده (Truncated-triangular) می‌باشد. تزئینات سطح آن از نوع مشبک (Reticulate) تا لانه‌زنبوری (Faveolate) است. روزن‌ها (Pori) معمولاً در ناحیه استوایی قرار داشته و کمتر دیده می‌شوند. سطح آگزین بطور مشخص در قطبین ضخیم نمی‌باشد. شکاف (Apocolpium) نسبتاً بزرگ دیده شده که کل طول آن در منظره استوایی قابل مشاهده است.

تا کنون تلاش‌های متعددی در شناسایی گونه‌های شبدر بر اساس ریخت‌شناسی دانه‌گرده صورت گرفته است. ارتمن و همکاران براساس اندازه و شکل دانه‌گرده، کلید شناسایی ۱۱ گونه شبدر منطقه اسکاندیناوی را ارائه داد [۴]. همچنین ۴۵ گونه شبدر بومی شمال آمریکا در سال ۱۹۷۳ به کمک میکروسکوپ الکترونی TEM (Transition Electron Microscope) و میکروسکوپ الکترونی لایه‌نگار (Scanning Electron Microscope) SEM بررسی شد و کلید شناسایی برای آنها ارائه گردید [۵]. زهری و هلریه کمک میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ الکترونی لایه‌نگار، مطالعه‌جامعی را بر روی ۴۵ گونه از بخش *Lotoidae* براساس ریخت‌شناسی دانه‌گرده، تزئینات سطح آگزین و ابعاد دانه‌گرده انجام دادند و ۷ تیپ مختلف دانه‌گرده را در گونه‌های این بخش مشخص

گونه‌های یکساله *T. tomentosum*، *T. bullatum* و *T. clusii* دارای تشابه مورفولوژیکی بالایی به خصوص از نظر صفات مربوط به شکل برگچه، شکل گل‌آذین، شکل و طول دندان‌های لب بالایی کاسه در مرحله میوه و نیز تزئینات سطح کاسه در مرحله میوه و رنگ جام گل می‌باشد [۱۱].

بخش *Mistyllus* شامل ۱ گونه *T. spumosum* می‌شود که براساس شواهد مورفولوژیکی و مطالعات فیلوژنی مولکولی، خویشاوندی نزدیکی بین این گونه و گونه‌های بخش *Vesicaria* بویژه از نظر ساختار گل دیده می‌شود [۱]. در بخش *Trifolium* که بزرگ‌ترین بخش این جنس در کشور است، ۲۶ گونه علفی یکساله و چندساله دیده می‌شود. وجود انواع گل‌آذین، تنوع در ریخت‌شناسی ساختار گل بویژه خصوصیات کاسه گل وجود گوشوارک برگی به شکل گریبان در برخی گونه‌ها و نیز ویژگی‌های برگچه‌های برگ، سبب بروز مشکلاتی در شناسایی و تفکیک گونه‌های این بخش شده است. بخش *Chronosemium* شامل ۵ گونه یکساله *T. aureum*، *T. grandiflorum*، *T. micranthum*، *T. campestre* و *T. spadiceum* و یک گونه چندساله *T. badium* در ایران می‌شود. دو گونه *T. aureum* و *T. campestre* دارای شباهت‌های ریخت‌شناسی متعدد به ویژه در شکل درفش گل، شکل گل‌آذین و خصوصیات دندان‌های کاسه گل می‌باشند. همچنین دو گونه *T. spadiceum* و *T. badium* نیز در صفات گل‌دارای تشابه بالایی هستند بطوریکه مطالعات ریخت‌شناسی به تنهایی قادر به تفکیک و شناسایی آنها نمی‌باشد. از سوی دیگر، مطالعات‌گرده‌شناسی، منبع قابل اعتمادی در مطالعات تاکسونومی گیاهی محسوب می‌شود [۲]، صفات کیفی مهم دانه‌گرده نظیر تنوع در شکل،

## مواد و روش‌ها

## مواد گیاهی

نمونه‌های گیاهی مربوط به هفت گونه بخش *Vesicaria*، یک گونه بخش *Mistyllus* هفت گونه بخش *Lotoidae*، ۱۴ گونه بخش *Trifolium* و شش گونه بخش *Chronosemium* و یک گونه از بخش *Trichocephalum* جمع‌آوری شده از نقاط مختلف کشور و نگهداری شده در کلکسیون شبدر بانک ژن گیاهی ملی ایران، در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۲).

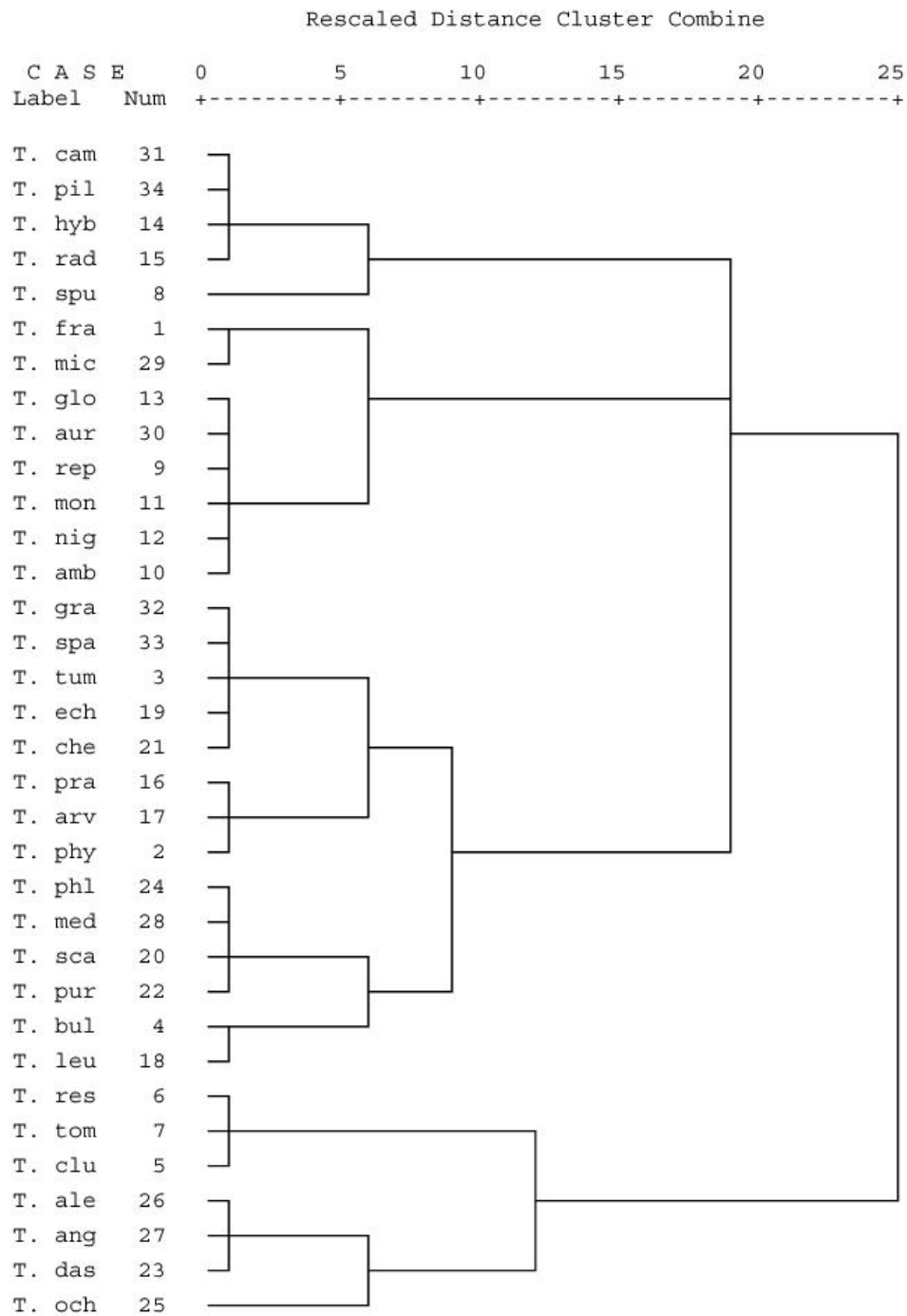
کردند. آنها کوچکترین دانه گرده را در دو گونه *T. suffocatum*، *T. retusum* مشاهده نمودند [۱۴]. پرون و همکاران دانه های گرده در خانواده Fabaceae را مورد بررسی قرار دادند که تنها یک گونه از جنس شبدر با نام *T. repens* در این مطالعه بررسی شد [۹]. در تحقیق حاضر، ویژگی‌های دانه گرده در ۳۶ گونه جنس شبدر در ایران به منظور مطالعه روابط گونه‌های هر بخش با یکدیگر با استفاده از صفات ریخت شناسی دانه گرده و آنالیز تاکسونومی عددی مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفته است.

جدول ۲- گونه های مورد مطالعه جنس شبدر و رویشگاه آنها (*Trifolium*)

گونه گیاهی Species	رویشگاه Habitat
<i>T. fragiferum</i>	گلستان: گنبد کاووس، ۸۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. physodes</i>	آذربایجان: سردشت به پیرانشهر، ۱۵۰۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. tumens</i>	تهران: پلور، ۱۲۰۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. resupinatum</i>	خوزستان چغازنبیل، ۱۰۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. bullatum</i>	لرستان: دیمله، ۱۵۰۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. tomentosum</i>	کرمانشاه: کرد غرب، ۳۵۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. clusii</i>	خوزستان: دزفول به شوش، ۱۵۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. spumosum</i>	لرستان: دیمله، ۱۵۰۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. radicosum</i>	تهران: توچال، ۳۷۰۰ متر، سلیم پور
<i>T. repens</i>	تهران: پلور، ۲۳۰۰ متر، مصطفوی
<i>T. ambiguum</i>	اردبیل: کوه سبلان، شایبل، ۲۴۴۰ متر، مصطفوی
<i>T. nigrescens</i>	تهران: پلور، ۲۳۰۰ متر، سلیم پور
<i>T. montanum</i>	اردبیل: کوه سبلان، شایبل، ۲۴۴۰ متر، مصطفوی
<i>T. glomeratum</i>	گیلان: باتلاق بوشمن، ۲۱-، ایرانشهر
<i>T. hybridum</i>	زنجان: بناب به طرف چفتان، ۱۵۰۰ متر، موسوی
<i>T. arvense</i>	کرمانشاه: بیستون، ۱۴۲۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. leucantum</i>	کرمانشاه: قصرشیرین، ۳۵۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. echinatum</i>	کرمانشاه: سرپل ذهاب، ۷۰۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. scabrum</i>	لرستان: خرم آباد، روستای ریمله، ۱۵۰۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. cherleri</i>	کرمانشاه: قصرشیرین، ۳۵۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. purpureum</i>	کرمانشاه: کرد غرب به سرپل ذهاب، ۱۲۴۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. dasyarum</i>	لرستان: خرم آباد، ۱۲۰۰ متر، سلیم پور و قنواتی
<i>T. phleoides</i>	ارومیه: تپه های غرب ده سیلوانا، ۱۶۰۰ متر، سلیم پور و قنواتی



Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)



شکل ۱- دندروگرام تجزیه‌ای خوشه‌ای گونه‌های جنس شبدر

سوراخدار<sup>۶</sup> می‌باشد این مطالعه نشان داد که

بخش *Lotoidae* از نوع کروی<sup>۱</sup> شکل بود.

- <sup>۲</sup> Reticulate
- <sup>۳</sup> Scrobiculate
- <sup>۴</sup> Faveolate
- <sup>۵</sup> Rugulate
- <sup>۶</sup> Perforate

تزیینات سطح آگزین در کلیه نمونه‌های بررسی شده از نوع مشبک<sup>۲</sup>، نقطه دار<sup>۳</sup>، حفره دار<sup>۴</sup>، چروکیده<sup>۵</sup> و

<sup>۱</sup> Circular















