



مقایسه ریزریختارشناسی اپیدرم برگ و میوه گونه‌های نارون ایرانی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM

حمیده محقی^۱، فریبا شریف‌نیا^{۲*} و ایرج مهرگان^۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
^۲ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

E-mail: Fa.sharifnia@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۰۴

چکیده

جنس نارون *Ulmus* L. متعلق به تیره نارونیان *Ulmaceae* دارای ۴ گونه در ایران است (*U. minor*, *U. glabra*, *U. boissieri* & *U. umbraculifera*) که در مناطق مختلف به صورت وحشی و کاشته شده دیده می‌شود. این گونه‌ها از بسیاری جهات به هم شبیه می‌باشند بطوریکه تفکیک آنها از یکدیگر بسیار سخت است لذا می‌بایست از سایر صفات همچون صفات ریز ریختارشناسی مقایسه‌ای برای شناسایی دقیق این گونه‌ها بهره جست. نمونه‌های این گونه‌ها از مناطق مختلف جمع‌آوری، خشک و پرس گردید. بخش‌های یکسانی از برگ برای مقایسه ساختار و الگوهای اپیدرمی پشت برگ و همچنین از نمونه‌های سامار (بال فندقه) این گونه‌ها جداسازی و برای مطالعه انتخاب شدند. نمونه‌ها پس از خشک شدن ابتدا فریز شده و با لایه‌ای از طلا پوشانده شدند، سپس در ستونی از خلا مورد تابش پرتو الکترونی قرار گرفتند و در نهایت تصاویری با بزرگ‌نمایی‌های متفاوت از آن‌ها تهیه گردید. از این تصاویر جدول صفاتی تهیه شد و این صفات مورد آنالیز آماری با نرم‌افزار SPSS قرار گرفت و فنوگرام آن رسم شد. نتایج نشان داد که این ۴ گونه از لحاظ الگوی اپیدرمی برگ، ساختار پایه کرک، تراکم کرک، میزان تراکم روزنه‌ها در پشت برگ متفاوت هستند همچنین بررسی مقایسه‌ای ریز ریختارشناسی فندقه بالدار نشان داد که از لحاظ الگوی اپیدرمی با هم متفاوت هستند. در نهایت صفات مقایسه‌ای ریزریختارشناسی به هر چه دقیق‌تر شناسایی این گونه‌ها کمک می‌کند که در نتیجه آن می‌توان گیاهان مناسب هر زیستگاه را انتخاب و به کشت آنها مبادرت نمود.

کلیدواژه‌ها: الگوی اپیدرمی، ریزریختارشناسی، فنوگرام، میکروسکوپ الکترونی، نارون

مقدمه

ثانوی افراشته می‌شود رشد می‌کنند و شاخه‌های جانبی مشابه هستند بنابراین ظاهری گسترده دارند. اغلب تانن‌دار، سیستولیت‌ها وجود دارند، مجاری شیرابه‌ای

جنس نارون متعلق به تیره نارونیان است. گیاهانی درختی که به وسیله یک محور مرکزی افقی که به طور

ندارند. کرک‌ها ساده، برگ‌ها متناوب، به طور آشکار دو ردیفی، ساده، دندان‌اره‌ای ساده یا مضاعف، با رگبندی شانه‌ای، رگبرگ‌های فرعی به دندان‌ها ختم می‌شوند، پهنک دارای قاعده نامتقارن، گوشواره وجود دارد. گل‌آذین گرز، گروهی، جانبی. گل‌ها دو جنسی یا تک جنسی (در این صورت گیاهان تک پایه، دو پایه یا پلی‌گام)، شعاعی، نامشهود، دارای گل‌بنه. تپال‌ها ۶-۴ عدد، جدا تا پیوسته، معمولاً همپوش. پرچم‌ها ۹-۴ عدد، متقابل با تپال‌ها، میله‌ها جدا، در غنچه افراشته، دانه‌های گرده ۶-۴ منفذی. برچه‌ها ۲ عدد، پیوسته. تخمدان فوقانی، جفت‌بندی راسی و معمولاً ۱ حجره‌ای، کلالة ۲ عدد، پهن شده در امتداد سمت جلویی خامه‌ها. تخمک ۱ عدد. میوه فندقه یا فندقه چه، دانه‌های پهن، رویان راست، اندوسپرم متشکل از یک لایه منفرد سلولی به نظر می‌رسد که وجود ندارد. گل‌های تحلیل رفته این خانواده باد گرده افشان هستند. میوه‌های بال دار اکثر گونه‌ها نیز توسط باد پراکنده می‌شوند به‌طور وسیعی در جهان گسترده هستند اما بیشترین پراکنش آنها در مناطق معتدله نیمکره شمالی است به‌طور وسیعی در جهان گسترده هستند اما بیشترین پراکنش آنها در مناطق معتدله نیمکره شمالی است [4].

شناسایی گونه‌های نارون همواره به دلیل شباهت فراوان آنها به یکدیگر با مشکلات فراوانی روبرو بوده است بطوریکه منابع متفاوت تعداد گونه‌ها و نام‌های متفاوتی را گزارش داده اند.

ریخت شناسی همواره مهمترین معیار مقایسه بین گونه‌ها بوده است. شناسایی‌های اولیه بر اساس صفات ریخت‌شناسی صورت گرفته است. طی دو قرن اخیر از صفات ریزریختارشناسی میکروسکوپی هم برای تشخیص گونه‌ها استفاده شده است. میکروسکوپ

الکترونی به طور وسیع برای گیاهان ابتدایی استفاده شده است ولی رویکردی جدید برای گیاهان گلدار قلمداد می‌شود. در سال‌های اخیر جزئیات بهتری از صفات خارجی (ریزریخت‌شناسی) با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) و جزئیات دقیقی از محتویات سلول (فرا ساختار) با میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM) بدست آمده است. اغلب صفات مورد مطالعه با میکروسکوپ (SEM) ثابت و بدون تاثیر شرایط محیطی است. مطالعه با SEM ابتدا بر روی گرده، دانه‌های کوچک، کرک‌ها و صفات سطحی اندام‌های مختلف بوده است. در اغلب این اندام‌ها (بجز دانه‌های گرده) اپیدرم بررسی شده است. [1]

صفات اپیدرمی کمک شایانی به شناسایی دقیق گیاهان انجام می‌دهد. صفات اپیدرمی توسط SEM برای مطالعه فرا ساختار و ریزریخت شناسی بررسی می‌شوند. ارزش مطالعات اپیدرمی در این است که اپیدرم تقریباً همه اندام‌های سبز و میوه‌ها را پوشانده است، همیشه حتی در نمونه‌های هرباریومی نیز وجود دارد. اپیدرم ضخیم استو در آماده سازی برای SEM پایدار می‌ماند و کمتر تحت شرایط محیطی قرار می‌گیرد [3].

در این تحقیق اپیدرم فندقه بالدار و سطح تحتانی برگ چهار گونه نارون ایرانی با استفاده از میکروسکوپ SEM مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ابتدا مناطق عمده پراکنش گونه‌های *Ulmus L.* را در استان‌های تهران و مازندران، مطابق با آدرس‌های موجود در فلورهای معتبر و یادداشت‌های مربوط به اطلاعات نمونه‌های هرباریومی تعیین گردید و موقعیت جغرافیایی کلیه نمونه‌های مورد مطالعه، بر

قرار دارد، توسط یک دوربین و دستگاه نمایش به تصویر قابل رویت تبدیل می گردند. [3]
مرحله بعد تصاویر از اپیدرم سطح تحتانی برگ و میوه تهیه شد و در بخش نتایج آورده شده است. (شکل ۸-۱)

سپس صفات کیفی مورد نظر با توجه به تصاویر گرفته شده انتخاب، کدهای و بصورت جدول تهیه شد. (جدول ۲)

جدول ماتریس گونه‌ها و صفات با نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ مورد ارزیابی فنتیکی قرار گرفت و فنوگرام آن رسم شد. (نمودار ۱) و با توجه به صفات بالاترین واریانس رسته‌بندی گونه‌ها مشخص شد. (نمودار ۲)

جدول ۲: صفات کیفی مورد ارزیابی در مطالعه ریزریخت‌شناسی سطح تحتانی برگ و فندقه در گونه‌های جنس *Ulmus L.* و کدگذاری صفات

شماره صفات	صفات	واحد
۱	وضعیت روزنه در سطح فندقه	دارد ۰، ندارد ۱
۲	وضعیت کرک در سطح فندقه	دارد ۰، ندارد ۱
۳	وضعیت شکل سطح فندقه	چروکیده ۰، صاف ۱، سنگفرشی ۲
۴	وضعیت تراکم روزنه در سطح پشته برگ	پر روزنه ۰، کم روزنه ۱
۵	وضعیت سلول‌های همراه روزنه در سطح پشته برگ	صاف ۰، چروکیده ۱
۶	وضعیت تراکم کرک در سطح پشته برگ	زیاد ۰، کم ۱
۷	شکل قاعده کرک در سطح پشته برگ	ستاره ای ۰، گرد ۱، سنگفرشی مطابق ۲
۸	وضعیت کرک غده ای در سطح پشته برگ	دارد ۰، ندارد ۱
۹	وضعیت شکل سطح پشته برگ	صاف ۰، چروکیده ۱

روی نقشه علامت‌گذاری شد. سپس نمونه‌ها در بسیاری از موارد جمع آوری شدند. (جدول ۱)

جدول ۱: مکان‌های جمع آوری نمونه‌های نارون مورد مطالعه در این تحقیق

نام گونه	مکان
<i>U. glabra</i>	مازندران: ساری، به طرف جاده فرح آباد، ۳۵- متر، محققى مازندران: قائم شهر، جاده خروجی به سمت تهران، ۵۰ متر، محققى
<i>U. minor</i>	تهران: دربند، ابتدای خیابان دربند، ۱۶۰۰ متر، محققى تهران: درکه، ۱۷۰۰ متر، محققى تهران: پارک ملت، محققى مازندران: ساری، پارک شهید زارع، ۹۵ متر، محققى
<i>U. umbraculifera</i>	تهران: دماوند، ابتدای جاده دماوند، ۲۰۰۰ متر، محققى تهران: گیلاوند، میدان شهدا، ۱۷۰۰ متر، محققى تهران: بهشت زهرا، ۱۰۳۰ متر، محققى تهران: پارک جمشیدیه، ۱۸۰۰ متر، محققى
<i>U. boissieri</i>	اصفهان: ۱۰ کیلومتری جاده سمیرم، ۲۶۰۰ متر، اسدی و ابوحمزه، ۴۶۰۱۶

پس از جمع‌آوری و شناسایی نمونه را ثابت و خشک نموده و طی فرایند سایه زدن، در خلاء پوششی از بخار فلز طلا بر روی نمونه داده شد طلا قدرت تورق بالایی دارد و با یک ضخامت حداقل روی نمونه قرار می‌گیرد، دستگاه اندود کننده (Coating) که بدین منظور استفاده می‌شود با چرخش شدیدی که به نمونه می‌دهد تمام سطح آن را با ضخامت یکسان و بسیار نازک حتی در منافذ و برجستگی‌های سطح از طلا می‌پوشاند. اندود کردن با طلا تشکیل الکترون‌های ثانویه را مطمئن کرده و تعداد آن را افزایش می‌دهد. در S.E.M الکترون به جزء جزء نمونه برخورد نموده و متعاقباً الکترون‌های ثانویه ایجاد شده توسط پوشش فلزات سنگین که بر روی نمونه

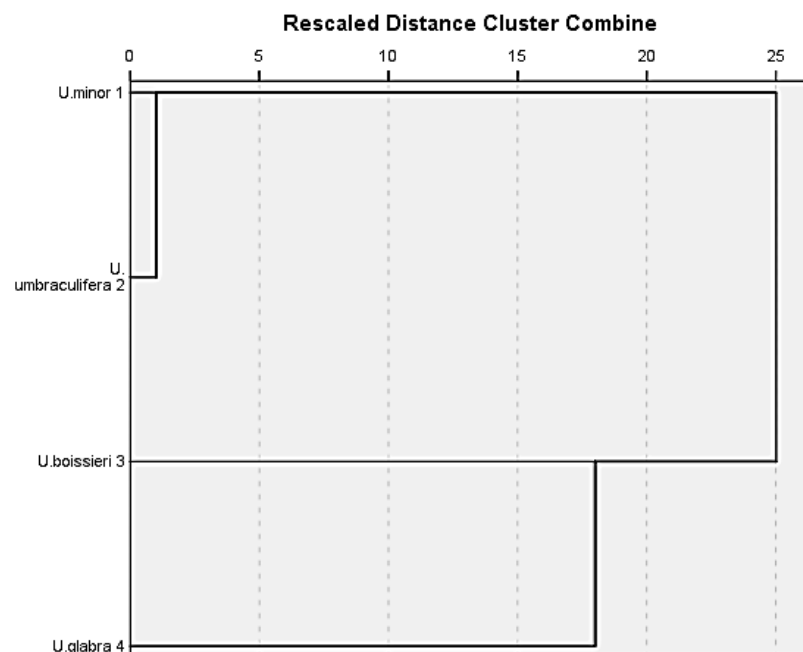
نتایج

صفات ریزریختارشناسی از هم قابل تفکیک هستند. بطوری‌که این دو گونه بطور کاملاً مجزا و در خوشه‌های متفاوت قرار گرفته‌اند و همچنین دو گونه *U. minor* و *U. glabra* که از نظر ریخت‌شناسی عمومی به هم نزدیک هستند در صفات ریزریختارشناسی کاملاً متفاوت و در خوشه جدا از هم قرار می‌گیرند. آنالیز FA برای صفات ریزریختارشناسی انجام شد و متغیرترین صفات مشخص شد. نتایج نشان داد مولفه اول با درصد واریانس ۴۵/۹۸٪ شامل صفات وضعیت روزنه در سطح فندقه‌ها، وضعیت کرک در سطح فندقه‌ها و وضعیت کرک غده‌ای در سطح پشتی برگ و مولفه دوم با درصد واریانس ۳۱/۹۰٪ شامل صفات شکل کلی سطح فندقه، وضعیت سلول‌های همراه روزنه و شکل کلی سطح پشتی برگ است (نمودار ۱).

نتایج صفات مورد مطالعه ریزریختارشناسی سطح تحتانی برگ و فندقه در گونه‌های جنس نارون (*Ulmus L.*) به صورت فنوگرام در نمودار شماره ۱ ارائه شده است.

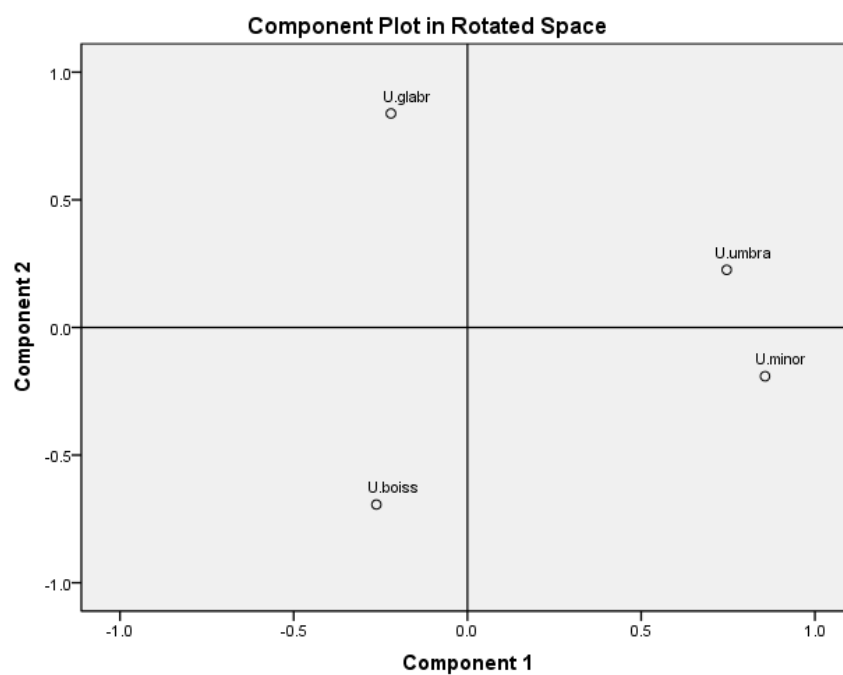
طبق این فنوگرام در فاصله تاکسونومیکی ۲۵ به دو خوشه اصلی تفکیک شدند. خوشه اصلی اول شامل دو گونه *U. minor* و *U. umbraculifera* است و خوشه اصلی دوم شامل *U. boissieri* و *U. glabra* است. نتایج ریزریختارشناسی تایید کننده ریخت‌شناسی نیستند و در مقابل برای تفکیک گونه‌هایی که در ریخت‌شناسی بسیار شبیه به هم بودند کمک کننده می‌باشد به طوری که دو گونه *U. boissieri* و *U. umbraculifera* از نظر ریخت‌شناسی عمومی بسیار به هم شبیه بودند با

Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)

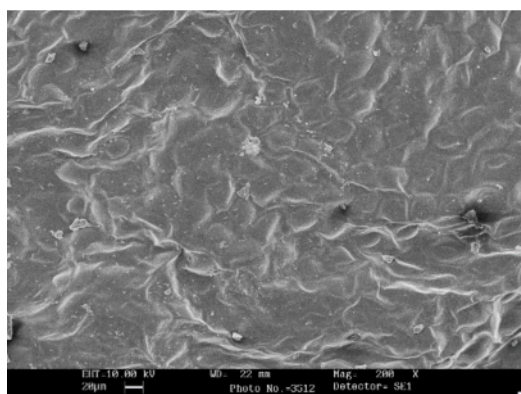


نمودار ۱: نمودار خوشه‌ای (متد Average Linkage) بر اساس صفات ریزریخت‌شناسی سطح تحتانی برگ و فندقه در گونه‌های جنس

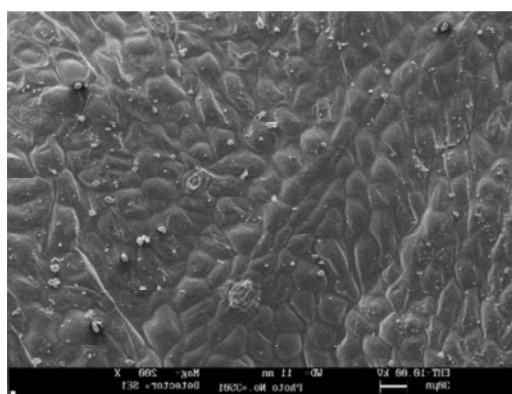
L. Ulmus در ایران



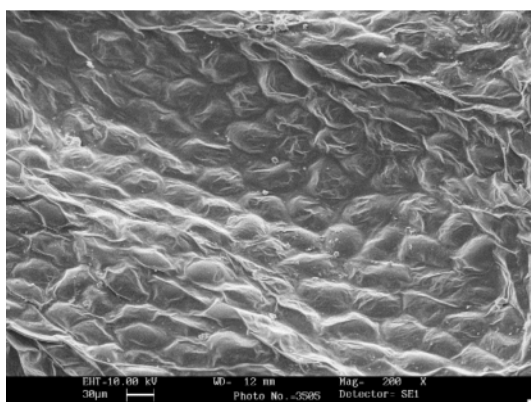
نمودار ۲: تجزیه به مولفه های اصلی PCA بر اساس صفات ریزمختارشناسی سطح تحتانی برگ و فندقه در گونه های جنس *Ulmus L.* در ایران



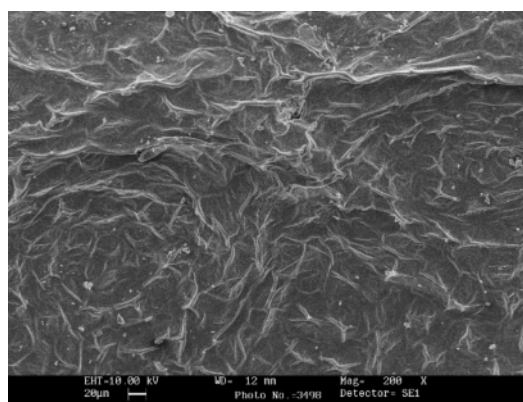
شکل ۲: سطح فندقه در گونه *U. umbraculifera*



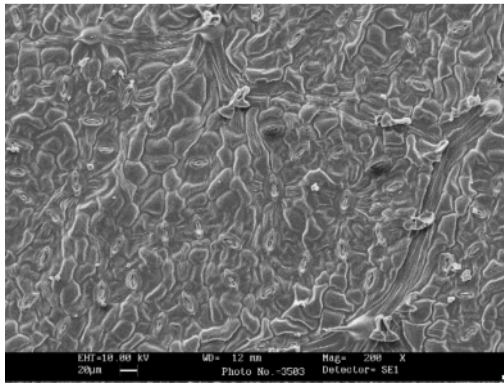
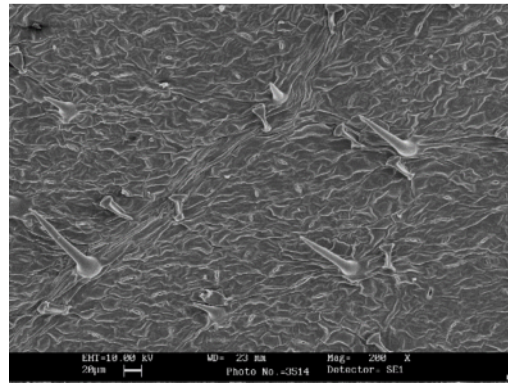
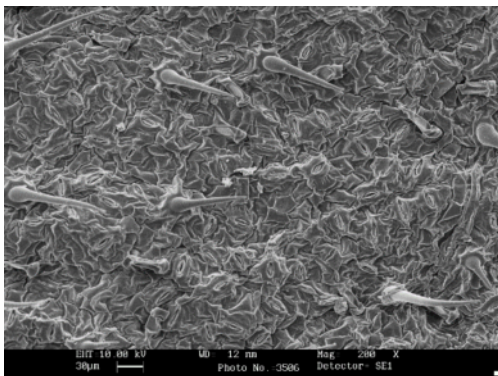
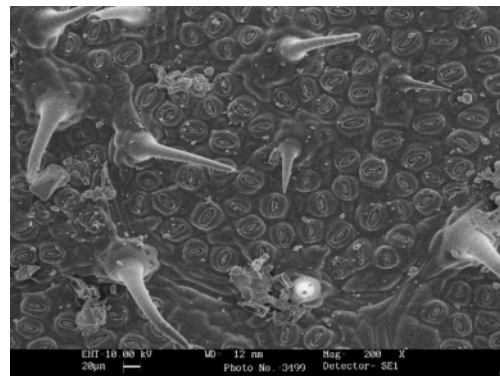
شکل ۱: سطح فندقه در گونه *U. minor*



شکل ۴: سطح فندقه در گونه *U. glabra*



شکل ۳: سطح فندقه در گونه *U. boissieri*

شکل ۶: سطح پشتی برگ در گونه *U. umbraculifera*شکل ۵: سطح پشتی برگ در گونه *U. minor*شکل ۸: سطح پشتی برگ در گونه *U. glabra*شکل ۷: سطح پشتی برگ در گونه *U. boissieri*

بحث و نتیجه گیری

در فلور ایران خاتم ساز نیز به گونه‌های *U. minor*، *U. boissieri* و *U. glabra* اشاره کرده است و گونه *U. umbraculifera* را به صورت یکی از تاکسون‌های *U. minor* بیان می‌کند. با توجه به این نظرات متفاوت که همگی بر اساس ریخت‌شناسی بوده اند بنظر می‌رسید می‌بایست از صفات دیگری همچون ریزریختارشناسی برای مقایسه این گونه‌ها کمک گرفت. [2]

اپیدرم خارجی‌ترین لایه برگ، میوه و سایر بخش‌های نرم یک گیاه را تشکیل می‌دهد که نه تنها گاهی همراه ضمائم همچون کرک‌ها است بلکه دارای الگوهای متفاوتی در گیاهان مختلف می‌باشد. آنالیز فنیکی صفات ریزریختارشناسی گونه‌های بویژه الگوهای اپیدرمی برگ گونه‌های نارون نشان داد که صفات مقایسه‌ای بسیار خوبی برای تفکیک گونه‌ها

در موردشناسایی گونه‌های نارون در ایران به دلیل شباهت این گونه‌ها نسبت به هم عقاید متفاوتی مطرح شده است به طوریکه Zielienski در سال ۱۹۷۹ در فلور ایرانیکا ۷ گونه از جنس *Ulmus* را معرفی کرده است که گونه‌های *U. minor*، *U. boissieri* و *U. glabra* را برای ایران شرح می‌دهد و همین طور گونه *U. umbraculifera* را بصورت یکی از تاکسون‌های *U. minor* بیان می‌کند. [9]

مظفریان در کتاب درختان و درختچه‌های ایران علاوه بر گونه‌های *U. minor*، *U. umbraculifera*، *U. boissieri* و *U. glabra* به گونه‌های *U. pumila* و *U. parviflora* نیز اشاره می‌کند که پراکنش جغرافیایی آنها به صورت کاشته شده در نقاط اطراف تهران است. [6]

[۳] رضایی، م. (۱۳۸۵). راهنمای استفاده از میکروسکوپ الکترونی، دانشگاه تربیت مدرس.

[۴] سعیدی، ح. (۱۳۸۶). سیستماتیک گیاهی (دیدگاهی تبارشناسی)، انتشارات جهاد دانشگاهی صنعتی اصفهان.

[۵] شریف‌نیا، ف.، سلیم‌پور، ف. و بهزادی‌شکیب، س. (۱۳۹۰). فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی سال ششم شماره ۲.

[۶] مظفریان، و. (۱۳۸۳). درختان و درختچه‌های ایران، انتشارات فرهنگ معاصر.

[7] Christensen, K. I. and Hensen, H. V. (1998). SEM studies of epidermal patterns in Angiosperms. Opera Botanica. No. 135. Missouri Botanical garden.

[8] Sharifnia, F. and Behzadishakib, S. (2012). Epidermal petal patterns of 13 Iranian *Rubus* L. (Rosaceae) species, *Annals of Biological Research*, vol. 3(6). 2734-2740.

[9] Zielinski, J. (1979), 'Ulmaceae', *Flora Iranica*, ed. K. H. Rechinger, No 142. Graz.

هستند. در این تحقیق مشخص شد این الگوها در گونه‌های نارون متفاوت و همچنین مشخص شد که تراکم کرک‌ها و ساختار پایه کرک‌ها در گونه‌های مختلف می‌تواند صفات خوبی در تفکیک گونه‌ها ارائه دهد و این نتیجه با نتایج شریف‌نیا و بهزادی‌شکیب ۲۰۱۲ و شریف‌نیا و همکاران ۱۳۹۰ بر روی گونه‌های تمشک همسویی دارد [5.8].

در نهایت این بررسی نشان داد که در ایران چهار گونه از نارون حضور دارند و ریزریختارشناسی اپیدرم میوه و برگ کمک شایانی می‌تواند در شناسایی آنها انجام دهد.

منابع:

[۱] جعفری، آ.، احمدیان، م.، وزارع، م. (۱۳۸۵). سیستماتیک گیاهی، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

[۲] خاتم‌ساز، م. (۱۳۶۹). فلور ایران، شماره ۴، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.

