

The Morphological, Micromorphological and Palynological Study of the Genus *Daphne* L. (Thymelaeacea) in Iran

Hamed Khodayari ^{1*}, Akram Faramarzi ², Nastaran Jalilian ³

¹ Assistant Professor Department of Biology, Faculty of Basic Science, Lorestan University, Khorramabad, Iran

² M. S. Graduate Department of Biology, Faculty of Science, Lorestan University, Khorramabad, Iran

³ Assistant Professor Forests and Rangelands Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, (AREEO), Kermanshah, Iran

Abstract

Daphne L. belongs to Thymelaeaceae family which has about 70 species in the world and 4 species in Iran. The species of this genus have compounds such as flavon, Betulin, Simarin and etc. that have anticancer, anti-flammation, antigout and antimicrobial effects. In this study, the pollen of 11 different accessions of *D. mucronata*, *D. oleoides*, *D. pontica*, *D. mezerum* were studied using stereo microscope, light microscope and scanning electron microscope for identifying and recognizing useful characteristic of these species. The results were analyzed utilizing NTSYS pc v 2.02 e software and dendrogram constructed using UPGMA method. The results have shown that pollen grains are spheroid to elliptic shape, tricolporat and polyforat in the studied species and there are differences on exine surface that create Crotonoid and Semicrotonoid patters. Characteristics such as shape and pollen grains diagonal, revealing and hiding of reticular muri exine diameter are effective in taxonomic segregation of species. In this study, three types of seed surface ornamentation from cell-like, mosaic, and wavy were observed and characteristics such as leaf shape and the presence and density of trichomes, perianth color, lobe form, presence of trichome in ovule, seed color, seed shape, having billed and seed ornamentation of surface are different (variable) between species.

Key words: Iran, Seed Coat, Pollen, Micromorphology, *Daphne*, Thymelaeaceae.

* Khodayari.h@lu.ac.ir

مطالعه ریخت‌شناسی، ریزریخت‌شناسی و گرده‌شناسی جنس

Daphne L. (Thymelaeaceae) در ایران

حامدخدایاری^{۱*}، اکرم فرامرزی^۲، نسترن جلیلیان^۳

^۱ استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران

^۲ دانش آموخته کارشناسی ارشد سیستماتیک - اکولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران

^۳ استادیار پژوهش، بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و

ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران

چکیده

جنس *Daphne L.* متعلق به خانواده Thymelaeaceae و دارای دست‌کم ۷۰ گونه در جهان و ۴ گونه در ایران است. گونه‌های این جنس حاوی ترکیباتی نظیر فلاون، بتولین، سیمارین و ... هستند که آثار ضدسرطانی، ضدالتهاب، ضدنقرس و ضد میکروبی دارد. در پژوهش حاضر، ویژگی‌های ریخت‌شناسی اندام‌های رویشی و زایشی، ویژگی‌های ریزریخت‌شناسی پوشش بذر و دانه‌گرده ۱۱ جمعیت مختلف از گونه‌های *D. mezereum*، *D. mucronata* و *D. oleoides* با استرئومیکروسکوپ، میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره با هدف شناسایی صفت‌های مفید برای جدایی و تشخیص گونه‌ها بررسی و مطالعه شد. اطلاعات حاصل از صفت‌های ریخت‌شناسی، ریزریخت‌شناسی دانه‌گرده و بذر با نرم‌افزار NTSYS pc v 2.02 e تجزیه و تحلیل آماری شد و دندروگرام به روش UPGMA ترسیم شد. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند دانه‌گرده در گونه‌های مطالعه‌شده کروی تا بیضی‌شکل، سه‌شباری، چندمنفذی است و تفاوت‌هایی در سطح‌اگزین وجود دارند که الگوی Crotonoid و Semicrotonoid را ایجاد می‌کند. صفت‌هایی از جمله شکل برگ، وجود کرک و تراکم آن، رنگ گلپوش، شکل لوب‌ها و وجود کرک در تخمدان، شکل و قطر دانه‌گرده، آشکار یا مخفی بودن دیواره مشبک (muri) و ضخامت اگزین در جدایی تاکسونومیکی گونه‌ها مؤثر هستند. در مطالعه حاضر، سه نوع تزیینات سطح بذر از سلولی و خانه‌خانه تا موج‌دار و برآمده مشاهده شد و صفت‌هایی مانند رنگ بذر، شکل بذر، متقاردار بودن و تزیینات سطح بذر در جدایی گونه‌ها از هم مؤثر تشخیص داده شد.

واژه‌های کلیدی: ایران، پوشش بذر، دانه‌گرده، ریزریخت‌شناسی، *Daphne*، Thymelaeaceae.

* Khodayari.h@lu.ac.ir

مقدمه

(۱۹۸۶) مهم‌ترین مرجع قرن بیستم برای مطالعه‌ی گرده بسیاری از گونه‌های گیاهی دولپه‌ای و تک‌لپه‌ای از جمله Thymelaeaceae است. سطح خارجی آگزین دارای انواع مختلفی از آراستارها و تزئینات است که در بیشتر موارد معرف خوبی برای شناسایی گونه‌ها هستند (Ghanati, 2005). در پژوهشی روی *Daphne* *bholua* Buch.-Ham. ex D. Don و *Daphne* *papyracea* Wall. ex G. Don دیده شده است دیواره گرده از دو لایه اولیه و ثانویه مشبک (Reticulat) تشکیل شده که لایه بیرونی از هم‌جوشی کامل یا جزئی عناصر Supratectal مشتق شده است. این عناصر شکل‌های سه‌وجهی، گنبدی و دایره‌ای گوناگونی دارند که نتیجه آن تشکیل الگوی Crotonoid و یا Semicrotonoid است. اغلب آگزین خارجی (Ectexin) ضخیم‌تر از آگزین داخلی (Endexin) است (Garg and Rogers, 2011). اندازه دانه گرده، شکل، ضخامت آگزین، تعداد و شکل و اندازه منافذ ویژگی‌های مناسبی برای مطالعه گرده هستند (Abdulrazaq and Mohammed, 2015). ویژگی‌های سطح پوشش بذر بسیار کم تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد و صفت‌های پوشش بذر همواره تفاوت‌های ژنتیک - فیلوژنتیک را در گیاهان خویشاوند نشان می‌دهند (Ozcan, 2002). در مطالعه حاضر سعی شده است صفت‌های پالینولوژی مهم از نظر سیستماتیکی تعیین شوند.

تاکنون مطالعه‌های چندانی در زمینه ریزریخت‌شناسی بذر و میوه در تاکسون‌های متعلق به این جنس در ایران انجام نشده است. در پژوهش حاضر، ویژگی‌های ریخت‌شناسی، ریزریخت‌شناسی دانه گرده، بذر و میوه تاکسون‌های متعلق به سرده

جنس *Daphne* L. به خانواده Thymelaeaceae شامل ۷۰ جنس و ۶۰۰ گونه تعلق دارد. این جنس دارای دست‌کم ۷۰ گونه است که بومی آسیا، اروپا و آفریقای شمالی‌اند. گونه‌های این جنس درختچه‌ای، برگ‌ریز یا همیشه‌سبز با گل‌های گوشت‌آلودند (Abdulrazaq and Mohammed, 2015). جنس *Daphne* در ایران چهار گونه دارد که پراکنش آنها در شمال، شمال‌غرب، غرب، مرکز و جنوب است (Akhiani, 1996). گونه *D. mucronata* Royle که درختچه‌ای سمی در مراتع شناخته می‌شود گونه‌ای با ارزش دارویی است. همچنین برخی گونه‌های *Daphne* دارای فعالیت ضدسرطانی و آثاری مانند درمان نقرس و ضدالتهاب‌اند (Hedayati et al., 2011). پژوهش‌ها نشان می‌دهند گونه‌های مختلفی از جنس *Daphne* مانند *D. genkwa* Siebold & Zucc. و *D. oleoides* Schreb. و *D. mezerum* L. دارای آثار ضد میکروبی و ضدقارچی درخورد توجهی‌اند (Javidnia et al., 2003).

ریخت‌شناسی مهم‌ترین معیار رده‌بندی در قرن‌های اخیر بوده است و رده‌بندی‌های اولیه بر اساس صفت‌های ریخت‌زایی انجام شده‌اند. صفت‌های کمی از شرایط اکولوژی و اقلیمی تأثیر می‌گیرند؛ اما ضمن هم‌پوشانی با صفت‌های کیفی در جداسازی گونه‌ها مؤثرند (Singh, 2004).

پژوهش Lindley (۱۸۳۰) در انگلستان نخستین پژوهشی است که از مطالعه‌های گرده برای طبقه‌بندی گیاهان استفاده کرده است. همچنین Erdtman

متعلق به این جنس از نواحی مختلف کشور جمع‌آوری و مطالعه شدند. به‌منظور بررسی ریخت‌شناسی، دست‌کم سه نمونه از هر جمعیت و سه تکرار برای هر فرد در نظر گرفته شد. مطالعه‌ها روی ۱۱ جمعیت از گونه‌های مختلف سرده *Daphne* انجام شدند. نمونه‌های مطالعه‌شده در هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه نگهداری می‌شوند (جدول ۱).

Daphne رویش‌یافته در ایران به کمک میکروسکوپ‌های نوری و الکترونی نگاره (SEM) بررسی شدند.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی ریخت‌شناسی، ریزریخت‌شناسی و گرده‌شناسی تاکسون‌های مختلف جنس *Daphne* در ایران، نمونه‌های مربوط به چهار گونه مختلف

جدول ۱- ویژگی‌های هرباریومی و محل جمع‌آوری جمعیت‌های مطالعه‌شده در بررسی دانه گرده، بذر و میوه

شماره هرباریومی	ارتفاع (متر)	رویشگاه	گونه گیاهی
۲۹۲۵	۲۱۰۰	چالوس، سیاه‌بیشه	<i>D. mezereum</i>
۸۹۰۴	۱۶۷۳	کرمانشاه، دالاهو (کرنده) به اسلام‌آباد غرب	<i>D. mucronata</i>
۸۴۰۸	۱۵۹۶	کردستان، کامیاران به سنندج، سهرای سرناز	<i>D. mucronata</i>
۸۴۰۶	۲۰۰۱	اراک، جاده اراک به بروجرد	<i>D. mucronata</i>
۸۴۰۵	۱۹۸۹	همدان، جاده همدان به ملایر	<i>D. mucronata</i>
۸۴۰۶	۱۹۰۹/۸	خرم‌آباد، جاده بروجرد، خرم‌آباد (گردنه رازان)	<i>D. mucronata</i>
۸۴۰۶	۱۹۰۹/۸	خرم‌آباد، جاده بروجرد، خرم‌آباد	<i>D. mucronata</i>
۲۹۸	۱۳۶۰	کردستان، کامیاران	<i>D. oleoides</i>
۱۰۶۰	۱۵۰۰	کرمانشاه، ۲۰ کیلومتری بیستون به سنقر	<i>D. oleoides</i>
۶۷۵	۱۸۸۰	کرمانشاه، ۴۳ کیلومتری جاده سنندج (روستای محمودآباد) کوه‌های پراو	<i>D. oleoides</i>
۹۱۰۸	۱۶۰۰	ساری، سنگ‌ده (تالار سربند)	<i>D. pontica</i>

رتبه‌بندی بین گونه‌ها برای تجزیه و تحلیل نهایی در نظر گرفته شد (جدول‌های ۲ و ۳).

صفت‌های ریخت‌شناسی مطالعه‌شده

به‌منظور انجام مطالعه ریخت‌شناسی، ۴۸ صفت کمی و کیفی (۲۲ صفت کمی و ۲۶ صفت کیفی) مربوط به اندام‌های رویشی و زایشی جمعیت‌های مختلف گونه‌های سرده *Daphne* بررسی شدند. دست‌کم سه نمونه برای مطالعه هر صفت اندازه‌گیری شد. به‌منظور رتبه‌بندی صفت‌ها ابتدا میانگین صفت‌های جمعیتی هر گونه تعیین شد و سپس

جدول ۲- صفت‌های کمی بررسی شده در سرده *Daphne*

صفت	۱	۲	۳
طول برگ	<۱۵	۱۵/۱-۳۹	۴۰<
عرض برگ	<۵	۵/۱-۱۰	۱۱<
دمبرگ	<۱	۱/۱<	
طول گل‌آذین	<۲۰	۲۱<	
طول دمگل	وجود ندارد	<۳/۹	۳/۹۱<
طول دمگل‌آذین	وجود ندارد	<۲۰	

۳	۲	۱	صفت	۳	۲	۱	صفت
	۰/۵۱ <	< ۰/۵	عرض بساک	۶ <	۳/۹۱-۶	< ۳/۹۰	تعداد گل در گل آذین
۷/۱ <	۵/۱-۷	< ۵	طول میله بالایی	۸ <	۷-۸	< ۶/۹۹	طول لوله گل
			پرچم	۳/۱ <	۲/۱-۳	< ۲	عرض لوله گل
۶/۱ <	۴/۱-۶	< ۴	طول میله پایینی	۱۳/۱ <	۱۱/۱-۱۳	< ۱۱	طول گل
			پرچم	۵ <	۴/۱-۵	< ۴	طول لوب
	۷/۴۱ <	< ۷/۴۰	طول میوه	۳/۱ <	۲/۱-۳	< ۲	عرض لوب
	۴/۶ <	< ۴/۵	عرض میوه		< ۲/۱	< ۲	طول تخمدان
۵/۹۹ <	۵/۶-۵/۹۸	< ۵/۵	طول دانه		< ۱/۶	< ۱/۵	عرض تخمدان
۳/۹۱ <	۳/۱-۳/۹۰	< ۳	عرض دانه		< ۱/۱	۱ <	طول بساک

جدول ۳- صفت‌های کیفی مطالعه شده در سرده *Daphne*

۴	۳	۲	۱	صفت
		قرمز قهوه‌ای	قهوه‌ای مایل به خاکستری	(۱) رنگ شاخه
	مستطیلی	واژتخم مرغی	مستطیلی بیضوی تا خطی	(۲) شکل برگ
	در برگ‌های جوان کرک‌دار	به شدت کرک‌دار	کرک ندارد	(۳) وضعیت کرک در برگ
		ندارد	دارد	(۴) منقاردار بودن
		نوک تیز و منقاردار	کند	(۵) نوک برگ
		علفی	چرمی	(۶) بافت برگ
		عدم تراکم انتهایی (محوری)	متراکم در انتهای شاخه (انتهایی)	(۷) برگ
		شاخه گل‌دار دارای برگ	شاخه گل‌دار بدون برگ	(۸) وضعیت گل بر شاخه
	کوزه‌ای	لوله‌ای	استکانی	(۹) شکل گل پوش
		گل‌ها بیشتر از یک جفت	گل‌ها یک جفت	(۱۰) گل
		گل‌ها بیشتر از یک جفت	گل‌ها یک جفت	(۱۱) گل آذین
	در قاعده کرک دارد	ندارد	دارد	(۱۲) کرک در گل پوش
	باریک نيزه‌ای دو لوب کوتاه‌تر	مثلثی	تخم مرغی	(۱۳) شکل لوب‌ها
		اصلاً کرک ندارد	در سطح خارجی کرک دارد	(۱۴) وضعیت کرک در لوب
سبز مایل به زرد	سفید مایل به ارغوانی	سفید - کرم مایل به سفید	سفید - سفید مایل به قهوه‌ای	(۱۵) رنگ گل
		دمگل بلند دارد	دمگل بسیار کوتاه	(۱۶) دمگل
		دارد	ندارد	(۱۷) دمگل آذین
		ندارد	دارد	(۱۸) وضعیت کرک در تخمدان
	ندارد	دارد	بسیار کوتاه	(۱۹) وجود خامه
	سبز کم‌رنگ	قرمز آجری	قرمز قهوه‌ای	(۲۰) رنگ کلاله

صفت	۱	۲	۳	۴
(۲۱) کلاله	زگیل‌دار	کرک‌دار		
(۲۲) شکل میوه	کروی	تخم‌مرغی		
(۲۳) رنگ میوه	قرمز قهوه‌ای	سیاه		
(۲۴) کرک‌داربودن میوه	دارد	ندارد		
(۲۵) شکل دانه	گلابی‌شکل	گرد		
(۲۶) رنگ دانه	سیاه	سفید مایل به کرم		

پژوهش حاضر، روش UPGMA برای نمایش روابط بین جمعیت‌ها و گونه‌های مطالعه‌شده استفاده شد و واحدهایی کنار هم قرار گرفتند که کم‌وبیش به هم شباهت داشتند.

نتایج

به‌منظور بررسی ریخت‌شناسی، ۲۲ صفت کمی و ۲۶ صفت کیفی از ویژگی‌های ریخت‌شناسی اندام‌های رویشی و زایشی با استفاده از بینوکولار مطالعه شدند.

در بین شش جمعیت *D. mucrunata* مطالعه‌شده، بیشترین طول و عرض برگ در جمعیت‌های همدان و لرستان و کمترین ابعاد برگ در جمعیت کردستان مشاهده می‌شود. برگ‌ها در جمعیت‌های کردستان و کرمانشاه بدون کرک هستند و در سایر جمعیت‌ها، کرک‌هایی به‌طور پراکنده در برگ‌های جوان مشاهده می‌شوند و رنگ برگ‌ها سبز روشن است. رنگ برگ‌ها در جمعیت کرمانشاه سبز متمایل به خاکستری است. بیشترین و کمترین طول گل به‌ترتیب در جمعیت‌های اراک و کرمانشاه و بیشترین و کمترین تعداد گل به‌ترتیب در جمعیت‌های لرستان و کرمانشاه مشاهده می‌شود. آرایش گل‌ها روی گل‌آذین در

به‌منظور آماده‌سازی دانه‌گرده برای مطالعه‌های گرده‌شناسی، چهار یا پنج عدد گل کامل از هر نمونه جدا شد و پس از شست‌وشو، دانه‌های گرده با سوزن تشریح از بساک خارج شدند. روش متداول استولیز برای مشاهده و بررسی مستقیم میکروسکوپی دانه‌گرده استفاده شد (Erdtman, 1986). عکس‌برداری از نمای قطبی و استوایی دانه‌گرده با بزرگ‌نمایی $\times 100$ میکروسکوپ نوری Herison مجهز به دوربین عکاسی Sony مدل HAD انجام شد.

به‌منظور عکس‌برداری با میکروسکوپ الکترونی ابتدا نمونه‌ها به روی پایه مخصوصی به نام استب (Stub) منتقل شدند و استب‌ها در دستگاه پوشش‌دهنده (Coater) با مشخصات (Au-pd) SC 7620 sputter coater محصول کشور انگلستان قرار داده شدند تا پوششی از طلا روی سطح آنها قرار گیرد. پس از آماده‌شدن نمونه‌ها، استب‌ها در میکروسکوپ الکترونی مدل FESEM/Mira3 LMU با قدرت تفکیک ۲۰۵ نانومتر و حداکثر ولتاژ ۳۵ کیلوالکترون‌ولت محصول کشور جمهوری چک قرار داده شدند و از نمونه‌های مناسب عکس‌برداری شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری، دندروگرام‌هایی بر اساس صفت‌های کمی و کیفی نمونه‌های جمعیتی با نرم‌افزار NTSYS نسخه 2.2e رسم شدند. در

و تشخیص گونه‌ها پیش از ظهور گل مؤثرند. در گونه‌های *D. oleoides*، *D. pontica* و *D. mezerum* برگ‌ها در انتهای شاخه متراکم هستند اما میزان تراکم در *D. oleoides* کمتر است. در دو گونه *D. oleoides* و *D. pontica* برگ‌ها واژتخم‌مرغی هستند اما در *D. oleoides* سطح برگ به شدت از کرک پوشیده است که صفت مناسبی برای شناسایی این گونه در زمان نبود گل است. شکل برگ در *D. mezerum* مستطیلی، در *D. mucronata* بیضی‌مستطیلی خطی و باریک است. برگ‌های *D. mezerum* علفی هستند و بافت برگ‌ها در سه گونه دیگر چرمی است. گل‌ها در کلید شناسایی این جنس اهمیت دارند؛ گل‌ها در *D. mezerum* سفید مایل به ارغوانی هستند و پیش از رویش برگ‌ها ظاهر می‌شوند. رنگ گل در *D. pontica* سبز مایل به زرد، در *D. mucronata* سفید مایل به قهوه‌ای و در *D. oleoides* کرم مایل به سفید است. تعداد گل روی گل‌آذین نیز اهمیت ویژه‌ای دارد؛ در *D. pontica* یک جفت گل روی دمگلی به طول ۳ تا ۸ میلی‌متر و دمگل‌آذینی به طول ۱۰ تا ۳۵ میلی‌متر قرار دارد و این صفت در فلور روسیه به‌عنوان کلید شناسایی استفاده شده است. سه گونه دیگر دمگل‌آذین ندارند و دمگل در *D. mucronata* و *D. Mezerum* بسیار کوتاه است و در *D. oleoides* وجود ندارد.

صفت شکل گلپوش و لوله گل تاحدی در جدایی گونه‌ها مؤثر است؛ شکل لوله گلپوش در *D. mucronata* استکانی، در *D. oleoides* کوزه‌ای و در دو گونه دیگر لوله‌ای ساده است. لوب گلپوش‌ها نیز صفتی است که در شناسایی و جدایی گونه‌ها در ایران تأکید شده است. لوب‌ها در *D. mucronata*

جمعیت‌های همدان و لرستان به شکل محوری و در جمعیت‌های کرمانشاه، کردستان و اراک به شکل انتهایی و کپه‌ای است. بیشترین و کمترین طول گل‌آذین به ترتیب به جمعیت لرستان و کرمانشاه تعلق دارد.

سه جمعیت از گونه *D. oleoides* subsp *kurdica* (تورنگ، توربید، برگ‌بویی) بررسی شدند. برگ‌ها واژتخم‌مرغی، متناوب و چرمی با حاشیه صاف و طول ۷ تا ۳۵ و عرض ۴ تا ۱۵ میلی‌متر هستند. بیشترین ابعاد برگ در جمعیت کرمانشاه (بیستون) مشاهده می‌شود و ابعاد برگ جمعیت‌های کرمانشاه (محمودآباد) و کردستان مشابه است. سطوح پشتی و شکمی برگ به شدت کرک‌دارند و نقاط سفیدی روی سطح برگ مشاهده می‌شوند. گل‌ها کرم مایل به سفید، ۲ تا ۶ عدد و بدون دمگل‌اند. کمترین بیشترین تعداد گل روی گل‌آذین به ترتیب در نمونه‌های کرمانشاه و کردستان مشاهده شد. بیشترین طول گل‌آذین در جمعیت کرمانشاه (بیستون) مشاهده می‌شود و جمعیت‌های کرمانشاه (محمودآباد) و کردستان از این نظر مشابه هستند. گلپوش لوله‌ای-کوزه‌ای و سطح خارجی پوشیده از کرک به طول ۱۰ تا ۱۲ میلی‌متر و عرض ۲ تا ۴ میلی‌متر در هر سه جمعیت مطالعه شده مشابه است. تخمدان پوشیده از کرک و به طول ۲ تا ۴ و عرض ۱ تا ۳ میلی‌متر است. بیشترین ابعاد تخمدان به جمعیت کرمانشاه (محمودآباد) تعلق دارد.

نتایج نشان می‌دهند برخی صفت‌های ریخت‌شناسی کیفی مانند شکل برگ‌ها، نوع بافت برگ، وجود داشتن یا نداشتن کرک‌ها در سطوح برگ و متراکم بودن برگ‌ها در انتهای شاخه‌ها در شناسایی

نر، پرچم‌ها در دو حلقه به تعداد ۸ عدد متشکل از میله و بساک هستند، بساک‌ها دوکفه‌ای هستند و شکستگی آنها طولی است و اندازهٔ بساک‌ها از ۲ تا ۲ میلی‌متر در گونه‌ها و جمعیت‌ها متفاوت است. این صفت‌ها در گونه‌های سردهٔ *Daphne* از نظر کیفی تقریباً مشابه هستند و از نظر کمی اندکی باهم تفاوت دارند و در تشخیص گونه‌ها چندان مناسب نیستند.

رنگ میوه در گونهٔ *D. pontica* سیاه تا آبی تیره و در سه گونهٔ دیگر قرمز روشن تا تیره است. سطح میوه در *D. mucronata* پوشیده از کرک‌های ابریشم‌نما و مخملی است، در *D. oleoides* با کرک‌های کوتاه و پراکنده پوشیده شده است و در دو گونهٔ دیگر کرک ندارد. شکل میوه در دو گونهٔ *D. mucronata* و *D. mezerum* کروی و در دو گونهٔ *D. mezerum* و *D. pontica* تخم‌مرغی است. دانه در گونهٔ *D. mezerum* کروی‌شکل و به رنگ سفید متمایل به کرم و در سه گونهٔ دیگر گلابی‌شکل و به رنگ سیاه براق است.

دندروگرام رسم‌شده بر اساس میانگین صفت‌های ریختی (شکل ۱) وجود دو خوشهٔ اصلی را نشان می‌دهد که در سطح تشابه ۲۵ درصد از هم جدا شده‌اند. خوشهٔ اصلی اول در سطوح تشابه مختلف به زیرخوشه‌های فرعی تقسیم می‌شود. دو خوشهٔ فرعی در خوشهٔ اصلی اول وجود دارند که در سطح ۲۷ درصد از هم جدا شده‌اند و جمعیت‌های سه گونه از سردهٔ *Daphne* را متمایز کرده‌اند. در این خوشهٔ فرعی، زیرخوشه‌ای در سطح تشابه ۴۹ درصد دو جمعیت *D. mucronata* را از *D. oleoides* جدا کرده است. در جمعیت‌های *D. mucronata* که در سطح تشابه ۷۵ درصد جدا شده‌اند نزدیک‌ترین

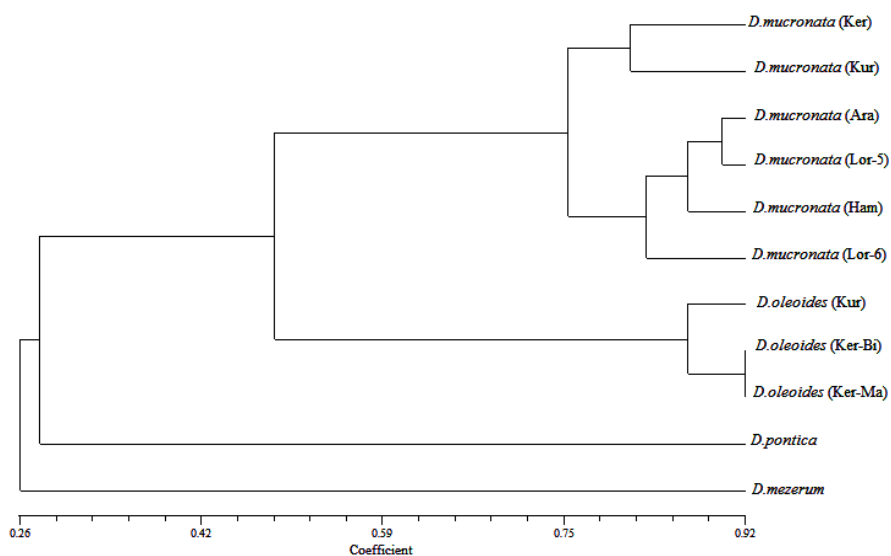
تخم‌مرغی و برگشته با نوک تیز، در گونهٔ *D. oleoides* مثلثی باریک و در *D. mezerum* تخم‌مرغی نوک‌کند است و در *D. pontica* به شکل نیزه‌ای باریک و نامساوی دیده می‌شود که دو لوب آن کوتاه‌تر از دو لوب دیگر است. دو گونهٔ *D. oleoides* و *D. mucronata* در سطح خارجی گلپوش پوشیده از کرک‌اند، در قاعدهٔ گلپوش *D. mezerum* کرک به شکل پراکنده وجود دارد و در *D. pontica* کرک وجود ندارد.

طول لولهٔ گل در گونهٔ *D. mucronata* (۵ تا ۱۰ میلی‌متر)، در گونهٔ *D. oleoides* (۸ تا ۱۲ میلی‌متر)، در گونهٔ *D. pontica* (۵ تا ۷ (۱۰) میلی‌متر) و در گونهٔ *D. mezerum* (۸ تا ۱۰ میلی‌متر) است. طول و عرض تخمدان در گونهٔ *D. mucronata* (۳-۶×۱/۵-۶) ۴ میلی‌متر)، گونهٔ *D. oleoides* (۳-۶×۱-۲ میلی‌متر) و در دو گونهٔ دیگر (۱-۲×۱-۱ میلی‌متر) است. طول و عرض گل، میوه، دانه و غیره در شرح جدایی گونه‌ها از هم تأثیرگذار است.

در مطالعهٔ اندام ماده در سردهٔ *Daphne*، سطح تخمدان در دو گونهٔ *D. oleoides* و *D. mucronata* پوشیده از کرک است و در دو گونهٔ دیگر کرک ندارد. کلاله در گونهٔ *D. pontica* کرک‌دار و در سه گونهٔ دیگر زگیل‌دار است و سطح آن در *D. mucronata* شیاردار است. با تهیهٔ برش طولی تخمدان در *D. mucronata* خامهٔ بسیار کوتاهی مشاهده می‌شود که پوشیده از کرک است؛ درحالی‌که خامه در گونهٔ *D. oleoides* کاملاً رأسی و انتهایی است. خامه در گونهٔ *D. pontica* باریک و به طول ۰/۵ میلی‌متر و بدون کرک است. صفت‌های یادشده در تشخیص گونه‌ها و جدایی آنها اهمیت دارند. در بررسی اندام

D. mucronata جدا می‌شوند. دو جمعیت کرمانشاه (بیستون و محمودآباد) به هم نزدیک و دارای تشابه ۹۲ درصد هستند و جمعیت کردستان در فاصله دورتری قرار می‌گیرد و دارای ۸۷ درصد تشابه با دو جمعیت دیگر است. گونه *D. pontica* در سطح ۲۷ درصد از دو گونه *D. mucronata* و *D. oleoedes* جدا می‌شود و در فاصله دورتری نسبت به دو گونه یادشده در یک خوشه قرار می‌گیرد. در خوشه اصلی دوم تنها گونه *D. mezerum* قرار دارد (شکل ۱). در دندروگرام ترسیم‌شده، دو گونه *D. oleoedes* و *D. mucronata* در یک خوشه و در کنار هم قرار می‌گیرند و گونه *D. pontica* با فاصله دورتری نسبت به دو گونه یادشده در یک خوشه قرار می‌گیرد. *D. mezerum* به شکل مجزا در یک خوشه قرار می‌گیرد. صفت‌هایی مانند تراکم برگ، نوع بافت و شکل برگ، وجود داشتن و نداشتن کرک در سطح برگ، شکل لوله گل و لوب‌ها، وجود داشتن یا نداشتن کرک بر سطح لوب‌ها و اجزای داخلی گل در جداسازی گونه‌ها مؤثر هستند (شکل ۱).

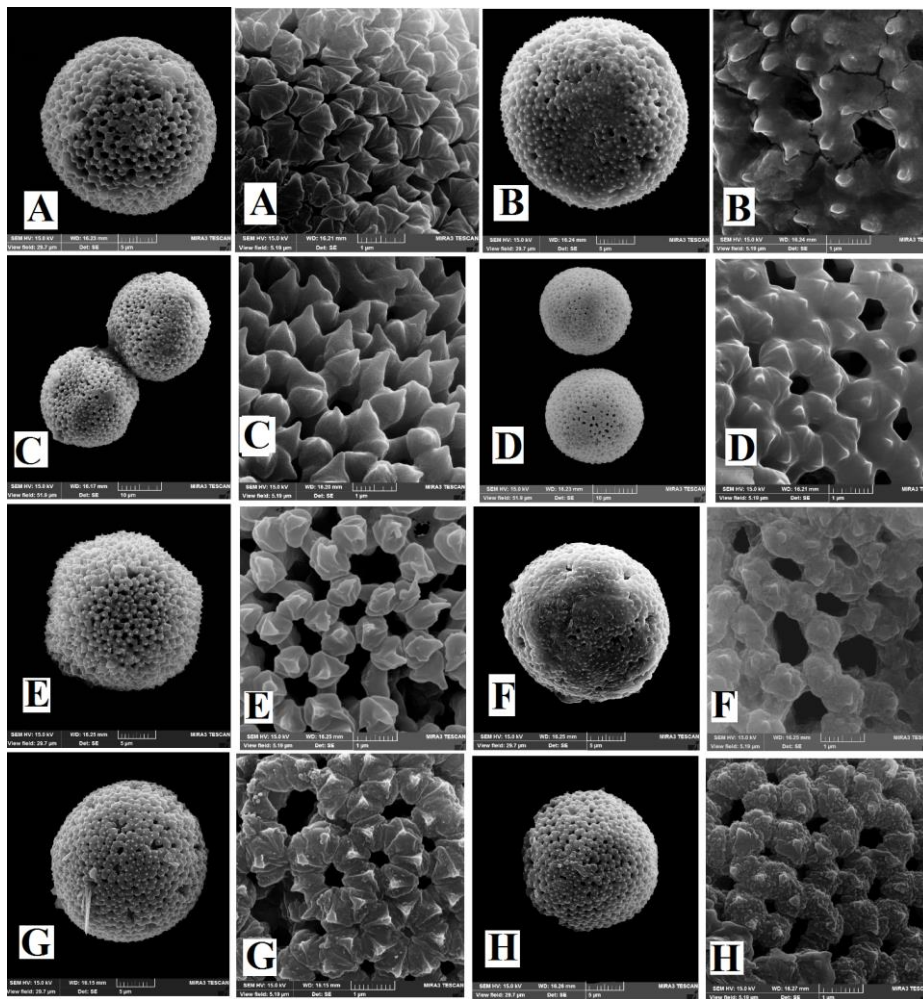
قربت در جمعیت‌های اراک و لرستان (۵) با تشابه ۹۱ درصد مشاهده می‌شود و جمعیت همدان در فاصله کمی دورتر از دو جمعیت اراک و لرستان (۵) با تشابه ۸۷ درصد به شکل خواهر قرار می‌گیرد. جمعیت لرستان (۶) با فاصله دورتر و ضریب تشابه ۸۳ درصد با سه جمعیت یادشده در یک زیرخوشه قرار می‌گیرد. دو جمعیت کرمانشاه و کردستان در سطح ۷۵ درصد از چهار جمعیت گونه *D. mucronata* جدا می‌شوند و این دو جمعیت با تشابه ۷۹ درصد باهم قربت دارند. جمعیت‌های *D. mucronata*، جمعیت‌های اراک، همدان و لرستان (۵ و ۶) بر اساس مطالعه‌های ریخت‌شناسی در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند و ۷۵ تا ۱۰۰ درصد تشابه دارند. جمعیت‌های کرمانشاه و کردستان در فاصله دورتری نسبت به سایر جمعیت‌ها قرار می‌گیرند و از آنها جدا می‌شوند. علت این جدایی موقعیت جغرافیایی و شرایط آب‌وهوایی متفاوتی است که این جمعیت‌ها نسبت به یکدیگر دارند. جمعیت‌های *D. oleoedes* در سطح ۴۸ درصد از گونه

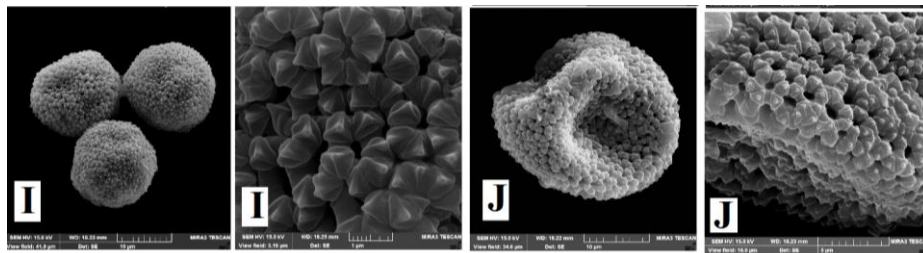


شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های ریخت‌شناسی سرده *Daphne* بر اساس ضریب تشابه جاکارد به روش UPGMA

وجود می‌آورند. هم‌جوشی و ترکیب supracteal در جمعیت‌های کردستان و لرستان مشاهده می‌شود. زیرواحدهای supracteal در جمعیت کرمانشاه به شکل سه‌وجهی و نوک‌تیز با muri مخفی هستند و الگوی crotonoid مشاهده می‌شود. در جمعیت‌های اراک و همدان نیز برخی زیرواحدهای supracteal تا حدودی درهم آمیخته می‌شوند و muri آشکارا دیده می‌شود. این هم‌جوشی و آمیختگی بین زیرواحدها در جمعیت لرستان وضعیتی شبیه دانه تسبیح به وجود می‌آورد؛ به‌طور کلی، *D. mucronata* دارای الگوی crotonoid و semicrotonoid است و شکل STP به‌طور زیرواحدهای سه‌وجهی است (شکل ۲).

در مطالعه گرده‌شناسی گونه *D. mucronata* مشاهده شد دانه گرده در این گونه تک‌شکل، چندمنفذی (Poly porate)، کروی و سه‌شپاری (Tricolpate) با روزن‌های متفاوت است. شکل Supracteal projection (STP) در گونه *D. mucronata* سه‌وجهی گنبدی شکل است. این زیرواحدها به تعداد ۵ تا ۷ عدد به شکل دایره‌ای در کنار هم قرار می‌گیرند و الگوی crotonoid را ایجاد می‌کنند. زیرواحدهای supracteal در برخی از جمعیت‌ها طی هم‌جوشی درهم آمیخته می‌شوند و خارهای آنها به شکل میله‌ای گنبدی شکل درمی‌آیند و تغییرات ایجادشده الگوی semicrotonoid را به





شکل ۲- تصاویر دانه‌گرده جمعیت‌های مطالعه‌شده با میکروسکوپ الکترونی SEM؛ A. *D. mucronata* (کرمانشاه)، B. *D. mucronata* (کردستان)، C. *D. mucronata* (اراک)، D. *D. mucronata* (همدان)، E. *D. mucronata* (لرستان)، F. *D. mucronata* (لرستان)، G. *D. oleoids* (کردستان)، H. *D. oleoids* (کرمانشاه، بیستون)، I. *D. oleoids* (کرمانشاه، محمودآباد)، J. *D. pontica* (ساری، سنگده) از نمای قطبی - نمای استوایی.

طول محور قطبی در جمعیت‌های مطالعه‌شده
D. mucronata ۱۸ تا ۲۵ میکرومتر است. کمترین و
 بیشترین میانگین طول محور قطبی به ترتیب در
 جمعیت‌های لرستان (۶) و اراک دیده می‌شود. طول
 محور استوایی در جمعیت‌های مطالعه‌شده ۱۷ تا ۲۵
 میکرومتر است (جدول ۴).

جدول ۴- میانگین داده‌های حاصل از بررسی صفت‌های دانه‌گرده

تاکسون	صفت‌ها شکل گرده	میانگین طول محور قطبی (P)	میانگین طول محور استوایی (E)	E/P	میانگین ضخامت اگزین	اندازه‌روزی مشبک پایه	وجود دیواره مشبک پایه	شکل STP	الگوی STP	شکل برآمدگی
<i>D. mucronata</i> A	کروی	۲۰/۶	۱۸/۹۴	۱/۸	۰/۹۹	۰/۹۰-۰/۱۰ × ۰/۳۸-۰/۰۵	مخفی	سه‌وجهی - گنبدی	crotonoid	خاردار نوک تیز
<i>D. mucronata</i> B	کروی	۲۹/۵۹	۲۴/۲۲	۰/۹۳	۱/۱	۰/۷۱-۰/۰۱ × ۰/۹۸-۰/۰۳	مخفی	میله‌ای - گنبدی	semi cronoid	خاردار نوک کند
<i>D. mucronata</i> C	کروی	۲۴/۱	۲۲/۹۸	۱/۰۴	۱/۵۶	۰/۶۹-۰/۰۱ × ۰/۸۱-۰/۰۱	آشکار	سه‌وجهی - گنبدی	semi cronoid	خاردار نوک کند
<i>D. mucronata</i> D	کروی	۲۰/۵۲	۱۹/۸۸	۱/۰۳	۱/۳۹	۱/۰۸-۰/۰۲ × ۰/۸۹-۰/۰۱	آشکار	سه‌وجهی - گنبدی	crotonoid	خاردار نوک کند
<i>D. mucronata</i> E	کروی	۲۰/۲۳	۱۹/۳۷	۱/۰۴	۱/۳۵	۰/۵۱-۰/۰۱ × ۱-۰/۰۵	آشکار	سه‌وجهی - گنبدی	semi cronoid	زگیل‌دار - کند - دانه‌تسبیحی
<i>D. mucronata</i> F	کروی	۱۹/۱۷	۱۹/۲۲	۰/۹۹	۱/۵۱	۰/۸۶-۰/۰۱ × ۰/۷۰-۰/۰۱	مخفی	میله‌ای - گنبدی	semi cronoid	خاردار - تیز - زگیل‌دار
<i>D. oleoids</i> A	کروی	۲۰/۵۸	۲۰/۰۸	۱/۰۵	۱/۲۴	۰/۷۶-۰/۰۱ × ۰/۶۳-۰/۰۱	مخفی	سه‌وجهی - گنبدی	crotonoid	خاردار نوک تیز
<i>D. oleoids</i> B	کروی	۱۹/۵۷	۱۸/۵۵	۱/۰۵	۱/۲۲	۰/۶۹-۰/۰۱ × ۰/۵۴-۰/۰۱	مخفی	سه‌وجهی - گنبدی	crotonoid	خاردار نوک تیز
<i>D. oleoids</i> C	کروی	۲۰/۰۹	۲۰/۰۹	۱	۱/۱۴	۰/۶۴ × ۰/۵۳	مخفی	سه‌وجهی - گنبدی	crotonoid	خاردار نوک تیز
<i>D. pontica</i>	بیضی	۲۳/۵۵	۳۰/۶۴	۰/۷۶	۱/۴۱	۰/۶۲-۰/۰۱ × ۰/۵۸-۰/۰۱	آشکار	سه‌وجهی - گنبدی	crotonoid	خاردار نوک کند

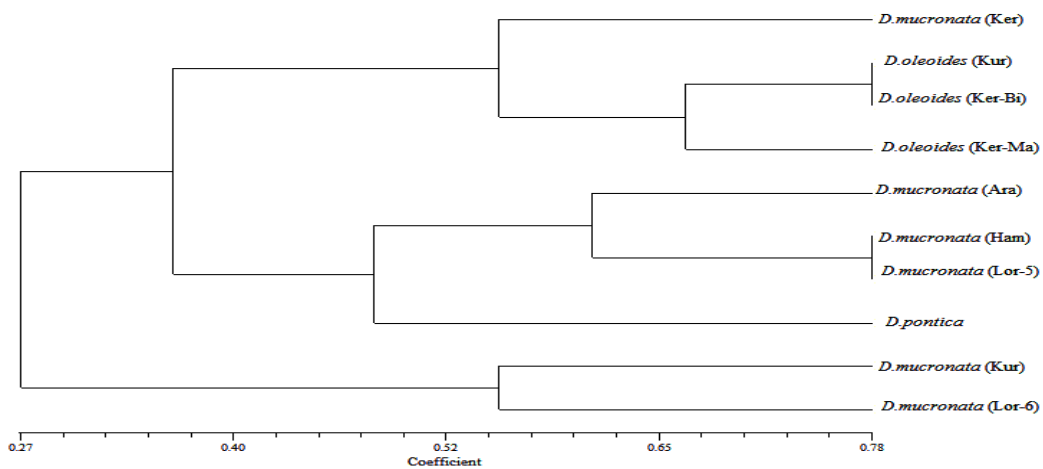
مشاهده می‌شود؛ این سطح در جمعیت‌های دیگر صاف است (جدول ۴).

دانه گرده در گونه *D. pontica* در نمای قطبی کروی و در نمای استوایی بیضی‌شکل است (شکل ۲). طول محور قطبی ۲۰ تا ۲۳/۶۷ میکرومتر با میانگین ۲۳/۵۵ میکرومتر و طول محور استوایی ۲۸/۸۳ تا ۳۲/۵۲ میکرومتر با میانگین ۳۰/۶۴ میکرومتر است. نسبت P/E برابر با ۰/۷۶ است. ضخامت آگزین ۱/۱۲ تا ۱/۵۸ میکرومتر با میانگین ۱/۴۱ میکرومتر است. الگوی crotonoid مشاهده می‌شود و ممکن است زیرواحدهای supratectal روی *muri* به‌طور کلی یا جزئی هم‌جوشی و آمیختگی ایجاد کنند. در نمونه‌هایی که *muri* آشکار است ضخامت دیواره ۰/۷ تا ۱ میکرومتر است (جدول ۴).

پس از مقایسه صفات مختلف، تجزیه و تحلیل خوشه‌ای UPGMA با استفاده از صفات دانه گرده انجام شد (شکل ۳).

نسبت P/E در جمعیت‌های مطالعه‌شده *D. mucronata* ۰/۹۹ تا ۱/۰۸ است. ضخامت آگزین در این جمعیت‌ها ۰/۹۳ تا ۱/۸۳ میکرومتر است. دیواره مشبک (*muri*) در برخی از جمعیت‌ها آشکار و در برخی دیگر مخفی است و صفت مناسبی برای جداسازی جمعیت‌ها و گونه‌ها است؛ ضخامت *muri* در این گونه ۰/۴ تا ۰/۷ میکرومتر است.

در گونه *D. oleoides* سه جمعیت هرباریومی مطالعه شدند. شکل دانه گرده از نمای قطبی و استوایی کروی‌شکل است. طول محور قطبی در جمعیت‌های مطالعه‌شده ۱۶/۱۱ تا ۲۱/۸۵ و طول محور استوایی ۱۵/۲۳ تا ۲۰/۹۶ میکرومتر است. نسبت P/E حدود ۱ تا ۱/۰۵ است. ضخامت آگزین در جمعیت‌های مطالعه‌شده ۱/۰۴ تا ۱/۶۱ میکرومتر است. الگوی crotonoid در این گونه مشاهده می‌شود و *muri* بیشتر مخفی است. در جمعیت کرمانشاه (بیستون) زیرواحدهای supratectal سه‌وجهی باهم آمیخته می‌شوند و حالت دانه‌تسبیحی را ایجاد می‌کنند و سطح زیرواحدها به‌شکل ناصاف و زگیل‌دار

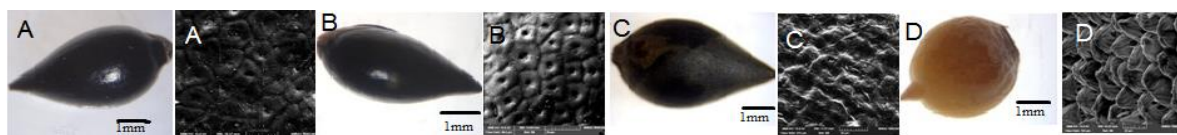


شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های صفات دانه گرده بر اساس ضریب تشابه جاکارد به روش UPGMA

مرکز سلول مشاهده می‌شود. بذر گونه *D. oleoides* به رنگ سیاه براق، گلابی‌شکل و نوک کند و به طول ۴/۳۳ و عرض ۲/۱۶ میلی‌متر مشاهده می‌شود. سطح بذر صاف با تزیینات خانه‌خانه و سلولی است و سلول‌های چندوجهی تا مربعی‌شکل با دیواره‌ای فرورفته و نازک احاطه شده‌اند و یک فرورفتگی در مرکز سلول‌ها مشاهده می‌شود. بذر گونه *D. pontica* گلابی‌شکل، به رنگ سیاه براق و نوک کند است. طول بذر ۶/۱۶ و عرض آن ۳/۳۵ میلی‌متر است. تزیینات سطح بذر ناصاف و مشبک موج‌دار، فرورفته و لانه‌دار هستند. سطح بذر گونه *D. mezerum* ناصاف و همراه با زائده‌های برآمده است. نوک برآمدگی‌ها کند است و سطح برآمدگی‌ها با شیارهایی تزیین شده است. این برآمدگی‌ها متراکم در کنارهم و بدون فاصله قرار گرفته‌اند (شکل ۴ و جدول ۵).

در این دندروگرام دو خوشه اصلی ایجاد می‌شود که هریک به خوشه‌های فرعی و زیرخوشه‌ها تقسیم می‌شود. خوشه اصلی اول شامل دو خوشه فرعی است که جمعیت‌های گونه *D. oleoides* در کنار جمعیت کرمانشاه گونه *D. mucronata* قرار می‌گیرند و در خوشه فرعی دوم سه جمعیت اراک، همدان و لرستان (۵) در یک زیرخوشه و گونه *D. pontica* در زیرخوشه مجزایی در کنار این سه جمعیت قرار می‌گیرد. خوشه اصلی دوم شامل دو جمعیت کردستان و لرستان (۶) است (شکل ۳).

بذرهای گونه *D. mucronata* به رنگ سیاه براق، گلابی‌شکل و نوک کند و به طول ۵/۰۲ و عرض ۲/۹۵ میلی‌متر دیده می‌شوند. سطح بذر صاف با تزیینات خانه‌خانه و سلولی است. سلول‌های سطح بذر به شکل چندوجهی تا مربعی هستند و با دیواره فرورفته نازکی احاطه شده‌اند و یک فرورفتگی در



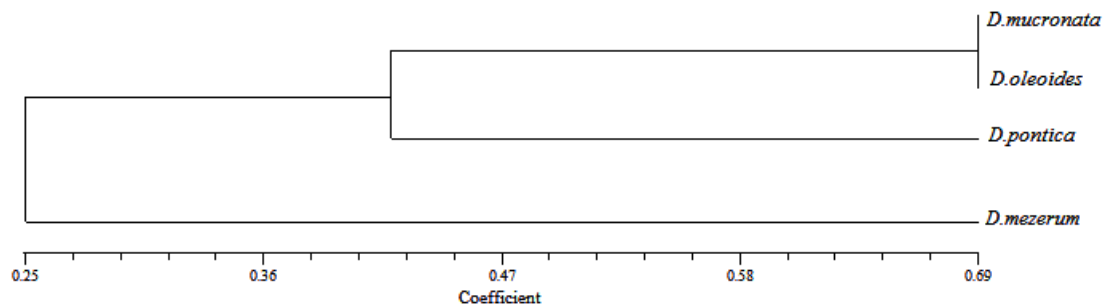
شکل ۴- تصاویر بذر و سطح بذر گونه‌های مطالعه‌شده به ترتیب با میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ الکترونی SEM: A *D. mucronata* B *D. pontica* C *D. oleoides* D *D. mezerum*

جدول ۵- میانگین داده‌های حاصل از بررسی صفت‌های بذر با میکروسکوپ الکترونی نگاره در سرده *Daphne*

<i>D. mezerum</i>	<i>D. pontica</i>	<i>D. Oleoides</i>	<i>D. mucronata</i>	
کروی	گلابی‌شکل	گلابی‌شکل	گلابی‌شکل	شکل کلی بذر
سفید متمایل به کرم	سیاه براق	سیاه براق	سیاه براق	رنگ بذر
برآمده	موج‌دار	چند وجهی	چندوجهی	شکل سلول‌های سطح برگ
دارد	ندارد	ندارد	ندارد	وجود داشتن یا نداشتن منقار
۳/۰۴	۶/۱۶	۴/۳۳	۵/۰۲	طول بذر (mm)
۲/۴۶	۳/۳۵	۲/۱۶	۲/۹۵	عرض بذر (mm)
برآمده، نوک کند، شیاردار	مشبک موج‌دار	صاف با آرایش سلول‌های چندوجهی	صاف با آرایش سلول‌های چندوجهی	سطح بذر

است که دو گونه *D. mucronata* و *D. oleoides* در یک زیرخوشه قرار می‌گیرند و *D. pontica* در کنار آنها قرار می‌گیرد و در خوشه اصلی دوم گونه *D. mezerum* قرار می‌گیرد.

پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، مطالعه و مقایسه صفات‌های مختلف بذر و تجزیه و تحلیل خوشه‌ای UPGMA با استفاده از صفات‌های دانه گرده انجام شد (شکل ۵). در این دندروگرام دو خوشه اصلی ایجاد شد. خوشه اصلی اول شامل دو خوشه فرعی



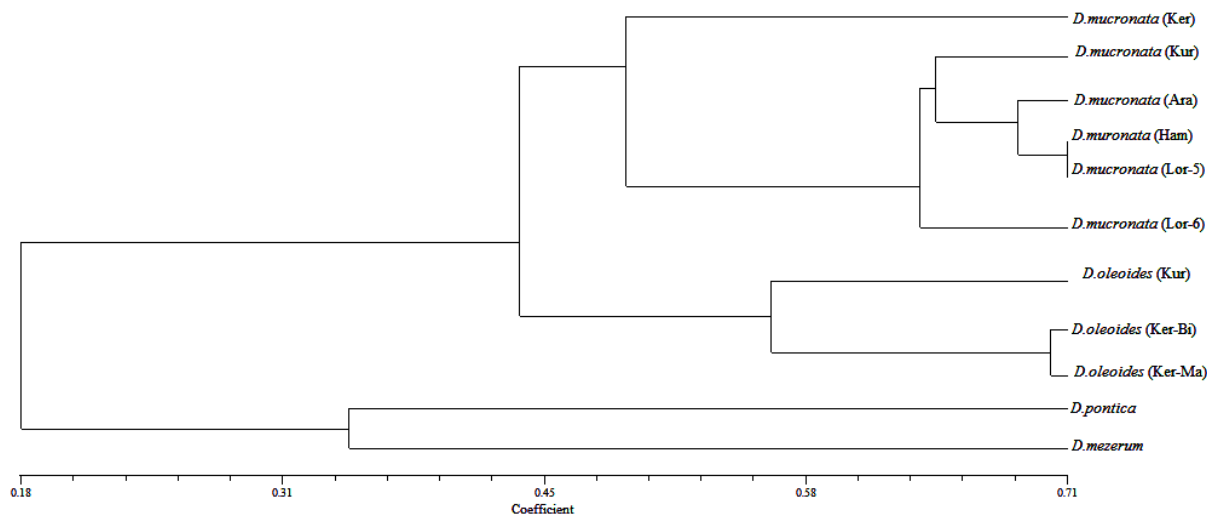
شکل ۵- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های ریزریخت‌شناسی بذر *Daphne* بر اساس ضریب تشابه جاکارد به روش UPGMA

جمعیت‌های همدان و لرستان بیشترین تشابه را دارند و جمعیت اراک با فاصله کمی از آنها قرار می‌گیرد، جمعیت کردستان با فاصله دورتر (تشابه ۶۵ درصد) و جمعیت لرستان (۶) در فاصله بسیار دورتری در کنار آنها قرار می‌گیرد و این جمعیت‌ها باهم یک زیرخوشه جدا را ایجاد می‌کنند. جمعیت کرمانشاه با فاصله دورتری نسبت به سایر جمعیت‌ها قرار می‌گیرد و صفات‌های ریخت‌شناسی، گرده و آناتومی این جمعیت‌های *D. oleoides* را نشان می‌دهد که دو جمعیت کرمانشاه دارای تشابه نزدیک‌تری (۷۱ درصد) هستند و جمعیت کردستان با فاصله دورتری نسبت به این دو جمعیت به شکل گروه خواهری قرار می‌گیرد و دارای تشابه ۵۷ درصد است. در خوشه اصلی دوم دو گونه *D. pontica* و *D. mezerum* با سطح تشابه ۳۴ درصد از هم جدا می‌شوند. نمودار ترسیم‌شده نشان می‌دهد دو گونه

به منظور مشخص کردن جایگاه جمعیت‌های شناسایی شده و تعیین میزان قرابت تاکسون‌های مطالعه‌شده، تمام صفات‌ها از جمله صفات‌های ریخت‌شناسی، گرده‌شناسی، بذر و میوه تجزیه و تحلیل شدند (شکل ۶). جمعیت‌ها و گونه‌ها بر اساس شباهت‌ها از یکدیگر جدا شدند. نمودار ترسیم‌شده بر اساس میانگین صفات‌های تمام داده‌ها دو خوشه اصلی را در سطح ۱۸ درصد نشان می‌دهد که خوشه اصلی اول دو خوشه فرعی دارد و هر خوشه فرعی به تعدادی زیرخوشه منتهی می‌شود. نمودار ترسیم‌شده بر اساس میانگین صفات‌ها گونه‌ها و جمعیت‌های هر گونه را در خوشه‌های مجزایی از یکدیگر جدا می‌کند. در خوشه اصلی اول، جمعیت‌های گونه *D. mucronata* از جمعیت‌های گونه *D. oleoides* در سطح تشابه ۴۴ درصد جدا می‌شوند. در خوشه فرعی اول، جمعیت‌های گونه *D. mucronata* در کنار هم قرار می‌گیرند و

D. mezerum در سطح تشابه ۳۴ درصد به یکدیگر نزدیکتر هستند (شکل ۶).

D. oleoides و *D. mucronata* قرابت بیشتری دارند (شبهات ۴۵ درصد) و دو گونه *D. pontica* و



شکل ۶- دندروگرام حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های کل صفت‌ها به روش UPGMA

D. oleoides و *D. mucronata* قرابت بیشتری باهم دارند و گونه *D. pontica* به شکل گروه خواهری و گونه *D. mezerum* در تمام درخت‌های ترسیم شده به طور جدا قرار می‌گیرند (شکل ۶).

بحث

نتایج به دست آمده از صفت‌های ریخت‌شناسی برگ، گل، میوه، ساقه و دانه با مطالعه‌های اخپانی (۱۳۷۴)، مظفریان (۱۳۹۳) و Rechinger (۱۹۷۲) مطابقت دارند. نتایج به دست آمده از صفت‌های ریخت‌شناسی برگ، گل، میوه، ساقه و دانه با مطالعه‌های Akhiani (۱۹۹۶) و Halda (۱۹۹۸) مطابقت دارند. همچنین این یافته‌ها با نتایج مطالعه ریخت‌شناسی Abdulrazaq و Mohammed (۲۰۱۵) روی گونه *D. mucronata* در کردستان عراق مطابقت دارند.

در دندروگرام ترسیم شده حاصل از صفت‌های گروه (شکل ۳) *D. pontica* در کنار جمعیت‌های اراک، همدان و لرستان (۵) به شکل گروه خواهری قرار می‌گیرد و جمعیت‌های گونه *D. oleoides* در کنار جمعیت کرمانشاه گونه *D. mucronata* قرار می‌گیرند؛ این نتیجه با نتایج درخت حاصل از صفت‌های بذر (شکل ۵) و دندروگرام حاصل از صفت‌های ریخت‌شناسی (شکل ۶) مشابه است و سه گونه *D. mucronata*، *D. oleoides* و *D. pontica* در کنار هم قرار می‌گیرند که قرابت بیشتر آنها را نشان می‌دهد و گونه *D. mezerum* جدا از گونه‌های دیگر قرار می‌گیرد. در دندروگرام حاصل از داده‌های کل صفت‌ها (شکل ۶) دو گونه *D. mucronata* و *D. oleoides* در یک خوشه اصلی و دو گونه *D. mezerum* و *D. pontica* در خوشه دیگر قرار می‌گیرند. نتایج نشان می‌دهند دو گونه

Cape از بررسی گونه‌های چهار جنس *Thymelaeaceae* به دست آورده‌اند. سطح *supratectal* در گونه *D. oleoides* ناصاف و زگیل‌دار و در دو گونه دیگر صاف است. در مطالعه‌هایی که Herber (۲۰۰۲) روی دانه گرده خانواده *Thymelaeaceae* انجام داده است، چهار تیپ دانه گرده در این تیره معرفی شده است که گونه‌های بررسی‌شده در این مطالعه در تیپ چهارم قرار می‌گیرند؛ به طوری که ریخت‌شناسی آنها با تیپ دانه گرده گونه‌های مطالعه‌شده در پژوهش حاضر مطابقت دارد. تاکسون‌های مطالعه‌شده در صفت‌های ریزریخت‌شناسی گرده تفاوت نشان می‌دهند؛ به طوری که دندروگرام حاصل از میانگین داده‌های صفت‌های دانه گرده نشان می‌دهد *D. pontica* در کنار جمعیت‌های همدان، اراک و لرستان (۵) از گونه *D. mucronata* قرار می‌گیرد و جمعیت‌های *D. oleoides* در کنار جمعیت کرمانشاه *D. mucronata* قرار می‌گیرند و دو جمعیت کردستان و لرستان (۶) از *D. mucronata* به علت تفاوت در شکل و الگوی STP به شکل خوشه جداگانه‌ای قرار می‌گیرند. این نشان می‌دهد تنوع ریخت‌شناسی در ویژگی‌های دانه گرده به متمایز شدن تاکسون‌های مطالعه‌شده منجر می‌شود. این نتایج با نتایج پژوهش Abdulrazaq و Mohammed (۲۰۱۵) روی گونه *D. mucronata* در کردستان عراق مطابقت دارند.

در مبحث بذر، صفت‌هایی نظیر شکل، رنگ، طول و عرض بذرها، تزئینات سطح بذر، وجود داشتن و نداشتن منقار در گونه‌های مطالعه‌شده بررسی شدند. Heneidak و Khalik (۲۰۱۵) در مطالعه‌های خود نشان دادند صفت‌های مربوط به پوشش بذر در سطح

تنوع ریخت‌شناسی مشاهده‌شده در صفت‌های دانه گرده اجازه می‌دهد تاکسون‌های مطالعه‌شده از هم متمایز شوند. صفت شکل گرده در گونه‌های *D. oleoides* و *D. mucronata* کروی‌شکل و در گونه *D. pontica* در نمای استوایی بیضی‌شکل است. کوچک‌ترین قطر دانه گرده به گونه *D. oleoides* و بزرگ‌ترین دانه گرده به گونه *D. pontica* تعلق دارد و تفاوت شکل و اندازه دانه گرده در جدایی گونه‌ها مؤثر است. ساختار آگزین تاکسون‌های مطالعه‌شده در پژوهش حاضر تقریباً مشابه یکدیگر است؛ به طوری که از شبکه ثانویه‌ای حاصل شده که از هم‌جوشی کامل یا جزئی عناصر *supratectal* سه‌وجهی تشکیل شده است. این ساختار آگزین به شکل‌های گنبدی‌شکل یا دایره‌ای است و به طور منظم در کنار هم مرتب شده‌اند که به ایجاد آرایش با الگوی *crotonoid* یا *semicrotonoid* منجر شده است. درحقیقت، این آرایش سطح دانه گرده یکی از ویژگی‌های تیره‌های *Thymelaeaceae* و *Euphorbiaceae* است. نتایج یادشده با مشاهده‌های Rogers و Garg (۲۰۱۱) در گونه‌های هندوستانی *D. papyracea*، *D. bholua* var. *glacialis* و *D. bholua* var. *bholua* مطابقت دارد. اگرچه گونه‌ها را نمی‌توان فقط با ریخت‌شناسی دانه گرده طبقه‌بندی کرد، در مواردی که ساختار گل و گل‌آذین مشابهی وجود دارد به تعیین حدود گونه‌ها کمک می‌کند. صفت تزئینات سطح نیز از صفت‌های مناسب برای جدایی گونه‌ها است که در گونه‌های مختلف جنس *Daphne* به شکل صاف، ناصاف و زگیل‌دار مشاهده می‌شود؛ این نتیجه با نتایجی مطابقت دارد که Marais و Beyers (۱۹۹۸) در ناحیه فلورستیکی

مطالعه ریزریخت‌شناسی بذر تأیید کرده‌اند که این صفت‌ها در جداسازی گونه‌ها مؤثر هستند.

جمع‌بندی

در پژوهش حاضر، ویژگی‌های ریخت‌شناسی اندام‌های رویشی و زایشی و ویژگی‌های ریزریخت‌شناسی پوشش بذر و دانه‌گرده ۱۱ جمعیت مختلف از گونه‌های *D. pontica*، *D. mezerum* و *D. oleoides* با هدف یافتن صفت‌های مفید برای تفکیک گونه‌های یادشده مطالعه شدند. به‌طورکلی، در بررسی ریخت‌شناسی تاکسون‌های متعلق به جنس *Daphne* در ایران، صفت‌هایی از جمله تراکم برگ، نوع بافت و شکل برگ، وجودداشتن یا نداشتن کرک بر سطح برگ، شکل لوله گل و لوب‌ها، وجودداشتن یا نداشتن کرک بر سطح لوب‌ها و اجزای داخلی گل در جداسازی گونه‌ها مؤثر هستند. نتایج مطالعه ریزریخت‌شناسی دانه‌گرده در گونه‌های مطالعه‌شده نشان دادند صفت‌هایی مانند شکل، اندازه، آشکاری *muri*، تعداد و ترتیب زیرواحدها و ساختار STP در جدایی و تمایز گونه‌ها مفید هستند. در مطالعه ریزریخت‌شناسی بذر نیز صفت‌هایی مانند شکل و اندازه بذر، طول و عرض بذر و تزئینات سطح بذر و ... عوامل مؤثری در جدایی و تشخیص گونه‌ها هستند.

گونه و طایفه برای رده‌بندی خانواده Cucurbitaceae دارای ارزش تاکسونومیکی هستند. در صفت وجودداشتن یا نداشتن منقار در بذرها، *D. mezerum* دارای منقار نوک تیز است و در سه گونه دیگر نوک بذرها کند و بدون منقار است. تزئینات سطح بذر در گونه‌های مطالعه‌شده به‌شکل صاف، موج‌دار و برآمده و در جداسازی و شناسایی گونه‌ها مؤثر است. در گونه‌های *D. mucronat* و *D. oleoides* سطح بذر به‌شکل صاف، خانه‌خانه با تزئینات سلولی است، در گونه *D. pontica* سطح بذر ناصاف، موج‌دار، مشبک و تا حدودی لانه‌دار مشاهده می‌شود و سطح بذر گونه *D. mezerum* برآمده است. نتایج مطالعه‌های ریزریخت‌شناسی گونه‌های مطالعه‌شده بیان‌کننده اطلاعاتی هستند که در تشخیص گونه‌ها مؤثر هستند و صفت‌های ریزریخت‌شناسی بذر همراه با دیگر صفت‌های ریزریخت‌شناسی گیاه تا حد زیادی در شناسایی گونه‌ها مؤثر هستند. نتایج تجزیه و تحلیل خوشه‌ای بذر نشان می‌دهند در دندروگرام ترسیم‌شده بر اساس صفت‌های بذر دو گونه *D. mucronata* و *D. oleoides* به هم نزدیک‌تر هستند و *D. pontica* به‌شکل خواهر و *D. mezerum* در خوشه جداگانه‌ای قرار می‌گیرند که قرابت سه گونه *D. pontica*، *D. oleoides* و *D. mucronata* را نشان می‌دهد. شکل سلول‌ها، اندازه آنها و تزئینات سطح بذر مهم‌ترین صفت‌های جداسازی بین گونه‌ها هستند و در تشخیص و تعیین حدود گونه‌ها از یکدیگر تأثیرگذار هستند. Bednorz و همکاران (۲۰۱۱) در

منابع

- Abdulrazaq, R. T. and Mohammed, S. M. S. (2015) Morphological and palynological systematic study of genus *Daphne* L. (Thymelaeaceae) in Kurdistan-Iraq. *Advances in Bioresearch* 6(5): 83-88.
- Akhiani, Kh. (1996) Flora of Iran. Vol. 15. Research Institute of Forests and Rangelands Press, Tehran (in Persian).
- Bayer, C., Fay, M. F., De Bruijn, A. Y., Savolainen, V., Morton, C. M., Kubitzki, K., Alverson, W. S. and Chase, M. W. (1999) Support for an expanded family concept of Malvaceae within a recircumscribed order Malvales: a combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* DNA sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 129(4): 267-303.
- Bednorz, L., Krzywińska, A. and Czarna, A. (2011) Seed morphology and testa sculptures of some *Allium* species Alliaceae. *Acta Agrobotanica* 64(2): 33-38.
- Beyers, J. B. P. and Marais, E. M. (1998) Palynological studies of the Thymelaeaceae of the cape flora. *Grana* 37(4): 193-202.
- Coskuncelebi, K., Kandemir, A. and Beyazoglu, O. (2000) Scanning electron new species from Iran. *Feddes Repertorium* 120: 7-8.
- Erdtman, G. (1986) Pollen Morphology and Plant Taxonomy: Angiosperms; an Introduction to palynology. Brill press, Netherlands.
- Garg, A. and Rogers, Z. S. (2011) A Palynological Investigation of *Daphne papyracea* and *Daphne bholuua* (Thymelaeaceae) in India. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas* 5(2): 635-641.
- Ghanati, F. (2005) Pollen biology, Qom Armous press, Qom (In Persian).
- Halda, J. J. (1998) Some taxonomic problems in the genus *Daphne* L. *Acta Musei Richnoviensis, Section Nature* 5(1): 133-160.
- Heneidak, S. and Khalik, K. A. (2015) Seed coat diversity in some tribes of Cucurbitaceae: Implications for taxonomy and species identification. *Acta Botanica Brasilica* 29(1): 129-142.
- Herber, E. B. (2002) Pollen morphology of the Thymelaeaceae in relation to its taxonomy. *Plant Systematics and Evolution* 232(1): 107-121.
- Hedayati, M., Yazdanparast, R., Zarif Yeganeh, M., Hoghooghi Rad, L. and Azizi, F. (2011) A new diterpen extracted from *Daphne mucronata*, effects on human K 562 and CCRF-CEM cell lines. *Journal of Cancer Therapy* 2(1): 71-75.
- Javidnia, K., Miri, R., Bahri Najafi, R. and Khadem Zadeh Jahromi, N. (2003) A preliminary study on the biological activity of *Daphne Mucronata* Royle. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 11(1): 1-28.
- Lindley, J. (1830) The genera and species of orchidaceous plants. Ridgways Press, London.
- Ozcan, T. (2002) SEM observations on petals and fruits of some Turkish endemic *Bupleurum* L. (Umbelliferae) species. *Botanical Journal of the Linnean Society* 138: 441-449.
- Rechinger, K. H. (1972) Correction to Thymelaeacea. In: Flora Iranica (Ed. Podlech, D.) vol. 158. Akademische Druck-U Verlagsanstalt Press, Graz.
- Singh, G. (2004) Plant systematics: An integrated approach. Science Publishers, Enfield.

