



بررسی مورفولوژی بذر در برخی گونه‌های ثعلب خاکزی ایرانی

مژگان فتاحی^۱، باور وفايي^{۲*}، فرزاد نظری^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه کردستان، سنندج

۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه کردستان، سنندج

*نویسنده مسئول: y.vafae@gmail.com

چکیده

خانواده ثعلبیان بزرگ‌ترین خانواده گیاهان گلدار می‌باشد. در بین ثعلب‌ها، گونه‌های خاکزی دارای غده‌های گوشتی زیرزمینی می‌باشند که برای تهیه بستنی‌های سنتی و نیز تهیه نوشیدنی‌های ویژه مورد استفاده قرار می‌گیرد. ثعلب‌ها دارای بذرهای بسیار ریز می‌باشند که با چشم غیر مسلح قابل مشاهده نیست. خصوصیات مورفولوژیکی بذر ثعلب‌ها ویژگی‌های بسیار مهمی می‌باشد که در رده‌بندی و شناسایی جایگاه گیاهشناسی جنس‌ها و گونه‌های ثعلب نقش مهمی ایفا می‌کند. در مطالعه حاضر خصوصیات ریخت‌شناسی ۵ گونه ثعلب خاکزی شامل *Dactylorhiza umbrosa*، *Orchis coriophora* و *Orchis simia*، *Orchis mascula*، *Himantoglossum affine* توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. بزرگ‌ترین بذرها (۲، ۲۳۳ میکرومتر) مربوط به گونه *D. umbrosa* بود در حالی که کوچکترین بذرها را دارا بود. گونه‌های ثعلب از نظر صفات مورد بررسی (طول بذر، عرض بذر، نسبت طول به عرض بذر، رنگ پوشش بذر، طول حفره‌های بذر، نسبت طول بذر به طول حفره، تعداد کل حفره‌های بذر، تعداد حفره محور عمودی و شکل بذر) تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای نشان دادند و دندروگرام حاصل به خوبی گونه‌ها را از هم تفکیک نمود. نتایج نشان داد که صفات مربوط به بذر می‌تواند به عنوان معیاری مناسب در رده‌بندی ثعلب مورد استفاده قرار گیرد. در مجموع دو گونه *O. simia* و *O. mascula* با فاصله ژنتیکی کمی در کنار هم قرار گرفتند در حالی که ۳ گونه دیگر در یک زیرکلاستر قرار گرفتند.

کلمات کلیدی: ثعلب‌های خاکزی، میکروسکوپ الکترونی روبشی، ریخت‌شناسی

مقدمه

خانواده ثعلبیان، یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های گیاهان گلدار با بیش از ۸۸۰ جنس و حدود ۲۶۰۰۰ گونه می‌باشد، که بسیاری از آنها به صورت وحشی در سراسر جهان رشد می‌کنند. تقریباً هر ساله ۸۰۰ گونه شناسایی شده و به فهرست این خانواده اضافه می‌شوند. تحقیقات در این زمینه ادامه داشته و تعداد گونه‌های این خانواده به ۳۰۰۰۰ مورد رسیده است (Dressler, 1982). در آسیای صغیر، غده‌های خشک شده با نام ثعلب شناخته می‌شوند. ثعلب از کلمه عربی Sahalb به معنی غده‌های خشک شده این گونه‌های خاکزی گرفته شده اس که پودر شده و از آن نوعی شربت گرانیقیمت به دست می‌آید. ثعلب در تولید بستنی، شیرینی‌جات و نوشیدنی‌ها استفاده می‌شود (Ece Tamer et al., 2006). گونه‌های ثعلب در ایران شامل ۴۶ گونه و زیرگونه می‌باشند که ۳۰ گونه و زیرگونه قابلیت تولید غده زیرزمینی را دارا می‌باشند. از بین این ۳۰ گونه حدود ۱۶ گونه برای برداشت غده مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرند (Ghorbani et al., 2017). بذر در ثعلب‌ها ریز، فاقد آندوسپرم و دارای جنین نابالغ هستند که به تعداد بسیار زیادی در کپسول‌ها تولید می‌شوند و جوانه‌زنی آنها در طبیعت بسیار دشوار، آهسته، طولانی و وابسته به قارچ‌های همزیست است. چرخه زندگی ثعلب‌ها در شرایط طبیعی بسیار طولانی است و حدود پنج تا ده سال طول می‌کشد تا رشد کنند، گل دهند و بذر تولید کنند. این نرخ تکثیر پایین، نیاز به راهکاری کارآمد برای حفاظت از ارکیده‌ها را ضروری می‌کند (Rasmussen et al., 2015). بذر و پوشش آن در بین گونه‌های خانواده ثعلبیان از نظر اندازه، شکل، رنگ و نسبت بین ابعاد متفاوت می‌باشد. در این ارتباط، میکروسکوپ

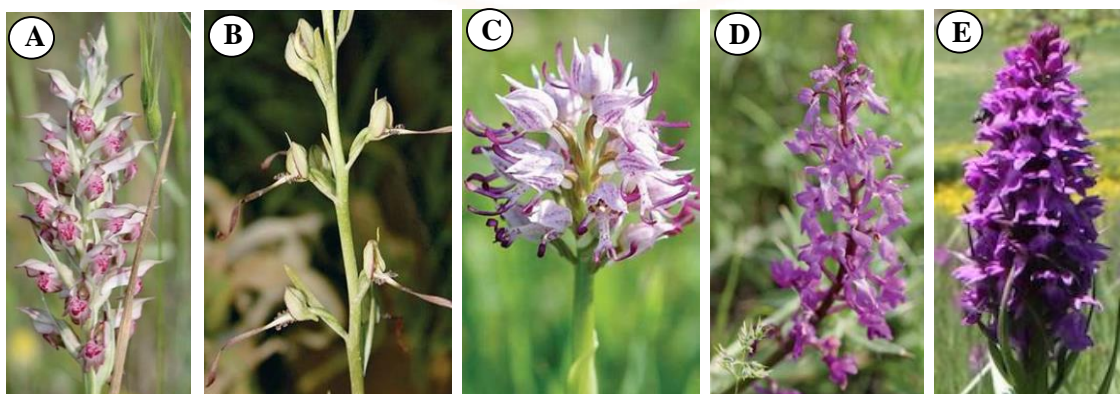
الکترونی روبشی برای بررسی شکل بذر در بسیاری از گونه‌های ثعلب مورد استفاده قرار گرفته است (Şeker and Şenel, 2017). مطالعه حاضر جهت بررسی خصوصیات ریخت شناسی بذر پنج گونه ثعلب خاکزی رویش یافته در ایران انجام گرفت.

جدول ۱- نام گونه‌ها، محل جمع‌آوری و موقعیت جغرافیایی نمونه‌های مورد بررسی

نام گونه	محل جمع‌آوری	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا
<i>Dactylorhiza umbrosa</i>	سندج، کردستان	۳۵°۱۵'۳۵.۰"	۴۶°۳۷'۴۸.۵"	۱۳۱۰
<i>Himantoglossum affine</i>	جوانرود، کرمانشاه	۳۴°۵۳'۱۷.۶"	۴۶°۲۶'۳۸.۹"	۱۳۳۰
<i>Orchis mascula</i>	پاوه، کرمانشاه	۳۴°۵۳'۱۲.۸"	۴۶°۲۵'۵۷.۶"	۱۵۷۹
<i>Orchis simia</i>	جوانرود، کرمانشاه	۳۴°۵۴'۷.۸"	۴۶°۲۶'۵۱.۹"	۱۶۲۵
<i>Orchis coriophora</i>	سالیان، کردستان	۳۵°۱۵'۱۹.۶"	۴۶°۳۸'۲۶.۶"	۱۳۳۰

مواد و روش‌ها

پنج گونه ثعلب خاکزی از مناطق مختلف غرب کشور جمع‌آوری شد (جدول ۱). در شکل ۱ ساختار ظاهری گل و اندام‌های زایشی گونه‌های مورد نظر آورده شده است. نمونه‌های جمع‌آوری شده از لحاظ گیاهشناسی توسط حسین معروفی (مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی کردستان) و کارل کرویتز (مرکز تنوع زیستی، دانشگاه لیدن، هلند) تایید شد و نمونه‌های هرباریومی در هرباریوم دانشگاه کردستان با کدهای ویژه نگهداری شدند. برای بذرگیری، کپسول‌های خشک به آزمایشگاه منتقل شده و بذور بالغ از کپسول‌های شکوفا جدا شده و بعد از ۲۰ روز خشک شدن در دمای اتاق به میکروتیوب جهت بررسی با میکروسکوپ روبشی منتقل شدند. رنگ بذر بر اساس تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ نوری به دست آمد. برای تهیه تصاویر میکروسکوپ الکترونی، ابتدا بذرها توسط ذرات طلا با قطر ۱۰ میکرون پوشش دار شد سپس تصاویر توسط میکروسکوپ الکترونی FESEM Mira 3 (Tescan، جمهوری چک) در ولتاژ ۳۰ کیلو وات تهیه شد. صفات مورد مطالعه شامل طول بذر، عرض بذر، نسبت طول به عرض، رنگ پوشش بذر، طول حفره‌های بذر، نسبت طول بذر به طول حفره‌های بذر، تعداد کل حفره‌های بذر، تعداد حفره‌ها در محور عمودی بذر و شکل بودند. تجزیه به مولفه‌های اصلی و رسم دندروگرام خوشه‌بندی توسط نرم‌افزار PAST (Hammer et al., 2001) و براساس روش Ward و فاصله اقلیدسی صورت گرفت.



شکل ۱. ساختار ظاهری گل و اندام‌های زایشی گونه‌های ثعلب خاکزی مورد مطالعه. A: *Orchis coriophora* B: *Himantoglossum affine* C: *Orchis simia* D: *Dactylorhiza umbrosa* E: *Orchis mascula*

نتایج و بحث

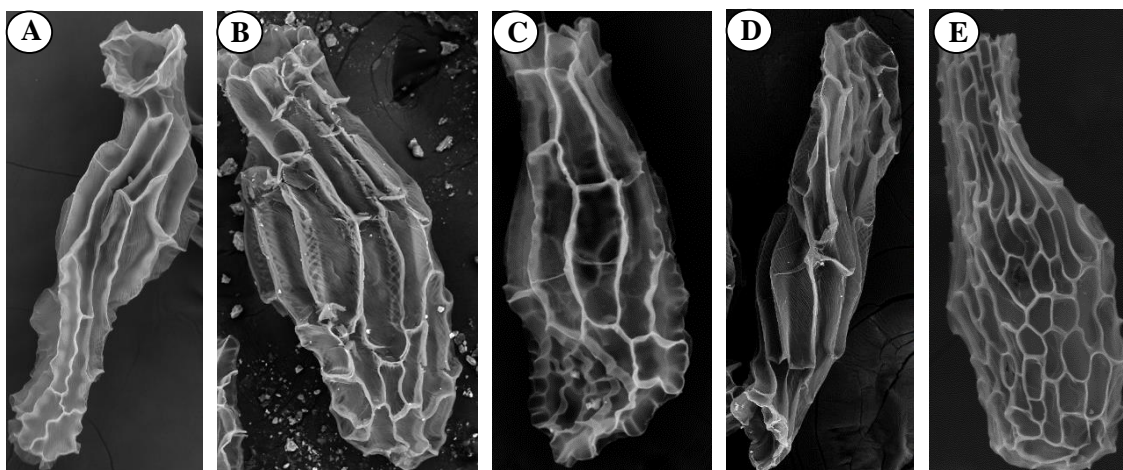
براساس نتایج بزرگ‌ترین بذرها مربوط به گونه *D. umbrosa* بود و کوچک‌ترین بذر نیز مربوط به گونه *O. simia* بود. *O. coriophora* دارای بذرهایی به نسبت باریک و کشیده بود (شکل ۲). همچنین گونه‌های *O. simia* و *O. mascula* به ترتیب روشن‌ترین و تیره‌ترین بذر را دارا بودند. بیشترین تعداد حفره موجود در پوسته بذر به ترتیب مربوط به گونه‌های *D. umbrosa* و *H. affine* بود.

جدول ۲- خصوصیات ریخت‌شناسی بذر در گونه‌های ثعلب خاکزی

<i>O. coriophora</i>	<i>O. simia</i>	<i>O. mascula</i>	<i>H. affine</i>	<i>D. umbrosa</i>	صفت مورد مطالعه*
۱۹۵/۶	۱۴۷/۶	۱۸۳/۹	۲۲۳/۱	۲۳۳/۲	طول بذر (Seed Length: SeLe)
۵۶۵/۵	۳۸۰/۲	۳۴۸/۵	۵۱۵/۲	۵۹۹/۴	عرض بذر (Seed Width: SeWi)
۲/۸۹	۲/۵۷	۱/۸۹	۲/۳۰	۲/۵۷	نسبت طول به عرض بذر (Seed Length/Seed Width: SeLe/Wi)
قهوه‌ای تیره	قهوه‌ای خیلی تیره	قهوه‌ای روشن	قهوه‌ای	قهوه‌ای	رنگ پوشش بذر (Seed Color: SeCo)
۷،۱۲۵	۷۶/۶	۷۶/۶	۱۶۶/۴	۸۰/۱	طول حفره‌های بذر (Seed Cell Length: SeCeLe)
۴/۴۹	۴/۹۶	۴/۵۴	۳/۰۹	۷/۴۸	نسبت طول بذر به طول حفره (Seed Length/Seed Cell Length: Se/CeLe)
۳۷/۲	۴۷/۲	۵۸/۲	۷۴/۴	۱۳۷/۴	تعداد کل حفره‌های بذر (Total Seed Cell: ToSeCe)
۵/۶	۶/۶	۶	۶/۴	۷/۶	تعداد حفره محور عمودی (Longitudinal Seed Cells)
چوگانی	دوکی شکل	چوگانی	تخم‌مرغی	قمقمه‌ای	شکل بذر (Seed Shape)

* برای صفات کمی میانگین ۵ بذر مورد استفاده قرار گرفت و برای صفات کیفی از کدهی استفاده شد.

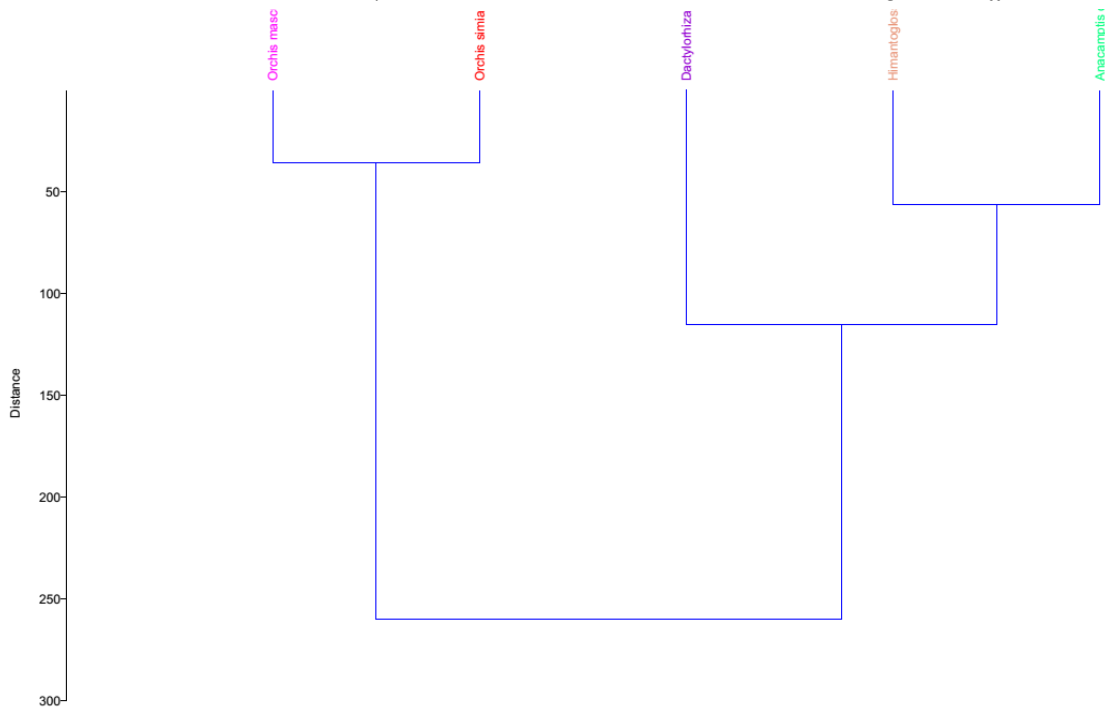
گونه‌های ثعلب مطالعه تفاوت قابل ملاحظه‌ای از نظر صفات ارزیابی شده نشان دادند و نتایج حاصل از بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی بذر با یافته‌های قبلی بروی این گونه‌ها در سایر مناطق دنیا مطابقت داشت (Gamarra et al., 2012; Akçin et al., 2009; Şeker and Şenel, 2017). نتایج حاصل از بررسی فیلوژنی با استفاده از صفات بذر نشان داد که گونه‌ها به خوبی از هم تفکیک شدند. یافته‌های تحقیق حاضر در رابطه با گروه‌بندی گونه‌های ثعلب خاکزی با مطالعات قبلی که با استفاده از ویژگی‌های بذر و حتی نشانگرهای مولکولی صورت گرفته بود (Ghorbani et al., 2017; Haidar et al., 2012; Ortúñez et al., 2006) نیز مطابقت داشت طوری که گونه‌هایی همانند *O. simia* و *O. mascula* با فاصله ژنتیکی کمی کنار هم قرار گرفتند.





شکل ۲- خصوصیات ریخت‌شناسی بذر در گونه‌های ثعلب خاکزی مورد مطالعه. A: *Orchis coriophora*, B:

Orchis mascula, C: *Himantoglossum affine*, D: *Orchis simia*, E: *Dactylorhiza umbrosa*



شکل ۳- دندروگرام حاصل از خوشه‌بندی گونه‌های ثعلب ایرانی بر اساس صفات مربوط به بذر

منابع

- Akçin, T.A., Ozdener, Y. and Akçin, A. 2009. Taxonomic value of seed characters in orchids from Turkey. *Belgian Journal of Botany*, 142, 124-139.
- Dressler, R.L. 1982. *The orchids: Natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Ece Tamer, C., Karaman, B. and Utku Copur, O. 2006. A Traditional Turkish Beverage: Salep. *Food Reviews International*, 22, 43-50.
- Gamarra, R., Ortúñez, E., Cela, P.G. and Guadaño, V. 2012. *Anacamptis* versus *Orchis* (Orchidaceae): seed micromorphology and its taxonomic significance. *Plant systematics and evolution*, 298, 597-607.
- Ghorbani, A., Gravendeel, B., Selliah, S., Zarre, S. and de Boer, H. 2017. DNA barcoding of tuberous Orchidoideae: a resource for identification of orchids used in Salep. *Molecular Ecology Resources*, 17: 342-352.
- Haidar, N., Neblsui, I. and Kamary, Y. 2012. Phylogeny of Orchidaceae species in northwest Syria based on ISSRs. *Journal of Plant Biology Research*, 1, 36-50.
- Hammer, O., Harper, D.A.T. and Ryan, P.D., 2001. Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4, 1-9.
- Ortúñez, E., Dorda, E., Galán, P. and Gamarra, R., 2006. Seed micromorphology in the iberian Orchidaceae. I. Subfamily Cypripedioideae. *Boccone*, 19, 271-274.
- Rasmussen, H.N., Dixon, K.W., Jersakova, J. and Tesitelova, T. 2015. Germination and seedling establishment in orchids: a complex of requirements. *Annals of Botany*, 116, 391-402.
- Şeker, Ş.S. and Şenel, G. 2017. Comparative seed micromorphology and morphometry of some orchid species (Orchidaceae) belong to the related *Anacamptis*, *Orchis* and *Neotinea* genera. *Biologia*, 72.



Seed morphology analysis of some endemic terrestrial orchid species of Iran

Mojgan Fatahi¹, Yavar Vafae^{2*}, Farzad Nazari²

1. Msc student, Department of Horticultural Sciences and Engineering, University of Kurdistan, Sanandaj

2. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, University of Kurdistan, Sanandaj

*Corresponding Author: y.vafae@uok.ac.ir

Abstract

Orchidaceae is the largest flowering plant family. Among orchids, terrestrial species produce fleshy underground tubers, which are used to prepare ice cream and special beverages. Orchids have very tiny seed that are not visible to naked eye. Morphometric properties of orchid seed are important traits that are used to clarify phylogeny and systematic of species. In the present study, morphometric traits of 5 terrestrial species, including *Dactylorhiza umbrosa*, *Himantoglossum affine*, *Orchis mascula*, *Orchis simia* and *Orchis coriophora* were analyzed using scanning electron microscope (SEM). Based on results, *D. umbrosa* had the biggest seeds while the smallest seed were observed in *O. simia*. The studied terrestrial orchid species showed profound differences regarding evaluated seed characters and the species well clustered in the resulted dendrogram. Our finding proved that characters related to seeds could be used as suitable criteria to study systematic and phylogeny of species within Orchidaceae family.

Keywords: Morphometry, Scanning Electron Microscope (SEM), Terrestrial orchids

