

## مطالعه ریخت‌شناسی و گرده‌شناسی در گونه‌های بخشه *Batrachium* از سرده آلاله (تیره آلاله‌ایان) در ایران

رقیه اکبری<sup>۱</sup>، منیژه پاکروان<sup>۱\*</sup> و علیرضا نقی‌نژاد<sup>۲</sup>

دریافت ۱۳۹۵/۲/۷ / پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۴ / چاپ: ۱۳۹۶/۳/۳۱

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

\*مسئول مکاتبات: pakravan@alzahra.ac.ir

**چکیده.** گونه‌های بخشه *Batrachium* در ایران با استفاده از خصوصیات ریخت‌شناسی و ریز ریخت‌شناسی بررسی شده‌اند. بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگ‌ها، گلبرگ و میوه همراه با خصوصیات دانه‌های گرده در چهار گونه از این سرده شامل *R. rionii* Lager & Blanche و *R. trichophyllus* Chaix ex. Vill. و *R. peltatus* Schrank است. دانه‌های گرده با استفاده از SEM و LEM تحت بررسی قرار گرفتند. هفت خصوصیت ریخت‌شناسی با استفاده از روش‌های آماری و نرم‌افزار SPSS مورد تحلیل قرار گرفته‌اند. دانه‌های گرده در گونه‌های تحت بررسی دارای گرده‌های سه-شیاری بوده و شکل آن بین گونه‌های مختلف، متفاوت بود. آرایش و تزئین اگزین (لایه بیرونی گرده) به صورت خارهای ریز بوده و این امر بین چهار گونه مشترک است. نتایج بررسی‌های آماری مستقل بودن *R. sphaerospermus* را مورد تأیید قرار داد و شباهت آن با *R. peltatus* را نیز مشخص کرد. همچنین تنوع درون‌گونه‌ای *R. trichophyllus* در نتایج آماری تأیید شده است.

**واژه‌های کلیدی.** دانه‌های گرده، پولک نکتاری، فندقه، ریزریخت‌شناسی، SPSS

## Morphological and palynological studies in *Ranunculus* (L.) sect. *Batrachium* (DC.) Gray in Iran

Roghayeh Akbary<sup>1</sup>, Maneezheh Pakravan<sup>1\*</sup> & Alireza Naqinezhad<sup>2</sup>

Received 26.04.2016/ Accepted 24.12.2016/ Published 21.06.2017

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Biological Science, Alzahra University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

\*Correspondent author: pakravan@alzahra.ac.ir

**Abstract.** In this study the morphological and micromorphological characters of *Ranunculus* Sect. *Batrachium* species in Iran have been investigated. The characters describe leaf, petal and fruit, in addition to pollen grains in four species of the genus including, *R. sphaerospermus* Boiss. & Blanche, *R. trichophyllus* Chaix ex. Vill., *R. rionii* Lager and *R. peltatus* Schrank Pollen grains were tricolpate and had species-specific shapes. The sculpture of the exine was echinate in all of the species studied. Seven morphological characters have been studied using statistical methods and SPSS software has been used in order to group the species. These analyses indicated that *R. sphaerospermus* was a valid species and very similar to *R. peltatus*. Also, intraspecific diversity in *R. trichophyllus* was confirmed by statistical methods.

**Keywords.** pollen, nectar scale, achene, micromorphology, SPSS

### مقدمه

Cook (1963) انجام گرفته بود. پس از آن نیز چندین بررسی مربوط

به رده‌بندی، شمارش کروموزوم، بیوشیمی و غیره در رابطه با این زیر

سرده صورت گرفته است (Webster, 1991; Gluchoff-

Fassion *et al.*, 1997; Tamura, 1991; Benson, 1948;

Jensen & Kadereit, 1995; Dahlgren, 1992; Dahlgren

(& Svensson, 1994; Anderson *et al.*, 2005

طبق بررسی‌های فیلوژنتیکی در گونه‌های آلاله (Emadzade *et*

*al.*, 2010)، گونه‌های بخشه *Batrachium* یک کلاد مشخص با

*Batrachium* (DC.) Gray توسط de Candolle (1817) به-

منزله بخشه‌ای از سرده آلاله توصیف شده است. Gray (1821) آن

را به سطح سرده ارتقاء داد. Cook (1963) آن را به‌منزله زیرسرده-

ای از آلاله در نظر گرفت. وی این زیرسرده را بازبینی و تجدید نظر

کرده و تکامل و تحول این گروه را مورد بحث قرار داده است.

تحقیقات ژنتیکی و آزمایشات اندکی در این گروه قبل از تحقیقات

های مختلف در ایران و یافتن اطلاعات جدید براساس صفات جدید بوده است.

## مواد و روش‌ها

نمونه‌های سرده *Ranunculus* موجود در هرباریوم‌های TARI، TUH و ALUH تحت بررسی قرار گرفته‌اند همچنین، نمونه‌هایی از بخش‌های شمالی کشور جمع‌آوری شد (جدول ۲). دانه‌های گرده از نمونه‌های هرباریومی جداسازی و در تثبیت‌کننده کارنوی برای بررسی میکروسکوپی الکترون (SEM) و نوری (LM) نگهداری شدند. برای سنجش‌های LM به‌طور متوسط ۲۰-۳۰ گرده بررسی شدند. دانه‌های گرده با استفاده از میکروسکوپ نوری (LM) Olympus DP 12 و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) Ceol 840 تحت بررسی قرار گرفتند. در این بررسی‌ها صفاتی مانند طول قطبی و استوایی، طول شیار، سطح اگزین تحت بررسی قرار گرفتند. برای توصیف سطح دانه گرده از اصطلاحات Clarke و همکاران (1991) استفاده شده است.

## تحلیل آماری

در بررسی‌های ریخت‌شناسی، یک تجزیه و تحلیل فنتیک براساس ویژگی‌های کمی و کیفی (شش ویژگی کمی و یک ویژگی کیفی) انجام شد (جدول ۱). برای این کار از نرم‌افزار SPSS ver16 برای محاسبه میانگین از فاصله اقلیدسی استفاده شد تا یک فنوگرام به روش ward حاصل شود که به واسطه رده بندی به صورت عددی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تحلیل آماری چند متغیره، ویژگی‌ها به صورت نماهای دوتایی و یا چندنمایی رمزگذاری یا کدگذاری شده‌اند (جدول ۱). تجزیه و تحلیل آماری اولیه مربوط به ویژگی‌های کمی و کیفی و پس از آن تحلیل‌های آماری چند متغیره و تجزیه به عامل‌ها انجام گرفت.

## نتایج

### مشاهدات مربوط به گرده‌شناسی

دانه‌های گرده در بخش *Batrachium* از سرده آلاله، سه‌شیاری، تک قطبی (منفرد) و گرد هستند. شکل گرده در *R. peltatus* به صورت spheroidal-oblate در دو قطب و در *R. rionii* و *R.*

بوت استرپ بالا در مرکز کلاد *Ranunculus* تشکیل می‌دهند. بنابراین، آنها به عنوان بخش‌های از سرده آلاله پذیرفته شده‌اند. این بخش شامل گروهی از گیاهان آبی با گلبرگ‌های سفید، بدون لایه نشاسته‌ای و منفذ نوشجای تحلیل یافته، میوه فندقه با حاشیه و اغلب ناجور برگ هستند که به خاطر درجه بالایی از پلاستی سیتی و پلی-پلوئیدی بودن رده بندی آنها کار دشواری است. این بخش در ایران چهار گونه دارد *R. rionii* Lager, *R. sphaerospermus* R. *trichophyllus* Chaix ex. Vill., Boiss. & Blanche و *R. peltatus* Schrank (Naqinezhad et al., 2016).

نوع نوشجای در بین دو بخش *Batrachium* و بخش *Ranunculus* متفاوت است. در اولی نوشجای نزدیک قاعده گلبرگ رشد یافته و مستقیماً در تمام طول به گلبرگ متصل است در حالی که در زیر سرده دوم نوشجای قطعه کوچکی است که فقط به قاعده گلبرگ اتصال دارد (Dahlgren 1992). Cook (1963) در مطالعه بر روی زیرسرده *Batrachium* مطالعه‌ای مروری از دیدگاه سیستماتیکی بر روی تیپ‌های نوشجای انجام داد و سه تیپ نوشجای را معرفی کرد: حلقوی (circular)، گلابی شکل و لونیت. او معتقد است که تیپ‌های مختلف نوشجای صفت تاکسونومیک می‌فیدی در تشخیص گونه‌های زیرسرده *Batrachium* است. Dalgren (1992) شش تیپ پولک نکتاری را برای بخش‌های *Batrachium* و *Ranunculus* تعریف کرد. دانه‌های گرده در تیره آلاله‌ایان بسیار متنوع بوده و انواع مختلفی از دانه‌های گرده در این تیره مشاهده شده‌اند. تحقیقات متعددی روی ویژگی‌های دانه گرده در این تیره انجام شده است (Rastipisheh et al., 2010; Kumazawa, 1937; Andersen, 1961; Erdtman, 1952-61; Tomaszewski, 1967; Santisuk, 1979; Petrov et al., 1980-81; Clarke et al., 1991) و براساس نوع، شکل و تعداد شیارها سه تیپ دانه گرده شرح داده شد: دانه‌های گرده سه‌شیاری گرده پنج‌شیاری و پنج منفذی نیز دیده شده است.

در این بررسی، ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی گونه‌های بخش *Batrachium* تحت بررسی قرار گرفته است و هدف از این تحقیق بررسی انواع ویژگی‌های ذکر شده در رویشگاه-

## جدول ۱- ویژگی‌های بررسی شده در مطالعات ریخت‌شناسی.

Table 1. Morphological characters studied.

شماره	نام اختصاری	حالت کدگذاری	صفت
۱	l.sh	۱-بریده‌بریده/۲-بریده و پنجه‌ایی	Leaf shape شکل برگ
۲	st.sh	۱-تخم‌مرغی و به سمت بالا کروی/۲-مستطیلی و به سمت بالا تخم‌مرغی/۳-شکل گوشوارک مستطیلی کشیده و به سمت بالا مثلثی/۴-مثلثی	Stipule shape شکل گوشوارک
۳	fr.sh	۱-کشیده/۲-کروی	Fruit shape شکل میوه
۴	a.le	۱- $a.le=1$ / ۲- $a.le < 1/5$ / ۳- $a.le < 2$ / ۴- $a.le < 3$	Achene length طول فندقه
۵	s.a	۱-خط‌دار/۲-موج‌دار	Surface of achene سطح فندقه
۶	n.sh	۱-هلالی/۲-گلابی شکل/۳-فنجانی	Nectar shape شکل نктار
۷	r.sh	۱-کشیده/۲-کروی	Receptacle shape شکل نهج

## جدول ۲-فهرست نمونه‌های بررسی شده در مطالعات ریخت‌شناسی و گرده‌شناسی.

Table 2. Specimens examined in morphological and palynological studies.

ردیف	گونه	هرباریوم	شماره هرباریومی	محل جمع آوری و جمع آوری کننده
۱	<i>R. rionii</i>	ALUH	۱۱۰۵۱	مازندران-عباس‌آباد؛ اکبری
۲	<i>R. rionii</i>	ALUH	۱۱۰۵۲	مازندران-روستای سوت‌ه؛ اکبری
۳	<i>R. rionii</i>	TARI	۶۰۱۴	فیروزکوه-روستای سرچشمه؛ نقی‌نژاد
۴	<i>R. trichophyllus</i>	ALUH	۱۱۰۵۳	مازندران-کمربندی فریدونکنار؛ اکبری
۵	<i>R. trichophyllus</i>	ALUH	۱۱۰۵۴	مازندران-جاده بابل-بابلسر؛ اکبری
۶	<i>R. trichophyllus</i>	ALUH	۱۱۰۵۵	اردبیل-دریاچه نئور؛ نقی‌نژاد و اکبری
۷	<i>R. trichophyllus</i>	HUMZ	۴۰۳۱	فیروزکوه-دریاچه ساهون؛ نقی‌نژاد
۸	<i>R. trichophyllus</i>	HUMZ	۴۰۳۲	فیروزکوه-دریاچه ساواشی؛ نقی‌نژاد
۹	<i>R. trichophyllus</i>	TARI	۹۶۰۵	رشت-بندرانزلی؛ نقی‌نژاد
۱۰	<i>R. trichophyllus</i>	TARI	۲۱۱۶	کردستان-بین چشمه کیود و کر؛ مظفریان
۱۱	<i>R. sphaerospermus</i>	ALUH	۱۱۰۵۶	مازندران-روستای نودهک؛ اکبری
۱۲	<i>R. peltatus</i>	ALUH	۱۱۰۵۷	اردبیل-دریاچه نئور؛ نقی‌نژاد

ALUH: هرباریوم دانشگاه الزهراء؛ HUMZ: هرباریوم دانشگاه مازندران؛ TARI: هرباریوم موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.

ALUH: Alzahra University Herbarium; HUMZ: Herbarium of University of Mazandaran; TARI: Herbarium of Research Institute of Forests and Rangelands.

*R. sphaerospermus* از کوچکترین اندازه گرده‌ای و *R. rionii* از بزرگترین اندازه گرده‌ای برخوردار است (جدول ۳). ضخامت آگزين نمونه‌ها متفاوت است. حداکثر ضخامت آگزين ۰/۹۶ میکرومتر در *R. peltatus* بوده و کمترین آن ۰/۵۱ میکرومتر در *R. sphaerospermus* بوده است. شیارها در *R. rionii* و *R. peltatus* به انتها نرسیده‌اند ولی در *R. sphaerospermus*

*sphaerospermus* prolate-spheroidal به صورت و subprolate در *R. trichophyllus* (شکل ۱). کمترین طول محور قطبی ۲۹/۶۴ میکرومتر در *R. sphaerospermus* و بیشترین ۲۹/۷۱ میکرومتر در *R. rionii* متفاوت است و طول محورا استوایی نیز بین ۱۹/۰۴ میکرومتر (*R. sphaerospermus*) تا ۲۷/۵۵ میکرومتر (*R. rionii*) متفاوت است. باتوجه به این اندازه‌گیری‌ها،

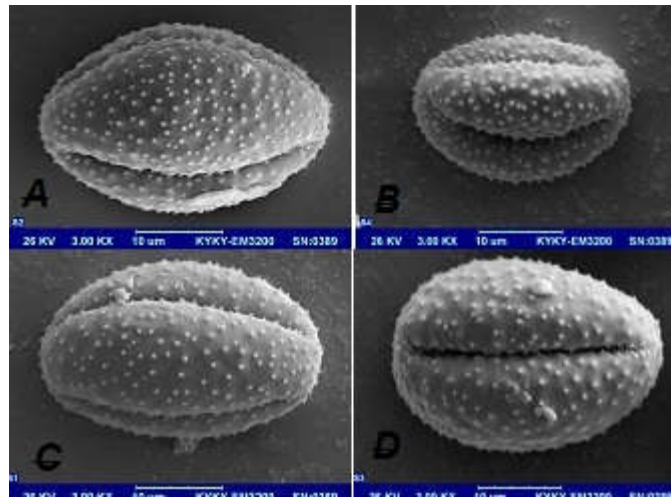
بنابراین خیلی مهم است که نوشجای در گلبرگ‌هایی که به‌تازگی بالغ شده‌اند (در زمان گرده‌افشانی) بررسی شوند نه در گلبرگ‌های درون غنچه و یا گلبرگ‌های پیرشده. شکل نوشجای در *R. rionii* و *R. trichophyllus* هلالی و در *R. sphaerospermus* و *R. peltatus* گلابی شکل است (شکل ۳). تعداد فندقه‌ها می‌تواند یک راهنمای مفید برای تشخیص گونه‌ها باشد، اگرچه مانند طول گلبرگ تقسیم‌بندی تعداد فندقه‌ها به گروه‌های مفید مشکل است، اما می‌توان به دامنهٔ تعداد فندقه‌ها اشاره کرد. در نمونه‌های بررسی شده حداکثر تعداد فندقه‌ها در *R. rionii* (۹۰-۶۰) و *R. sphaerospermus* (۸۰-۵۰) و حداقل تعداد در *R. trichophyllus* (۳۳-۱۶) و *R. peltatus* (۴۵-۳۴) مشاهده شد. کرکپوش فندقه‌ها بسیار مهم است. *R. sphaerospermus* فندقه‌های بدون کرک دارد در حالی که *R. trichophyllus* و *R. peltatus* فندقه‌های نارس *R. rionii* تا حدی بدون کرک است (شکل ۴). بررسی فندقه‌های نارس مهم است چرا که فندقه‌های کرک‌دار در زمان بلوغ و رسیدن کرک‌های خود را از دست می‌دهند. یک ویژگی خوب و مناسب دیگر مربوط به شکل نهنج در تخمدان رسیده گیاه است. نهنج موجود در گونه‌های *R. sphaerospermus* و *R. rionii* کشیده بوده و در دو گونه‌ی *R. peltatus* و *R. trichophyllus* به صورت کروی است.

#### نتایج تحلیل‌های آماری

به منظور گروه‌بندی گونه‌های مطالعه شده تحلیل خوشه‌ای به روش ward براساس صفات کیفی انجام شد (شکل ۳)، فنوگرام رسم شده نشان‌دهندهٔ دو خوشهٔ اصلی است که در یکی از شاخه‌ها *R. peltatus* و جمعیت‌های *R. sphaerospermus* نزدیک یکدیگر بوده و از باقی گونه‌ها جدا شده‌اند. شاخهٔ بعدی خود به دو خوشهٔ فرعی تقسیم شده است. در خوشهٔ فرعی اول، افراد جمعیت *R. trichophyllus* در دو خوشه واقع شده‌اند و در خوشهٔ مجاور گونه‌های *R. rionii* قرار گرفته‌اند.

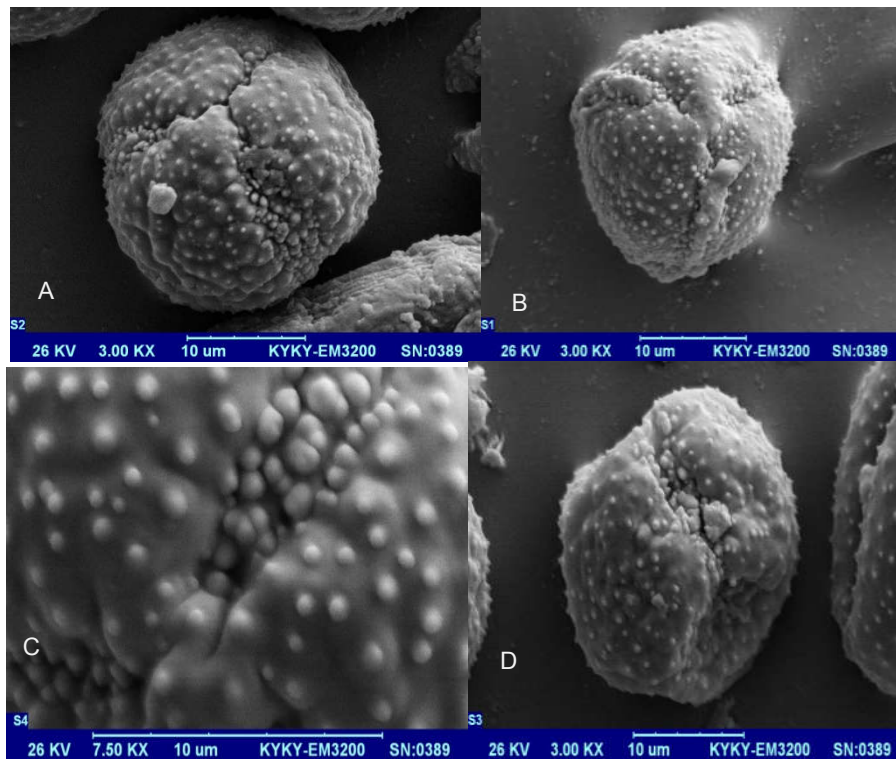
جمعیت‌های فیروزکوه و مازندران در گونهٔ *R. trichophyllus* نسبت به سایر گونه‌ها شباهت بیشتری نشان می‌دهند که این تنوع در صفات ریخت‌شناسی از ویژگی‌های بخشهٔ *Batrachium* بوده در

*rospermus* تا قطب‌ها ادامه داشته و در *R. trichophyllus* ممتد و به هم پیوسته هستند. شیارها در *R. peltatus* و *R. trichophyllus* و *R. sphaerospermus* سطحی یا کم عمق هستند ولی در شیارهای *R. rionii* عمیق بوده و قطب‌ها در *R. trichophyllus* به شکل متمایزی ضخیم شده‌اند و در گونه‌های دیگر صاف هستند (شکل‌های ۱ و ۲). در گونه‌های تحت مطالعه دو نوع برگ مشاهده شد. برگ‌های دارای پهنک با بریدگی‌های کم و برگ‌های منقسم نخ‌شکل (*capillary*) که به شکل ظریفی به بخش‌های نخ‌متعدد زیادی تقسیم شده‌اند. بین گونه‌های یافت‌شده در ایران، فقط *R. peltatus* دارای برگ‌های ناجور (دو شکلی) بوده و از دو نوع برگ برخوردار است، در حالی که سایرین فقط دارای برگ‌های نخ‌شکل هستند. برگ‌های مسطح در *R. peltatus* از سه تا پنج لوب سطحی (کم عمق) با حاشیهٔ کنگره‌دار تشکیل شده‌اند. برگ‌های نخ‌شکل که کوتاه و سفت بوده و از بخش‌های واگرا یا متفاوتی برخوردار هستند که در یک صفحهٔ واحد نگاه داشته شده‌اند و مانند پره‌های چرخ هستند. همهٔ گونه‌ها برگ‌هایی دارند که کوتاه‌تر از طول گره‌های مجاور با آن هستند. استفاده از شکل گوشوارک‌ها به صورت قابل تشخیص در بین گونه‌ها کار دشواری است زیرا این گوشوارک‌ها دارای تنوع شکلی هستند و بین گونه‌ها در حالت بینابینی قرار دارند. طول مطلق دمگل‌ها کوتاه و نسبت طول آن به دمبرگ برگ مجاور آن در جداسازی گونه‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا در همهٔ گونه‌ها، دمگل‌ها کوتاه بوده اما از دمبرگ و پهنک برگ مجاور آن بلندتر است. در همهٔ گونهٔ کاسبرگ‌ها در جوانی سبزرنگ بوده و در زمان کامل شدن گل به رنگ قهوه‌ای در می‌آیند و طول آن بین ۱/۴۳ تا ۳/۲۰ میلی‌متر متغیر است. طول گلبرگ خصوصیت مهمی از لحاظ رده‌بندی گیاهی است، اگرچه یافتن تفاوت میان دامنهٔ تغییرات در هر گونه کار دشواری است. طول گلبرگ بین ۳ الی ۲۸ میلی‌متر در *R. peltatus* تا ۳/۵-۵ میلی‌متر در *R. rionii* و *R. trichophyllus* متفاوت است. شکل نوشجای یک ویژگی بسیار مهم در این گروه است. شکل‌گیری نوشجای از نوع گلابی شکل با گذشتن از شکل هلالی (به شکل صلیبی) و دایره‌ای صورت می‌گیرد و شکل دایره‌ای در طی پیر شدن گلبرگ کشیده و طویل می‌شود و



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی دانه گرده در **A:** *R. trichophyllus*, **B:** *R. peltatus*, **C:** *R. rionii*, **D:** *R. sphaerospermus*

**Fig. 1.** SEM photographs of pollen grains of *Ranunculus* species studied: **A:** *R. trichophyllus*, **B:** *R. peltatus*, **C:** *R. rionii*, **D:** *R. sphaerospermus*.



شکل ۲- تصویر الکترونی دانه گرده در **A:** *R. trichophyllus*, **B:** *R. rionii*, **C:** *R. peltatus*, **D:** *R. sphaerospermus*

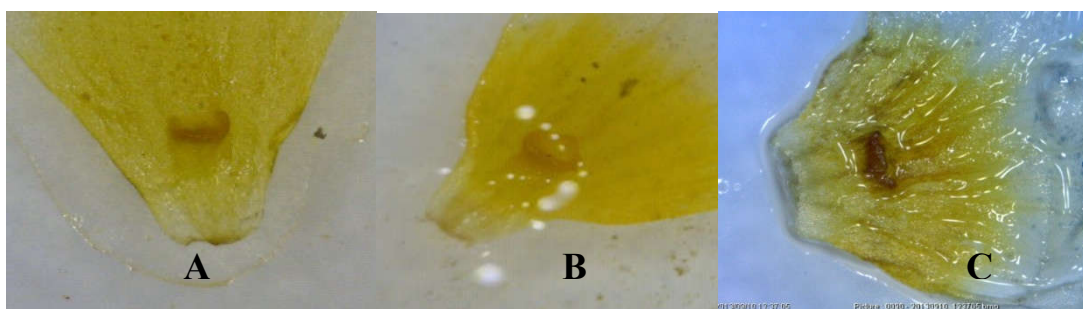
**Fig. 2.** SEM photographs of pollen grains of *Ranunculus* species studied: **A:** *R. trichophyllus*, **B:** *R. rionii*, **C:** *R. peltatus*, **D:** *R. sphaerospermus*.



جدول ۳- نتایج حاصل از مطالعه دانه گرده در گونه‌های تحت مطالعه آللاه.

**Table 3.** Results of the studies performed on pollen characters in studied species of *Ranunculus*.

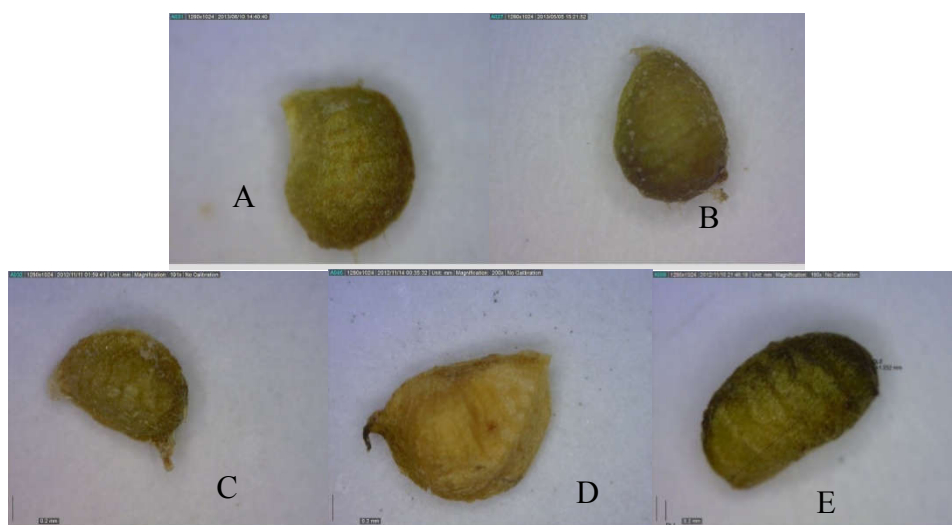
نام گونه	شکل و تزئینات بذر	ضخامت اگزین	طول شیار	طول قطبی $\mu\text{m}$			طول استوایی $\mu\text{m}$		
				Min	Mean	Max	Min	Mean	Max
<i>R. rionii</i>	تخم مرغی - کاملاً صاف	۰,۶۴	۱۷,۹۳	۲۱,۶۱	۲۹,۷۱	۳۷,۲۱	۲۱,۸۷	۲۶,۱۳	۳۳,۲۳
<i>R. trichophyllus.</i>	تخم مرغی - سفید شیاردار	۰,۸۴	۱۹,۹۰	۲۲,۸۰	۲۵,۵۳	۲۸,۵۱	۱۷,۳۲	۲۱,۱۲	۲۴,۳۵
<i>R. sphaerospermus</i>	تخم مرغی - سفید شیاردار	۰,۵۱	۱۸,۰۶	۱۸,۱۱	۲۱,۶۴	۲۵,۳۹	۱۷,۰۵	۱۹,۰۴	۲۳,۹۵
<i>R. peltatus</i>	هرمی و کاملاً صاف	۰,۹۶	۱۹,۵۵	۲۵,۷۷	۲۶,۷۰	۲۷,۸۳	۲۵,۵۰	۲۶,۷۸	۲۷,۷۳



شکل ۳- انواع نوشجای در گونه‌های بخشه *Batrachium*

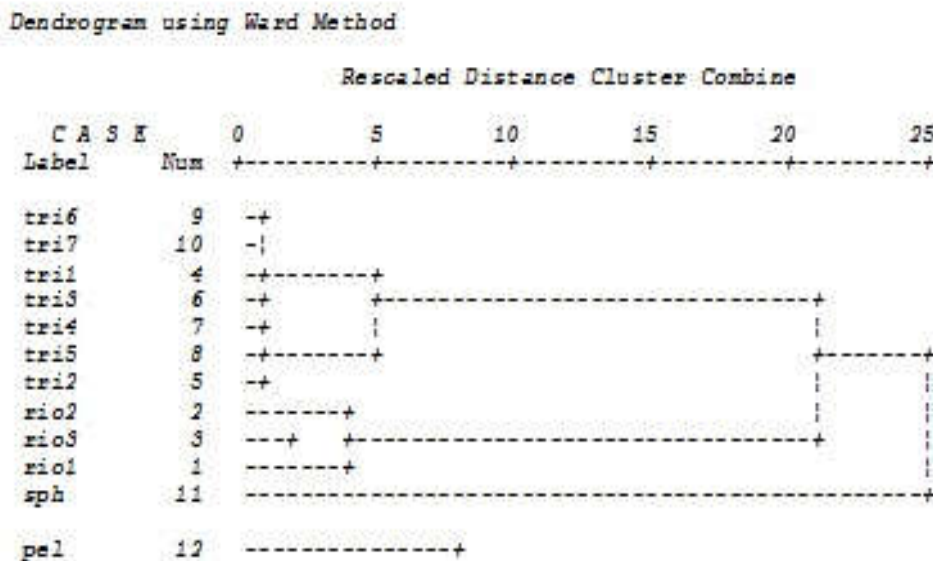
**Fig. 3.** Nectary types in the species of section *Batrachium*.

A: *R. trichophyllus*, B: *R. sphaerospermus*, C: *R. peltatus*.



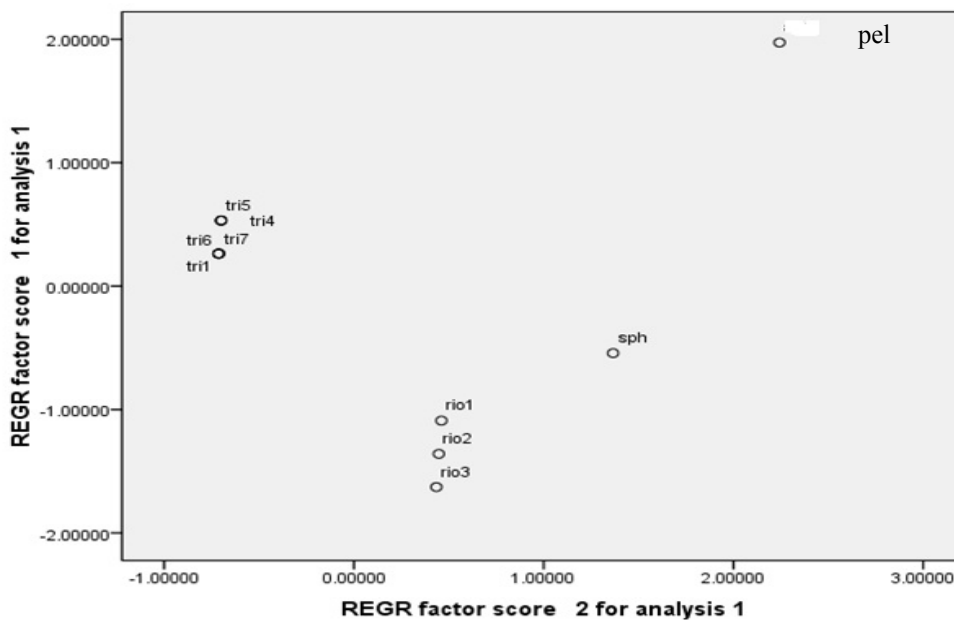
شکل ۴- اشکال فندقه در گونه‌های: **A:** *R. sphaerospermus*, **B:** *R. peltatus*, **C:** *R. rionii*, **D&E:** *R. trichophyllus* (مقیاس = ۰/۲ میلی‌متر).

**Fig. 4.** Achene shapes. **A:** *R. sphaerospermus*, **B:** *R. peltatus*, **C:** *R. rionii*, **D&E:** *R. trichophyllus* (scale bar= 0.2 mm).



شکل ۵- فنوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات کیفی ریخت‌شناسی.

Fig. 5. The phenogram derived from the cluster analysis based on qualitative morphological traits. **Rio:** *R. rionii*, **Tri:** *R. trichophyllus*, **Sph:** *R. sphaerospermus*, **pel:** *R. peltatus*.



شکل ۶- جدول PCA بر اساس تجزیه به عامل‌ها در صفات ریخت‌شناسی

Fig. 6. PCA analysis table on the basis of morphological traits. **rio:** *R. rionii*, **tri:** *R. trichophyllus*, **sph:** *R. sphaerospermus*, **pel:** *R. peltatus*.

نظریات (Meikle (1959) نزدیکی *R. sphaerospermus* را به *R. peltatus* نشان می‌دهد. Dalgren و همکاران (1992) شکل پولک نکتاری را در *R. sphaerospermus* فلسی شکل گزارش کرده است در حالی که ما در بررسی‌های خود گلابی شکل را مشاهده کردیم. همچنین او شکل‌های حلقه‌ای و لونیت را در جمعیت‌های مختلف *R. trichophyllus* مشاهده کرده بود ولی ما مانند Cook (1966) فقط شکل لونیت را مشاهده کردیم. پولک نکتاری در *R. peltatus* در مشاهدات ما مانند Cook (1966) گلابی شکل بود درحالی‌که Dalgren و همکاران (1992) علاوه بر گلابی شکل اشکال دیگری را نیز گزارش دادند. Dalgren و همکاران (1992) معتقد است که سطح پلی‌پلویدی در کروموزوم‌ها روی شکل پولک نکتاری اثر می‌گذارد و شکل‌های مختلف پولک نکتاری در جمعیت‌هایی با سطح پلی‌پلویدی مختلف مشاهده شده است.

طبق موارد پژوهش شده، بنظر می‌رسد که سطح آگزین از هیچ ارزشی در تمایز بین گونه‌های بخشه برخوردار نیست زیرا آگزین دارای تریئات-زگیل ماندی در همه گونه‌ها است. شکل برگ‌ها خصوصیت مناسبی برای جداسازی گونه‌ها هستند. صفات زایشی مانند نهنج، نکتار یا نوشجای و فندقه از اهمیت زیادی میان گونه‌های مختلف برای جداسازی آنها برخوردار هستند که به خاطر ثبات بیشتر آنها است. نتایج تاکسونومی عددی براساس صفات ریخت‌شناختی با نتایج بررسی‌های مربوط به رده‌بندی کلاسیک مطابقت دارد.

### سپاسگزاری

نویسندگان از مسئولین هرباریوم دانشگاه مازندران برای دراختیار قراردادن نمونه‌های هرباریومی قدردانی می‌نمایند.

### REFERENCES

- Andersen, S.T. 1961. Vegetation and its environment in Denmark in the early Weichselian Glacial (Last Glacial). Danm. – Geol. Unders. 75: 1-175.
- Anderson, C.L., Bremer, K. and Friis, E.M. 2005. Dating phylogenetically basal eudicots using rbcL sequence and multiple fossil reference points. – Amer. J. Bot. 92: 1737-1774.

گونه *R. trichophyllus* نیز به فراوانی دیده می‌شود. خوشه فرعی دوم از گونه‌های *R. rionii* تشکیل شده است. نمودار رسته‌بندی ترسیم شده براساس سه مؤلفه اصلی در شکل ۵ حاکی از مجاورت گونه‌های نزدیک و واگرایی جمعیت‌های گونه‌ای است که براساس این سه مؤلفه تحت بررسی قرار گرفته است. نمودار تجزیه به عامل (PCA) رسم شده براساس دو مؤلفه اصلی اول در شکل بیانگر میزان نزدیکی یا واگرایی جمعیت‌های مطالعه شده است. با بررسی تجزیه به عامل‌ها و مقایسه سهم هر یک در تنوع حاصله مشخص شد که در مجموع این سه عامل سبب حدود ۸۵/۷۰۹ درصد تنوع مشاهده شده هستند. عامل اول که ۴۶/۷۴۸ درصد تنوع را نشان می‌دهند شامل نهنج، شکل میوه و شکل گوشوارک به ترتیب نشان‌دهنده بالاترین ضریب همبستگی ( $>0.7$ ) هستند. عامل دوم که از ۳۸/۹۶۱ درصد مورد از کل تنوع برخوردار است، شکل نکتار و سطح بذرها نشان دهنده بالاترین ضریب همبستگی است ( $>0.7$ ) و در عامل سوم که از ۸۹۶/۱۴ درصد از کل تنوع برخوردار است شامل طول بذرها بوده نشان دهنده بالاترین ضریب همبستگی ( $>0.7$ ) است.

### بحث

طبق مطالعات Clarke و همکاران (1991) گرده در گونه‌های آبزی آلاله در گروه *aquatilis* قرار می‌گیرند. بررسی ویژگی‌های دانه‌های گرده بخشه *Batrachium* از سرده *Ranunculus* نشان داد که تفاوت‌های واضحی میان گونه‌ها براساس شکل، اندازه و ویژگی‌های شیار وجود دارد. به طوری که چهار گونه *R. rionii*، *R. sphaerospermus* و *R. peltatus* از یکدیگر قابل تمایز هستند. *R. sphaerospermus* دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی است (کوچکترین دانه گرده و عمیق بودن شیارها) که استقلال آن را به عنوان یک گونه مستقل مورد تأیید قرار می‌دهد (Iranshahr et al., 1992). این گونه ابتدا توسط Boissier (1867) به عنوان گونه‌ای مستقل شرح داده شد و سپس توسط Meikle (1959) به سطح زیرگونه تغییر یافت. از طرفی در فنوگرام رسم شده براساس صفات ریخت‌شناسی این گونه در کنار *R. peltatus* واقع شده است. این نتیجه طبق



- Benson, L.** 1948. A treatise on the North American Ranunculi. – Am. Midl. Nat. 40: 1-261.
- Bidarlord M., Gahremaninejad F., Pakravan M.** 2016. *Ranunculus polyrhizos* as a new record for Iran, with ecological and micromorphological and micromorphological evidence. – Modern Phytomorphology. 10 (Supplement) pp. 25-29.
- Boissier, E.** 1867. Flora orientalis sive, enumeratio plantarum in Oriente a Graecia et Aegypto ad Indiae fines hucusque observatarum, 1. – Geneva: H. Georg.
- Clarke, G.C.S., Pan, W. and Hoen, P.P.** 1991. The northwest european pollen flora, 51 (Ranunculaceae). – Rev. Palaeobot. Palynol. 69: 117-271.
- Cook, C.D.K.** 1963. Studies on *Ranunculus* subgenus *Batrachium* (DC.) A.Gray II. General morphological considerations in taxonomy of subgenus. – Watsonia 5: 294-303.
- Cook, C.D.** 1966. A monographic study of *Ranunculus* subgenus *Batrachium* (DC.) A.Gray. – Mitt. Bot. Staatssammlung München 6: 47-37.
- Dahlgren, G.** 1992. *Ranunculus* subgenus *Batrachium* on the Aegean islands and adjacent areas: nectary types and breeding system. – Nord. J. Bot. 12: 299-310.
- Dahlgren, G. and Svensson, L.** 1994. Variation in leaves and petals of *Ranunculus* subgenus *Batrachium* on the Aegean islands, analysed by multivariate analysis. – Bot. J. Linn. Soc. 14: 253-270.
- Dahlgren, G.** 1994. Differentiation patterns in *Ranunculus* subgenus *Batrachium* (Ranunculaceae). – Plant Syst. Evol. Supplement 9: pp 305-317.
- Davis, P.H. and Cook, C.D.K.** 1965. *Ranunculus*. In: Davis, P.H. (ed.): Flora of Turkey and the East Aegean Islands. – Edinburgh: Edinburgh University Press. 1: 146-197.
- de Candolle, A.** 1817. Regni vegetabilis systema naturale 1. – Sumptibus sociorum Treuttel et Würtz. Paris. 116 pp.
- Emadzadeh, K., Lehenchach, C., Lockhart, P. and Horandle, E.** 2010. A molecular phylogeny, morphology and classification of genera of Ranunculeae (Ranunculaceae). – Taxon 59: 809-828.
- Erdtman, G.** 1952. Pollen morphology and plant taxonomy, Angiosperms. – Almquist and Wiksell, Stockholm, 539 pp.
- Gluchoff-Fassion, K., Fisson, J.L. and Waton, H.** 1997. Quercetin glycosides from European aquatic *Ranunculus* species of subgenus *Batrachium*. – Phytochem. 45: 1063-1067.
- Gray, S.F.** 1821. A natural arrangement of British plants. – Baldwin, Cradock, and Joy, London, 824 pp.
- Iranshahr, M.** 1992. *Batrachium*. In: Rechinger K.H. (ed.): Flora Iranica 171: 194-199. – Akademische Druck- und Verlagsanstalt, Graz.
- Jensen, U. and Kadereit, J.W.** 1995. Systematics and evolution of Ranunculiflorae. – Part of the plant systematics and evolution supplement 9 book series, 305-317 pp.
- Kumazawa, M.** 1937. Pollen grain morphology in Ranunculaceae, Lardizabalaceae and Berberidaceae. – Jap. J. Bot. 8: 19-46.
- Meikle, R.D.** 1959: The *Batrachian ranunculi* of the Orient. – Notes from the Royal Botanical Garden, Edinburgh 23: 13-21.
- Naqinezhad, A., Norooz, J., Bidarlord, M. and Englmaier, P.** 2016. First evidence of a heterophyllous water crowfoot (*Ranunculus peltatus*, Ranunculaceae) in Iran, its phytogeographical implications and a new determination key for Iranian *Batrachium*. – Ann. Naturhist. Mus. Wien B. 118: 135-145.
- Petrov, S. and Borrisova Ivanova, O.** 1980. Palynomorphological characteristics of the Bulgarian representatives of the family Ranunculaceae. Juss. IV. *Actaea* L., *Helleborus* L., *Eranthis* Salsb., *Isopyrum* L., *Delp-hinium* L., *Consolida* (DC.) S.F.Gray. – Fitologia 14: 3-50.
- Rastipisheh, S., Pakravan, M., Emady, M. and Nemati, S.** 2010. Study of pollen grains characters in the genus *Ranunculus* L. (Ranunculaceae) from Iran. – IJBIO. 2: 1-7.
- Santisuk, T.** 1979. A palynological study of the tribe Ranunculaceae. – Opera Bot. 48: 1-74.
- Tamura, M.** 1991. A new classification of the family Ranunculaceae. – Acta Phytotaxa. Geobot. 42: 177-187.
- Tomaszewski, A.** 1967. Studies on the possibility of using size of pollen grains and the number of grooves as a taxonomic test in *Ranunculus* species. – Ann. Univ. Mariae Curie-Skodowska Sect. E, Agricultura 20: 79-94.
- Webster, S.D.** 1991. Chromatographic investigation of the flavonoids of *Ranunculus* subgenus *Batrachium* (DC.) A. Gray (water buttercup) and selected species in subgenus *Ranunculus*. – Aquat. Plants 40: 11-26.

\*\*\*\*\*

**How to cite this article:**

**Akbary, R. Pakravan, M. and Naqinezhad, A.** 2017. Morphological and palynological studies in *Ranunculus* (L.) sect. *Batrachium* (DC.) Gray in Iran. – Nova Biol. Rep. 4: 19-27.

اکبری، ر.، پاکروان، م. و نقی‌نژاد، ع. ۱۳۹۶. مطالعه ریخت‌شناسی و گرده-شناسی در گونه‌های بخش *Batrachium* از سرده آلاله (تیره آلاله‌ایان) در ایران. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۴: ۱۹-۲۷.

