

توصیف آتاکولوژی، گرده‌شناسی و کروموزومی گونه کلوس (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) در منطقه درّه سپستان از شهرستان فریدون‌شهر، استان اصفهان

حمیدرضا عکافی*، مریم ولی‌وند و تقا جنابی

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، فلاورجان، ایران

چکیده

دسترسی به بخش عمده‌ای از اطلاعات در خصوص عملکرد گیاهان یک اکوسیستم، از طریق مطالعات آتاکولوژی حاصل می‌شود. این نوع بررسی‌ها اطلاعات ارزشمندی فراهم می‌کند که برای مدیریت اکوسیستم ضروری است. در پژوهش حاضر، پدیده‌شناسی گیاه، جوانه‌زنی بذر، کاریوتیپ، گرده‌شناسی، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و برخی از شاخص‌های تنوع زیستی رویشگاه گیاه کلوس (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) بررسی شد. کلوس گیاهی است علفی چند ساله، با ساقه‌های کوتاه و پوشیده با غلاف‌های برگ، گل‌ها به صورت نر-ماده بوده، در گل آذین‌های چتر مرکب با ارتفاع ۱۲۰ تا ۲۰۰ سانتی‌متر قرار می‌گیرند. از نظر پدیده‌شناسی، ظهور گیاه از اوایل اسفند ماه در زیر برف آغاز شده، تا اواسط شهریور ماه که به بذر می‌نشینند، ادامه حیات می‌دهد. رویشگاه‌های این گیاه دارای بافت خاک از نوع رس-لای بوده، فاقد شوری و قلیائیت است. این گونه دارای سطح دیپلوئید و عدد پایه کروموزومی $x=11$ است و کروموزوم‌ها از نظر اندازه تقریباً متوسط هستند. کاریوتیپ این گونه تقریباً متقارن است. تیمار سرما اثر بسیار معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذر کلوس نشان داد. همچنین، تیمار خیساندن درصد جوانه‌زنی را افزایش داد. مطالعات گرده‌شناسی، شکل کلی دانه گرده در این گیاه را از نوع دوکی (prolate) نشان داد. گرده از نظر ساختار، هم دارای شیار و هم دارای منفذ بوده، سطح آن نیز مشبک است. بررسی شاخص‌های تنوع زیستی نیز بیانگر تنوع پایین رویشگاه این گیاه بود.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی، دانه گرده، شاخص‌های تنوع، کاریولوژی، کلوس

مقدمه

تدریج این منابع از نظر کمی و کیفی در معرض تخریب قرار گیرد. آتاکولوژی یا اکولوژی فردی، دانستن تاریخ زندگی اکولوژیک گونه‌های مهم

امروزه برداشت برداشت‌های غیر اصولی سبب شده است تا هر ساله از پتانسیل مفید مناطق کاسته شده، به

شاخص‌های محیطی (ارتفاع، دما، بارندگی و ...) در رویشگاه‌های بررسی شده کلوس وجود ندارد. مطالعات Valivand (۲۰۰۹) در بررسی شکست خواب و اثر پیش‌تیمار بر جوانه‌زنی بذرهای کلوس نشان داد که سال برداشت، پیش‌خیساندن و سرمادهی مرطوب، تأثیرات مهمی در شکستن خواب بذر کلوس داشته است. Salimi و همکاران (۲۰۱۰) تنوع ترکیبات شیمیایی سه اکوتیپ کلوس را مطالعه نمودند. پاسخ جوانه‌زنی دانه‌های گیاه کلوس در برابر تیمارهای مختلف نظیر: تغییرات دما و زمان خراش‌دهی توسط Etemadi و همکاران (۲۰۱۰) بررسی شد. Jaberolansar و همکاران (۲۰۱۰) وضعیت سیتوژنتیکی پنج جمعیت کلوس و ارتباط آن با دو جمعیت کرفس زراعی و کرفس گره را مطالعه نمودند. نتایج آنها نشان داد که تعداد کروموزوم کروموزوم‌های پایه در ژنوتیپ ژنوتیپ‌های کلوس و کرفس گره همانند کرفس زراعی برابر ۱۱ است. بررسی ترکیبات شیمیایی روغن فرار گیاه کلوس و آثار آرام‌بخشی آن نیز توسط Rabbani و همکاران (۲۰۱۱) مطالعه شد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که کلوس از نظر تنوع زیستی، ژنتیکی و بیوشیمیایی دارای اهمیت است. شناخت بهتر این گیاه، زیستگاه، الگوی پراکنش و چگونگی ارتباطش با محیط، سبب جلوگیری از انقراض آن شده و به حفظ تنوع زیستی سایر گونه‌های وابسته کمک می‌کند. یکی از رویشگاه‌های مهم این گیاه در استان اصفهان و در منطقه دره سپستان فریدون‌شهر است که به دلیل برداشت بی‌رویه، در معرض خطر نابودی است. از آنجایی که مطالعات بوم‌شناختی در مورد این رویشگاه انجام نگرفته بود و مراکز مرتبط در پی جایگزینی آن به صورت کاشت بذر بودند، ضرورت انجام این مطالعه احساس شد.

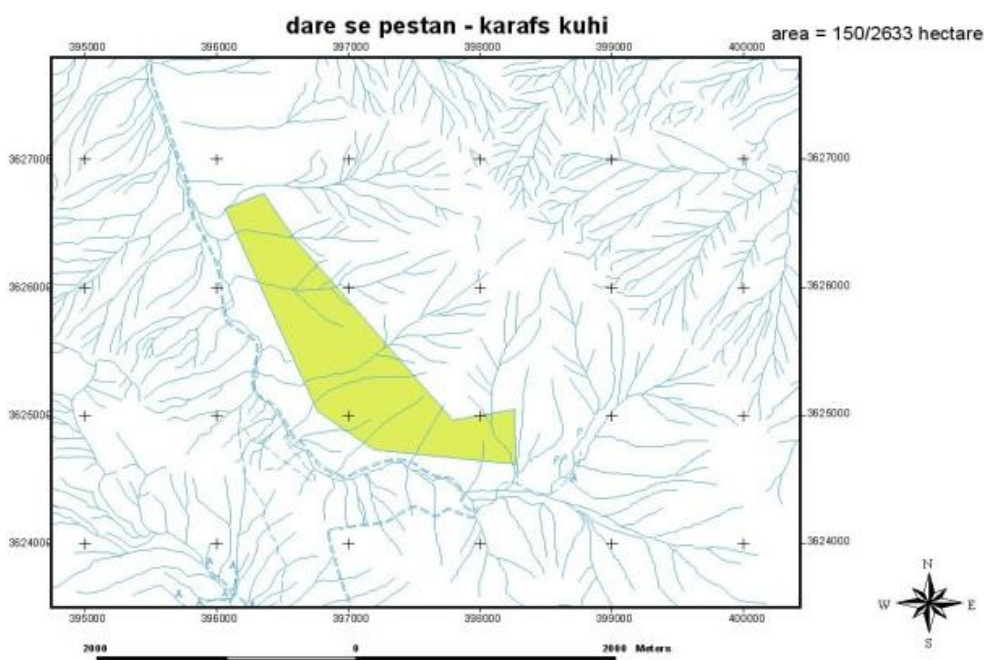
گیاهی و عوامل محیطی مؤثر بر آنها است و آگاهی از این مسایل می‌تواند مانع از سیر قهقرایی این گونه‌ها شود (Bagheri et al., 2011). کلوس گیاهی دارویی است که از نظر جهاد کشاورزی در معرض خطر نابودی است و مطالعه آن برای این سازمان اولویت دارد (Population of protection of natural resources and environment, 2005). Mozaffarian (۲۰۰۳) کلوس را با نام علمی *Kelussia odoratissima mozaff.* به عنوان گونه جدید از جنس جدید *Kelussia* معرفی نمود. پیش از این که نام علمی جدید گیاه کلوس مشخص شود در منابع مختلف، این گونه با نام‌های علمی *Amirkabiria odoratissima*، *Apium graveolens* و *Opopanax* sp. نام‌گذاری می‌شده است (Roghani et al., 2004؛ Asgary et al., 2008). رویشگاه‌های طبیعی کلوس بیشتر شامل ارتفاعات و مناطق برف‌گیر ناحیه زاگرس مرکزی است. بررسی منابع نشان داد که در ایران مطالعات بوم‌شناسی اندکی در مورد این گونه انجام و بیشتر به جنبه‌های دارویی آن پرداخته شده است. Hajhashemi و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه ای پیرامون خواص دارویی کلوس به اثر ضد درد و ضدالتهاب این گونه اشاره کرده است. Ahmadi و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلوس را بررسی کرده‌اند. بر اساس بررسی‌های Saeedi و Omidbaigi (۲۰۰۹) بذور گیاه کلوس حاوی ۲۵ درصد روغن است که مهم‌ترین اسیدهای چرب آن، اولئیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید، استتاریک اسید و لینولنیک اسید است. Jahantab (۲۰۰۹) پراکنش و ویژگی‌های رویشگاهی گونه کلوس را در منطقه کهگیلویه بررسی کرد. نتایج وی نشان داد که تفاوت معنی‌داری از نظر

مواد و روش‌ها

مشخصات منطقه مورد مطالعه: منطقه دره سپستان

بین روستاهای پشندگان و کلوسه با مختصات جغرافیایی به طول جغرافیایی ۳۲ درجه و ۴۶ دقیقه شمالی و ۴۹ درجه و ۵۳ دقیقه شرقی واقع شده است و مساحتی حدود ۱۵۰ هکتار دارد، ارتفاع متوسط آن ۲۸۰۰ متر از سطح

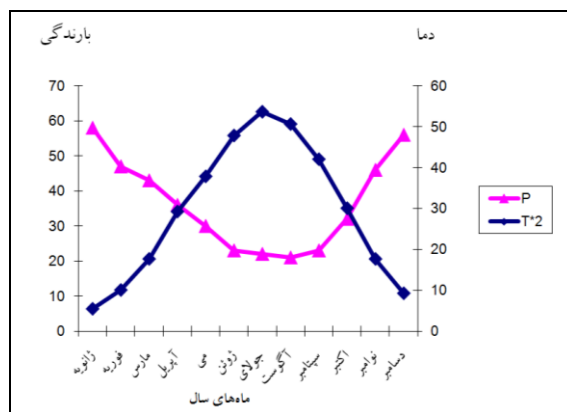
دریا است (شکل ۱). در این منطقه اغلب بارش‌ها به صورت برف بوده، متوسط بارش سالیانه آن حدود ۵۰۰ میلی‌متر و متوسط درجه حرارت سالیانه حدود ۹ درجه سانتیگراد است. همچنین، طول دوره خشکی برای این منطقه بین ۵ تا ۶ ماه گزارش شده است (شکل ۲).



شکل ۱- نقشه رقومی منطقه دره سپستان

برداشت داده‌ها: برای ثبت مراحل پدیده‌شناسی،

بازدیدهای صحرائی و مشاهدات مستقیم پایه‌های مختلف گیاه در فواصل زمانی منظم انجام شد. در هر بازدید، از گیاه و مراحل رشد آن عکس‌برداری و اطلاعات مربوط به ریخت‌شناسی و مراحل رشد گیاه یادداشت شد. برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، نمونه‌های خاک از عمق‌های ۳۰ و ۶۰ سانتی‌متری (محدوده رشد و فعالیت ریشه) برداشت شد. این نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه و اندازه‌گیری



شکل ۲- منحنی آمبروترمیک منطقه فریدون شهر

(حدود ۲۵ درجه سانتیگراد) به مدت ۰، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت در آب مقطر خیسانده شد. در پایان هر دوره زمانی سه تکرار ۲۵ تایی بذر از هر گروه آماده و در پتری‌های مورد نظر برای القای پیش‌سرما‌ی مرطوب به یخچال با دمای ۵ درجه سانتیگراد منتقل شد. پس از اتمام هر دوره سرمادهی (۰، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ هفته)، پتری‌ها به دستگاه ژرمیناتور مدل JTGL2000 منتقل گردید. برای تمامی تیمارها آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کامل تصادفی اجرا شد. آنالیز واریانس داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد و میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه گردیده، نمودارها در نرم‌افزار Excel ترسیم شد.

بررسی کاربوتیپ: مطالعه عدد کروموزومی بر پایه مشاهده میتوز سلول‌های مرستمی انتهایی ریشه که دارای قدرت سریع تقسیم و اندیس میتوزی بالا هستند، صورت گرفت. پس از جوانه‌زنی، بذرهایی با طول ریشه ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر انتخاب و در ساعت مناسب، ریشه‌ها از بذرها جدا گردید. مطالعه کروموزوم‌ها به روش له کردن مرستم انتهایی ریشه (squash method) انجام شد. برای مطالعه میتوز در سلول‌های در حال تقسیم لازم است که از فعالیت رشته‌های دوک تقسیم میتوز، ممانعت و از حرکت کروموزوم‌ها به قطبین سلول جلوگیری گردد. بدین منظور ریشه‌ها به مدت ۴-۵ ساعت در محلول آلفا برموفتالین قرار داده شدند. نخستین مرحله پس از پیش‌تیمار مرحله تثبیت است. برای حفظ شکل سلول‌ها و محتویات آنها و جلوگیری از تغییرات احتمالی، از محلول تثبیت‌کننده Levitskey استفاده می‌شود. ریشه‌های خارج شده از آلفابرموفتالین، پس از

درصد رطوبت آنها، در معرض هوا خشک شده، پس از جدا کردن ریشه‌ها، سنگ و سایر ناخالصی‌ها، ابتدا تمامی نمونه‌ها کوبیده شد و از الک با منافذ ۳ میلی‌متر عبور داده شدند. برخی ویژگی‌های خاک شامل اسیدیته، هدایت الکتریکی، کربن آلی و فسفر قابل جذب اندازه‌گیری شدند (Zarin Kafsh, 1993). برای تهیه فهرست گونه‌های همراه، گونه‌های موجود در زیر و محدوده تاج پوشش کلوس جمع‌آوری شد. برای شناسایی گیاهان از فلورهای متداول نظیر: فلورا ایرانیکا (Rechinger, 1967-1998)، فلور رنگی ایران (Ghahreman, 1979-1992) و فلور ایران (Assadi *et al.*, 1988-2011) استفاده شد. برای تعیین شکل زیستی گیاهان جمع‌آوری شده در منطقه از روش Raunkiaer (۱۹۳۴) و تعیین پراکنش جغرافیایی و تحلیل کورولوژیکی گیاهان ثبت شده در منطقه بر اساس کتاب شالوده‌های ژئوبوتانیکی خاورمیانه (Majnoonian and Majnoonian, 2004) و منابع فلور انجام شد.

محاسبه شاخص‌های تنوع: برای محاسبه شاخص‌های مختلف تنوع از جمله شاخص‌های غنا، هتروژنیته و یکنواختی (Ejtehad *et al.*, 2009)، میزان تاج پوشش گیاه از کوادرات‌های یک متر مربعی استخراج و توسط نرم‌افزار SDR (Species Diversity and Richness IV) تحلیل گردید.

بررسی جوانه‌زنی بذر: ابتدا بذور کلوس با محلول ویتاواکس ۰/۲ درصد به مدت ۵ دقیقه ضد عفونی شد. برای از بین بردن تأثیر سمیت ماده ضد عفونی‌کننده چندین مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس بذرها در چهار گروه در دمای آزمایشگاه

میکروسکوپ الکترونی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر مجلسی بررسی شدند. بررسی‌های ریخت‌شناختی کرده بر اساس فرهنگ لغت واژگان گرده و اسپور مشخص و نام‌گذاری شد (Punt et al., 2007).

نتایج

پدیده‌شناسی گیاه: آغاز رشد رویشی و ظهور گونه کلوس در اوایل اسفند ماه همراه با ذوب شدن برف‌ها است یعنی زمانی که دمای هوا افزایش می‌یابد و خاک به دلیل بارش‌های زمستانی دارای رطوبت کافی است. مرحله رشد رویشی با بالا رفتن دمای هوا از اواسط اسفند ماه آغاز و تا اوایل خرداد ماه ادامه دارد. پس از خشک شدن کامل گیاه، به واسطه غده بزرگ حاوی مواد غذایی که در قسمت فوقانی ریشه قرار دارد، مرحله رشد گل‌آذین آغاز می‌شود. این مرحله از اوایل تیر ماه شروع می‌شود. پس از رشد حدود ۱۲۰ تا ۲۰۰ سانتی‌متری ساقه گل‌دار گیاه، مرحله بذردهی از اواخر مرداد ماه تا اوایل شهریور ماه شروع شده، از اواخر شهریور ماه شروع به ریزش می‌کند.

خاک‌شناسی: کیفیت خاک معمولاً از سه جنبه شیمیایی، فیزیکی و زیست‌شناختی مورد توجه قرار می‌گیرد. در واقع، ارزیابی کیفیت خاک در تعیین میزان تخریب و نوع فعالیت‌های مدیریتی جهت کاربری پایدار، می‌تواند مهم باشد. طبق اطلاعات جدول ۱، رویشگاه طبیعی کلوس روی خاک‌های نسبتاً کم عمق با بافت متوسط تا سنگین که ظرفیت نگهداری آب بالایی داشته، فاقد شوری و قلیائیت است، دیده می‌شود.

پراکنش: مشاهدات مستقیم پراکنش گونه *Kelussia odoratissima* Mozaff. نشان داد که دامنه

شستشو با آب مقطر، به مدت ۲۴-۳۶ ساعت در این محلول در یخچال قرار داده شد.

پس از خروج ریشه‌ها از محلول تثبیت‌کننده، به مدت ۳ ساعت ریشه‌ها با آب جاری شستشو داده شده، پس از خشک کردن با کاغذ صافی، به منظور نگهداری ریشه‌ها به مدت طولانی، از اتیلیک الکل ۷۰ درصد استفاده شد. برای تهیه اسلایدهای کروموزومی، قسمت بالای کلاهک ریشه‌ها (سلول‌های مرستمی) جدا گردید و برای نرم کردن بیشتر بافت و نفوذ بهتر رنگ، یک قطره استیک اسید ۴۵ درصد روی نمونه ریخته شد، سپس با کاغذ صافی خشک گردید. مزیت دیگر این عمل آن است که رنگ‌های اضافی از سطح سیتوپلاسم سلول پاک شده و سیتوپلاسم شفاف و بی‌رنگ به نظر می‌رسد. در این مرحله سلول‌های مرستمی با سوزن از هم جدا شد. سپس، بر روی سلول‌های جدا شده، لامل گذاشته شد و با فشار ملایم انگشت شست، سلول‌ها له گردید. در ادامه، به منظور بررسی کروموزوم‌ها، سلول‌های مرستمی در زیر میکروسکوپ مطالعه شدند. برای دسته‌بندی کروموزوم‌ها و تعیین محل سنترومر کروموزوم‌ها از طرح Levan و همکاران (۱۹۶۵) استفاده شد. در نهایت، اندازه‌گیری طول کل کروموزوم، طول نسبی کروموزوم، میانگین طول کل کروموزوم‌ها، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه با نرم‌افزار Image tool انجام گرفت. همچنین درصد TF (Total Form) یا شکل کلی کاریوتیپ، S یا نسبت طول کوتاه‌ترین کروموزوم به بلندترین کروموزوم و شاخص سنترومری به عنوان شاخص تقارن محاسبه شد.

گرده‌شناسی: گل‌های تازه گیاه جمع‌آوری و بساک‌های آن جدا شد. نمونه‌ها در آزمایشگاه

یک شاخص به تنهایی نمی‌تواند به طور مؤثر ساختار جامعه را توصیف کند، از شاخص‌های متعدد یکنواختی، هتروژنیته و غالبیت استفاده شد. اعداد مربوط به شاخص‌ها، وضعیت مطلوبی را برای منطقه نشان نمی‌دهد.

شاخص‌های عددی (ترسیم نمودار رتبه-)

فراوانی): بر اساس این شاخص‌ها، جامعه‌ای که گونه‌های غالب و نادر کمتری داشته باشد منحنی یکنواخت‌تر با شیب کمتری داشته، متنوع‌تر خواهد بود. شکل ۵ منحنی حاصل برای منطقه دره سپستان را نشان می‌دهد که در ابتدا شیب تندی داشته، گویای آن است که در این منطقه یک یا چندین گیاه غالب (نظیر: *Kelussia* و *Astragalus*) وجود دارد.

توزیع ارتفاعی این گونه از ارتفاع ۲۶۰۰ تا ۳۰۰۰ متر است و بیشتر در شیب‌های شمالی و شرقی دیده می‌شود.

معرفی گیاهان همراه: فهرست گیاهان همراه،

مشخصات شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی آنها در جدول ۲ ذکر شده است. از میان گیاهان همراه، همی کریتوفیت‌ها با ۵۰ درصد (۱۴ گونه) فراوان‌ترین شکل زیستی را نشان دادند (شکل ۴). درصد بالای همی کریتوفیت‌ها نشانگر اقلیم سرد و کوهستانی منطقه است.

محاسبه شاخص‌های عددی و غیر عددی تنوع:

تنوع گونه‌ای به عنوان شاخص اولیه سلامت و پایداری یک اکوسیستم در نظر گرفته می‌شود. از آن جایی که



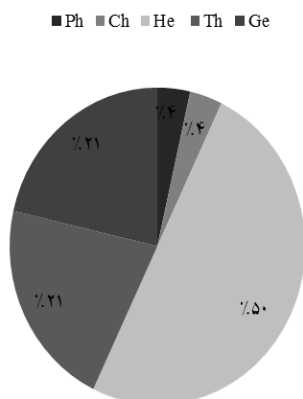
شکل ۳- مراحل پدیده‌شناسی گیاه *Kelussia odoratissima* Mozaff. A: شروع رشد و ظهور، B: شروع رشد رویشی، C: پایان رشد رویشی، D: شروع رشد زایشی و ظهور گل آذین، E: رشد گل آذین و نمایان شدن گل‌ها، F: رشد نهایی گل آذین، G: رسیدن بذرها.

جدول ۱- برخی از شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در منطقه دره سپستان. A: رس ۳۲ درصد، شن ۳۶ درصد، لای ۳۲ درصد؛ B: رس ۳۸ درصد، شن ۳۴ درصد، لای ۲۸ درصد.

عمق نمونه برداری (سانتی‌متر)	محتوای رطوبتی (درصد)	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)	اسیدیته	بافت	مواد آلی کل (درصد)	کربن آلی (درصد)	کربنات کلسیم (درصد)	فسفر قابل جذب (ppm)
۳۰	۱۰/۷	۲۴۰	۷/۶۷	رس-لای ^A	۳/۱۷	۱/۸۴	۴/۷	۱۸۷۵۰
۶۰	۱۱/۸	۲۱۲	۶/۷۶	رس-لای ^B	۳/۷۳	۲/۱۶	۴/۷	۷۵۰۰

جدول ۲- فهرست گونه‌های همراه گیاه *Kelussia odoratissima* Mozaff. و شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی آنها در منطقه دره سپستان. Ph: فانروفیت، Ch: کامفیت، He: همی کریتوفیت، Th: تروفیت، Ge: ژئوفیت، IT: ایرانی-تورانی، ES: اروپا-سیبری، M: مدیترانه‌ای، PL: چند منطقه‌ای، Cosm: جهان‌وطن.

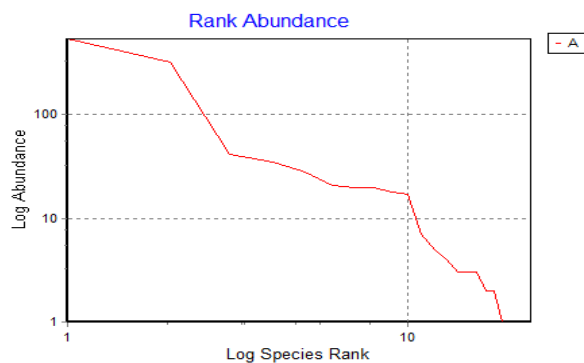
نام علمی	تیره	شکل زیستی	پراکنش جغرافیایی
<i>Aethionema carneum</i> (Banks & Soland.) B. Fedtsch.	Brassicaceae	Th	IT
<i>Agropyrum repens</i> (L.) P. Beauv.	Poaceae	Ge	PL
<i>Allium hirtifolium</i> Boiss.	Liliaceae	Ge	IT
<i>Asperugo procumbens</i> L.	Boraginaceae	Th	IT-ES
<i>Astragalus</i> sp.	Fabaceae	Ch	IT
<i>Biebersteinia multifida</i> DC.	Geraniaceae	He	IT
<i>Bromus tectorum</i> L.	Poaceae	Th	M- IT
<i>Cleome iberica</i> DC.	Capparaceae	Th	IT
<i>Corydalis verticillaris</i> DC.	Fumariaceae	Ge	IT
<i>Cruciata taurica</i> (Pallas ex Willd.) Ehrend.	Rubiaceae	He	IT
<i>Daphne mucronata</i> Royle	Tymelaeaceae	Ph	IT-ES
<i>Eryngium</i> sp.	Apiaceae	He	IT
<i>Ferolago contracta</i> Boiss. & Hausskn.	Apiaceae	He	IT
<i>Gagea</i> sp.	Liliaceae	Ge	M- IT
<i>Gallium</i> sp.	Rubiaceae	Th	M- IT
<i>Geranium persicum</i> Schonbeck-Temsey	Geraniaceae	Ge	IT
<i>Hypericum scabrum</i> L.	Hypericaceae	He	IT
<i>Lamium album</i> L.	Lamiaceae	He	IT-ES
<i>Marrubium vulgare</i> L.	Lamiaceae	He	Cosm
<i>Nepeta fissa</i> C. A. Mey.	Lamiaceae	Th	IT
<i>Nepeta schiraziana</i> Boiss.	Lamiaceae	He	IT
<i>Phlomis anisodonta</i> Boiss.	Lamiaceae	He	IT
<i>Phlomis olivieri</i> Benth.	Lamiaceae	He	IT
<i>Rhabdosciadium straussii</i> Hausskn. Ex Bornm.	Apiaceae	He	IT
<i>Solenanthes stamineus</i> (Desf.) Wettst.	Boraginaceae	He	IT
<i>Stachys inflata</i> Benth.	Lamiaceae	He	IT
<i>Tanacetum polycephalum</i> Schultz-Bip	Asteraceae	He	IT
<i>Tulipa</i> sp.	Liliaceae	Ge	IT



شکل ۴- درصد فراوانی شکل‌های زیستی گونه‌های همراه گیاه *Kelussia odoratissima* Mozaff. در منطقه دره سپستان

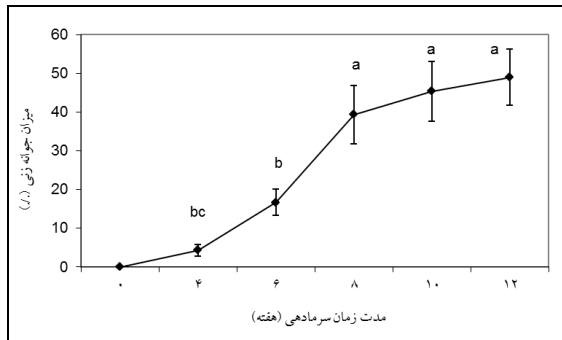
جدول ۳- شاخص‌های عددی غنا، تنوع، غالبیت و یکنواختی بر اساس میزان پوشش تاجی در منطقه دره سپستان

دره سپستان	شاخص	نوع شاخص
۳/۱۴	مارگالف	غنا
۰/۶۹۵	منهینیک	غنا
۱/۵۱	شانون	تنوع (هتروژنیته)
۱/۵۳	بریلوین	
۲/۹۹	سیمپسون 1/D	غالبیت
۰/۴۳۵	مک اینتاش D	
۰/۴۹۴	برگر پارکر D	
۰/۵۳۳	مک اینتاش	یکنواختی
۰/۸۵۳	کامارگو	
۰/۲	اسمیت-ویلسون	
۰/۵۰۱	پیلو	
۰/۱۳	1/D سیمپسون	

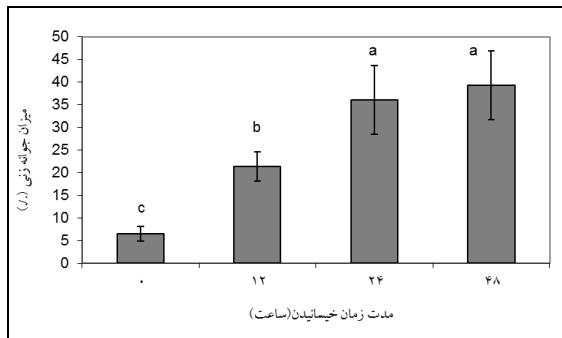


شکل ۵- نمودار رتبه-وفور بر اساس میزان تاج پوشش

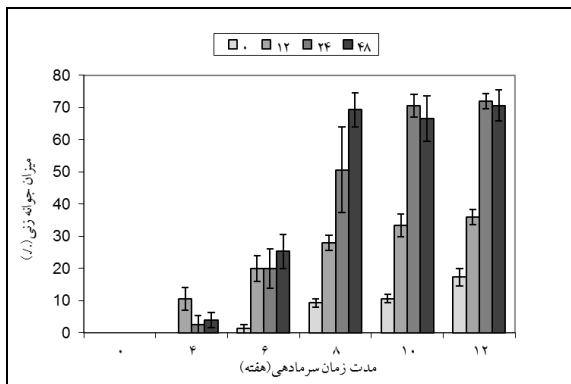
از ۱۲ هفته سرمادهی با تیمار ۲۴ یا ۴۸ ساعت خیساندن با ۱۰ هفته سرمادهی تفاوت معنی‌داری ندارد بهترین تیمار برای کسب حدود ۷۰ درصد جوانه‌زنی ترکیب ۲۴ ساعت خیساندن و ۱۰ هفته سرمادهی است.



شکل ۶- تأثیر مدت زمان سرمادهی بر درصد جوانه‌زنی بذور کلوس. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است.



شکل ۷- تأثیر مدت زمان خیساندن بر درصد جوانه‌زنی بذور کلوس. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است.



شکل ۸- تأثیر متقابل مدت زمان سرمادهی و مدت زمان خیساندن بر درصد جوانه‌زنی بذور کلوس

جوانه زنی بذور: بررسی اثر مدت زمان سرمادهی بر میزان جوانه زنی بذور نشان داد که با افزایش مدت زمان سرمادهی درصد جوانه‌زنی بذور افزایش یافته است (شکل ۶). تفاوت معنی‌داری بین درصد جوانه‌زنی در هفته هشتم با هفته دهم و دوازدهم وجود نداشت و بیانگر این است که سرمادهی بیش از هشت هفته ضرورتی ندارد. بررسی مقایسه میانگین تأثیر مدت زمان خیساندن بر درصد جوانه زنی کلوس بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ درصد نشان داد که میزان جوانه زنی بذور این گیاه ارتباط معنی‌داری با میزان خیساندن بذور دارد (شکل ۷)، به طوری که میانگین درصد جوانه‌زنی با تیمار ۱۲ ساعت خیساندن از ۶/۴ درصد در نمونه شاهد به ۲۱/۳ درصد و با ۲۴ ساعت خیساندن به ۳۶ درصد و با ۴۸ ساعت خیساندن به ۳۹/۳ درصد افزایش یافته است و این ارقام نشان می‌دهد که میانگین درصد جوانه زنی دو تیمار آخر حدود ۱/۵ برابر تیمار ۱۲ ساعته و ۶ برابر نمونه شاهد است. چون اختلاف معنی‌داری بین درصد جوانه‌زنی تیمار ۴۸ ساعته با تیمار ۲۴ ساعته وجود نداشت می‌توان نتیجه گرفت که زمان ۲۴ ساعت خیساندن بهترین طول زمان خیساندن بذور است. از این رو در آزمایش‌های بعدی از تیمار ۲۴ ساعته استفاده شده است.

بررسی اثر متقابل مدت زمان سرمادهی و مدت زمان خیساندن بر روی میزان جوانه‌زنی بذور نشان می‌دهد که با افزایش سرمادهی در هر تیمار، درصد جوانه‌زنی بذور افزایش یافته است (شکل ۸). بالاترین میزان جوانه‌زنی مربوط به تیمار ۲۴ ساعت خیساندن با ۱۲ هفته سرمادهی و ۷۲ درصد جوانه‌زنی در مقابل شاهد بدون خیساندن پس از ۱۲ هفته سرمادهی با ۱۷/۳۳ درصد بوده است. چون میزان جوانه‌زنی در تیمار ۲۴ ساعت خیساندن پس

کاریوتیپ: بررسی‌ها نشان داد که این گونه دارای سطح دیپلوئید بوده، دارای ۲۲ کروموزوم است (جدول ۴ و شکل ۹). بزرگترین کروموزوم دارای طول مطلق ۸/۴۴ میکرون و طول نسبی ۱۱/۴۱ و کوچکترین کروموزوم دارای طول مطلق ۳/۴۵ میکرون و طول نسبی ۴/۶۶ بود و هر دو از نوع ساب متاسانتریک هستند. تفاوت دامنه طول نسبی کروموزوم برابر با ۶/۷۵ به دست آمد. فرمول کاریوتیپی مجموعه هاپلوئیدی به صورت $M+7m+3sm$ است و کروموزوم‌های ۲ تا ۸ و ۱۰ متاسانتریک، کروموزوم‌های ۱ و ۹ و ۱۱ ساب‌متاسانتریک بودند. دامنه طول بازوی بلند از ۵/۳۳ در کروموزوم ۱ تا ۲/۵۲ در کروموزوم ۱۱ متغیر بود. دامنه طول بازوی کوتاه از ۳/۶۳ در کروموزوم ۳ تا ۰/۹۳ در کروموزوم ۱۱ مشاهده شد. میانگین نسبت بازوی بلند به کوتاه برابر با ۱/۵۷، میانگین نسبت

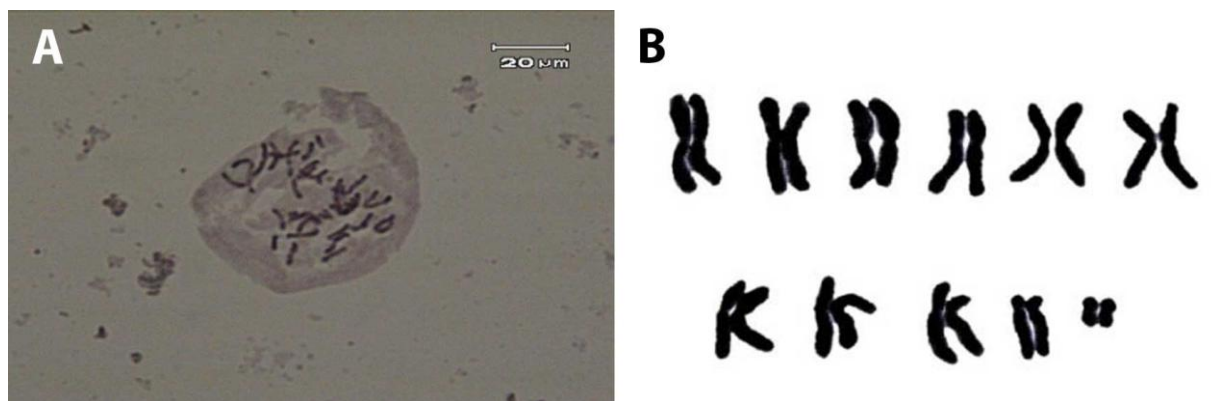
بازوی کوتاه به بلند برابر با ۰/۶۸، میانگین طول کروموزوم ۶/۷۲ به دست آمد. دامنه شاخص سانترومری از ۴۷/۳۹ درصد در کروموزوم ۳ تا ۲۶/۹۵ درصد در کروموزوم ۱۱ و برابر با ۲۰/۴۴ درصد برآورد گردید. نسبت طول بزرگترین کروموزوم به کوچکترین کروموزوم برابر با ۲/۴۴ محاسبه گردید.

مطالعه گرده گل با میکروسکوپ الکترونی

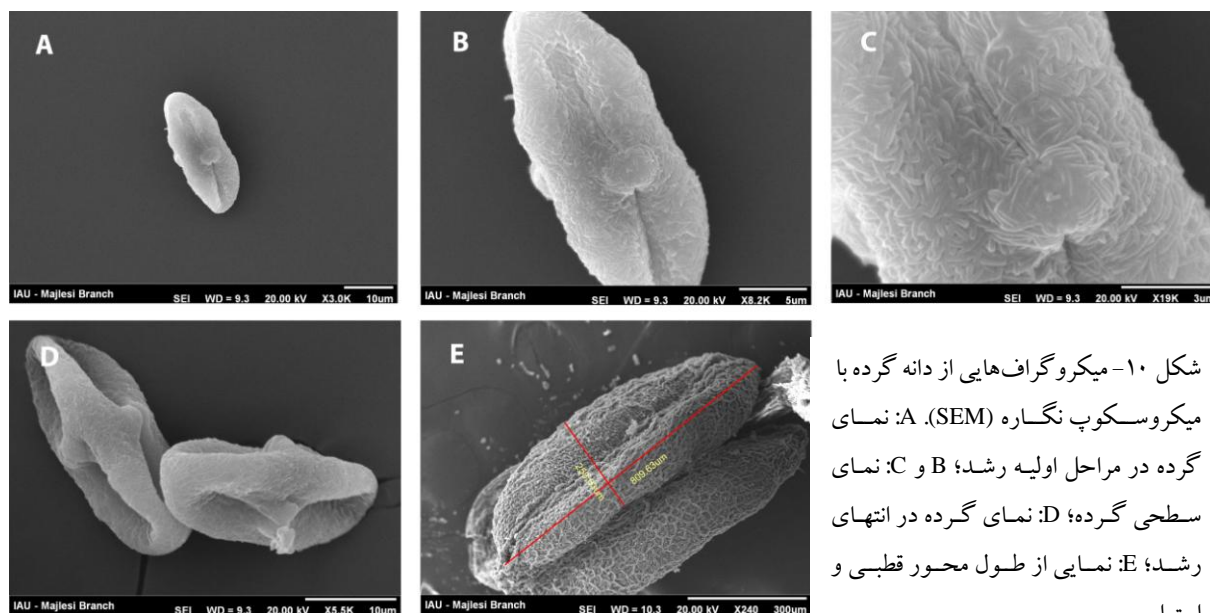
نگاره (SEM): نتایج نشان داد که دانه گرده گونه کلوس، تیپ عمومی دانه گرده در خانواده چتریان را دارد. دانه گرده این گونه از نظر شکل کلی، استوانه‌ای مستطیلی است که در جهت محور قطبی طویل شده و دوکی شکل (prolate) است. از نظر ساختار هم دارای شیار و هم دارای منفذ است (colporate) و سطح آن نیز مشبک (rugulate) است یعنی دارای عناصر آگزینی طویل تر از ۱ میکرومتر بوده، که به صورت نامنظم مرتب شده‌اند.

جدول ۴- تحلیل کاریوتیپ در گونه کلوس از منطقه دره سپستان. M و m: متاسانتریک، sm: ساب‌متاسانتریک

شماره کروموزوم	نوع کروموزوم	طول کل کروموزوم (میکرون)	طول نسبی کروموزوم	طول بازوی بلند (L)	طول بازوی کوتاه (S)	طول بازوی بلند / بازوی کوتاه (L/S)
1	sm	۸/۴۴	۱۱/۴۱	۵/۳۳	۳/۱۱	۱/۷۱
2	m	۷/۶۶	۱۰/۳۶	۴/۶۶	۳	۱/۵۵
3	m	۷/۶۶	۱۰/۳۶	۴/۰۳	۳/۶۳	۱/۱۱
4	m	۷/۱۵	۹/۶۷	۴	۳/۱۵	۱/۲۶
5	m	۷/۱۵	۹/۶۷	۴/۱۱	۳/۰۴	۱/۳۵
6	m	۷/۰۳	۹/۵۰	۴/۰۳	۳	۱/۳۴
7	m	۷/۰۳	۹/۵۰	۴/۰۳	۳	۱/۳۴
8	m	۶/۴۵	۸/۷۲	۴/۰۳	۲/۴۲	۱/۶۶
9	sm	۶/۴۵	۸/۷۲	۴/۴۵	۲	۲/۲۲
10	M	۵/۴۶	۷/۳۸	۲/۷۳	۲/۷۳	۱
11	sm	۳/۴۵	۴/۶۶	۲/۵۲	۰/۹۳	۲/۷۱
میانگین		۶/۷۲	۹/۰۹	۴/۰۶	۲/۶۶	۱/۵۷



شکل ۹- (A) پهنه میتوزی و (B) کاریوگرام گونه *Kelussia odoratissima* Mozaff.



شکل ۱۰- میکروگراف‌هایی از دانه گرده با میکروسکوپ نگاره (SEM). A: نمای گرده در مراحل اولیه رشد؛ B و C: نمای سطحی گرده؛ D: نمای گرده در انتهای رشد؛ E: نمایی از طول محور قطبی و استوایی

از هم، برچه‌ها بین دو تا پنج عدد و کاملاً پیوسته به هم. گل آذین چتر مرکب به ارتفاع ۱۲۰ تا ۲۰۰ سانتی‌متر، چترها دارای انشعابات مرکب و طول متوسط انشعابات چتر بین ۲ تا ۴ سانتی‌متر. طول میوه از ۱۰ تا ۱۲ میلی‌متر، پهنای میوه از ۶ تا ۸ میلی‌متر، سطح میوه صاف، فاقد کُرک و دارای سه رگه.

وضعیت تنوع منطقه با توجه به اعداد جدول ۳ چندان مطلوب نیست. معمولاً شاخص تنوع شانن بین

بحث

بر اساس بررسی‌های انجام شده مشخص شد که کلوس گیاهی است علفی چند ساله، ساقه کوتاه، تمام برگ‌ها به صورت قاعده‌ای و ساقه‌ای و غلاف‌دار. برگ‌ها به بلندی ۳۵ تا ۱۰۰ سانتی‌متر با پهنک مرکب شانه‌ای و سطح صاف و فاقد کُرک. گل‌ها به صورت نر-ماده، زرد رنگ، گلبرگ‌های یک گل با اندازه مساوی و جدا از هم، پرچم‌ها پنج عدد با میله‌های جدا

۰ تا ۴/۵ تغییر می‌کند و وضعیت سلامتی جوامع را نشان می‌دهد. یعنی، برای جوامع تحت تنش یا تخریب مقدار این شاخص برابر با صفر ۰ و برای جوامع عادی (نرمال) برابر با ۴/۵ خواهد شد (Ejtehadi et al., 2009). بنابراین، عدد ۱/۵۱ تا حدودی شرایط سخت منطقه را نشان می‌دهد. همچنین، شاخص یکنواختی سیمپسون بین ۰ (کمترین یکنواختی) و ۱ (بیشترین یکنواختی) متغیر است (Ejtehadi et al., 2009). نتایج این بررسی، شاخص سیمپسون را برای منطقه دره سپستان ۰/۱۳ محاسبه کرد که این عدد نیز یکنواختی پایین و همگن بودن منطقه را نشان می‌دهد. در مناطق همگن، یک یا چندین گونه غالب هستند و طبق مشاهدات صحرایی در این پژوهش، در دره سپستان، غالبیت گونه‌های کلوس و گون آشکار بود. نمودار رتبه-وفور گونه‌ای (شکل ۲) این مطلب را تأیید می‌کند چرا که شیب منحنی در بالا زیاد است. باید تأکید کرد که اگرچه حضور نسبتاً زیاد مثلاً گونه کلوس به طور غیر مستقیم باعث کاهش یکنواختی شده است ولی نباید تصور کرد که کاهش آن می‌تواند بلافاصله باعث افزایش تنوع شود. آنچه که این تصور را از بین می‌برد نقش پرستاری کلوس برای برخی گونه‌هاست. بر اساس بازدیدهای صحرایی در پژوهش حاضر به نظر می‌رسد کلوس با مهیا کردن شرایطی خاص برای برخی گونه‌ها (مثلاً بروموس‌ها)، بستری برای وفور آنها در منطقه فراهم می‌کند. این مسأله در بازدیدهای صحرایی، با مشاهده کم بروموس در مکان‌هایی که گونه کلوس حضور نداشت، تأیید شد. پس با محافظت از این گونه، هم از انقراض آن و هم گیاهان زیر اشکوب جلوگیری می‌شود.

نتایج این پژوهش نشان داد که سرمادهی اثر

معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذور کلوس دارد. نیاز به سرما با اکولوژی منطقه رویش و زمان جوانه‌زنی بذره‌های کلوس هماهنگی دارد. چون این گیاه در اواخر زمستان و در ارتفاعات برفگیر جوانه‌زده و رشد می‌کند. به نظر می‌رسد این نوع خواب، روندی تکاملی برای بقا و سازگاری گیاه با آشیان اکولوژیک خود محسوب می‌شود. Walck و Hidayati (۲۰۰۴) نیز گزارش کردند که این نوع خواب نوعی سازش حفاظت شده تبارشناختی در میان چتریان مناطق سردسیری نظیر *Osmorhiza depauperata* است. بر اساس نتایج، پیش‌تیمار خیساندن نیز درصد جوانه‌زنی بذور را افزایش داده است. این در حالی است که Biddington و همکاران (۱۹۸۲) ذکر کرده‌اند که بذر کرفس زراعی باید سه روز در آب خیسانده شود تا مواد بازدارنده آن شسته و قادر به جوانه زنی باشد. آنها نشان دادند که مواد ممانعت‌کننده داخلی در خواب بذرهایی که نیاز به سرما دارند، مؤثرند. در چنین بذوری، شستشو یا خیساندن می‌تواند بازدارنده‌های محلول در آب را از پوسته و یا رویان بذر خارج نموده، درصد جوانه‌زنی را افزایش دهد. به هنگام خیساندن بذور کلوس نیز، ماده زردرنگی از پوسته به درون محلول تراوش می‌شود. ماده رنگی از جمله ترکیبات فنلی است. در بررسی‌های متعدد ثابت شده است که ترکیبات فنلی پوسته بذر، به ویژه فلاونوئیدها، بر خواب و جوانه‌زنی بذر تأثیرگذارند (Debeaujon and Koornneef, 2000). فلاونوئیدها، خواب پوسته را در بذر با افزایش ضخامت و نیروی مکانیکی در پوسته تقویت می‌کنند. در حقیقت، لایه‌های سلولی در بذرهای فاقد رنگیزه نسبت به لایه‌های سلولی دارای رنگیزه به راحتی شکافته

دارد. این تفاوت می‌تواند ناشی از رفتار متفاوت کروموزوم‌ها در زمان‌های مختلف نمونه‌گیری یا ناخالص بودن بذور جمع‌آوری شده باشد. در پایان، باید اشاره کرد با توجه به اهمیت این گونه در منطقه و تغییرات آب و هوایی کشور، لازم است مطالعه‌ای مداوم و چند ساله جهت یافتن ارتباط منطقی بین شرایط آب و هوایی و میزان جوانه زنی، فصل اتمام دوره رشد رویشی، آغاز گل‌دهی و تولید بذر انجام شود و لازمه این امر داشتن یک ایستگاه هواشناسی در منطقه به منظور ثبت دقیق شرایط جوی است تا بتوان با مدل کردن رشد و تولید گیاه با شرایط اقلیمی آینده، راهکار مناسبی برای جلوگیری از انقراض آن فراهم کرد.

سپاسگزاری

این پژوهش بر اساس طرح پژوهشی به شماره ۳۷۷۲ است. نگارندگان از مسئولان دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان به خاطر حمایت مالی و از جناب آقای مهندس میرطالبی عضو هیأت علمی جهاد کشاورزی به خاطر انجام هماهنگی‌های لازم برای بازدید از منطقه سپاسگزاری می‌نمایند.

می‌شوند (Debeaujon and Koornneef, 2000). مطالعات انجام شده توسط Valivand (۲۰۰۹) نیز نشان داد که سال برداشت، پیش‌خیساندن و سرمادهی مرطوب، اثر مهمی در شکستن خواب بذر کلوس دارد. با توجه به مشاهدات حاصل از بررسی کاربوتیپ هفت جمعیت متعلق به کلوس مشخص گردید که این گونه دارای سطح دیپلوئید، عدد پایه کروموزومی $x=11$ و عدد کروموزومی $2n=2x=22$ است و کروموزوم‌های این گونه از نظر اندازه تقریباً متوسط هستند. نتایج پژوهش حاضر، نشان داد که در فرمول کاربوتیپی یک جفت کروموزوم بسیار کوچک وجود دارد. همچنین، کروموزوم‌ها در گونه کلوس از نوع متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک هستند و این گونه دارای کاربوتیپی تقریباً متقارن است و گرایش مختصری به سوی نامتقارن بودن از طریق واژگونی‌های پری‌سانتریک و جابه‌جایی نابرابر قسمت‌هایی از بازوهای کروموزومی دارد. مطالعه Jaberolansar و همکاران (۲۰۱۰) دیپلوئید بودن با عدد پایه کروموزومی ۱۱ این گونه را تأیید کرده است ولی آنها نشان دادند که جمعیت کلوس منطقه فریدون‌شهر، متقارن‌ترین کاربوتیپ را در بین جمعیت‌ها

منابع

- Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. (2007) Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems. *Food Chemistry* 105(1): 57-64.
- Asgary, S., Naderi, Gh., Dashti, Gh. and Paknahad, Z. (2004) Effect of *Amirkabiria odoratissima* mozaff. on the development and progression of fatty streaks in hypercholesterolemic rabbits. *Phytotherapy Research* 18(5): 370-372.
- Assadi, M. (Ed.) (1988-2011) *Flora of Iran*. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran (in Persian).
- Biddington, N. L., Brouckle hourst, D. A., Dtarmun, A. S. and Dearman, J. (1982) The prevention of dehydration injury in celery (*Apium graveolens*) seeds by PEG, ABA, dark and light temperatures. *Plant Physiology* 55: 407-409.
- Debeaujon, I. and Koornneef, M. (2000) Gibberellin requirement for *Arabidopsis* seed germination is

- determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid. *Plant Physiology* 122: 415-424.
- Ejtehadi, H., Sepehry, A., Akkafi, H. R. (2009) Methods of measuring biodiversity. Ferdowsi University Press, Mashhad (in Persian).
- Etemadi, N., Haghghi, M., Nikbakht, A. and Zamani, Z. (2010) Methods to promote germination of *Kelussia odoratissima* Mozaff. an Iranian endemic medicinal plant. *Herba Polonica* 56(2): 21-27.
- Ghahreman, A. (1979-1992) Colorful flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran (in Persian).
- Hajhashemi, V., Ghanadi, A. and Soltani, L. (2003) Analgesic and antiinflammatory effects of *Amirkabiria odoratissima*. *Journal of Research in Medical Sciences* 7(2): 121-125.
- Jaberolansar, Z., Mirlohi, A., Basiri, M., Iravani, M. and Mohamadi, R. (2010) Multivariate analysis of cytogenetic character in different population of wild celery (*Kelussia odoratissima*). *Modern Genetics* 5(3): 35-43 (in Persian).
- Jahantab, E. (2009) A study on distribution and habitat characteristic of *Kelussia odoratissima* mozaff. in Kohgiluyeh. MSc thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran (in Persian).
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. A. (1965) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Majnoonian, H. and Majnoonian, B. (2004) Geobotanical foundations of the Middle East. Environmental Protection Agency, Tehran (in Persian).
- Mozaffarian, V. (2003) Two news genera of Iranian umbelliferae. *Botanicheskii Zhurnal (Leningrad)* 2: 88-94.
- Punt, W., Hoen, P. P., Blackmore, S., Nilsson, S. and Le Thomas, A. (2007) Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology* 143: 1-81.
- Rabbani, M., Sajjadi, S. E. and Sadeghi, M. (2011) Chemical composition of the essential oil from *Kelussia odoratissima* Mozaff. and the evaluation of its sedative and anxiolytic effects in mice. *Clinics* 66(5): 843-848.
- Raunkiaer, C. (1934) Plant life forms and statistical plant geography. Clarendon Press, Oxford.
- Rechinger, K. H. (1967-1998) Flora Iranica. vols. 1-176. Akademische Druck und verlagsanstalt, Graz.
- Roghani, M., Baluchnejad Mojarad, T. and Ramazani, M. (2008) The effect of chronic oral feeding of aerial part of *Apium graveolens* L. on blood levels of glucose and lipids of streptozotocin-diabetic rats. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 23(4): 458-467 (in Persian).
- Saeedi, K. A. and Omidbaigi, R. (2009) Evaluation of content and composition of fatty acids, total phenolic and essential oil content of *Kelussia odoratissima* Mozaff. seed. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 25(1): 113-119 (in Persian).
- Salimi, M., Ebrahimi, A., Shojaee Asadieh, Z. and Saei Dehkordi, S. S. (2010) Essential oil composition of *Kelussia odoratissima* Mozaff.. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 26(2): 147-156 (in Persian).
- Valivand, M. (2009) Investigatin of seed dormancyking and effect of priming germinatn of *Kelussia odoratissima* Mozaff. seeds. MSc thesis, Shahrekord Universty, Shahrekord, Iran (in Persian).
- Walck, J. L. and Hidayati, S. N. (2004) Germination ecophysiology of the western North American

species *Osmorhiza depauperata* (Apiaceae): Implications of preadaptation and phylogenetic niche conservatism in seed dormancy evolution. *Seed Science Research* 14: 387-394.

Zarin Kafsh, M. (1993) *Applied soil science*. Tehran University Press, Tehran (in Persian).

Bagheri, H., Shahmoradi, A. A. and Adnani, S. M. (2011) Autecology of *Stipagrostis plumosa* in rangeland of Qom province. *Iranian Journal of Range and Desert Research* 18(2): 187-201 (in Persian).

Population of protection of natural resources and environment (2005) *Kelussia odoratissima*. Green Message Organization Publisher, Isfahan (in Persian).

**Autecological, palynological and karyological characterization
of *Kelussia odoratissima* Mozaff.
(A case study in Dare Sepestan region from Fereydoon shahr in Isfahan province)**

Hamid Reza Akkafi *, Maryam Valivand and Togha Jenabi

Department of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Falavarjan, Iran

Abstract

Accessibility to a major portion of information about vegetation function of an ecosystem is provided by autecological studies. This type of studies provides valuable information which is necessary for ecosystem management. In this research, characteristics such as: phenology, seed germination, karyotype, palynology and some of biodiversity indices for habitat of *Kelussia* were studied. The results indicated that *Kelussia* was a perennial herb, stem is short and covered by sheathing leaf, leaves are basal, flowers are bisexual in compound umbels, inflorescence height between 120-200 centimeters, fruits by two mericarps and seed with 3 ribs. Sprouting of the plant began in early March in the snow and life goes on until early September, when the seeds are mature. Cytologically this species is diploid with basic chromosome numbers $x=11$. Chromosomes are approximately average in size and karyotype is asymmetric. Chilling had very significant effect on seed germination of *Kelussia* and soaking treatment increased germination percentage. The palynological observations revealed that pollen grains of *kelussia* are prolate in shape, are operculate and tricolporate structurally and the surface is regulate. Diversity indices also showed low diversity in region.

Key words: Germination, Pollen grain, Diversity indices, Cytology, *Kelussia*

* Corresponding Author: akkafi@iaufala.ac.ir