

بررسی ریخت‌شناسی، تشریحی و مولکولی دو واریته از گونه *Tamarix tetragyna* در ایران

مژگان ویسی، مسعود شیدایی و فهیمه کوه‌دار

گروه علوم و زیست فناوری گیاهی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: مژگان ویسی؛ mozhgan_veisi@yahoo.com

چکیده. سرده گز با حدود ۷۳ گونه بزرگترین سرده تیره گزیان است. یکی از گونه‌های این سرده، گونه *Tamarix tetragyna* است که در منابع مختلف با استفاده از صفات ریخت‌شناسی دو واریته *T. tetragyna* var. *deserti* و *T. tetragyna* var. *meyeri* Boiss. برای جدایی این دو واریته، استفاده از مطالعات دیگر همچون مطالعات تشریحی و مولکولی و همچنین یافتن صفات موثرتر ریخت‌شناسی برای جدایی دو واریته می‌تواند حائز اهمیت باشد. در این پژوهش به منظور تایید وجود دو واریته در ایران نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری و با استفاده از مطالعات ریخت‌شناسی، تشریحی و مولکولی مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور انجام مطالعات ریخت‌شناسی ۶ صفت کمی و کیفی در ۱۲ نماینده از این دو واریته مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز ANOVA تفاوت معنی‌داری را بین صفات مورد بررسی نشان داد. برای مطالعات تشریحی در این دو واریته ۱۰ صفت در ۴ نماینده از دو واریته مورد بررسی قرار گرفت که این صفات نیز تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. آنالیز AMOVA بر اساس مطالعات مولکولی با استفاده از نشانگر SCoT تفاوت معنی‌داری در بین دو واریته نشان داد. نمودار PCA biplot برای نشان دادن متغیرترین صفات در مطالعات ریخت‌شناسی و تشریحی رسم شد. نمودارهای خوشه‌ای مختلف برای نشان دادن جدایی مرز بین واریته‌ها در هر سه مطالعه رسم شدند. این نتایج نشان داد که استفاده از صفات تشخیصی مناسب در مطالعات ریخت‌شناسی و تشریحی و همچنین استفاده از نشانگرهای مولکولی می‌تواند در نشان دادن جدایی مرز این دو واریته موثر باشد.

واژه‌های کلیدی. آرایه‌شناسی، جدایی واریته‌ها، صفات تشریحی، صفات ریخت‌شناسی، SCoT

A morphological, anatomical and molecular study of two varieties of *Tamarix tetragyna* in Iran

Mozhgan Veisi, Masoud Sheidai & Fahimeh Koohdar

Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Correspondent author: Mozhgan veisi; mozhgan_veisi@yahoo.com

Abstract. *Tamarix* is the largest genus in the family Tamaricaceae with about 73 species. *T. tetragyna* var. *meyeri* and *T. tetragyna* var. *deserti* were previously reported from Iran. Due to the presence of overlapping features in the previously designed identification keys for the separation of these two varieties, it could be helpful to use other characters and character states derived from other sources, such as anatomical and molecular studies, in addition to find more effective morphological features for the separation of the two varieties. Therefore, the present study aimed to differentiate these two presumed varieties by multiple approaches using morphological, anatomical and molecular data. For morphological study, 6 quantitative and qualitative characters were examined in 12 samples of the two varieties. ANOVA analysis showed a significant difference between the studied characters. For anatomical study, 10 traits were examined in 4 samples of the two varieties, which also showed a significant difference. AMOVA analysis based on molecular studies using Scot marker showed a significant difference between the two varieties. The PCA biplot show the most variable traits in morphological and anatomical studies. For varieties delimitation, different clustering methods were drawn in all three studies. The results of this study showed that the use of appropriate diagnostic traits in morphological and anatomical studies as well as the use of molecular markers can be effective in showing the separated boundaries of the two varieties studied.

Key words. anatomical characters, morphological characters, SCoT, taxonomy, varieties delimitation

مقدمه

تیره گزبان (Tamaricaceae) شامل ۳ تا ۵ سرده و حدود ۱۱۲ گونه درجهان است که در مناطق معتدل و نیمه گرمسیری آفریقا، اروپا و آسیا و در مناطق شور، خشک، بیابانی، استپی و در امتداد رودخانه‌ها پراکنده‌اند (Olson et al., 2003; POWO, 2021).

محدوده پراکنش سرده‌های این تیره در ایران در مناطق ایران-تورانی و صحارا-سندی است (Gaskin, 2003; Baum, 1967). بر اساس فلور ایران (Assadi, 1988) از این تیره سه سرده *Myricaria* Desv. و *Tamarix* L. و *Reaumuria* L. یافت می‌شوند (Gaskin et al., 2017; Gaskin, 2003). که بیشتر در کنار آب‌های جاری رودخانه‌ها، شوره‌زارها، حاشیه کویرها و اماکنی نظیر آن‌ها دیده می‌شوند (Gaskin et al., 2003; Baum, 1967; Schiman, 1964). سهم عمده پراکنش این تیره در ایران در استان‌های سیستان و بلوچستان و کرمان است (Assadi, 1988).

سرده گز (*Tamarix*) یکی از سرده‌های مهم تیره گزبان است که حدود ۷۳ گونه دارد و عمدتاً در مناطق شور بیابانی و نیمه بیابانی آسیا، اروپا، شمال شرقی و جنوب غربی آفریقا پراکنش دارد (Sheidai et al., 2018; POWO, 2021). گستره جغرافیایی طبیعی این سرده در جنوب اروپا و از مسیر خاورمیانه به شمال آفریقا و از سوی دیگر به هند، پاکستان و چین می‌رسد (Daoyuan et al., 2003). از مراکز اصلی گونه‌زایی این سرده می‌توان به پاکستان، افغانستان، ایران، جنوب ترکمنستان، شرق چین و نواحی شرقی مدیترانه اشاره کرد.

در بررسی‌های ریخت‌شناسی در برخی از گونه‌های سرده *Tamarix* مشخص شد که تعداد کاسبرگ، گلبرگ و پرچم و همچنین شکل برگ‌ها، تعداد قطعات گل، نوع دیسک پرچم، شکل گلبرگ‌ها، وجود یا فقدان کرک در محور سنبله یا خوشه و یا طرز قرار گرفتن میله‌های پرچم از موثرترین صفات در جدایی گونه‌های این سرده هستند (Arianmanesh et al., 2016). مطالعات تشریحی نیز نشان داد که وجود کرک‌های اپیدرمی، تعداد و شکل سلول‌های پوست، نوع آوند آبکش و چوب از مهم‌ترین صفات تشریحی در جدایی گونه‌ها در این سرده است (Daoyuan et al., 2003).

به دلیل وجود جریان ژنی بالا در بین گونه‌های سرده *Tamarix*، گیاهانی با خصوصیات ریخت‌شناسی حدواسط بوجود می‌آید که رده‌بندی و آرایه‌شناسی این سرده را با مشکل مواجه می‌سازد (Baum, 1967; Ijbari et al., 2014). رویکرد مناسب برای مطالعه نمونه‌های حدواسط و هیبرید در بین گونه‌های

سرده گز استفاده از نشانگرهای مولکولی است (Gaskin & Kazmer, 2009). شناسایی گونه‌های سرده گز با استفاده از مارکر مولکولی ITS و مطالعه جدایی مرز بین گونه‌ها در این سرده با استفاده از نشانگر ISSR انجام گرفت. نمودار HGT حاصل از مطالعه ITS و صفات ریخت‌شناسی وجود هیبریداسیون بین گونه‌های سرده *Tamarix* را تأیید نمود (Sheidai et al., 2019).

گونه *Tamarix tetragyna* Ehrenb. یکی از گونه‌های سرده گز است که دارای گیاهانی درختچه‌ای، با کرک‌های غده‌ای ترش‌حی پراکنده است. برگ‌ها در این گونه در قاعده باریک و گوشه‌ای شکل، دارای نوک با بافت غضروفی است. گل آذین بهاره، مترکم و غیرمترکم، دارای پایک پوشیده از برگ‌های برابر و یا بلندتر از کاسه‌گل است. دمگل در این گونه کوتاه‌تر از کاسه‌گل بوده و کاسبرگ‌ها به تعداد ۴ عدد به شکل تخم مرغی، نوک کند و یا گاهی کاسبرگ‌های بیرونی نوک تیز، در حاشیه صاف و یا دنداندار هستند. گلبرگ‌ها به تعداد ۴ عدد، غیرریزان، واژتخم-مرغی متمایل به قاشقی، سفید رنگ بوده و پرچم‌ها به تعداد ۴ عدد متصل به حاشیه دیسک است. این گونه در فلور ایران بر اساس صفت نوع گل آذین (تراکم) و اندازه پهنای آن به دو واریته *T. tetragyna* و *T. tetragyna* var. *meyeri* Boiss. (Assadi, 1988) تقسیم شده است.

در بررسی تعدادی از جمعیت‌های گونه *Tamarix laxa* Willd. بر اساس صفات ریختی و تشریحی مشخص شد که نهال‌های این گونه به دلیل سازگاری بالای صفات ریختی و تشریحی می‌توانند شرایط سخت و خشک بیابانی را تحمل کنند (Peiyou et al., 1986; Winkel & Brotherson, 2004). همچنین در مطالعات تشریحی صورت گرفته در ساختار تشریحی برگ گونه *T. arborea* var. *arborea* مشخص شد که اپیدرم برگ توسط یک لایه ضخیم کوتیکول و موم پوشانده شده‌است که نوعی سازگاری مفید با شرایط شوری است (Alaimo et al., 2013).

مارکرهای مولکولی ابزار قدرتمندی در ارزیابی تنوع ژنتیکی هم درون و هم در بین جمعیت‌ها توسط آنالیز تعداد وسیعی از لوکوس‌های پراکنده در ژنوم است (Powell et al., 1996). تکنیک‌های مربوط به مارکرهای ژنتیک مولکولی نقش بسیار زیادی در تخمین و ارزیابی تنوع ژنتیکی در مجموعه‌های ژنتیکی و بانک ژنومی دارند (Bretting & Widrechner, 1995; Brown & Kresovich, 1996).

به دلیل پیشرفت در زمینه‌های گوناگون ژنتیک مولکولی طی چند دهه اخیر طیف وسیعی از تکنیک‌های مولکولی جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی ایجاد شده است. اخیراً نشانگر جدیدی به

مطالعات تشریحی

نمونه‌های گیاه بالغ جدا شده و بلافاصله در فرمالین-استیک اسید-الکل (FAA) (فرمالین ۵ درصد: اسید استیک ۵ درصد و ۵۰ درصد اتانول ۹۰ درصد) تثبیت گردید (Jensen, 1962). نمونه‌ها تا زمان برش در الکل ۷۰ درصد و ۴ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شدند. پس از تهیه مقاطع عرضی از نمونه‌های برگ و ساقه، با آب مقطر شستشو داده و در محلول ۵ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۲۰ دقیقه برای پاکسازی قرار داده شده و با آب مقطر شستشو داده شدند. این برش‌ها با متیل بلو و کارمین رنگ آمیزی و با استفاده از چسب کانادا بالزام بر روی اسلایدها نصب می‌شود. برش‌های نازک زیر میکروسکوپ مدل OLYMPUS مشاهده شدند (Sheidai et al., 2006). صفات تشریحی ساقه و برگ در جدول ۲ آورده شده است.

در مطالعات تشریحی برای گروه‌بندی نمونه‌ها از آنالیز UPGMA استفاده شد. آنالیز ANOVA (تجزیه و تحلیل) برای نشان دادن تفاوت‌های تشریحی بین افراد یک گونه انجام شد. در حالی که PCA biplot برای شناسایی متغیرترین صفات تشریحی در افراد مورد مطالعه استفاده شد (Podani, 2000). ورژن PAST 2.17 برای تجزیه و تحلیل آماری چند متغیره داده‌ها استفاده شد (Hammer et al., 2012).

مطالعات مولکولی

برگ‌های تازه جمع‌آوری شده در پودر ژل سیلیکاژل خشک شدند، استخراج DNA ژنومی با استفاده از پروتکل CTAB ذغال فعال انجام شد (Sheidai et al., 2013). کیفیت و کمیت DNA استخراج شده به ترتیب با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد و طیف سنج Nano Drop ارزیابی شد (Križman et al., 2006). چهار آغازگر (SCoT1، SCoT2، SCoT36، SCoT41) انتخاب شدند (Collard & Mackill, 2009). پرایمرهای مورد استفاده در واکنش‌های SCoT-PCR به صورت خلاصه در جدول ۳ آورده شده است.

واکنش‌های PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱۰ میلی‌مولار بافر Tris-HCl در pH 8؛ ۵۰ میلی‌مولار KCl؛ ۱/۵ میلی‌مولار MgCl₂؛ ۰/۲ میلی‌مولار از هر dNTP (Bioron, Germany)؛ ۰/۲ میکرومولار آغازگر منفرد؛ ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی و ۳ U تک DNA پلی‌مراز انجام شد. برنامه دمایی SCoT-PCR که در آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت به صورت خلاصه در جدول ۴ آورده شده است.

محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد با رنگ آمیزی پاور لود مشاهده شدند. اندازه قطعه با استفاده از نردبان اندازه مولکولی ۱۰۰ جفت باز (Lader) تخمین زده شد (Fermentas, Germany).

نام نشانگر Start Codon Targeted (SCoT) برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و تعیین مرز گونه‌ها و فرم‌های پایین‌تر از سطح گونه ایجاد شده است (Collard & Mackill, 2009). نشانگر SCoT عموماً مبتنی بر نواحی حفاظت شده ژنوم گیاه است که توسط کدون شروع ATG احاطه شده است (Sawant et al., 1999). این نشانگر در گونه‌های مختلف گیاهی مانند برنج، انگور، سیب‌زمینی، پرتقال، بادام زمینی و نیشکر و هم‌چنین نخل خرما استفاده شده است (Al-Qurainy et al., 2015).

با استفاده از مطالعه خصوصیات ریختی و مولکولی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان‌های سیستان و بلوچستان، کرمان و خراسان جنوبی وجود دو سطح آرایه‌شناختی پایین‌تر از سطح گونه در گونه *Tamarix stricta* Boiss. نشان داده شد (Mirshkari et al., 2019). در یک مطالعه دو فرم پایین‌تر از سطح گونه در گونه *T. ramosissima* با استفاده از صفات تشریحی، ریختی و مولکولی با مارکرهای ITS و ISSR پیشنهاد داده شد (Marefatyan et al., in press).

به دلیل وجود همپوشانی در صفات ریخت‌شناسی در کلید شناسایی دو وارسته گونه *T. tetragyna* هدف از این پژوهش تایید وجود یا نبود دو وارسته در این گونه در ایران با استفاده از مطالعات ریخت‌شناسی، تشریحی و مولکولی است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

برای مطالعات ریخت‌شناسی ۱۲ نمونه و برای مطالعات تشریحی ۴ نمونه و برای مطالعات مولکولی ۵ نمونه از دو وارسته گونه *T. tetragyna* از رویشگاه‌های طبیعی جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها این دو وارسته با شماره‌های هرباریومی HSBU-2018615 تا HSBU-2018636 در هرباریوم دانشگاه شهیدبهشتی نگهداری می‌شوند.

مطالعات ریخت‌شناسی

در مجموع ۶ صفت موثر در ریخت‌شناسی (۴ کمی، ۲ کیفی) مورد مطالعه قرار گرفتند (جدول ۱). صفات به صورت دو حالت و چند حالت کد گذاری شده است. آنالیز ANOVA (تجزیه و تحلیل) برای نشان دادن تفاوت ریخت‌شناسی بین نماینده وارسته‌ها انجام شد. در حالی که PCA biplot برای شناسایی متغیرترین صفات ریخت‌شناسی میان افراد مورد مطالعه رسم شد (Podani, 2000). برای بررسی جدایی مرز بین وارسته‌ها از آنالیز خوشه‌ای Ward استفاده شد (Podani, 2000). تجزیه و تحلیل آماری چند متغیره داده‌ها با استفاده از برنامه PAST 2.17 انجام شد (Hammer et al., 2012).

جدول ۱- صفات ریخت شناسی مورد مطالعه در افراد گونه *T. tetragyna*.

Table 1. Morphological characters studied in *T. tetragyna*.

| N | Character | State (code) |
|---|-----------------------|--------------------------|
| 1 | Number of petals | 4(1),5(2) |
| 2 | Number of sepals | 4(1),5(2) |
| 3 | Number of stamen rows | One row (1),two rows(2) |
| 4 | Outer sepal | Triangular(1),concave(2) |
| 5 | Inner sepal | Triangular(1),concave(2) |
| 6 | Number of stamen | 4(1),5(2),more than5(3) |

جدول ۲- صفات تشریحی مورد مطالعه ساقه و برگ افراد گونه *T. tetragyna*.

Table 2. Stem and leaf anatomical traits studied in *T. tetragyna*.

| N | Character | State (code) |
|----|--|---|
| 1 | Length of stem epidermis to the entire stem | 0.01-0.03(1),0.04-0.06(2) |
| 2 | Cortex to cross section of stem | 0.05-0.14(1),0.15-0.26(2) |
| 3 | Stem sclerenchyma to stem cross section | 0.02-0.08(1) |
| 4 | Number of stem vascular bundles | 4.9-6.7(1),6.5-8.5(2),8.6-9.9(3),11-12(4) |
| 5 | Type xylem | Discontinuous(1),Continuous(2) |
| 6 | Type phloem | Continuous(2),Discontinuous(1) |
| 7 | How much does the leaf surround the stem | 3/4(1),2/4(2),1/4(3) |
| 8 | Length of palisade parenchyma to the entire Leaf | 0.15-0.25(1),0.26-0.32(2),0.34-0.45(3) |
| 9 | Number of leaf vascular bundles | 5-10(1),11-15(2),16-20(3),20-25-26(4) |
| 10 | Length of leaf epidermis to the entire Leaf | 0.07-0.12(1),0.12-0.19(2) |

جدول ۳- نام و ترادف پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR با نشانگر SCoT.

Table 3. Primers used in PCR reaction with SCoT marker.

| N | Primer | Sequence |
|---|--------|----------------------------|
| 1 | SCoT1 | 5'- CAACAATGGCTACCACCA -3' |
| 2 | SCoT2 | 5'- CAACAATGGCTACCACCC-3' |
| 3 | SCoT41 | 5'- CAATGGCTACCACTGACA-3' |
| 4 | SCoT36 | 5'- GCAACAATGGCTACCACC-3' |

جدول ۴- برنامه دمایی نشانگر SCoT استفاده در ارقام مورد مطالعه.

Table 4. SCoT marker temperature program used in the study of cultivars.

| Phase | Time and temperature | Number of cycles |
|--------------------|----------------------|------------------|
| First denaturation | 4minutes at 94 ° C | 1 |
| Denaturation | 1minutes at 94 ° C | 40 |
| Annealing | 1minutes at 51 ° C | 40 |
| Extension | 1minutes at 72 ° C | 40 |
| Final extension | 5minutes at 72 ° C | 1 |

است. طبق آنالیز نمودار UPGMA افراد به دو گروه مجزا تفکیک شدند و این نتایج مشابه نتیجه ریخت‌شناسی است. در نمودار PCA biplot رسم شده مشخص شد. که صفات طول اپیدرم ساقه به کل ساقه، اندازه پوست به مقطع ساقه، اندازه اسکرانشیم ساقه به مقطع ساقه، تعداد دستجات آوندی ساقه، نوع آوند آبکش، نوع آوند چوبی، برگ چه میزان ساقه را احاطه می‌کند، طول نردبانی به کل برگ، تعداد دستجات آوندی برگ، طول اپیدرم برگ به کل برگ متغیرترین صفات تشریحی است. گونه‌هایی با پراکنش وسیع جغرافیایی، مانند گونه‌های سرده *Tamarix*، ممکن است به دلیل سازش با شرایط محیطی دارای تنوع ریخت‌شناسی وسیعی باشند که اگر این تنوع باعث واگرایی ژنتیکی و مورفولوژیکی میان جمعیت‌های درون یک گونه شود، منجر به ایجاد فرم‌های آرایه‌شناسی پایین‌تر از سطح گونه می‌شود (Sheidai et al., 2014).

بسته به نوع تفاوت‌های ریختی ممکن است اکوتیپ‌ها، واریته‌ها و یا زیرگونه‌هایی را درون یک گونه واحد داشته باشیم. در این تحقیق، درخت رسم شده براساس داده‌های ریخت‌شناسی و تشریحی نشان داد که نماینده واریته‌ها در گونه *T. tetragyna* در خصوصیات ریختی و تشریحی از یکدیگر مجزا هستند که این نتایج با نتایج مطالعه دیگری که تنوع پذیری ریختی، تمایزات اکوتیپی و تنوع ژنتیکی بالا در گونه‌های سرده گز را به دلیل تحمل بالای این سرده نسبت به عوامل محیطی دانستند هم‌خوانی دارد (Winkel & Brotherson, 1986).

روش خوشه‌بندی (minimum spherical cluster Ward (method) برای گروه‌بندی پس از ۱۰۰ بار بوت استرپ انجام شد. جهت گروه‌بندی از روش خوشه‌ای NJ استفاده شد (Podani, 2000). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PAST ver. 2.17 انجام شد (Hammer et al., 2012). تست AMOVA جهت نشان دادن وجود تفاوت معنی‌دار در بین واریته‌ها مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار Gene Alex 6.4 انجام گرفت (Peakall & Smouse, 2006).

نتایج

مطالعات ریخت‌شناسی

نتایج مطالعات ریخت‌شناسی افراد مورد مطالعه در گونه *T. tetragyna* در جدول ۵ ارایه شده است. آنالیز ANOVA برای صفات کمی ریخت‌شناسی انجام شد اختلاف معنی داری ($P = 0.01$) در بین افراد مورد مطالعه نشان داد. تجزیه و تحلیل PCA biplot از صفات‌های ریخت‌شناسی نشان داد که صفات تعداد پرچم، اندازه برگه نسبت به کاسه گل، شکل کاسبرگ داخلی، شکل کاسبرگ خارجی، تعداد ردیف پرچم، تعداد کاسبرگ، تعداد گلبرگ متغیرترین صفات ریخت‌شناسی است.

نمودار شاخه‌بندی Ward حاصل از مطالعات ریخت‌شناسی رسم شد (شکل ۱). بر اساس این آنالیز افراد به دو گروه مجزا تقسیم شدند.

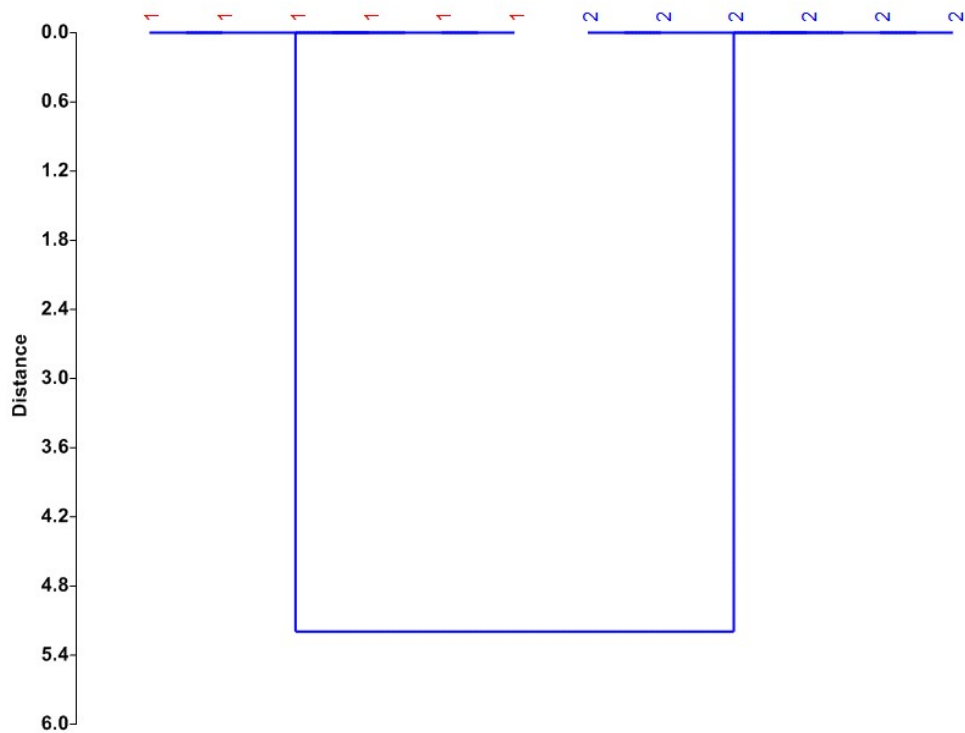
مطالعات تشریحی

نتایج مطالعات تشریحی در ساقه و برگ در افراد مورد مطالعه گونه *T. tetragyna* در جدول ۶ و شکل‌های ۲ و ۳ ارایه شده

جدول ۵- نتایج صفات ریخت‌شناسی افراد مورد مطالعه در گونه *T. tetragyna*.

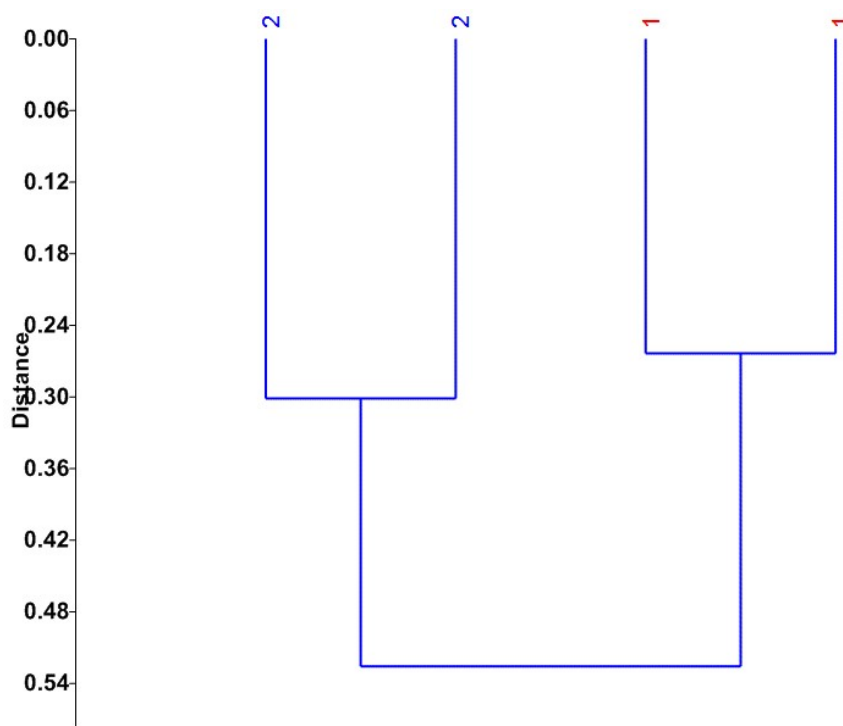
Table 5. Results of morphological traits in *T. tetragyna*.

| Sample | Number of petals | Number of sepals | Number of stamen rows | Outer sepal shape | Inner sepal shape | Number of stamen |
|---------------------|------------------|------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| <i>T. tetragyna</i> | 5 | 5 | 1 | Concave | Triangular | 5 |
| <i>T. tetragyna</i> | 5 | 5 | 1 | Concave | Triangular | 5 |
| <i>T. tetragyna</i> | 5 | 5 | 1 | Concave | Triangular | 5 |
| <i>T. tetragyna</i> | 5 | 5 | 1 | Triangular | Triangular | 5 |
| <i>T. tetragyna</i> | 5 | 5 | 1 | Concave | Triangular | 5 |
| <i>T. tetragyna</i> | 5 | 5 | 1 | Concave | Triangular | 5 |
| <i>T. tetragyna</i> | 4 | 4 | 3 | Triangular | Concave | 4 |
| <i>T. tetragyna</i> | 4 | 4 | 3 | Triangular | Concave | 4 |
| <i>T. tetragyna</i> | 4 | 4 | 3 | Triangular | Concave | 4 |
| <i>T. tetragyna</i> | 4 | 4 | 3 | Triangular | Concave | 4 |
| <i>T. tetragyna</i> | 4 | 4 | 3 | Triangular | Concave | 4 |



شکل ۱- دندوگرام Ward حاصل از مطالعات ریخت شناسی افراد مورد مطالعه در گونه *T. tetragyna* ۱: var. *meyeri* ۲: var. *deserti*.

Figure 1. Ward dendrogram from morphological traits studied in *T. tetragyna* 1: var. *meyeri* 2: var. *deserti*.



شکل ۲- نمودار UPGMA حاصل از مطالعات تشریحی در افراد مورد مطالعه در گونه *T. tetragyna* ۱: var. *meyeri* ۲: var. *deserti*.

Figure 2. UPGMA dendrogram of Anatomical features studied in *T. tetragyna* 1: var. *meyeri* 2: var. *deserti*.

جدول ۶- نتایج صفات تشریحی مورد مطالعه در ساقه و برگ افراد گونه *T. tetragyna*

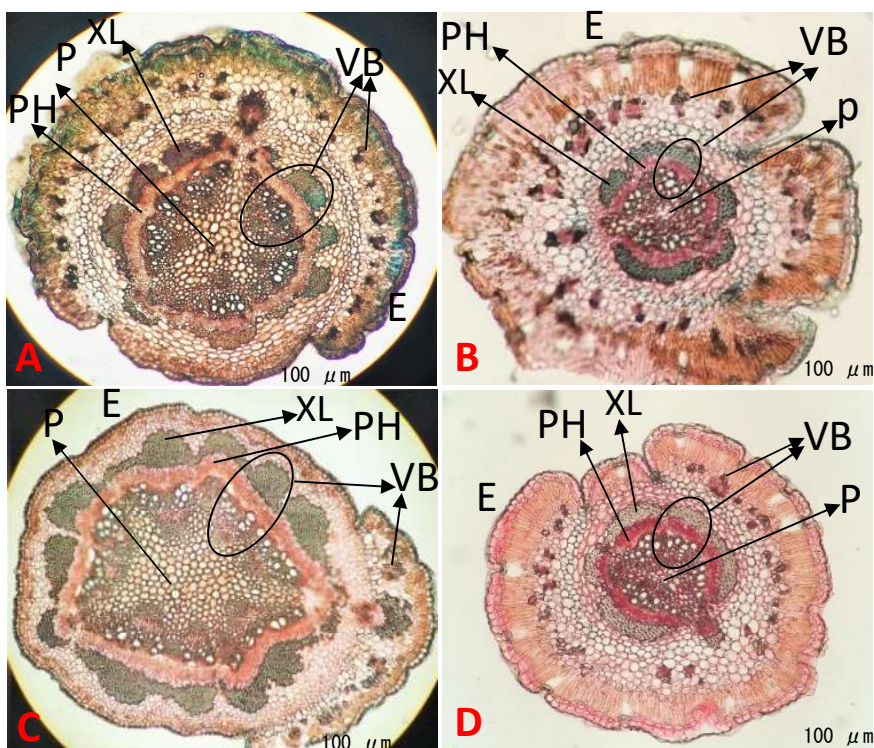
Table 6. Stem and leaf anatomical features studied in *T. tetragyna*.

| Sample | length of stem epidermis to the entire stem | cortex to cross section of stem | Stem sclerenchyma to stem cross section | Number of stem vascular bundles |
|---------------------|---|---------------------------------|---|---------------------------------|
| <i>T. tetragyna</i> | 0.03 | 0.18 | 0.08 | 7 |
| <i>T. tetragyna</i> | 0.04 | 0.17 | 0.05 | 6 |
| <i>T. tetragyna</i> | 0.009 | 0.06 | 0.01 | 11 |
| <i>T. tetragyna</i> | 0.02 | 0.09 | 0.03 | 9 |

جدول ۶ (ادامه) - نتایج صفات تشریحی مورد مطالعه در ساقه و برگ افراد گونه *T. tetragyna*

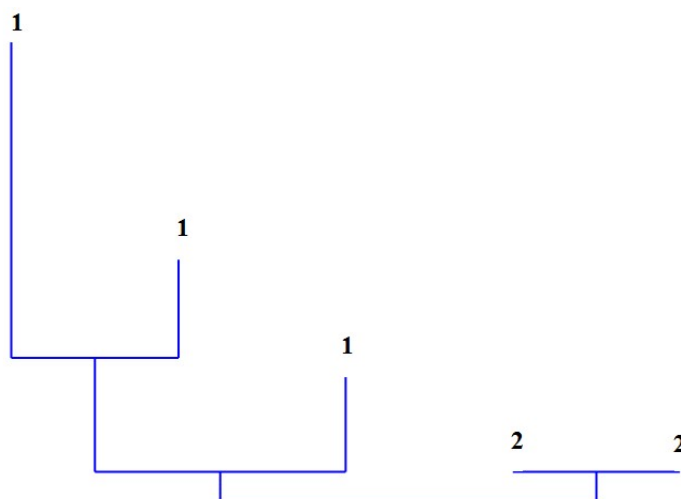
Table 6 (Continues). Stem and leaf anatomical features studied in *T. tetragyna*.

| Sample | Type xylem | Type phloem | How much does the leaf surround the stem | length of palisade parenchyma to the entire Leaf | Number of leaf vascular bundles | length of leaf epidermis to the entire Leaf |
|---------------------|---------------|---------------|--|--|---------------------------------|---|
| <i>T. tetragyna</i> | Continuous | Discontinuous | $\frac{3}{4}$ | 0.34 | 18 | 0.12 |
| <i>T. tetragyna</i> | Continuous | Continuous | $\frac{2}{4}$ | 0.22 | 12 | 0.12 |
| <i>T. tetragyna</i> | Continuous | Continuous | $\frac{1}{4}$ | 0.21 | 10 | 0.10 |
| <i>T. tetragyna</i> | Discontinuous | Continuous | $\frac{1}{4}$ | 0.27 | 26 | 0.14 |



شکل ۳- مقاطع عرضی ساقه و برگ افراد مورد مطالعه در گونه *T. tetragyna* A و *T. tetragyna* var. *meyeri* B و *T. tetragyna* var. *deserti* C و D. E: سلول اپیدرم، P: پارانشیم مغز، PH: آوند آبکش، XL: آوند چوبی، VB: دستجات آوندی.

Figure 3. Transverse sections of the stem and leaf of *T. tetragyna* A and *T. tetragyna* var. *meyer*. C and D. var. *deserti*. E: epidermal cell, P: pith parenchyma, PH: phloem, XL: xylem, VB: vascular bundle.



شکل ۴- دندوگرام NJ حاصل از مطالعات مولکولی افراد مورد مطالعه در گونه *T. tetragyna* ۱: وارسته *meyeri* ۲: وارسته *deserti*.
Figure 4. NJ Dendrogram derived from molecular-based features of *T. tetragyna* 1: var. *meyeri* 2: var. *deserti*.

سپاسگزاری

نویسندگان از داوران محترم مجله یافته‌های نوین علوم زیستی برای ارائه پیشنهادهای سازنده تشکر می‌نمایند.

REFERENCES

- Assadi, M. 1988. Tamaricaceae, in Assadi, M. et al. (editors), Flora of Iran, vol. 1. Forests and Rangelands Research Institute, Tehran.
- Arianmanesh, R., Mehregan, I., Assadi, M. & Nejadstari, T. 2016. Phylogenetic relationships of the genus *Tamarix* L. (Tamaricaceae) from Iran based on nuclear and plastid DNA sequences. *Asian Journal of Conservation Biology* 5: 45-50.
- Arianmanesh, R., Mehregan, I., Assadi, M. & Nejadstari, T. 2016. Comparative morphology of the genus *Tamarix* (Tamaricaceae) in Iran. *International Letters of Natural Sciences* 60: 1-12.
- Al-Qurainy, F., Khan, S., Nadeem, M. & Tarroum, M. 2015. SCoT marker for the assessment of genetic diversity in Saudi Arabian date palm cultivars. *Pakistan Journal of Botany* 47: 637-643.
- Alaimo, M. G., Gargano, M. L., Vizzi, D., & Venturella, G. 2013. Leaf anatomy in *Tamarix arborea* var. *arborea* (Tamaricaceae). *Plant Biosystems* 147: 21-24.
- Baum, B.R. 1967. Introduced and naturalized tamarisks in the United States and Canada (Tamaricaceae). *Baileya* 15: 19-25.
- Bretting, P.K. & Widrechner, M.P. 1995. Genetic markers and horticultural germplasm management. *HortScience* 30: 1349-1356.
- Brotherson, J.D. & Winkel, V. 1986. Habitat relationships of saltcedar (*Tamarix ramosissima*) in central Utah. *The Great Basin Naturalist* 46: 535-541.
- Brotherson, J.D. & Winkel, V. 1986. Habitat relationships of saltcedar (*Tamarix ramosissima*) in central Utah. *The Great Basin Naturalist* 46: 535-541.

مطالعات مولکولی

تست AMOVA تفاوت معنی‌داری را در بین نمونه‌های مورد مطالعه نشان داد. بر طبق نمودار NJ بر اساس نشانگر SCoT افراد به دو گروه مجزا تقسیم شدند که این کار تایید کننده نتایج مطالعات ریخت‌شناسی و تشریحی است (شکل ۴).

بحث

وجود جریان ژنی میان گونه‌های مشابه و نزدیک به هم باعث وجود آمدن طیف متنوعی از گیاهان با صفات ریختی دو والد می‌شود که شناسایی و آرایه‌شناسی گیاهان را دشوار کرده و ممکن است سبب اشتباهاتی در شناسایی و آرایه‌شناسی شود. سرده گز نیز دارای این مشکلات است (Ijbari et al., 2014). در مطالعه گونه‌های سرده گز مشخص شد که صفات ریختی به تنهایی قادر به جدایی مرز بین آرایه‌ها نیست و برای جدایی بین گونه‌ها استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی، همراه با داده‌های مولکولی بسیار موثرتر خواهد بود (Arianmanesh et al., 2016). در یافته‌های این تحقیق تعداد پرچم، اندازه برگه نسبت به کاسه گل، شکل کاسبرگ داخلی، شکل کاسبرگ خارجی، تعداد ردیف پرچم، تعداد کاسبرگ و تعداد گلبرگ از مهم‌ترین صفات ریخت‌شناسی متغیر در افراد مورد مطالعه تشخیص داده شدند. در مطالعه حاضر همچنین با استفاده از مارکر مولکولی SCoT وجود دو وارسته در گونه *T. tetragyna* تایید شد. این نتیجه با مطالعات در گونه *T. ramosissima* و در گونه *T. stricta* هم‌خوانی داشت (Mirshekari et al., 2019; Marefatyan et al., in press).

- Brown, S.M., Hopkins, M.S., Mitchell, S.E., Senior, M.L., Wang, T.Y., Duncan, R.R., Gonzalez-Candelas, F. & Kresovich, S.** 1996. Multiple methods for the identification of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Theoretical and Applied Genetics* 93: 190-198.
- Collard, B.C. & Mackill, D.J.** 2009. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 27: 86-93.
- Daoyuan, Z., Dunyan, T., Juan, Z. & Borong, P.** 2003. Comparative anatomy of young branches of 16 species of *Tamarix* from China with reference to their ecological significance. *Acta Botanica Yunnanica* 25: 653-662.
- Gaskin, J.F.** 2003. Tamaricaceae. In flowering plants. *Dicotyledons* 5: 363-368.
- Gaskin, J.F., & Schaal, B.A.** 2003. Molecular phylogenetic investigation of US invasive *Tamarix*. *Systematic Botany* 28: 86-95.
- Gaskin, J.F., Ghahremaninejad, F., Zhang, D.-Y. & Londo, J.P.** 2004. A systematic overview of Frankeniaceae and Tamaricaceae from nuclear rDNA and plastid sequence data. *Annales of the Missouri Botanical Garden* 91: 401-409.
- Gaskin, J.F. & Kazmer, D.J.** 2009. Introgression between invasive saltcedars (*Tamarix chinensis* and *T. ramosissima*) in the USA. *Biological Invasions* 11: 1121-1130.
- Ghahremaninejad, F., Ataei, N. & Nejad Falatoury, A.** 2017. Comparison of angiosperm flora of Afghanistan and Iran in accordance with APG IV system. *Nova Biologica Reperta* 4: 73-97.
- Hammer, O., Harper, D. & Ryan, P.D.** 2012. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 1-9.
- Ijbari, H., Sheidai, M., Mehrabian, A.R., Noormohammadi, Z. & Ghasemzadeh-Baraki, S.** 2014. K-means clustering and structure analyses of genetic diversity in *Tamarix* L. accessions. *Turkish Journal of Botany* 38: 1080-1094.
- Jensen, W.A.** 1962. *Botanical histochemistry*. W.H.H. Freeman and Company, San Francisco and London.
- Kržižman, M., Jakše, J., Baričević, D., Javornik, B. & Prošek, M.** 2006. Robust CTAB-activated charcoal protocol for plant DNA extraction. *Acta Agriculturae Slovenica* 87: 427-433.
- Marefatyan, S., Sheidai, M., Koohdar, F. & Veisi, M.** New subspecies within *Tamarix ramosissima* (Tamaricaceae) genetic and morphological evidence for publication. *Genetica*. in press.
- Nawwar, M.A. & Hussein, S.A.** 1994. Gall polyphenolics of *Tamarix aphylla*. *Phytochemistry* 36: 1035-1037.
- Olson, M.E., Gaskin, J.F. & Ghahremaninejad, F.** 2003. Stem anatomy is congruent with molecular phylogenies placing *Hypericopsis persica* in *Frankenia* (Frankeniaceae), comments on vasicentric tracheids. *Taxon* 52: 525-533.
- Peakall, R.O.D. & Smouse, P.E.** 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- Peiyu, H. & Rui-ru, G.** 2004. Research on the extension of *Tamarix* shrubs resulted from development projects in arid area. *Journal of Forestry Research* 15: 45-48.
- Podani, J.** 2000. Introduction to the exploration of multivariate biological data. Backhuys Publishers.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S. & Rafalski, A.** 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2: 225-238.
- POWO.** 2021. Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.plants of the world online.org> (accessed 17 May 2021).
- Sawant, S.V., Singh, P.K., Gupta, S.K., Madnala, R. & Tuli, R.** 1999. Conserved nucleotide sequences in highly expressed genes in plants. *Journal of Genetics* 78: 123-131.
- Saidana, D., Mahjoub, M.A., Boussaada, O., Chriaa, J., Cheraif, I., Daami, M., Mighri, Z. & Helal, A.N.** 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of volatile compounds of *Tamarix boveana* (Tamaricaceae). *Microbiological Research* 163: 445-455.
- Schiman & Czeika, H.** 1964. Tamaricaceae, in Rechinger, K.H. (editor). *Flora Iranica* vol. 4. Akademische Druck- u. Verlagsanstalt, Graz-Austria, pp 1-17.
- Sheidai, M., Mirshekari, R., Koohdar, F., Ijbari, H. & Ghasemzadeh-Barakai, S.** 2019. Biosystematic study in some *Tamarix* species in Iran. *Genetika* 51: 845-860.
- Sheidai, M., Shagholi, T., Keshavarzi, M., Koohdar, F. & Ijbari, H.** 2019. Species delimitation and inter-specific gene flow in *Tamarix* L. (Tamaricaceae). *Hacquetia* 18: 313-322.
- Sheidai, M., Teymoori, H., Noormohammadi, Z., Mehrabian, A.R., Koohdar, F. & Ghasemzadeh-Barakai, S.** 2018. Species delimitation in the genus *Tamarix*: morphological and molecular data. *Phytotaxa* 343: 101-115.
- Sheidai, M., Zanganeh, S., Haji-Ramezani, R., Nouroozi, M., Noormohammadi, Z. & Ghasemzadeh-Barakai, S.** 2013. Genetic diversity and population structure in four *Cirsium* (Asteraceae) species. *Biologia* 68: 384-397.
- Sheidai, M., Noormohamadi, Z. & Sotodeh, M.** 2006. Cytogenetic variability in several canola (*Brassica napus*) cultivar. *Caryologia* 59: 267-276.

How to cite this article:

Veisi, M., Sheidai, M. & Koohdar, F. 2021. Morphological, anatomical and molecular study in two varieties of *Tamarix tetragyna* in Iran. *Nova Biologica Reperta* 8: 233-241. (In Persian).

ویسی، م.، شیدایی، م. و کوه دار، ف. ۱۴۰۰. بررسی ریختشناسی، تشریحی و مولکولی دو واریته از گونه *Tamarix tetragyna* در ایران. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۸: ۲۳۳-۲۴۱.