مجلهٔ جنگل ایران، انجمن جنگلبانی ایران
سال شانزدهم، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۴۰۳
ص ۳۲۴-۳۱۱
مقاله پژوهشی

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22034/ijf.2024.345713.1875

مطالعهٔ رده‌بندی شیمیایی و هاگ‌شناسی خزه‌های *Neckera complanata* (Hedw.) Hueener و *Neckera crispa* Hedw در شمال ایران

فرشاد محمدزاده قره‌قشلاق[۱]، آرمان محمودی اطاقوری [۲]*، حبیب زارع[۳] و طاهره‌السادات آقاجانزاده[۴]

[۱]دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد سیستماتیک-اکولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
[۲]دانشیار گروه علوم گیاهی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.
[۳]استادیار پژوهش، مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، باغ گیاهشناسی نوشهر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
[۴]دانشیار گروه علوم گیاهی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۱)

چکیده

مقدمه: گونه‌های *Neckera complanata* (Hedw.) Hueener و *Neckera crispa* Hedw خزه‌های اپی‌فیت و شاخص بسیاری از گونه‌ها و درختان در جنگل‌های مرطوب هیرکانی (شمال ایران) هستند و بررسی اهمیت آنها در پژوهش‌های اکولوژیک جنگل‌های شمال بسیار ضروری است. برای سهولت در تفکیک یا تشخیص این دو گونه نزدیک به هم و نیز بیان تفاوت‌ها و شباهت‌ها از روش‌های رده‌بندی شیمیایی و هاگ‌شناسی استفاده شد.

مواد و روش: برای این منظور، شش جمعیت خزه‌ای از سه استان گلستان، مازندران و گیلان در ارتفاعات به‌نسبت یکسان در پاییز ۱۳۹۶ جمع‌آوری و توسط کلیدهای شناسایی بررسی شده و پس از تأیید، با استفاده از روش‌های هاگ‌شناسی (ده صفت کمی و هفت صفت کیفی) و رده‌بندی شیمیایی (ارزیابی اسیدهای چرب با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی (GC/MS)) بررسی شدند.

یافته‌ها: پس از پایان آزمایش‌های هاگ‌شناسی و فیتوشیمیایی در آزمایشگاه، نتایج مطالعهٔ هاگ‌شناسی، نسبت طول محور قطبی هاگ به عرض محور استوایی نشان داد که شکل هاگ در جمعیت‌های *N. complanata* کروی و در جمعیت‌های *N. Crispa*، بیضوی است. تزیینات سطحی در خزهٔ *N. complanata* از نوع گرانالوم بوده و با تزیینات سطحی خزهٔ *N. crispa* کاملاً متفاوت است که این موضوع بیانگر جدایی کامل دو گونه در سطوح مختلف از یکدیگر است. نتایج مطالعهٔ رده‌بندی شیمیایی در خصوص داده‌های اسید چرب برپایهٔ GC/MS نشان داد که جمعیت‌های خزهٔ *N. complanata*، دارای ترکیبات Hexadecanoic acid، 9,12,15-Octadecatrienoic acid و 15-Octadecenoic acid بوده و خزهٔ *N. crispa* دارای ترکیبات Hexadecanoic acid، Nonanedioic acid، Octadecanoic acid، Heneicosanoic acid، 9,12-Octadecadienoic acid، 9,12,15-Octadecatrienoic acid، 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid، Pentanoic acid, 4-oxo و Butanedioic acid است.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از داده‌های اسید چرب برپایهٔ GC/MS در جمعیت‌های *N.complanata* فقط دارای چند نوع ترکیب متیل استر شده بود که از نظر نوع ترکیب و مقدار آن با جمعیت‌های *N.crispa* کاملاً متفاوت است. نتایج حاصل از داده‌های میکرومورفومتری نیز نشان داد که شکل هاگ در جمعیت‌های مربوط به گونهٔ *N.complanata* کروی و در جمعیت‌های *N.crispa* بیضوی است و نسبت P/E در همهٔ جمعیت‌ها بیانگر جدایی این دو گونه از یکدیگر است. بنابراین نوع ترکیبات و مقدار آنها در دو گونه و همچنین جمعیت‌های مختلف آن کاملاً متفاوت است. نتایج کلی پژوهش‌های رده‌بندی شیمیایی و هاگ‌شناسی بیانگر جدایی کامل دو گونه و جمعیت‌های بررسی‌شده است که روشی مؤثر در تفکیک گونه‌های کمتر شناخته‌شده، ولی اثرگذار در محیط جنگل و اکوسیستم‌های مشابه تلقی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب، بیوسیستماتیک، جنگل هیرکانی، خزهٔ *Neckera*، هاگ.

*نویسندهٔ مسئول شمارهٔ تماس: ۰۹۱۱۲۳۳۲۱۷۲ ایمیل: botany1347@gmail.com

مقدمه

خزه‌ها از متنوع‌ترین گیاهان بی‌گل در سراسر جهان هستند که در مکان‌های مرطوب و به دور از نور مستقیم خورشید زیست می‌کنند. نور، دما، رطوبت و مواد غذایی از مهم‌ترین عوامل محیطی در پراکنش و حضور گیاهان است. جنگل‌های هیرکانی نمونهٔ منحصربه‌فردی از جنگل‌های باستانی است که دارای تنوع زیستی زیاد، پیچیدگی میکروتوپوگرافیکی و ذخایر ژنتیکی فراوان است (Peyravi latif et al., 2022; Shirzadi et al., 2021). شمال ایران (جنگل‌های هیرکانی) به‌دلیل داشتن آب‌وهوای مناسب و مرطوب، زیستگاهی مناسب نسبت به دیگر استان‌های کشور برای رشد خزه‌ها به شمار می‌رود. براساس پژوهش‌های Mohammadzadeh et al. (2021) بسیاری از خزه‌شناسان خارجی و ایرانی روی خزه‌های ایران بررسی‌های فلورستیک گسترده‌ای انجام داده و گونه‌های متعددی را به فلور خزه‌ای ایران معرفی کرده‌اند. ابتدا در سال ۱۸۶۰ بوش اولین پژوهش‌ها را روی فلور خزه‌ای ایران به ثبت رساند. بعدها نیکلسون، جواوست و استورمر فهرست جامعی از فلور خزه‌ای ارائه کردند. فری و کورشنر در سال‌های ۱۹۷۷ تا ۱۹۸۳ پژوهش‌های فراوانی را در پارک ملی گلستان روی خزه‌های ایران انجام دادند و در سال ۱۹۹۶ پانزده گونهٔ جدید به فلور ایران افزودند (Frey & Frey & Korschner, 1977; Korschner, 1983). در آخرین چک‌لیست ارائه‌شده دربارهٔ بریوفیت های ایران، در سال ۲۰۰۴ از آخانی و کورشنر، ۴۳۷ گونه (دو هپاتیک، ۶۸ شاخ واش و ۳۶۷ خزه) فهرست شده و از سال ۲۰۰۴ تا کنون گونه‌های بسیار زیادی برای فلور ایران شناسایی و به فلور خزه‌ای ایران افزوده شده است (Akhani & Kürschner, 2004).

خزه‌ها برای سهولت در پژوهش‌های رده‌بندی به دو گروه خزه‌های افراشته (acrocarpous) و خزنده (pleurocarpous) تقسیم می‌شوند که دستهٔ دوم شامل حدود ۵۰۰۰ گونه در جهان است (Olsson et al., 2011). خزه‌های تیرهٔ Neckeraceae به گروه خزه‌های خزنده (پلوروکارپوس) تعلق دارند که در مناطق معتدل و گرمسیری رشد می‌کنند و در جهان حدود ۲۰۰ گونه دارند (Enroth & Ji, 2007). جنس *Neckera* Hedw از بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین جنس‌های این تیره است که ۵۰ گونه دارد. *N.complanata* و *N.crispa* دو گونهٔ مهم و شاخص این جنس در شمال ایران هستند که در بیشتر اکوسیستم‌های جنگلی به‌شکل اپی‌فیت روی درختان دیده می‌شوند و اثر مهمی در تنوع زیستی و مراقبت از میکروفون جنگل دارند. پژوهش‌های اندکی دربارهٔ این دو گونه صورت گرفته است. لارس در سال ۱۹۹۲ و اندرسون و همکاران در سال ۱۹۹۰ براساس شواهد ریخت‌شناسی، این دو گونه را در مناطقی از پرتغال و آمریکای شمالی شناسایی کردند (Hedena¨s, 1992 ; Anderson et al ., 1990). همچنین در سال ۲۰۱۱ پژوهش‌هایی دربارهٔ خزه‌های خزنده (پلوروکارپوس) براساس شواهد فیلوژنتیکی انجام گرفت و دو گونهٔ *N. complanata* و *N. crispa* در خانوادهٔ Neckeraceae و گروه پلوروکارپوس قرار گرفتند (Olsson et al., 2011). تا کنون هیچ پژوهشی دربارهٔ جمعیت‌های این دو گونه و همچنین رده‌بندی براساس شواهد فیتوشیمیایی و هاگ‌شناسی و جمعیت‌های آن صورت نگرفته است؛ از این‌رو این گونه‌ها برای سهولت تأیید و همچنین بررسی جمعیت‌های آنها در مناطق مختلف جنگلی شمال، از لحاظ هاگ‌شناسی و فیتوشیمیایی بررسی شدند. پژوهش‌های نوین سیستماتیکی (بیوسیستماتیک) می‌تواند تحولی بزرگ در رده‌بندی گونه‌های گیاهی ایجاد کند. براساس پژوهش‌ها در چهار گونه خزه از گروه Pleurocarpous از جنس‌های *Neckera* و *Leptodon* دریافتند که اندازهٔ هاگ‌ها در جمعیت‌ها، گونه‌ها و جنس‌های *Neckera* و *Leptodon* متفاوت است و در تفکیک آنها اهمیت فراوانی دارد (Alfayate et al., 2013).

پژوهش هاگ‌شناسی (با روش میکرومورفومتری) از روش‌های نوین رده‌بندی است که به شناسایی گونه‌های مختلف در جمعیت‌های جنس‌های خزه

براساس تفاوت شکل در انواع هاگ‌ها کمک می‌کند. نتایج پژوهش‌های ریخت‌شناسی هاگ روی جنس *Neckera*نشان داد که شکل هاگ‌ها در دو گونهٔ *N. intermedia*و *N. cephalonica* کروی است و براساس تفاوت در تزیینات دانهٔ گرده، دو گونه از یکدیگر تفکیک شده‌اند (Alfayate et al., 2013).

هاگ دارای دیوارهٔ دولایه است که لایهٔ خارجی اگزین و لایهٔ داخلی انتین نام دارد. لایهٔ خارجی دارای تزیینات مختلفی است که اهمیت بسیار زیادی در علم تاکسونومی دارد. به‌طور کلی شش نوع متداول تزیینات هاگ در نظر گرفته شده است که عبارت‌اند از زگیلی (verrucate)، تکمه‌ای- سنباده‌ای (scabrate-Gemmate)، جوانه‌ای (gemmate)، چوگانی (pilate)، چوگانی شبکه‌ای (retipilate) و چین‌خورده (regulate) (Khoush & Kazem 2007).

رده‌بندی شیمیایی یکی دیگر از روش‌های مهم برای ارزیابی خویشاوندی بین گونه‌هاست. پژوهش‌های زیادی روی گیاهان گلدار و بی‌گل شامل خزه‌ها و هپاتیک‌ها در سراسر جهان انجام گرفته است (Nakipoglu, 2002; Perdetzoglou et al., 2000)، اما تاکنون هیچ مطالعهٔ رده‌بندی شیمیایی در این دو گونه خزه انجام نگرفته است. برای تأیید یا رد پژوهش‌های ریخت‌شناسی و همچنین بررسی تفاوت‌ها و شباهت‌ها در جمعیت‌های مختلف دو گونه، از روش‌های هاگ‌شناسی و رده‌بندی شیمیایی استفاده شد. تنوع خزه‌ها به لحاظ محتوای متابولیت‌ها، می‌تواند یک نشانگر در بررسی طبقه‌بندی گیاهان باشد و گاهی نیز ابزاری برای اصلاح سیستم طبقه‌بندی به شمار می‌رود (Mann et al., 1994; Susilo & Suciati, 2016). اسیدهای چرب از ترکیبات مهم در رده‌بندی شیمیایی محسوب می‌شوند که در بیشتر موجودات زنده وجود دارند. در بسیاری از خزه‌ها نیز مقادیر زیادی از اسیدهای چرب با زنجیرهٔ بلند دیده می‌شود (Kohn et al., 1987).

این پژوهش با هدف بررسی رده‌بندی شیمیایی و هاگ‌شناسی جمعیت‌های دو گونه خزهٔ *N. complanata* و *N. crispa* در شمال ایران انجام گرفته است که می‌تواند در حل بسیاری از مسائل اکولوژیکی اکوسیستم‌های جنگلی و تفاوت‌های اکولوژیک ناشی از تفاوت تنوع زیستی و حضور گونه‌ها مؤثر واقع شود.

مواد و روش‌ها

منطقهٔ پژوهش

نمونه‌برداری از جمعیت‌های گونه‌های جنس *Neckera* از سه استان گیلان، مازندران وگلستان (جدول ۱) در شمال ایران همزمان در پاییز ۱۳۹۶ طبق دستورالعمل (Alfayate et al., 2013) انجام گرفت. پس از پایان نمونه‌برداری، گونه‌های جمع‌آوری‌شده توسط کلیدهای شناسایی معتبر در آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشگاه مازندران شناسایی شدند.

شیوهٔ اجرای پژوهش

برای مطالعهٔ هاگ‌شناسی، هاگدان‌های هر شش جمعیت خزه‌های جمع‌آوری‌شده به‌صورت جداگانه در محلول اتانول ۹۶ درصد به‌مدت سه هفته قرار داده شدند و سپس عکس‌برداری با استفاده از میکروسکوپ الکترونی انجام گرفت. در نهایت ۱۷ صفت (۱۰ صفت کمی و ۷ صفت کیفی) بررسی شد (جدول ۲).

ارزیابی اسیدهای چرب با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی (GC/MS) (Mongrand et al., 2005)، پس از متیل استر شدن انجام گرفت. ابتدا نمونه‌های خزه با دقت از خاک و عوامل دیگر پاکسازی شدند. سپس از بخش‌های سبز و فاقد ریشه برای استخراج استفاده شد. برای متیل استر کردن اسیدهای چرب، یک گرم نمونهٔ خشک (نمونه‌های خزه در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجهٔ سلسیوس و در سایه خشک شدند) و پودرشده، با ۲۰ میلی‌لیتر متانول اسید (۲/۵ درصد) به‌مدت ۱۰ دقیقه تحت امواج اولتراسونیک قرار گرفت و سپس به‌مدت یک ساعت در دمای ۸۰ درجهٔ سلسیوس در بن‌ماری حرارت داده شد. پس از سرد شدن، ۵ میلی‌لیتر هگزان و

جدول ۱- مکان‌های نمونه‌برداری، اختصار جمعیت‌ها، طول جغرافیایی، عرض جغرافیایی و ارتفاع محل حضور از سطح دریا (متر) جمعیت گونه‌های خزه‌ای بررسی‌شده در شمال ایران

Table 1. Sampling locations, abbreviation of populations, longitude, latitude and height above sea level (meters) of the studied moss species population in northern Iran

نام گونه species name	محل جمع‌آوری Place of collection	گونهٔ درختی (بستر) A tree species (bed)	اختصار جمعیت‌ها Populations Abbreviations	عرض جغرافیایی latitude	طول جغرافیایی Longitude	ارتفاع (m) height (m)
N. complanata	رضوانشهر Rezvanshahr	Zelkova carpinifolia	N.co.R	37°35'50.30"N	48°55'7.60"E	643
	توسکاچال Toskachal	Fagus orientalis	N.co.T	36°30'44.10"N	36°30'44.10"N	1145
	لوه Loveh	Zelkova carpinifolia	N.co.L	37°21'34.50"N	55°40'31.60"E	625
N. crispa	توسکاچال Toskachal	Fagus orientalis	N.c.T	36°30'44.10"N	36°30'44.10"N	1145
	کلاردشت Kelardaasht	Parrotia persica	N. c. K	36°38'51.97"N	51°07'3.80"E	453
	دودانگه Dodange	Buxus sempervirens	N.c.Do	36°13'39.10"N	53°15'54.00"E	730

جدول ۲- صفات کمی و کیفی استفاده‌شده در آنالیز هاگ‌شناسی در گونه‌های بررسی‌شده

Table 2. Quantitative and qualitative traits used in sporological analysis in the studied species

	Quantitative traits		صفات کمی
۱	طول محور قطبی (polar length)	۶	عرض سوراخ (pore width)
۲	عرض محور استوایی (equatorialwidth)	۷	طول شاخک (length Echinus)
۳	نسبت طول محور قطبی/عرض محور استوایی (P/E ratio)	۸	فاصلهٔ بین شاخک‌ها (between echinus distance)
۴	فاصلهٔ سوراخ‌ها (between pores distance)	۹	تعداد سوراخ‌ها (pores numbers)
۵	طول سوراخ (pore length)	۱۰	اندازهٔ دانهٔ هاگ (spore size)
	Qualitative traits		صفات کیفی
۱	واحد دانهٔ هاگ (spore unit)	۵	نوع منفذ (aperture type)
۲	نوع دانهٔ هاگ (spore type)	۶	وضعیت منفذ (aperture position)
۳	شکل دانهٔ هاگ (spore shape)	۷	تزیینات سطح اگزین (ornamentation of exin surface)
۴	تعداد منفذ (aperture numbrt)		

۵ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده و ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰ قرار داده شد. فاز بالایی شامل اسیدهای چرب متیل استرشده جدا شده و درون ویال‌های جداگانه قرار داده شد. به‌منظور بررسی کمی و کیفی اسیدهای چرب موجود در خزه از روش کروماتوگرافی گازی توسط دستگاه GC/MS مدل (Agilent technology, 7890B-5977B MSD) استفاده شد. برای کروماتوگرافی، ۰/۵ میکرولیتر از نمونه‌ها برداشته و با شرایط زیر به دستگاه GC/MS تزریق شد:

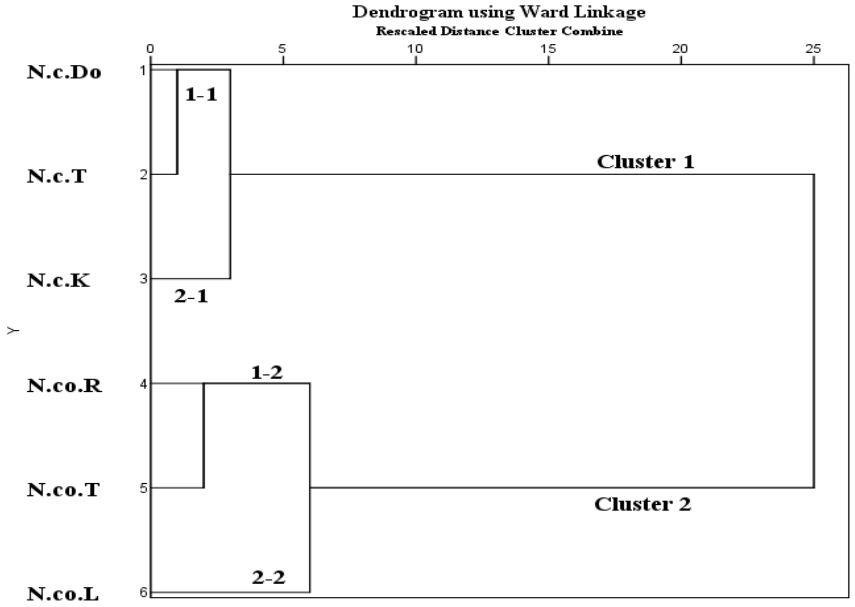
مشخصات ستون: ستون کاپیلاری DB-5 MS، در ابعاد ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و طول هر لایهٔ داخلی ۰/۲۵ میکرومتر.

گاز حامل هلیوم (۹۹/۹ درصد)، میزان جریان یک مول بر دقیقه، تزریق حجم نمونه یک میکرولیتر، دمای انجکتور ۲۵۰ درجهٔ سلسیوس و دمای آون ۵۰ درجهٔ سلسیوس و زمان ذخیره‌سازی یک دقیقه، افزایش تا ۱۲۰ درجهٔ سلسیوس (زمان ذخیره‌سازی یک دقیقه) و سپس افزایش دما تا ۲۵۰ درجهٔ سلسیوس.

نتایج

به‌منظور دریافت میزان شباهت‌ها و ارتباط موجود در بین جمعیت‌ها از هاگ‌های شش جمعیت، توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) عکس‌برداری شد. برای هر جمعیت، از نمای قطبی، نمای استوایی و تزیینات سطحی دیوارهٔ هاگ، تصویرهایی تهیه شد. پس از استخراج، ۱۷ صفت شامل ۱۰ صفت کمی (جدول۲) و ۷ صفت کیفی (جدول ۲) مشخص شد و سپس اندازه‌گیری‌های مربوط توسط ریزنگاره‌های الکترونی صورت گرفت. دندروگرام تجزیهٔ خوشه‌ای به روش WARD تهیه شد (شکل ۱).

دندروگرام به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که نمونه‌ها ابتدا در سطح ۲۵ درصد به دو خوشهٔ اصلی ۱ و ۲ تقسیم شده که حدود ۷۵ درصد تشابه صفات را شامل می‌شود (شکل ۱). شاخهٔ اصلی ۱ خود به دو شاخهٔ فرعی ۱-۱ و ۲-۱ تقسیم شد. شاخهٔ فرعی ۱-۱ جمعیت‌های N.c.Do و N.c.T و شاخهٔ فرعی ۲-۱ جمعیت N.c.K را شامل می‌شود. شاخهٔ اصلی ۲ نیز به دو شاخهٔ فرعی ۱-۲ و ۲-۲ تقسیم شد. زیرشاخهٔ فرعی ۱-۲ شامل جمعیت‌های N.co.R و N.co.T و زیرشاخهٔ فرعی ۲-۲ شامل جمعیت N.co.L است.



شکل ۱- دندروگرام تجزیهٔ خوشه‌ای به روش WARD به‌دست‌آمده از داده‌های هاگ‌شناسی خزه‌های *N. complanata* و *N. crispa*

Figure 1. Dendrogram of cluster analysis by WARD method obtained from sporological data of mosses N. complanata and N. crispa

جدول ۳- شرح واریانس‌های به‌دست‌آمده از داده‌های هاگ‌شناسی

Table 3. Description of variances obtained from sporological data

Total Variance Explained

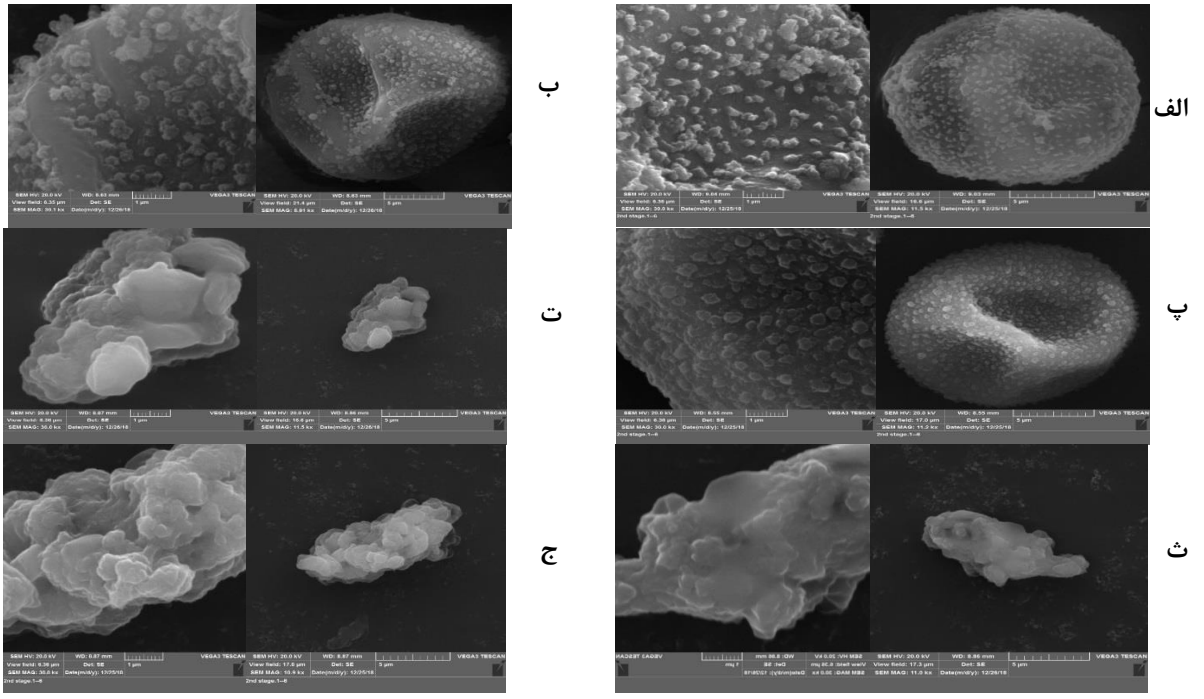
واریانس کل

Component اجزا	Initial Eigenvalues مقادیر ویژه اولیه			Extraction Sums of Squared Loadings استخراج مجموع بارها		
	Total مجموع	% of Variance درصد واریانس	Cumulative % درصد تجمعی	Total مجموع	% of Variance درصد واریانس	Cumulative % درصد تجمعی
1	10.943	72.953	72.953	10.943	72.953	72.953
2	2.475	16.497	89.450	2.475	16.497	89.450
3	.932	6.216	95.666			
4	.534	3.559	99.225			

با توجه به جدول شرح واریانس‌های صفات هاگ‌شناسی درمی‌یابیم که دو مؤلفهٔ اصلی اول و دوم در تفکیک این شش جمعیت مؤثر بوده‌اند.

مؤلفهٔ اصلی اول با ۷۲/۹۵ درصد از واریانس کل، مؤثرترین مؤلفه شناخته شد. مؤلفهٔ اصلی دوم، ۱۶/۵۰ درصد از واریانس کل را به خود اختصاص داده است. این دو مؤلفهٔ اصلی در مجموع ۸۹/۴۵ درصد از واریانس کل را به خود اختصاص داده و بقیهٔ مؤلفه‌های اصلی در تفکیک جمعیت‌ها از یکدیگر تأثیر ناچیزی داشته‌اند که در مجموع حدود ۱۰/۵۵ درصد از واریانس کل را به خود اختصاص می‌دهند.

با توجه به اطلاعات جدول ماتریکس عوامل مشخص می‌شود که در تشکیل مؤلفهٔ اصلی اول صفاتی چون طول محور قطبی، عرض محور استوایی، فاصلهٔ بین منافذ، طول منافذ، عرض منافذ، طول شاخک، فاصلهٔ بین شاخک‌ها، تعداد منافذ، اندازهٔ دانهٔ هاگ، شکل دانهٔ هاگ، منفذ، نوع منفذ، وضعیت منفذ و تزیینات سطح اگزین، نقش و تأثیر بسیار زیادی را داشته‌اند. برای مؤلفهٔ اصلی دوم، صفاتی چون طول محور قطبی، عرض محور استوایی، نسبت طول محور قطبی/ محور استوایی، فاصلهٔ بین سوراخ‌ها، طول شاخک، فاصلهٔ بین شاخک‌ها، تعداد سوراخ، اندازهٔ دانهٔ هاگ و شکل دانهٔ هاگ بیشترین تأثیر را داشته‌اند (شکل۲).



شکل ۲- تزیینات سطحی هاگ بزرگنمایی ۱ میکرومتر و ۵ میکرومتر: الف: *N. complanata* جمعیت رضوانشهر (گیلان)، ب: *N. complanata* توسکاچال (مازندران)، پ: *N. complanata* لوه (گلستان)، ت: *N. crispa* دودانگه (مازندران)، ث: *N. crispa* توسکاچال (مازندران)، ج: *N. crispa* رویان (مازندران)

Figure 2. Spore surface decorations, magnification of one micrometer and five micrometers: a: *N. complanata* population of Rezvanshahr (Gilan), b: *N. complanata* of Tuskachal (Mazandaran), c: *N. complanata* Loveh (Golestan), d: *N. crispa* Dodangeh (Mazandaran), S: *N. crispa* Tuskachal (Mazandaran), C: *N. crispa* Royan Mazandaran)

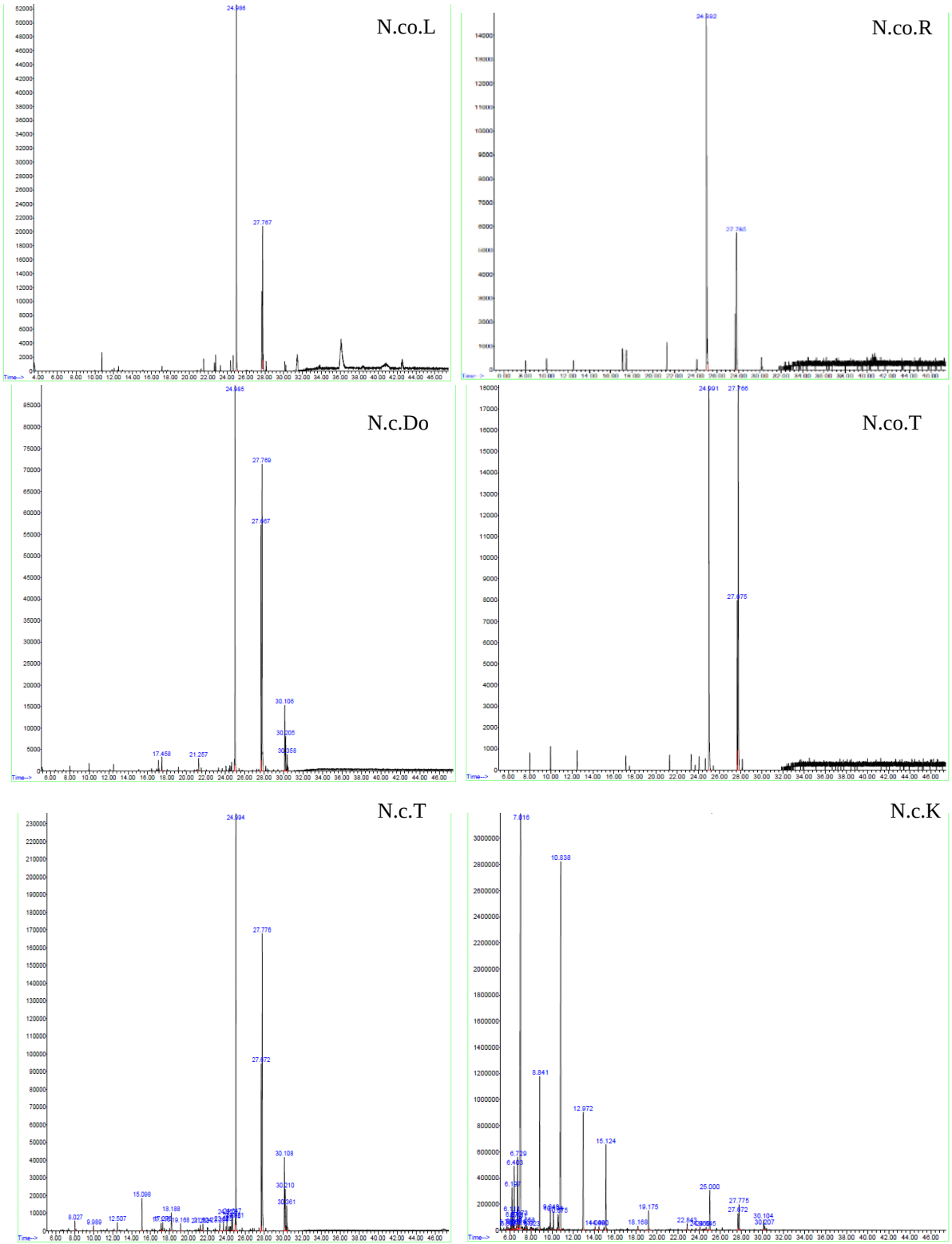
نتایج حاصل از تفکیک ترکیبات اسید چرب با استفاده از دستگاه GC/MS نشان‌دهندهٔ تنوع در جمعیت‌هاست. جمعیت N.co.T (مازندران) دارای یک ترکیب اسید چرب به نام Hexadecanoic acid است که ۷۱/۱۹ درصد از کل عصارهٔ شناسایی‌شده را تشکیل می‌دهد. عصارهٔ جمعیت N.co.L (گلستان) دارای دو

ترکیب اسید چرب به نام Hexadecanoic acid و 9,12,15-Octadecatrienoic acid است که ۱۰۰ درصد از کل عصارهٔ شناسایی‌شده را شامل می‌شود. ترکیب Hexadecanoic acid با ۶۹/۴۲ درصد، بیشترین و ترکیب 9,12,15-Octadecatrienoic acid، کمترین مقدار ترکیب متیل استرشده در کل عصاره را به خود اختصاص داد. جمعیت N.co.R (گیلان) دارای دو ترکیب اسید چرب به نام Hexadecanoic acid و 15-Octadecenoic acid است که ۸۳/۹۷ درصد از کل عصارهٔ شناسایی‌شده را به خود اختصاص می‌دهد. ترکیب 15-Octadecenoic acid با ۴۳/۶۶ درصد بیشترین و ترکیب Hexadecanoic acid با ۴۰/۳۱ درصد، کمترین مقدار ترکیب متیل استرشده از کل عصاره را شامل می‌شود. جمعیت N. c. K (مازندران) دارای هفت ترکیب اسید چرب به نام Hexadecanoic acid، Nonanedioic acid، 9,12-Octadecadienoic acid، 9, 12, 15-Octadecatrienoic acid، 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid، Pentanoic acid,4-oxo و Butanedioic acid است که ۸/۷۳ درصد از کل عصارهٔ شناسایی‌شده را به خود اختصاص می‌دهند. ترکیب Pentanoic acid, 4-oxo با ۴/۲۰ درصد بیشترین و Nonanedioic acid با ۰/۱۸ درصد، کمترین مقدار ترکیب متیل استرشده از کل عصاره را تشکیل می‌دهد. جمعیت N. c. K (مازندران) دارای هفت ترکیب اسید چرب به نام‌های Hexadecanoic acid ، Nonanedioic acid، Octadecanoic acid، Heneicosanoic acid، 9,12-Octadecadienoic acid، 9,12,15-Octadecatrienoic acid، 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid است که ۸۵/۶۸ درصد از کل عصارهٔ شناسایی‌شده را شامل می‌شود. ترکیب Hexadecanoic acid با ۳۳/۳۱ درصد، بیشترین و Octadecanoic acid با ۵۳ درصد، کمترین مقدار ترکیب متیل استرشده از کل عصاره را به خود اختصاص می‌دهند. جمعیت N.c.Do (مازندران) دارای هفت ترکیب اسید چرب به نام‌های Hexadecanoic acid، Nonanedioic acid، Octadecanoic acid، Heneicosanoic acid، 9,12-Octadecadienoic acid، 9,12,15-Octadecatrienoic acid، 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid است که ۶۵/۶۸ درصد از کل عصاره شناسایی‌شده را شامل می‌شود. ترکیب Hexadecanoic acid با ۲۸/۱۴ درصد بیشترین و ترکیب Heneicosanoic acid با ۰/۲۱ درصد کمترین مقدار ترکیب متیل استرشده از کل عصاره را تشکیل می‌دهند (جدول۳ و ۴).

جدول ۴- نوع و مقدار اسیدهای چرب موجود در جمعیت‌های گونه *N. complanata* و *N. crispa* با استفاده از دستگاه GC/MS

Table 4. The type and amount of fatty acids in the populations of *N. complanata* and *N. crispa* using GC/MS

Compound/species ترکیبات / گونه ها	Chemical formul فرمول شیمیایی	N.co.R	N.co.L	N.co.T	N.c. K	N.c. T	N.c. Do
altitude		643m	625m	1145m	443m	1145m	730m
Hexadecanoic acid	$C_{17}H_{34}O_2$	% 71.19	% 69.42	% 40.31	% 1.71	% 33.31	% 28.14
Nonanedioic acid	$C_{11}H_{20}O_4$	-	-	-	% 0.18	% 2.51	% 1.34
Octadecanoic acid	$C_{19}H_{38}O_2$	-	-	-	0.1 <	% 0.53	% 0.98
Heneicosanoic acid	$C_{22}H_{44}O_2$	-	-	-	0.1 <	% 0.72	% 0.21
9,12-Octadecadienoic acid	$C_{19}H_{34}O_2$	-	-	-	% 0.77	% 13.16	% 4.38
9,12,15-Octadecatrienoic acid	C19H32O2	0.1 <	% 30.58	0.1 <	% 1.10	% 29.2	% 25
5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid	$C_{21}H_{34}O_2$	-	-	-	% 0.48	% 6.25	% 5.63
Pentanoic acid, 4-oxo	$C_6H_{10}O_3$	-	-	-	% 4.20	0.1 <	0.1 <
Butanedioic acid	$C_5H_7O_4^-$	-	-	-	% 0.29	0.1 <	0.1 <
15-Octadecenoic acid	$C_{19}H_{36}O_2$	0.1 <	0.1 <	% 43.66	-	-	-

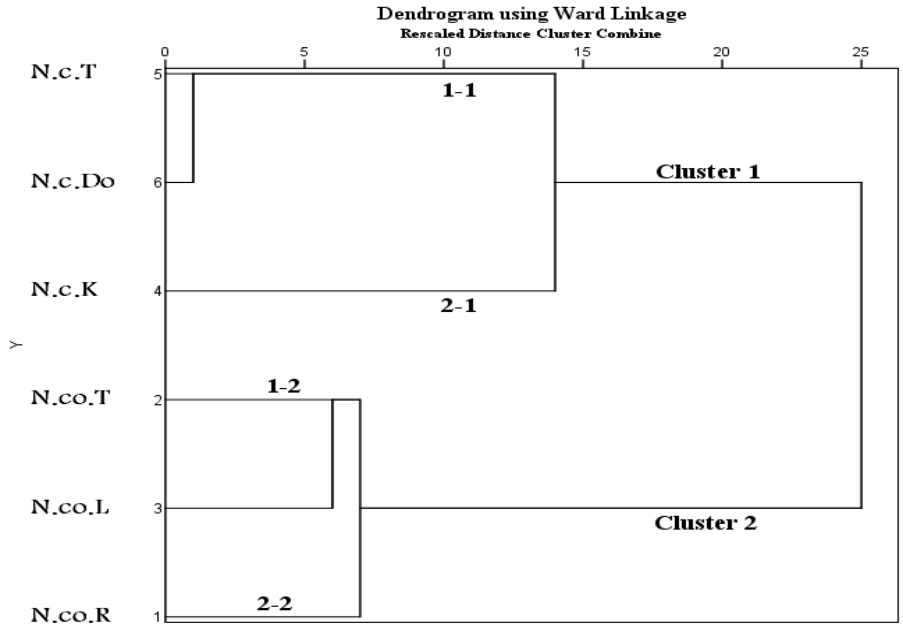


شکل ۳- کروماتوگرام حاصل از داده‌های رده‌بندی شیمیایی با استفاده از دستگاه GC/MSS در جمعیت‌های مختلف گونه‌های بررسی‌شده

Figure 3. Chromatogram obtained from chemical classification data using GC/MSS device in different populations of studied species

کروموتوگرام حاصل از داده‌های GC/MS، بیانگر زمان و مقدار دقیق هر یک از ترکیب‌های شناسایی‌شده در هر جمعیت است. Hexadecanoic acid در جمعیت N.co. R در دقیقهٔ ۲۴/۹۹۲، در جمعیت N.co. L در دقیقهٔ ۲۴/۹۸۶، در جمعیت N.co.T در دقیقهٔ ۲۴/۹۹۱، در جمعیت N.c. K در دقیقهٔ ۲۵، در جمعیت N.c. T در دقیقهٔ ۲۴/۹۹۴ و در جمعیت N.c. Do در دقیقهٔ ۲۴/۹۸۵ از شروع سنجش شناسایی شد (شکل ۳). 9,12,15-Octadecatrienoic acid در جمعیت N.co. R در دقیقهٔ ۲۷/۷۶۸، در جمعیت N.co.L در دقیقهٔ ۲۷/۷۶۷، در جمعیت N.co.T در دقیقهٔ ۲۷/۷۶۸، در جمعیت N.c. K در دقیقهٔ ۲۷/۷۷۵، در جمعیت N.c. T در دقیقهٔ ۲۷/۷۷۶ و در جمعیت N.c. Do در دقیقهٔ ۲۷/۷۶۹ از شروع سنجش شناسایی شد.5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid در جمعیت N.c. K در دقیقهٔ ۳۰.۱۰۴، N.c. T در دقیقهٔ ۳۰.۱۰۸ و N.c. Do در دقیقهٔ ۳۰.۱۰۶ از شروع سنجش شناسایی شد (شکل ۳).

با توجه به دندروگرام حاصل از نتایج رده‌بندی شیمیایی، شاخهٔ اصلی در سطح ۲۵ درصد به دو شاخهٔ فرعی ۱ و ۲ تقسیم شد که حدود ۷۵ درصد تشابه صفات را در بر می‌گیرد. شاخهٔ اصلی ۱ شامل دو شاخهٔ فرعی ۱-۱ و ۱-۲ است که شاخهٔ فرعی ۱-۱ شامل جمعیت‌های N.c.T و N.c.Do و شاخهٔ فرعی۲-۱ شامل جمعیت N.c.K است. شاخهٔ اصلی ۲ نیز شامل دو شاخهٔ فرعی ۲-۱ و ۲-۲ است که شاخهٔ فرعی ۲-۱ شامل جمعیت‌هایN.co.T و N.co.L بوده و شاخهٔ فرعی ۲-۲ شامل جمعیت N.co.R است. براساس اطلاعات موجود در دندروگرام، شاخهٔ اصلی اول مربوط به گونهٔ *N. crispa* و شاخهٔ اصلی دوم مربوط به گونهٔ *N. complanata* است. جمعیت‌های مربوط به هر یک از گونه‌ها به‌صورتی آرایش می‌یابند که جمعیت‌هایی که شباهت بیشتری دارند در کنار هم و جمعیت‌هایی که تفاوت بیشتری دارند دورتر از هم در گروه‌های مجزا قرار می‌گیرند. در جمعیت‌های مربوط به گونهٔ *N. complanata*، جمعیت‌های N.co.T و N.co.L و در گونهٔ *N. crispa*، جمعیت‌های N.c.T و N.c.Do شباهت بیشتری به یکدیگر داشتند و با درصد تشابه بیشتر نسبت به جمعیت‌های دیگر از هم جدا شدند (شکل ۴).



شکل ۴- دندروگرام حاصل از داده‌های رده‌بندی شیمیایی در جمعیت‌های مختلف گونه‌های بررسی‌شده

Figure 4. Dendrogram obtained from chemical classification data in different populations of studied species

بحث

خانوادهٔ Neckeraceae دارای ۳۷ جنس و ۲۰۰ گونه در سراسر جهان است (Enroth, 1994). یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های تیرهٔ مذکور *Neckera* است که دارای ۵۰ گونه در سراسر جهان است (Olsson et al., 2011). در گذشتهٔ نه‌چندان دور تاکسونومی و رده‌بندی گیاهان براساس صفات و ویژگی‌های ظاهری و ریخت‌شناسی صورت می‌گرفت، ولی امروزه تاکسونومی مدرن (بیوسیستماتیک) با استفاده از شاخص‌های زیستی همچون داده‌های شیمیایی و خصوصیات هاگ‌ها به طبقه‌بندی گونه‌ها، بررسی قرابت‌ها و خویشاوندی‌های موجود و واگرایی جمعیت‌ها می‌پردازد.

در خصوص رده‌بندی خزه‌ها اختلاف‌های زیادی در منابع وجود دارد (Buck et al., 2000). پژوهش‌های گذشته روی *N. complanata* و *N. crispa* براساس رده‌بندی کلاسیک و برپایهٔ پژوهش‌های ریخت‌شناسی صورت انجام گرفته است (Anderson et al., 1990; Hedena¨s, 1992). امروزه روش‌های نو با دقت بسیار بیشتر برای طبقه‌بندی آرایه‌ها به کار می‌روند. براساس پژوهش‌های هاگ‌شناسی (Potoglu Erkara & Savaroglu, 2007) اندازهٔ هاگ‌ها در محدودهٔ ۲۵-۰ میکرومتر کوچک، در محدودهٔ ۵۰-۲۵ میکرومتر متوسط و بیشتر از ۵۰ میکرومتر بزرگ در نظر گرفته می‌شوند. براساس پژوهش‌ها روی چهار گونه خزه از گروه Pleurocarpous از جنس‌های *Neckera* و *Leptodon* دریافتند که اندازهٔ هاگ گونهٔ *N. cephalonica* در محدودهٔ ۲۶-۱۳ میکرومتر و اندازهٔ هاگ *N. intermedia* در محدودهٔ ۲۷-۱۱ میکرومتر قرار دارد. همچنین به این نتیجه رسیدند که هاگ‌های جنس *Neckera* کوچک‌اند (Alfayate *et al*., 2013). در پژوهش حاضر جمعیت‌های لوه، توسکاچال و رضوانشهر متعلق به گونهٔ *N. complamata* به‌ترتیب در اندازه‌های ۳۵/۹۹، ۶۴/۱۴ و ۵۰/۳۱ میکرومتر و جمعیت‌های رامسر، توسکاچال و دودانگه متعلق به گونهٔ *N. crispa* به‌ترتیب در اندازه‌های ۲۷/۱۷، ۲۸/۱۸ و ۳۳/۱۳ میکرومتر قرار دارند. نتایج پژوهش‌های هاگ‌شناسی در شش جمعیت از دو گونه جنس *Neckera*، بیانگر این واقعیت است که اندازهٔ هاگ‌ها در همهٔ جمعیت‌ها متوسط است، به‌جز هاگ‌های جمعیت‌های N.co.T و N.co.R متعلق به گونهٔ *N. complanata* که بزرگ‌اند. طبق پژوهش‌ها روی دو نوع هاگ از گونهٔ *Leocodon sciuroides* (Hedw.) با توجه به اندازهٔ هاگ‌ها، در دو گروه متوسط و بزرگ قرار گرفتند که با نتایج پژوهش حاضر کاملاً مطابقت دارد. اندازهٔ بزرگ هاگ ممکن است به‌دلیل سازگاری با راهبرد گرده‌افشانی از طریق حشرات باشد (Clarke, 1979; Proctor & Yeo, 1973). نتایج پژوهش‌های ریخت‌شناسی هاگ روی جنس *Neckera* نشان داد که شکل هاگ‌ها در دو گونهٔ *Neckera intermedia* و *Neckera cephalonica* کروی است (Alfayate et al., 2013)). در پژوهش حاضر، نسبت P/E در جمعیت‌های متعلق به گونهٔ *N. complanata* شامل جمعیت N.co.L برابر با ۱/۰۴۲، N.co.T برابر با ۰/۹۲۳ و N.co.R برابر با ۱/۰۳۶ است که نشان‌دهندهٔ تقریباً کروی بودن دانه‌های هاگ در جمعیت‌های گونهٔ *N. complanata* است که با یافته‌های (Alfayate et al., 2013) کاملاً مطابقت دارد. اما نسبت P/E در جمعیت‌های مربوط به گونهٔ *N. crispa* شامل جمعیت N.c.K برابر با ۱/۹۴۵، جمعیت N.c.T برابر با ۲/۱۱۰ و جمعیت N.c.D برابر با ۲/۳۱۵ است که نشان‌دهندهٔ بیضی‌شکل بودن جمعیت‌های مربوط به گونهٔ *N. crispa* است (شکل ۲) که با نتایج (Alfayate et al., 2013) مطابقت ندارد. تزیینات سطحی اگزین در جمعیت‌های *N. complanata* به‌صورت گرانالوم (به‌صورت خارهای ریز و کوچک) است، اما در جمعیت‌های *N. crispa* کاملاً متفاوت است. با توجه به داده‌های هاگ‌شناسی و ماتریکس عوامل، صفاتی همچون طول محور قطبی، عرض محور استوایی،

فاصلهٔ بین سوراخ‌ها، اندازهٔ هاگ، تعداد سوراخ‌ها، تزیینات سطح اگزین، منفذ و نوع منفذ از صفات بسیار مهم و تأثیرگذار در تفکیک و جداسازی جمعیت‌های گونه‌ها هستند. براساس پژوهش‌ها، بیشتر هاگ‌ها منافذی از نوع یک سوراخ سه‌شعاعی منفرد یا یک شکاف طولی دارند (Brubaker et al., 1998)). با توجه به نتایج هاگ‌شناسی به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر، منافذ در جمعیت N.co.R به‌صورت یک سوراخ و یک شیار و در جمعیت N.co.T به‌صورت دو سوراخ و یک شیار هستند و جمعیت N.co.L سه منفذ دارند. اما در جمعیت‌های گونهٔ *N. crispa* هیچ منفذی مشاهده نشده است که به لحاظ تاکسونومیکی بسیار باارزش و شایان تأمل است.

گزارش‌های متنوعی برپایهٔ پژوهش‌های رده‌بندی شیمیایی در خزه‌گیان در دسترس است که بیشتر تحقیقات بر ترکیبات اسید چرب متمرکز شده است (Asakawa, 1995). طبق دندروگرام حاصل از GC/MS پژوهش حاضر، تمام جمعیت‌های گونهٔ *N complanata*. و جمعیت‌های گونهٔ *N. crispa* به‌خوبی از یکدیگر جدا شده‌اند. در این تحقیق ۱۰ نوع ترکیب اسید چرب از شش جمعیت متعلق به دو گونهٔ *N. complanata* و *N. crispa* با استفاده از دستگاه GC/MS جداسازی شد. ترکیباتی مانند Hexadecanoic acid، Nonanedioic acid، Octadecanoic acid، Heneicosanoic acid، 9,12-Octadecadienoic acid، 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid، 9,12,15-Octadecatrienoic acid، Pentanoic acid, 4-oxo و Butanedioic acid از ترکیبات بسیار مهم در تفکیک دو گونه از یکدیگرند و ترکیبات Hexadecanoic acid و 9,12,15-Octadecatrienoic acid از ترکیبات بسیار مهم در جدایی و تفکیک جمعیت‌های *N complanata*. به شمار می‌روند و ترکیبات Hexadecanoic acid، 9,12-Octadecadienoic acid، 9,12,15-Octadecatrienoic acid و 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid از ترکیبات بسیار مهم و تأثیرگذار در جدایی جمعیت‌های *N. crispa* هستند.

از اسیدهای چربی که به‌طور معمول در بیشتر خزه‌های بررسی‌شده به مقدار اندکی یافت می‌شود، می‌توان به Lauric acid اشاره کرد (Marsili et al., 1972). در پژوهش حاضر اسید چرب Lauric acid یافت نشد. اسید چرب Hexadecanoic acid در همهٔ جمعیت‌های هر دو گونهٔ *N. complanata* و *N. crispa* مشاهده شد. طبق پژوهش‌ها روی جنس *Dicranum* و همچنین گونه‌های *Climacium dendroides*، *N. crispa*، *Abietinella abietina*، *Hypnum cupressiforme*، *Rhytidiadelphus squarrosus*، *Rhytidiadelphus triqueter*، *Polytrichum formosum* و *Spagnum teres*، اسید چرب Hexadecanoic acid مشاهده شد (Marsili et al., 1972)) که با نتایج پژوهش حاضر کاملاً مطابقت دارد و می‌توان نتیجه گرفت که اسید چرب Hexadecanoic acid از مشتقات اصلی اسید چرب در خزه‌های پلئوروکارپوس است (Marsili et al., 1972). در تحقیق حاضر، اسیدهای چرب بررسی‌شده شامل Hexadecanoic acid، Octadecanoic acid، Nonanedioic acid، Heneicosanoic acid، 9,12-Octadecadienoic acid، 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid، Pentanoic acid, 4-oxo، Butanedioic acid و 15-Octadecenoic acid هستند که با بیشتر اسیدهای چرب شناسایی‌شده توسط (Marsili et al., 1972; Mitra, 2017) یکسان‌اند و کاملاً مطابقت دارند.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر بیانگر این است که با استفاده از روش‌های استفاده‌شده در این تحلیل، خزه‌های دو گونهٔ *N. complanata* و *N. crispa* به‌خوبی از یکدیگر تفکیک شده‌اند که این یافته با پژوهش Mohammadzadeh et al. (2021) مطابقت دارد.

همچنین از نظر شکل دانهٔ گرده و اسیدهای چرب، جمعیت‌های این دو گونه کاملاً متفاوت‌اند. با توجه به دندروگرام حاصل از پژوهش‌های هاگ‌شناسی و رده‌بندی شیمیایی، جمعیت‌های N.c.Do و N.c.T متعلق به گونهٔ *N. crispa* بسیار به یکدیگر نزدیک‌اند و تشابه بیشتری نسبت به جمعیت N.c.K دارند. در گونهٔ *N. complanata*، با توجه به دندروگرام حاصل از پژوهش‌های فیتوشیمیایی، جمعیت‌های N.co.L و N.co.T تشابه بیشتری نسبت به جمعیت N.co.R دارند. همچنین در پژوهش‌های هاگ‌شناسی، جمعیت‌های N.co.R و N.co.T تشابه بیشتری نسبت به جمعیت N.co.L نشان می‌دهند که این امر بیانگر جدایی جمعیت‌های گونه‌های *N. complanata* و *N. crispa* از یکدیگر است که از این جهت دارای اهمیت‌اند که می‌توان براساس چنین تحلیل‌هایی گروه‌های مشابه را از هم تفکیک کرد و در ارزیابی تفاوت‌های جمعیتی این گروه‌های مهم ولی کوچک و گاه نامحسوس که بخشی از ساختار جوامع جنگلی هستند از آنها استفاده کرد. اهمیت این گونه‌های اپی‌فیت که در انتخاب میزبان و بستر خود به‌طور اختصاصی عمل می‌کنند به‌قدری زیاد است که امروزه با استفاده از تفاوت‌های جزئی در عناصر زیستی شاخص، واحدهای اکولوژیکی و به‌تبع آن اکوسیستم‌ها و ساختار وابسته به آن، طبقه‌بندی و تفکیک می‌شوند.

سپاسگزاری

از داوران ارجمند، باغ گیاهشناسی نوشهر، پروفسور هدناس لارس و سازمان‌های مرتبط که در ارزیابی و بهبود این پژوهش به نویسندگان کمک کردند سپاسگزاری و تقدیر می‌شود.

References

Alfayate, C., Ron, E., Estébanez, B., & Pérez-Batista, M.Á. (2013). Mature spores of four pleurocarpous mosses in the Canary Islands: ultrastructure and early germination stages. *The bryologist*, *116*(2), 97-112.

Akhani, H., & Kürschner, H. (2004). An annotated and updated checklist of the Iranian bryoflora. Cryptogamie. *Bryologie*, *25*(4), 315-347. (In Persian)

Anderson, L.E., Crum, H.A., & Buck, W.R. (1990). List of the mosses of North America north of Mexico. *Bryologist*, 448-499.

Moridpour, A., Namitanian, M., Alavi, s.j., & Etemad, V. (2022). Identifying the most important factors affecting the distribution of Ash (Fraxinus excelsior L.) and detect potential habitats areas in Kherudkanar Nowshahr forest. *Iranian Journal of Forest*, *15*(1), 69-85. (in persian)

Asakawa, Y. (1995). Chemical constituents of the bryophytes. In Progress in the chemistry of organic natural products. *Springer*, 1-562p.

Brubaker, L., Anderson, P., Murray, B., & Koon, D. (1998). A palynological investigation of true-moss (Bryidae) spores: Morphology and occurrence in modern and late Quaternary lake sediments of Alaska. *Canadian Journal of Botany*, *76*(12), 2145-2157.

Buck, W.R., Goffinet, B., & Shaw, A.J. (2000). Testing morphological concepts of orders of pleurocarpous mosses (Bryophyta) using phylogenetic reconstructions based on trnL-trnF and rps4 sequences. *Molecular phylogenetics and evolution*, *16*(2), 180-198.

Clarke, G. (1979). *Spore morphology and bryophyte systematics In: Clarke GCS, Duckett JG, editors.* eds. Bryophyte systematics. In: London: Academic Press.

Enroth, J. (1994). On the evolution and circumscription of the Neckeraceae (Musci). *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, *1994*(76), 13-20.

Enroth, J., & Ji, M. (2007). A new species of *Neckera* (Neckeraceae, Bryopsida) from Xizang, China. *Edinburgh journal of botany*.

Frey, W., & Korschner, H. (1977). Studies on the bryophyte flora and vegetation of The National Park, North Iran. *The Iranian Journal of Botany, 1*, 137-153.

Frey, W., & Kürschner, H. (1983). Contributions towards a bryophyte flora of Iran, new records from Iran. *The Iranian Journal of Botany, 2*, 13-19.

Hedenäs, L. (1992). *Flora of Madeiran pleurocarpous mosses (Isobryales, Hypnobryales, Hookeriales)*. J. Cramer. 165p.

Khoush, R.R., & Kazem, P.O.S. (2007). Spore morphology of certain mosses of northern Tehran-Iran: *taxonomical and ecological implications*, 150-159p. (In Persian)

Kohn, G., Demmerle, S., Vandekerkhove, O., Hartmann, E., & Beutelmann, P. (1987). Distribution and chemotaxonomic significance of acetylenic fatty acids in mosses of the Dicranales. *Phytochemistry*, *26*(8), 2271-2275.

Mann, J., Davidson, R.S., Hobbs, J.B., Banthorpe, D., & Harborne, J.B. (1994). *Natural products: their chemistry and biological significance*. Longman Scientific & Technical.

Marsili, A., Morelli, I., Bernardini, C., & Pacchiani, M. (1972). Constituents of some mosses. *Phytochemistry*, *11*(6), 2003-2005.

Mitra, S. (2017). High content of Dicranin in *Anisothecium spirale* (Mitt.) Broth., a moss from Eastern Himalayas and its chemotaxonomic significance. *Lipids*, *52*(2), 173-178.

Mohammadzadeh Gharegheshlagh, F., Mahmoudi Otaghvari, A., Zare, H., & Aghajanzadeh, T. (2021). Isoenzyme Investigation and Morphometrics Study of *Neckera complanata* and *Neckera* crispa. *Journal of Genetic Resources, 7*(1), 59-71. (In Persian)

Mongrand, S., Badoc, A., Patouille, B., Lacomblez, C., Chavent, M., & Bessoule, J.J. (2005). Chemotaxonomy of the Rubiaceae family based on leaf fatty acid composition. *Phytochemistry*, *66*(5), 549-559.

Nakipoglu, M. (2002). The classification of the Salvia L.(Labiatae) species distributed in West Anatolia according to phenolic compounds. *Turkish journal of botany*, *26*(2), 103-108.

Olsson, S., Enroth, J., Buchbender, V., Hedenäs, L., Huttunen, S., & Quandt, D. (2011). Neckera and Thamnobryum (Neckeraceae, Bryopsida): Paraphyletic assemblages. *Taxon, 60*(1), 36-50.

Perdetzoglou, D.K., Kofinas, C., Chinou, I., Loukis, A., & Harvala, C. (2000). A comparative chemotaxonomic study of eight taxa of the Dipsacaceae family. *Plant Biosystems*, *134*(2), 213-218.

Potoglu Erkara, I., & Savaroglu, F. (2007). Spore morphology of some Brachytheciaceae Schimp. species (Bryophyta) from Turkey. *Nordic Journal of Botany*, *25*(3-4), 194-198.

Proctor, M., & Yeo, P. (1973). *The pollination of flowers*.

peyravi Latif, Sh., Hejazi., R., Ashrafi, S., & Jozi, S.A. (2022) . Habitat suitability modeling of cave dweller bats in Rudbar county to introduce the conservation-management unit of forest. *Iranian Journal of Forest, 15*(1), 87-105. (In Persian)

Shirzadi Laskookalaye, S., Amirnejad, H., & Hoseini, S. (2021). The Investigation on the economic and social consequences of forest logging in Mazandaran Province. *Iranian Journal of Forest, 12*(4), 491-506. (In Persian)

Susilo, S., & Suciati, R. (2016). Studies of morphological and secondary metabolites variaty of mosses (bryophyta) in Cibodas, West Java. *International Journal of Advanced Research, 4*(12), 1397-1402.

Iranian Journal of Forest
Vol. 16, No. 3, Autumn 2024
pp. 311-172
Research Article

DOI: 10.22034/ijf.2024.345713.1875

Chemotaxonomy and Palynology Study on *Neckera complanata* (Hedw.) Huebener and *Neckera crispa* Hedw in North of Iran

F.M. Ghareghesh lagh [1], A.M. Otaghvari [2*], H. zare [3], and T.A. Aghajanzadeh [4]

[1]M.Sc. Student of Systematics and Ecology, Dept. of Plant science, Faculty of Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. Iran.
[2]Associate Prof., Dept. of plant science, Faculty of Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. Iran.
[3]Assistant Prof., Nowshahr Botanical Garden, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran.
[4]Associate Prof., Dept. of plant science, Faculty of Science, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. Iran.

(Received: 13 June 2022; Accepted: 12 July 2023)

Abstract

Introduction: The species *Neckera complanata* (Hedw.) Huebener and *Neckera crispa* Hedw are epiphyte mosses and indicators of many species and trees in Hyrcanian humid forests (northern Iran). Investigating their importance in the ecological studies of these forests is essential, therefore, in order to facilitate the separation or recognition of these two closely related species and express the differences and similarities, chemotaxonomy and sporology were used.

Material and Methods: For this purpose, six moss populations from the three provinces of Golestan, Mazandaran and Gilan were collected at almost the same altitudes in the fall of 2017, checked and confirmed by identification keys, and using sporology (10 quantitative and seven qualitative traits) and chemotaxonomy (evaluation of fatty acids using gas chromatography method (GC/MS)).

Results: After completing the sporological and phytochemical tests in the laboratory, the results of the sporological study showed that according to the ratio of the length of the polar axis of the spore to the width of the equatorial axis, the shape of the spores in *N. complanata* populations is spherical and it is oval in *N. Crispa populations*. The surface decoration in *N. complanata* moss is of granuloma type and it is completely different from the surface decoration found in *N. crispa* moss, which indicates the complete separation of the two studied species in different levels from each other. The results of the chemical classification study regarding fatty acid data based on GC/MS showed that *N. complanata* moss populations have compounds of Hexadecanoic acid, 9,12,15-Octadecatrienoic acid and 15-Octadecenoic acid and *N. crispa* moss has compounds of Hexadecanoic acid, Nonanedioic acid, Octadecanoic acid, Heneicosanoic acid, 9,12-Octadecadienoic acid, 9,12,15-Octadecatrienoic acid, 5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, Pentanoic acid, 4-oxo and Butanedioic acid.

Conclusion: The results of fatty acid data based on GC/MS in *N. complanata* populations had only a few types of methyl ester compounds, which are completely different from *N. crispa* populations in terms of the type of compound and its amount, and also the results of micromorphometric data showed that the spore shape in the populations related to *N. complanata* species is spherical and the spore shape in *N. crispa* populations is oval and also the P/E ratio in all populations indicates the separation of these two species from each other. Therefore, the type of compounds and their amount are completely different in the two studied species as well as their different populations. The general results obtained from the chemotaxonomy and sporology show the complete separation of the two studied species and populations, which can be considered as an effective method in separating the lesser-known but effective species in the forest environment and similar ecosystems.

Keywords: Fatty acid, Biosystematics, Hyrcanian forests, *Neckera* Mosses, Spore.

[*] Corresponding author Tel: +98 9112332172 Email:botany1347@gmail.com