# دراسات تصنيفيه لبعض أنواع جنس الهورنيا (الفصيله العشاريه) النامية في وادي ذي غزال بمحافظة الطائف

اعداد الطالبه

سماح عبدالله فيصل الحربي

إشراف

د.ناهد مراد والي

## المستخلص

ينتمي جنس ***Huernia*** **R.Br. الى الفصيلة العشاريه *Asclepiadaceae* ، يضم حوالي 70 نوع ، تنتشر في المناطق المدارية من العالم في جنوب أفريقيا والجزيرة العربية ، يمثل جنس *Huernia* في المملكة العربية السعودية 8 أنواع .تنمو في المرتفعات الغربية والجنوبية الغربية للمملكة العربية السعودية . وتتشابه أنواع جنس *Huernia* مورفولوجيا لدرجة إمكانية الخلط بينها عند تعريفها أو تصنيفها. و وادي ذي غزال في منطقة الشفا أغنى مناطق محافظة الطائف بالغطاء النباتي يزخر بالعديد من أنواع جنس *Huernia*. يهدف هذا البحث إلى دراسة الشكل الظاهري وتركيب كتل اللقاح و التصنيف الجزيئي لبعض أنوع جنس *Huernia* الناميه في وادي ذي غزال بمنطقة الشفا بمحافظة الطائف . وقد اشتملت الدراسة على الوصف المورفولوجي و وصف كتل اللقاح بالإضافة الى اجراء اختبار البصمة الوراثية باستخدام مؤشرات AFLP في 8 أنواع تم جمعها من منطقة الدراسة. و كان من نتائج هذا البحث اعادة تقيم الوضع التصنيفي لبعض الأنواع ونقلها من رتبة النوع الى رتبة الصنف و تحت النوع كما تم وصف ثلاثة أنواع جديدة (.sp.nov ) و صنفين وتحت نوع ، وقد أظهرت دراسة الصفات الظاهرية وجود صفات تصنيفية هامة أمكن بواسطتها وضع النباتات المدروسة *H.saudi arabica* , *H.khalidbinsultanii* var. A , *Huernia* sp. nov. 3, *Huernia* sp. nov. 2 , *Huernia* sp. nov. 1 , *H.khalidbinsultanii* ssp.C , *H.khalidbinsultanii* var. B , *Huernia* sp.(collenette1176) في مجموعتين : الأولى تميزت أزهارها بالحليمات الشعرية وضمت الأنواع *H.khalidbinsultanii* var.A وقد وضعت هذه المجموعة في تحت *Huernia* sp.nov. 1,*H.khalidbinsultani* ssp.C, *H.khalidbinsultanii* var. B , مجموعتين بناءا على لون التويج وطريقة انتشار االفصوص : تحت المجموعة الاولى تميزت باللون الاصفر الكريمي للتويج مع انحناء الفصوص الى الخلف وضمت النوع *Huernia* sp.nov. 1 فقط بينما ضمت تحت المجموعة الثانية *H.khalidbinsultanii* var.A, *H.khalidbinsultanii* ssp. C , *H.khalidbinsultanii* var. B و تميزت باللون الابيض الكريمي للتويج والانتشار التصاعدي للفصوص وقد أمكن تميزتحت النوع *H.khalidbinsultanii* ssp. C بالأزهار كبيرة الحجم نسبيا (بقطر أكبر من 3.5 سم ) ذات عنق طويل بينما كانت الأزهار في الصنفين *H.khalidbinsultanii* var. A و *H.khalidbinsultanii* var. B صغيرة (بقطر أقل من 3.5 سم والاعناق قصيرة ، وقد أمكن الفصل بينهما بشكل قاعدة الزوائد البتلية الداخلية حيث تميز *H.khalidbinsultanii* var. A بالقاعدة المثلثة بينما تميز *H.khalidbinsultanii* var. B بالقاعدة المستقيمة الشكل . بينما ضمت المجموعة الثانية الانواع *Huernia* sp.(collenette1176), *H. saudi arabica* , *Huernia* sp.nov. 3 , *Huernia* sp.nov. 2 وتميزت أزهارها بالحليمات المخروطية ، وقد تم تقسيمها الى تحت مجموعتين بناء على عدد الزوايا في السيقان حيث ضمت تحت المجموعة الأولى النوع *Huernia* sp.nov. 3 فقط والذي تميز بتضاعف عدد الزوايا في قمة بعض السيقان من 6–8 زوايا بينما ضمت تحت المجموعة الثانية الأنواع *Huernia* sp.(collenette1176), *H. saudi arabica* , *Huernia* sp.nov. 2 والتي لم يسجل فيها تضاعف لعدد زوايا السيقان وقد وضعت هذه الانواع في تحت مجموعتين الاولى ضمت النوع *H.saudi arabica* والذي تميز بالقاعده العريضة للحليمات أما النوعين *Huernia* sp.nov. 2 , *Huernia* sp.(collenette1176), فقد كانت فيهما قواعد الحليمات أضيق ، و أمكن الفصل بينهما عن طريق عرض انبوبة التويج وطول الفصوص الوسطية حيث كانت الأنبوبة في النوع الاول عريضة والفصوص الوسطية قصيرة والعكس في النوع الثاني حيث كانت الانبوبة ضيقة والفصوص الوسطية طويلة.وقد بينت دراسة تركيب كتل اللقاح Pollinaria للنباتات موضع الدراسة عن وجود صفات أمكن بواسطتها وضع النباتات في مجموعتين : ضمت المجموعة الاولى**

الانـــواع *H.khalidbinsultanii* var. A و *H.khalidbinsultanii* ssp. C , *H.khalidbinsultanii* var. B, *Huernia* sp.nov. 1والتـــي تميزت كتل اللقاح فيها بالشكل البيضاوي وتم تقسيمها الى تحت مجموعتين بناء على طول عرف الإنبات حيـث ضـمت الاولـى منهـا النـوع *Huernia* sp. nov. 1 فقط حيث كان فيه طول عرف الإنبات≤ 38 ميكرون اما تحت المجموعة الثانيه ضمت باقي الانواع وكان فيهـا طـول عرف الإنبات> 38 ميكرون والتي قسمت بدورها الى تحت مجموعتين بناء على نسبة طول الجسيم الى عرضه ضـمت الاولـى تحـت النـوع *H.khalidbinsultanii* ssp.C فقط والذي كان فيه طول الجسيم أكبر من عرضه اما تحت المجموعة الثانية تساوى فيها طـول الجسـيم مـع عرضة و ضمت الصنفين *H.khalidbinsultanii* var. A, *H.khalidbinsultanii* var. B وقد أمكن الفصل بينهما بواسطة طول كتلة اللقـاح الذي كان قصيرا في النوع الاول وطويل في النـوع الثـاني. وضـمت المجموعـة الثانيـة الأنـواع *H. saudi Arabica* *Huernia* sp.(collenette1176), *Huernia* sp.nov. 2 , *Huernia* sp.nov. 3 والتي تميزت بالشكل البيضاوي المتطاول لكتـل اللقـاح وقـد تميـز النوع*Huernia* sp.nov.2 بزيادة عرض الذراع فيه عن باقي الانواع بينما تميز النوع *Huernia* sp.(collenette1176)بضيق الاخدود المار في منتصف الجسيم عن النوعين *Huernia* sp.nov. 3 , *H.saudi arabica* والذي أمكن الفصل بينهما بعرض الجسيم الذي كان اكبر من 19 ميكرون في النوع *Huernia* sp.nov. 3 وأصغر من أو يساوي 19 ميكرون في النوع *H. saudi arabica* . وقد أظهر اختبـار البصمة الوراثية باستخدام مؤشرات AFLP باستخدام توليفتين من البادئات تعدد شـكليpolymorphism بنسـبة 34.4 % للتوليفـة الاولـى (EcoRI-ACG / Mse I– CAG) وبنسبة 21.87 % للتوليفة الثانية (EcoRI- AGC / Mse I– CAG) وقد أظهر مخطـط التحليـل التجميعـي ومصفوفة التشابه أن أقرب علاقة بين الأنواع كانت بين *H.khalidbinsultanii* var. A و *H.khalidbinsultanii* ssp.C (80 %) يليهـا بين كل من *H. saudi arabica,* و *Huerina* sp.nov.3 (71%) ثـم *Huerina* sp. nov. 1, و *Huerina* sp. nov. 2 (66%) وأخيـرا بـين *H.khalidbinsultanii* var. B, و*Huerina* sp.(collenette1176) ( 65% ) بينمـا كانـت أدنـى قيمـة للتشـابه بـين *Huerina* sp. nov. 2, وايضا بين *H.khalidbinsultanii* var.A, *Huerina* sp.nov.1, و *Huerina* sp.nov.3 بنسبة ( 35%) يليها بين كل من *H.saudi arabica,* و *H.khalidbinsultanii* ssp.C ( 36%) . ومن ناحية أخرى قسم مخطط التحليل التجميعي Dendogram الانواع الى مجموعتين رئيسيتين ، المجموعة الاولى قسمت الى مجموعتين فرعيتين المجموعة الاولى ضمت النوعين *Huerina* sp. nov.1, *Huerina* sp. nov. 2 في حين ضمت المجموعة الثانية *H.khalidbinsultanii* var. A و *H.khalidbinsultanii* ssp. C أما المجموعـة الرئيسية الثانية فقد ضمت مجموعتين فرعيتين الاولى ضمت النـوعين *Huernia* sp.nov. 3 و *H. saudi arabica* امـا الثانيـة ضـمت *Huerina* sp.(collenette1176), *H.khalidbinsultanii* var.B .وقد تم بناء مفتاحين تصنيفيين يعتمدان على الخصائص المورفولوجية و خصـائص كتـل اللقـاح للنباتـات موضـع الدراسـة.

# Taxonomic Studies on some species of genus *Huernia* R.Br. (*Asclepiadaceae*) growing in Wadi Thee Gazal in AL-Taif Province

by

Samah Abdullah Alharbi

Superviser by

Dr.Nahed Waly

## Abstract

**The genus *Huernia* R.Br. is a member of the family *Asclepiadaceae* . *Huernia* include about 70 species, is distributed in the tropical part of the world, South Africa and Saudi Arabia . About 8 species are growing in the western and southwestern regions of Saudi Arabia. *Huernia* species are so similar morphologically, that the confusion on their identification can be drown.Wadi Thee Gazal in Ash shafa region was the richest area with vegetation in Al-Taif province includes many species of genus *Huernia.*The aim of the present work is to do morphological , palynologycal and molecular studies of some *Huernia* species growing in wadi Thee Gazal. The studies include the morphological description of the *Huernia* species , the structure of pollinaria in addition to the DNA fingerprint using AFLP markers to perform detailed studies of polymorphism of 8 *Huernia* species under envestigation. As aresult of this research we were re-evaluate the taxonomic status of some species and re-instated at varietal level and subspecific level , 3 new species in addition to 2 new varieties and one subspecies are described ,the results of the morphological features of the studied species show the presence of many important characters, which can be used for separation *Huernia* species: *H.saudi arabica*, *H.khalidbinsultanii* var. A , *H.khalidbinsultanii* var. B , *H.khalidbinsultanii* ssp. C , *Huernia* sp.(collenette1176) , *Huernia* sp. nov. 1, *Huernia* sp.nov. 2 , *Huernia* sp.nov. 3 into two groups: The first group can be distinguish by the hairy like papillae which covered corolla inner surface,these group includes *H.khalidbinsultanii* var. A , *H.khalidbinsultanii* var. B , *H.khalidbinsultanii* ssp.C and *Huernia* sp.nov. 1, this group was divided into two sub-groups based on the corolla base color and lobes spreading , the first sub-gruop includes only *Huernia* sp.nov. 1 which characterized by yellow creamy corolla color with reflexed lobes, whereas the seconde sub-group has white creamy corolla color with steeply ascending lobes, this sub-groub includes the three rest, *H.khalidbinsultanii* ssp. C distinguish by larg flowers more than 3.5 cm in dim. and long pedicels > 10mm, whereas *H.khalidbinsultanii* var. A , *H.khalidbinsultanii* var. B has small flowers less than 3.5cm in dim. and short pedicels<10mm, we can differentiate between this two varieties by the triangular inner corona base in *H.khalidbinsultanii* var. A and straight one in *H.khalidbinsultanii* var. B.The second group includes *H. saudi Arabica, Huernia* sp.(collenette1176), *Huernia* sp.nov. 2 and *Huernia* sp.nov.3 which are characterized by conical papillae which covered corolla inner surface , this group divided into two sub-groups based on the multiblying of stem angles : the first sub-group can be distinguish by 5-angled stems which multiplying to 6-8 angles in the tip of some stems include *Huernia* sp.nov. 3 only ; whereas the second sub-group includes *Huernia* sp.(collenette1176)and *Huernia* sp.nov.2 and *H. saudi arabica* which are characterized by 5-angled stems without multiplication, this**

**group divided into two sub-groups based on the wide of papillae base, *H. saudi arabica* distinguish by broad base papillae. Both *Huernia* sp.(collenette1176) , *Huernia* sp.nov. 2 were characterized by narrow base papillae, *Huernia* sp.nov. 2 distinguish by broad corolla tube and short intermediate lobes, whereas *Huernia* sp. (collenette1176)distinguish by narrow corolla tube and long intermediate lobes. Also the study of pollinaria structure of the investigated species showed the occurrence characters that can be used in the separation of studied species in to two groups : the first group consists of *H.khalidbinsultanii* var. A , *H.khalidbinsultanii* var. B, *H.khalidbinsultanii* ssp. C, *Huernia* sp.nov.1 which can be distinguish by the elliptic pollinia, this group divided into two sub-groups based on the length of germination crest , the first sub-group include of *Huernia* sp.nov. 1 only with germination crest at38 µm in length ,the second one includes *H.khalidbinsultanii* var. A, *H.khalidbinsultanii* var. B and *H.khalidbinsultanii* ssp. C with germination crest more than 38µm in length , *H.khalidbinsultanii* ssp. C distinguish by increased length of corpasculum than its width , whereas both *H.khalidbinsultanii* var. A, *H.khalidbinsultanii* var. B was distinguish by equaling corpusculum lingth with its width, we can differentiate between this two species by the length of pollinium which are short in first species and long in the second one. The second sub-group consists of *H. saudi arabica* , *Huernia* sp.(collenette1176), *Huernia* sp.nov.2 *Huernia* sp.nov. 3 which can be distinguish by the oblong- elliptic pollinia, *Huernia* sp.nov.2 distinguish by broad caudical, *Huernia* sp.(collenette1176) distinguish by narrow groove corpasculum ,whereas both *Huernia* sp.nov. 3 , *H. saudi arabica* distinguish by broad groove corpasculum , we can separate between this two species by the width of corpasculum which can be ≤ 19 µm in *H. saudi arabica* and more than 19 µm in *Huernia* sp.nov. 3. AFLP analysis for the 6 species of *Huernia* using two primer combinations exhibited about 34.4% polymorphism with Combination I (*Eco*RI-ACG / *Mse* I– CAG) whereas about 21.87% polymorphism with Combination II (*Eco*RI- AGC / *Mse* I– CAG). Similarity matrix and dendrogram based on the data of AFLP-PCR analysis it is notice that the closest relationship was scored between *H.khalidbinsultanii* var.A, and *H.khalidbinsultanii* ssp. C, (80 %) followed by *H. saudi arabica*, and *Huerina*sp. nov. 3, (71%) then *Huerina* sp.nov.1, and *Huerina* sp.nov.2 (66 %) finally between *H.khalidbinsultanii* var. B, and *Huerina* sp.(collenette1176), (65%) .On the other hand, the lowest similarity value revealed between *H.khalidbinsultanii* var. A, and *Huerina* sp. nov. 1, also between *Huerina* sp. nov.3 and *Huerina* sp. nov. 2 (35 %) followed by *H. saudi arabica*, and *H.khalidbinsultanii* ssp. C,(36 %). On the other hand the dendrogram divided the plants into two main clusters, the first one divided into two sub-clusters, the first sub cluster included *Huerina* sp. nov.1, and *Huerina* sp. nov.2,while the second sub cluster comprised *H.khalidbinsultanii* var.A and *H.khalidbinsultanii* ssp. C .The second cluster divided into two sub cluster. The first one included *H. saudi arabica*, *Huerina* sp.nov. 3 but another one included *Huerina* sp.(collenette1176), *H.khalidbinsultanii* var.B .Two keys are drown, one based on the morphological characters, the second on the pollinaria characters**