

مطالعه تشریحی ساقه و دمگل آذین بخش *Beccabunga* از جنس *Veronica* در استانهای خراسان شمالی، رضوی و جنوبی

جمیل واعظی، دریه امیری مقدم، حمید اجتهادی، شیما صدیقی

- ۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۲- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۳- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۴- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

Email: vaezi@um.ac.ir

چکیده

در مقایسه با صفات ریخت‌شناسی، صفات تشریحی بعنوان صفات تقریباً پایدار و باثبات در تاکسونومی مطرح هستند. سه زیرگونه‌ی *Veronica beccabunga* subsp. *Veronica anagallis-aquatica* subsp. *oxycarpa* و *muscosa* و *Veronica anagalloides* subsp. *heureka* به لحاظ مورفولوژی شباهتهای فراوانی به یکدیگر داشته و صفاتی مانند کرک، شکل برگها، تعداد دانه‌های موجود در دانه و وضعیت دمبرگها آنها را از یکدیگر جدا می‌سازد. در این تحقیق سعی شده است تا با کمک صفات تشریحی صفات با ارزش تاکسونومیکی را برای جدا سازی آنها یافت. دو اندام ساقه و دمگل آذین برای این منظور انتخاب شدند. پس از برش گیری از اندامها، دو رنگ سافرانین و فست‌گرین برای رنگ آمیزی آنها انتخاب شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که مقطع ساقه، ضخامت آثرانشیم و ضخامت آوندهای چوب و آبکش در تفکیک سه زیرگونه‌ی فوق‌الذکر کارآمد هستند.

کلمات کلیدی: آناتومی، ساقه، *Veronica*، دمگل آذین، *Beccabunga*

۱. مقدمه

بخش *Beccabunga* شامل دو زیربخش *Eubeccabunga* شامل گونه‌ی دیپلوئید و (اروپایی-آسیایی) *V. beccabunga* L. و گونه‌ی تتراپلوئید و (امریکایی) *V. americana* است و زیربخش *Anagallides* شامل *V. anagallis-aquatica* می‌باشد. اولین زیربخش مطرح شده از نظر تاکسونومیکی مشکلی ندارد ولی دومین گروه *V. anagallis-aquatica*، یک کمپلکس مبهم از چندین گونه و زیرگونه که از طریق هیبرید شدن به طور نزدیکی به هم متصل می‌شوند و بیشترین سطوح پلوئیدی به صورت دیپلوئید و تتراپلوئید هستند [۵]. پس از یک تحقیق اساسی از جنوب غربی آسیا نشان داده شده که *V. beccabunga* L. شامل سه زیرگونه است که از نظر جغرافیایی متنوع اند [۴]. در فلور ترکیه صفات متمایز کننده آنها، شکل گل آذین، اندازه جام گل، طول خامه، شکل و اندازه کپسول می‌باشد [۳]. بخش *Beccabunga* زیربخش *anagalloides* شامل *V. anagallis-aquatica* L. و *V. anagalloides* Guss. که یک مشکل تاکسونومیکی را نشان می‌دهد. بخش *Alsinebe* یک گروه فوق‌العاده گنگ و شامل ۳۲ گونه و چندین زیرگونه است [۸]. بعضی از تاکسون‌های بررسی شده توزیع جهانی دارند *V. francispetae*

V. ceratocarpa C.A.Mey. و *V. siaretensis* E.Lehm.M.A.Fischer, در محدوده کوه البرز در ایران اندمیک هستند [۳]. در طی تحقیقات انجام شده در مصر، تمام گونه‌های بخش *Beccabunga* از جنس *Veronica* در مصر گزارش داده شدند. به جزء *V. kaiseri*، که در اروپای مرکزی واقع شده است. مشاهدات اولیه در این زمینه نشان داد که جمعیت مصری از *V. anagallis-aquatica*، *V. catenata*، *V. anagalloides* و *V. beccabunga* با آنهایی که در اروپای مرکزی بودند تفاوت داشتند [۹].

از عمده‌ترین مطالعات تشریحی، مطالعات بر روی چهار تاکسون *V. persica* متعلق به بخش *Veronica pocilla* از بخش *V. beccabunga* و *V. multifida beccabunga* و *V. officinalis* از بخش *Veronica* انجام شده است [۲]. بین صفات مورفولوژی کاراکترهای برگ مهمترین صفات برای جدایی این تاکسونها بودند. یک اندودرم برگ مانند به صورت یک یا دو لایه غلاف نشاسته‌ای در *V. multifida* و *V. officinalis* مشاهده می‌شود که در *V. persica* و *V. beccabunga* مشاهده نمیشود. ساختارگزیم در *V. multifida*، *V. officinalis* و *V. beccabunga* بسیار گسترش یافته است. کورتکس در *V. beccabunga* بسیار توسعه یافته و ساختار داخل سلولی عریضی دارد. وجود یا فقدان و توزیع بافت اسکلرانسیم ارزش تاکسونومی قابل توجهی در فلوم دارد [۶]. بافت اسکلرانسیم در *V. officinalis* به صورت منفرد است و در *V. multifida* به صورت منفرد یا فیبرهای دسته شده است و فیبرها شامل ۲-۶ سلول است. در *V. persica* و *V. beccabunga* بافت اسکلرانسیم وجود ندارد. وجود غلاف دستجات آوندی در برگهای *V. multifida* و *V. officinalis* و *V. beccabunga* یک ویژگی تاکسونومی مهم تشخیص داده شده است، این غلاف در *V. beccabunga* در سلولهای پارانشیم کوچک واقع می‌شود. در *V. officinalis* در یک لایه از سلولهای پارانشیم بزرگ و *V. multifida* در دو لایه سلولهای پارانشیم بزرگ واقع می‌شوند. بافت مزوفیل در *V. persica* و *V. beccabunga* بسیار متمایز است اما در *V. multifida* فقط شامل سلولهای پارانشیم پرچین و در *V. officinalis* شامل سلولهای کروی است [۷].

در این تحقیق صفات تشریحی ساقه و دمگل آذین سه زیرگونه‌ی *Veronica anagallis-aquatica* subsp. *oxycarpa*، *Veronica beccabunga* subsp. *muscosa*، *Veronica anagalloides* subsp. *heureka* متعلق به بخش *beccabunga* مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه کارایی صفات تشریحی در جداسازی تاکسونومیکی زیرگونه‌های فوق‌الذکر مورد ارزیابی قرار گرفته است.

۲. مواد و روشها

به منظور انجام مطالعات آناتومی ابتدا نمونه‌های جمع‌آوری شده را خشک می‌کنیم. اندامهای مورد نظر در محلول نرم‌کننده (اتانل خالص، آب مقطر، گلیسرین به نسبت مساوی) قرار داده شدند. زمان لازم بسته به نوع گیاه از چند هفته تا ۱ ماه متفاوت است. برای بررسی ساختار آناتومی نمونه‌ها، مقاطع عرضی از ساقه و دمگل آذین از چند نمونه تازه و خشک تهیه شد. پس از آن باید نمونه‌های خود را تثبیت کنیم. تثبیت نمونه: استفاده از تثبیت‌کننده به منظور انهدام سلول بدون تغییر ماهیت و رنگ پذیری آن انجام می‌شود. بدین منظور قطعات کوچک از اندام‌های مختلف به محلول FAA (اتانل، اسید استیک خالص، فرمالدئید) منتقل شدند. در حدود ۱۰ روز این نمونه‌ها برای تثبیت شدن در این محلول قرار گرفتند تا کاملاً به داخل بافتها نفوذ کند.

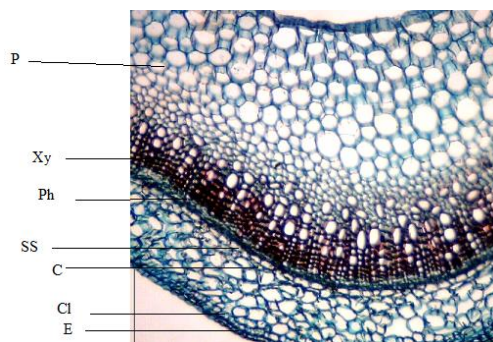
برش گیری: پس از تثبیت شدن، برش گیری از بافتها صورت گرفت برش‌گیری عرضی از بافت دمگل آذین و ساقه با روش دستی و با استفاده از تیغهای تجاری انجام شد. و بعد از برش‌گیری رنگ آمیزی بافتهای مورد نظر با روش سافرانین- فست گرین [۱] انجام گرفته است.

در روش سافرانین- فست گرین مراحل زیر به ترتیب انجام شدند:

ابتدا برش‌های تهیه شده در محلول آب ژاول ۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند این مرحله به منظور پاک سازی محتویات داخل سلولها انجام می‌گیرد. زمان انجام این مرحله به تغییر رنگ برش‌ها بستگی دارد و زمانیکه این برشها به رنگ سفید در آمدند آنها را از آب ژاول برداشته و در در الکل اتیلیک ۴۰ درصد به مدت زمان ۱۰ دقیقه قرار می‌دهیم. پس از آن رنگ آمیزی برش‌ها توسط رنگ سافرانین به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه انجام می‌گیرد و سپس برشها توسط آب مقطر شستشو داده می‌شوند. قرار دادن برشها در محلول اسید پیکریک به مدت ۱۰ ثانیه و پس از آن قرار دادن برشها در محلول آمونیاک که زمان لازم برای این کار دو دقیقه است. سپس برشها را در الکل اتیلیک ۹۵ درصد به مدت دو دقیقه قرار می‌دهیم. مرحله بعد رنگ آمیزی برشها است که توسط رنگ فست گرین به مدت ۱۵ ثانیه انجام می‌شود. باید توجه کرد که برای استفاده از این رنگ، ابتدا باید با الکل اتیلیک مطلق رقیق شود بطوریکه رنگ محلول مورد نظر سبز تیره به نظر آید. با ترکیب نسبت نامناسبی از رنگ با الکل، رنگی متمایل به سبز روشن یا سیاه به دست می‌آید. پس از رنگ آمیزی برشها، رنگ‌بری از برش‌ها توسط محلول گزیلول در مدت زمان ۱۵ ثانیه انجام شد. توجه شود که این ماده سمی است. در نهایت میتوان به منظور نگهداری برش‌ها برای مدت طولانی، آنها را با استفاده از لام، لامل و چسب کانادابالزام تثبیت نمود.

۳. نتایج

برش عرضی از قسمت میانی ساقه در گونه‌های بخش *beccabunga* نشان داد که ساقه دارای سطح مقطع کروی و چهارگوش می‌باشد. اپیدرم ساقه و دمگل آذین شامل سلولهای مستطیلی یا کروی شکل است. ضخامت کوتیکول تقریباً $2-2/5$ Mm است (جدول ۱ و ۲). که این لایه کوتیکولی روی اپیدرم را می‌پوشاند. در زیر اپیدرم یک لایه کلانشیم مشاهده می‌شود و زیر کلانشیم چند لایه سلولهای آثرانشیم حضور دارند. پس از لایه‌های آثرانشیمی غلاف نشاسته‌ای دیده می‌شود و این غلاف، غلاف اسکلرانشیمی را در بر گرفته است. در این نمونه‌ها کامبیوم تشخیص داده نمی‌شود. سلولهای مغز بزرگ و کروی هستند (شکل ۱، ۲ و ۳).

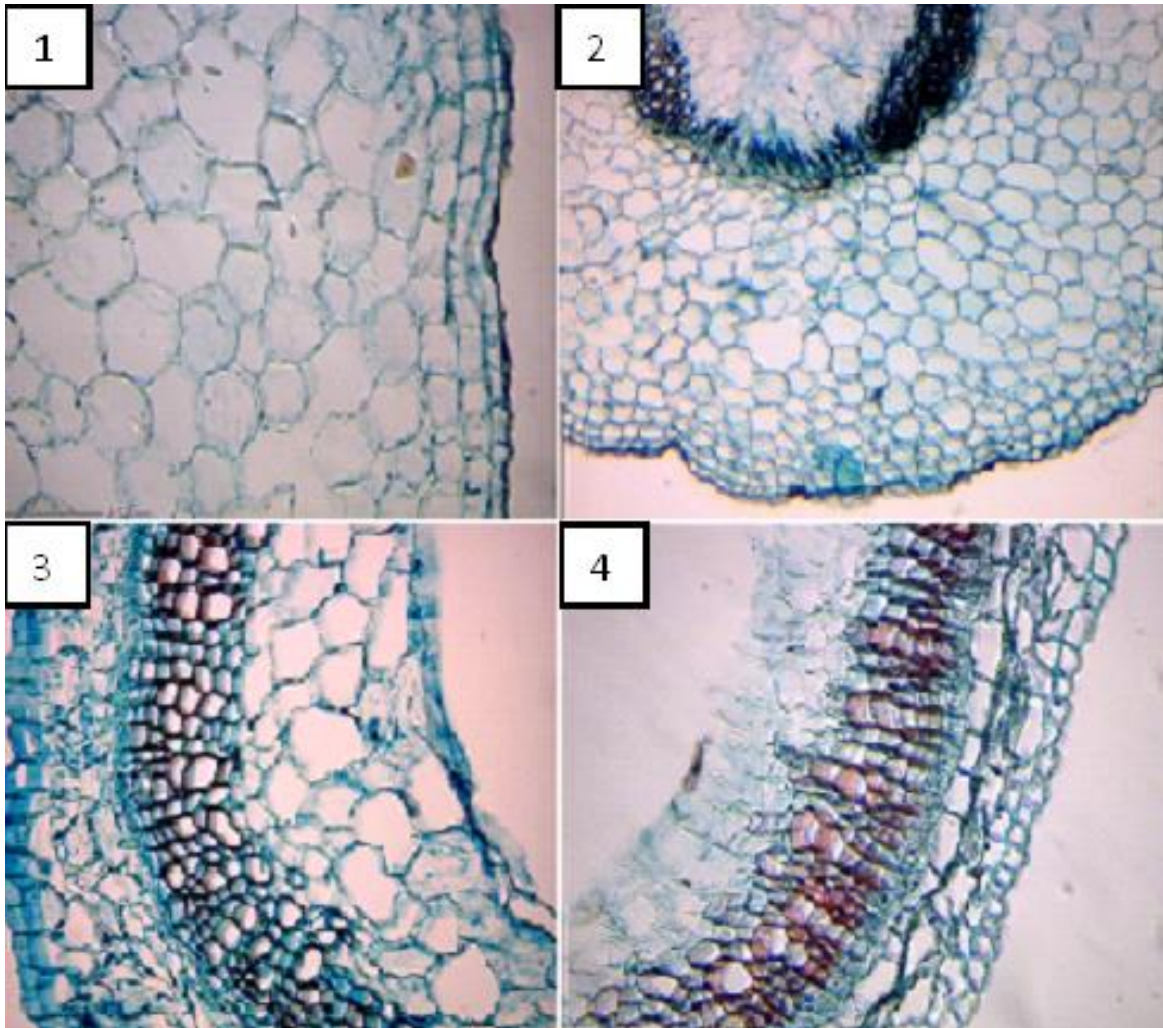


شکل ۱. برش عرضی ساقه در گونه *V. anagalis-aquatica subsp. oxycarpa*

E (اپیدرم) Cl (کلانشیم) C (کورتکس) SS (غلاف نشاسته‌ای) Ph (آوند آبکش) Xy (آوند چوب) P (پارانشیم مغز)

جدول ۱. صفات مورد بررسی در تشریح مقایسه ای ساقه *Veronica*

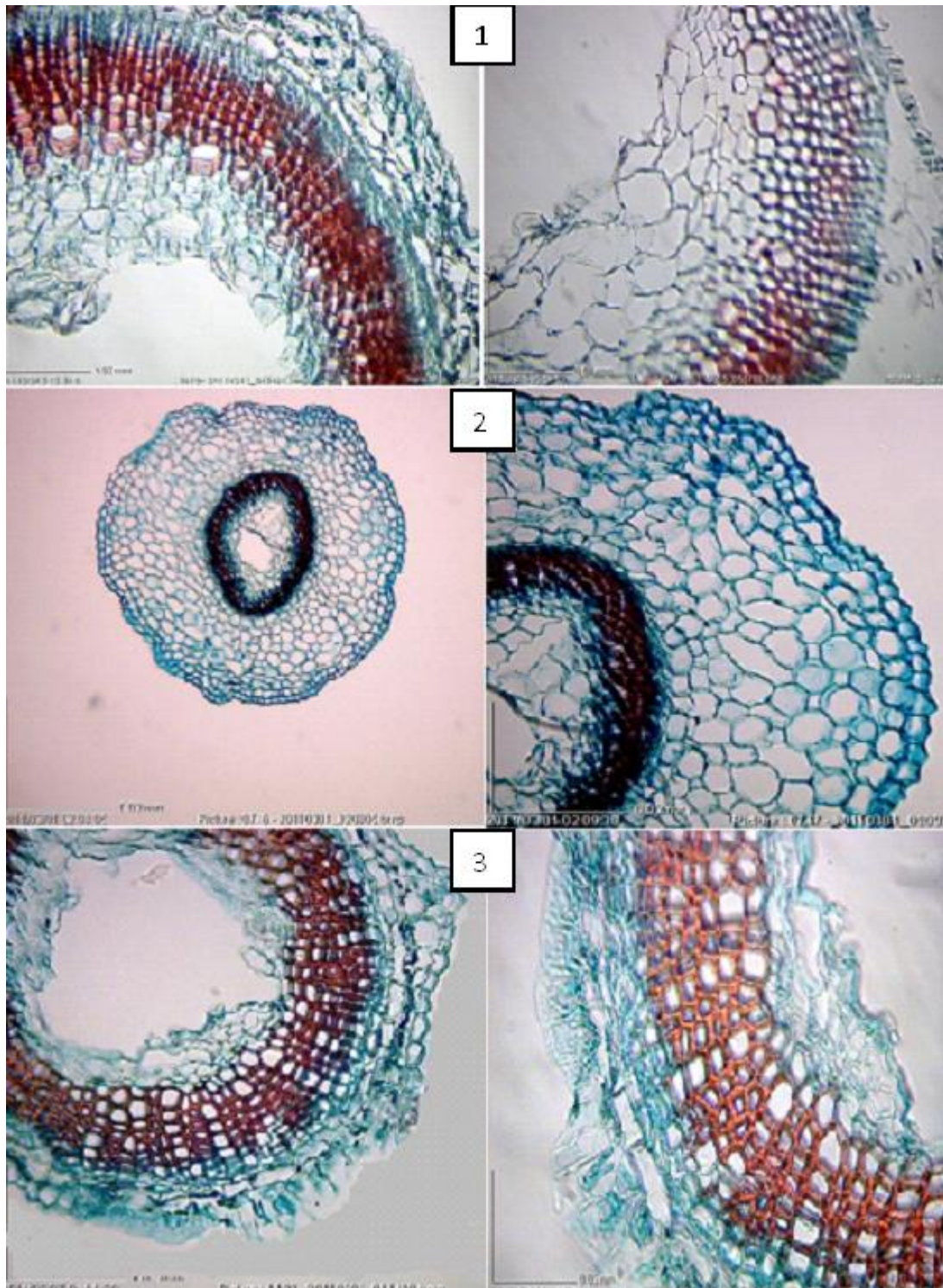
گونه	بخش	مقطع ساقه	ضخامت اپیدرم	ضخامت کلانشیم	ضخامت آنراشیم	ضخامت چوب	ضخامت آبکش
<i>V. anagalis-aquatica</i> subsp. <i>oxycarpa</i>	<i>beccabunga</i>	کروی	2.7Mm	3Mm	23.5Mm	25.3Mm	6.6Mm
<i>V. beccabunga</i> subsp. <i>muscosa</i>	<i>beccabunga</i>	چهارگوش	2.8Mm	3.2Mm	35.2Mm	15.8Mm	6.2Mm
<i>V. anagaloides</i> subsp. <i>heureka</i>	<i>beccabunga</i>	کروی	3.2Mm	3.6Mm	19.1Mm	22.7Mm	7.3 Mm



شکل ۲. بخش‌هایی از برش عرضی از ساقه: ۱ و ۲- *V. beccabunga* subsp. *muscosa* و ۳ و ۴- *V. anagaloides* subsp. *heureka* با بزرگنمایی‌های 10X, 4X

جدول ۲. صفات مورد بررسی در تشریح مقایسه ای دمگل آذین *Veronica*

گونه	بخش	مقطع دم گل آذین	ضخامت اپیدرم	ضخامت کورتکس	ضخامت چوب	ضخامت آبکش
<i>V. anagalis-aquatica</i> subsp. <i>oxycarpa</i>	<i>beccabunga</i>	کروی	4.7Mm	5.2Mm	20.1Mm	6Mm
<i>V. beccabunga</i> subsp. <i>muscosa</i>	<i>beccabunga</i>	کروی	2.8Mm	23.7Mm	19.7Mm	5.9Mm
<i>V. anagaloides</i> subsp. <i>heureka</i>	<i>beccabunga</i>	کروی	4.1Mm	5.8Mm	13.8Mm	6.8 Mm



شکل ۳. بخش‌هایی از برش عرضی دم گل آذین: ۱- *V. beccabunga*, subsp. *muscosa* - ۲ *V. anagallis-aquatica*, subsp. *oxycarpa* - ۳ *V. anagaloides*, subsp. *heureka* با بزرگنمایی‌های ۱۰X، ۴X

۵. بحث

نتایج به دست آمده از آناتومی ساقه و دم گل آذین نشان داد که در برش عرضی ساقه: شکل مقطع ساقه، ضخامت اپیدرم، ضخامت کلانشیم، ضخامت آئرانسیم و ضخامت چوب و آبکش در نظر گرفته شد مشاهده شد که مقطع ساقه در گونه *V. anagallis-aquatica* subsp. *muscosa* تقریباً چهار گوش است و در *V. anagallis-aquatica* subsp. *oxycarpa* و *V. anagalloides* subsp. *heureka* کروی شکل است. ضخامت اپیدرم و ضخامت کلانشیم در هر سه گونه تقریباً مشابه است و نزدیک به هم هستند و این صفات به عنوان صفات مهم و متمایز کننده ای محسوب نمی شوند. ضخامت آئرانسیم به طور قابل ملاحظه ای متمایز کننده است بطوریکه ضخامت آئرانسیم در *V. anagallis-aquatica* subsp. *oxycarpa* بیشتر است و سپس در *V. anagalloides* subsp. *heureka* و *V. anagallis-aquatica* subsp. *oxycarpa* در *V. anagalloides* subsp. *heureka* از همه کمتر است. ولی بر عکس ضخامت بافت چوب و آبکش در *V. anagallis-aquatica* subsp. *oxycarpa* و *V. anagalloides* subsp. *heureka* بیشتر از *V. anagallis-aquatica* subsp. *muscosa* است در نتیجه می توان گفت ضخامت آئرانسیم و ضخامت چوب و آبکش صفات مهمی برای تفکیک گونه های این بخش محسوب می شوند. این صفات همچنین در برش عرضی دم گل آذین مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که در برش عرضی دم گل آذین هم ضخامت آئرانسیم و ضخامت چوب و آبکش متمایز کننده هستند.

۶. نتیجه گیری

در این تحقیق جداسازی تاکسونومیک سه زیرگونه *Veronica anagallis-aquatica* subsp. *oxycarpa*، *Veronica anagalloides* subsp. *heureka* و *Veronica beccabunga* subsp. *muscosa* با کمک صفات تشریحی ساقه و دمگل آذین مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که مقطع ساقه، ضخامت آئرانسیم و ضخامت آوندهای چوب و آبکش در تفکیک سه زیر گونه ای فوق الذکر کارآمد هستند.

۷. مراجع

1. Cutler Df, Botha CEJ and Stevenson DW. *Plant anatomy: an applied approach*. Malden: Blackwell Publishing, 2007. 302 p.
2. Davis, P. H., (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 1–6.—Edinburgh: Univ. Press. 1965–1978.
3. Fischer, M. A. Veronica. — In: Davis, P. H., (Ed.): *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* 1978, 685, 689–753. — Edinburgh: Univ. Press.
4. Fischer, M. A. Veronica. — In: Rechinger, K. H., (Ed.): *Flora Iranica* 147, 1981, 52–165, tab. 43–110, 247, 248, 255. — Graz: Akadem. Druck- u. Verlagsanst.
5. Khoshoo, T. N., Khushu, C. L. *Biosystematics of Indian plants, III. Veronica anagallis complex*. *Proc. Indian Acad. Sci.* 1966, 63 (5 B), 251–257.
6. Makbul, S., Coskuncelebi K, Turkmen Z, and Beyazoglu O. *Morphology and anatomy of Scrophularia L. (Scrophulariaceae) taxa from NE Anatolia*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 2006, 48/1: 33–43.
7. Martínez-Ortega, M.M., Delgado, L., Albach, D.C., Elena-Rosselló, J.A. & Rico, E. *Species boundaries and phylogeography of Veronica subsect. Pentasepalae (Scrophularaceae) in the Western Mediterranean inferred from AFLP markers*. — *Syst. Bot.* 2004, 29: 965–986.



اولین گنگره ملی زیست‌شناسی و علوم طبیعی ایران

www.bsconf.ir



گنگره ملی زیست‌شناسی و علوم طبیعی ایران

8. Öztürk A & Fischer MA. Karyosystematics of *Veronica* sect. *Beccabunga* (Scrophulariaceae) with special reference to the taxa in Turkey. *Pl Syst Evol*, 1982, 140: 307-319.
9. Rampp, H. Die Verwandtschaftsverhältnisse in der Gattung *Veronica*. *Repertorium specierum novarum regni vegetabilis, Beiheft*, 1928, 50 1-171.