

## مقایسه ویژگی‌های دانه گرده بین دو گونه دارویی *Pleudia tebesana* Bunge & *Pleudia eremophilla*

زهرا گلستانی<sup>۱</sup> جمیل واعظی<sup>۲\*</sup> و فرشید معماریانی<sup>۳</sup>

### چکیده

گونه *Pleudia tebesana* Bunge متعلق به تیره نعناعیان و زیرتیره Nepetoideae می‌باشد. این گیاه در مرکز و شرق ایران و در منطقه ایران و تورانی پراکنش دارد. ریخت‌شناسی دانه‌ی گرده در رده‌بندی تیره‌ی Lamiaceae مفید می‌باشد. جهت مطالعه طول قطبی، طول استوایی، شکل، تزئینات دانه گرده و لومن‌های سطح آن در گونه‌های *P. tebesana* و *P. eremophilla* از میکروسکوپ نوری (LM) و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) استفاده شد. صفات بر روی ۵ دانه گرده از هر گونه اندازه‌گیری شد و برای انجام تحلیل‌های آماری، از نرم افزار SPSS و Past استفاده شد. نتایج نشان داد که به لحاظ شکل کلی و تزئینات سطح دانه گرده هر دو گونه مشابه هستند. به طور کلی اندازه دانه گرده در گونه *P. eremophilla* بزرگتر از گونه *P. tebesana* است و آنالیزهای آماری نیز این دو گونه را جدا می‌کند.

**کلمات کلیدی:** دانه گرده، تزئین‌های گرده، میکروسکوپ الکترونی نگاره *Pleudia tebesana* & *Pleudia eremophilla*

<sup>۱</sup> - دانشجوی کارشناسی ارشد زیست‌شناسی گیاهی گرایش سیستماتیک و اکولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد (Golestani6161@gmail.com)

<sup>۲\*</sup> - دانشیار، سیستماتیک گیاهی مولکولی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد (vaezi@um.ac.ir)

<sup>۳</sup> - استادیار، سیستماتیک گیاهی، گروه پژوهشی گیاهشناسی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد (Memariani@um.ac.ir)

## مقدمه

ایران در دامنه‌های صخره‌ای آهکی منطقه ایران و تورانی رویش دارد. این گونه در خراسان جنوبی، در شمال طبس، ۱۸ کیلومتری بیرجند از فائن نیز گزارش شده است (جم‌زاد، ۱۳۹۱).

گزارش‌ها نشان می‌دهد که ریخت‌شناسی دانه‌ی گرده در رده‌بندی تیره‌ی Lamiaceae مفید می‌باشد (Abu-Asab & Cantino, 1994). جعفری و نیکیان (۲۰۰۸) دانه گرده در گونه *P. eremophila* را مورد بررسی قرار دادند و شکل دانه گرده را Ellipsodic گزارش دادند.

گونه‌های *P. eremophila* و *P. tebesana* Boiss. Bunge در بسیاری از خصوصیات ریخت‌شناسی از یکدیگر قابل تشخیص نیستند. از آنجایی که تاکنون مطالعه دانه گرده در این گونه‌ها انجام نشده، در این مطالعه سعی بر این است که با کمک صفات مورفولوژی دانه گرده، امکان تشخیص تاکسونومیک این سه گونه را از یکدیگر فراهم نماییم.

## مواد و روش‌ها

### ۱- جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

برای مطالعه‌ی ویژگی‌های دانه گرده *P. tebesana* و *P. eremophilla* از نمونه‌های تازه جمع‌آوری شده استفاده شد. طی دوره رویشی سال ۱۳۹۵ به جمع‌آوری گونه‌های مورد مطالعه در سرده پلودیا از محل پراکنش آن در خراسان جنوبی پرداخته شد.

سرده *Salvia* L. متعلق به تیره Lamiaceae، تقریباً ۹۴۵ گونه دارد که به لحاظ پراکنش، اکولوژی، فرم زیستی، مورفولوژی و کاربولوجی تنوع بالایی دارند (Will et al., 2015). گیاهان این سرده متفاوت‌ترین اعضای زیرتیره Nepetoideae می‌باشند، زیرا تنها دو پرچم درگله‌های این سرده وجود دارد. این سرده دارای گل‌آذین به صورت گرز، کاسه گل پایا و دو لبه، جام به رنگ‌های سفید، قرمز، زرد و بنفش رنگ می‌باشد. اغلب گونه‌های این سرده دارویی بوده و به عنوان چاشنی و مکمل غذا و چای گیاهی استفاده می‌شوند (قهرمان، ۱۳۸۷؛ جم‌زاد، ۱۳۹۱).

از نظر ویژگی‌های تاکسونومیک سرده *Salvia* L. باید به چند سرده کوچک تقسیم شود (Rafinesque, 1837). *Pleudia* نام پیشنهاد شده برای *S. L.* *aegyptiaca* و گونه‌های خویشاوند آن شامل *S. santolinifolia* Boiss. *S. eremophila* و *S. tebesana* Bunge و Boiss. می‌باشد (Will et al., 2015).

گونه *Peludia tebesana* Bunge، گونه‌ای درختچه‌ای کوچک، پوشیده از کرک‌های ساده‌ی مترکم و غده‌ای، گل‌آذین منشعب، کاسه گل لوله‌ای-استکانی و جام گل آبی کم‌رنگ یا مایل به سفید است. فندقه سه وجهی، سیاه با سطح صاف می‌باشد. زمان گلدهی این گونه بهار بوده و پراکنندگی جغرافیایی آن ایران، افغانستان و پاکستان است و در مرکز و شرق

جدول ۱- محل جمع آوری گونه‌ها

نام گونه	محل جمع آوری
<i>P. tebesana</i> Bunge	استان خراسان جنوبی، طبس، منطقه پیکوه، ۱۰۱۸ متر ۰۵۷° ۲۳' ۰۲/۹" E و ۳۳° ۰۴' ۲۳/۲" N
<i>P. eremophila</i> Boiss.	استان خراسان جنوبی، جاده طبس به خرو، ۱۱۴۱ متر ۰۵۷° ۰۶' ۸/۲۸" E و ۳۳° ۳۸' ۶/۲۵" N

و Olympus microscope model Bx-50 بزرگنمایی ۴۰x و ۱۰۰x مشاهده شدند و با دوربین مدل Olympus Dp71 عکس تهیه گردید.

### ۳- مطالعه کردها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره

برای آماده‌سازی نمونه‌های کرده برای مشاهده با میکروسکوپ الکترونی نگاره، پس از اضافه کردن آب مقطر و انجام مراحل شستشو و تخلیه مایع رویی، به میکروتیوب‌های حاوی نمونه الکل ۷۰٪ اضافه شد. پس از انجام عمل سانتریفیوژ، به منظور عکس‌برداری با میکروسکوپ الکترونی، با استفاده از قطره‌چکان، رسوب دانه‌های کرده موجود در ته میکروتیوب‌ها برداشته شد و به طور مستقیم بر روی سطح پایک‌های آلومینیومی ریخته شد. پس از تبخیر الکل اضافی، دانه‌های کرده در Sputter coater طلاپوش شدند. از نمونه‌ها با میکروسکوپ SEM مدل LEO 1450VP و بزرگنمایی ۷۰۰۰x، ۱۰۰۰۰x و ۲۵۰۰۰x عکس-برداری شد.

### ۴- بررسی صفات دانه کرده

برای تعیین نوع تزئینات سطح کرده از اصطلاحات توصیفی Hesse و همکاران (۲۰۰۶) استفاده شد. طول محور قطبی (P) طول محور استوایی (E)، نسبت

### ۲- مطالعه کرده با استفاده از میکروسکوپ نوری

برای جداسازی کرده‌ها، بساک‌های بالغ از گیاه جدا شد و پس از شسته شدن به درون میکروتیوب منتقل شدند. میکروتیوب‌های حاوی نمونه به مدت سه دقیقه در ۳۰۰۰ (rpm) دور سانتریفیوژ شده و محلول رویی به دقت تخلیه شد. با توجه به میزان آلودگی و کثیف بودن دانه کرده این مرحله دو تا سه بار تکرار شد. بعد از این مرحله محلول استولایز با توجه به روش ارتمن (۱۹۶۰) اضافه شد. در این هنگام نمونه را درون حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه تا پنج دقیقه (بسته به نوع گونه) قرار گرفت تا کرده‌ها از قهوه‌ای کم‌رنگ به قهوه‌ای پررنگ تغییر رنگ دادند. پس از آن به مدت سه دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ و محلول رویی به آرامی تخلیه شد. برای از بین بردن اثر اکسیدانی استولایز، KOH اضافه و مانند مراحل قبل سانتریفیوژ شد. KOH را با دقت تخلیه کرده و به مدت ۵ دقیقه در رنگ سافرانین قرار می‌دهیم. پس از سانتریفیوژ محلول رویی را دور ریخته و رنگ اضافه با الکل ۵۰٪ شستشو داده شد (Erdtman, 1960). - برای مشاهده کرده‌ها با میکروسکوپ نوری، لام‌ها با استفاده از گلیسیرین ژل حاوی رنگ سافرانین آماده سازی شد. لام‌ها سپس با میکروسکوپ نوری مدل

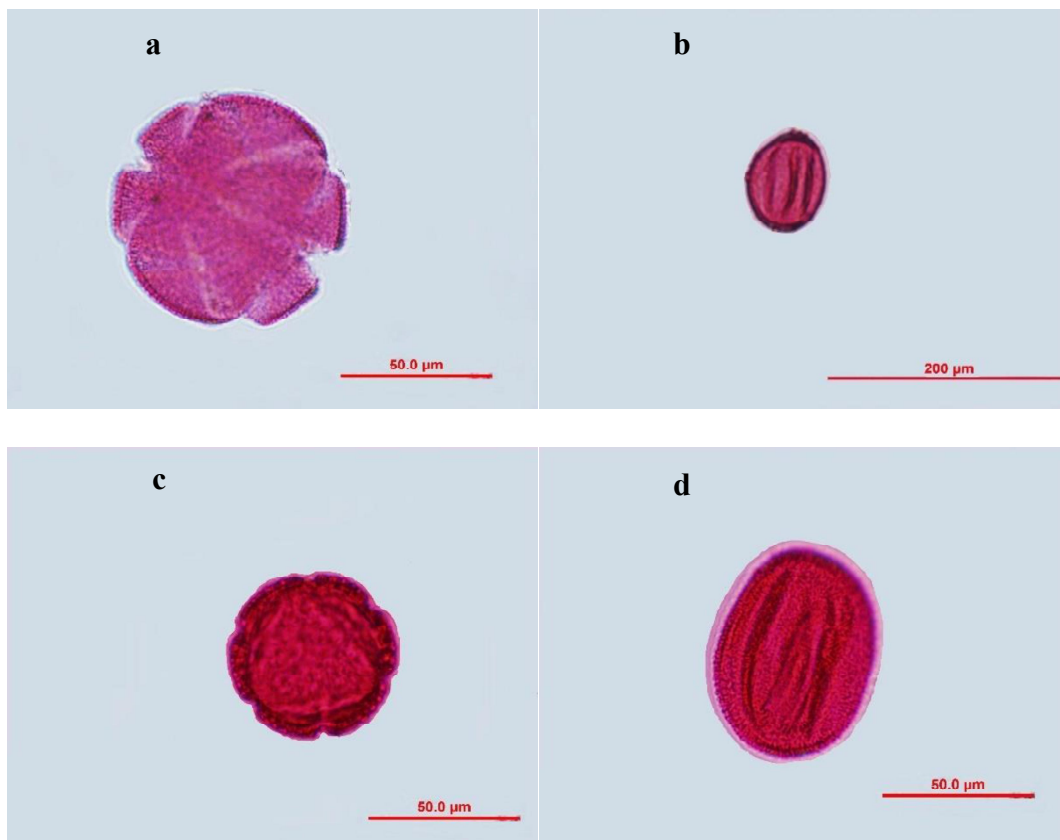
بنابراین *P. eremophila* اگزین ضخیم‌تری دارد (شکل ۱).

تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشان داد، تزئینات سطح دانه گرده در هر دو گونه مشابه و از نوع Reticulate می‌باشد. اندازه لومن‌های سطح دانه گرده در گونه *P. tebesana* بیشتر از گونه *P. eremophila* می‌باشد (شکل ۲). با توجه به این که شکل دانه گرده به نسبت P/E وابسته است و از آنجایی که در این دو گونه طول استوایی از طول قطبی بیشتر است، دانه گرده در گونه‌های مورد مطالعه بیضی-کروی (Oblate-spheroidal) می‌باشد. جعفری و نیکیان (۲۰۰۸) دانه گرده در گونه *P. eremophila* را مورد بررسی قرار دادند و شکل دانه گرده را Ellipsodic گزارش دادند که با نتایج موجود در مطالعه حاضر مطابقت دارد.

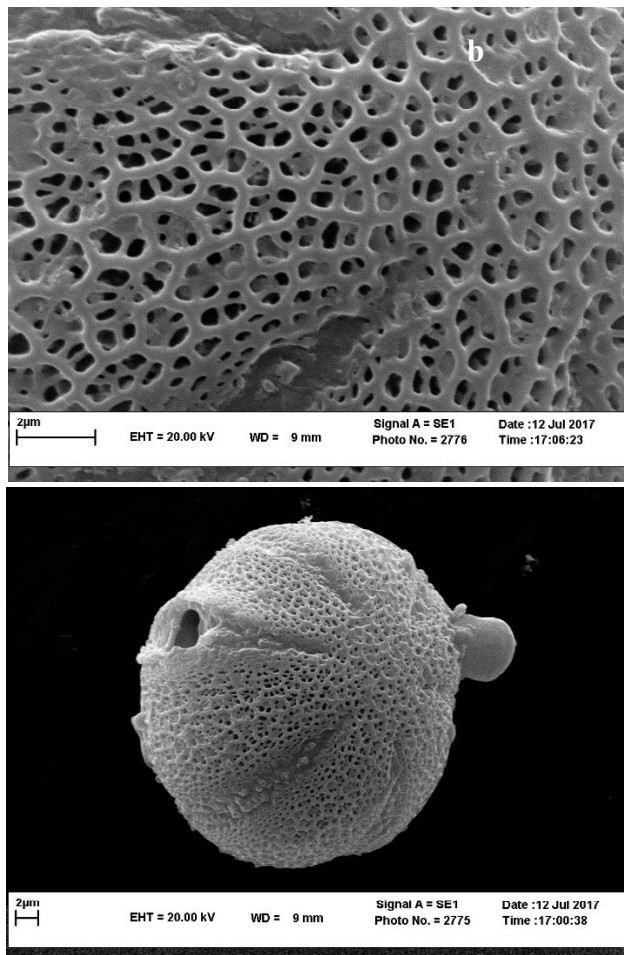
طول محور قطبی به استوایی (P/E)، ضخامت اگزین و اندازه لومن‌ها بر روی حداقل ۵ دانه گرده از هر گونه اندازه‌گیری شد. در نهایت برای انجام مطالعات آماری، داده‌ها وارد نرم افزار SPSS شدند و معنی داری در صفات با استفاده از آزمون Mann-Whitney بررسی شد. برای انجام آنالیز چند متغیره داده‌ها وارد نرم افزار Past شدند و از تست Non-metric MDS استفاده شد و گراف تهیه گردید.

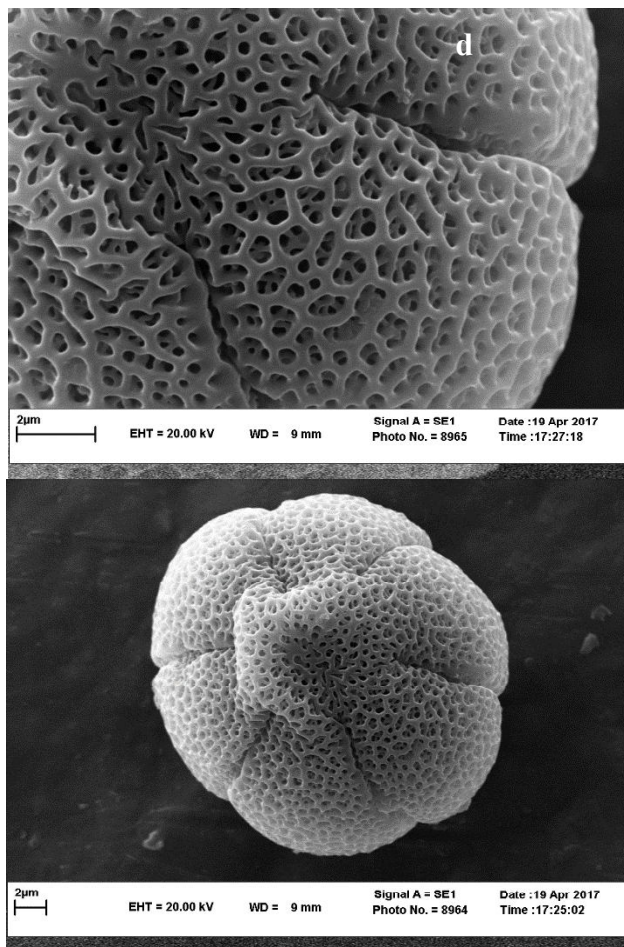
### نتایج و بحث

تصاویر میکروسکوپ نوری نشان داد، دانه‌های گرده در گونه‌های *Plodia tebesana* و *P. eremophila* تقریباً متقارن و جورقطب شش شیاری هستند. طول محور قطبی و استوایی در گونه *P. eremophila* بیشتر از گونه *P. tebesana* می‌باشد. ضخامت اگزین در گونه *P. eremophila*، ۳/۲۲ میکرومتر می‌باشد، در حالیکه در گونه *P. tebesana*، ۲/۴۴ است،



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ نوری از سطح قطبی (a,c) و استوایی (b,d) دانه گرده در گونه *P. tebesana* (a,b) و *P. eremophila* (c,d). با بزرگنمایی ۴۰x (b) و ۱۰۰x (a,c,d).





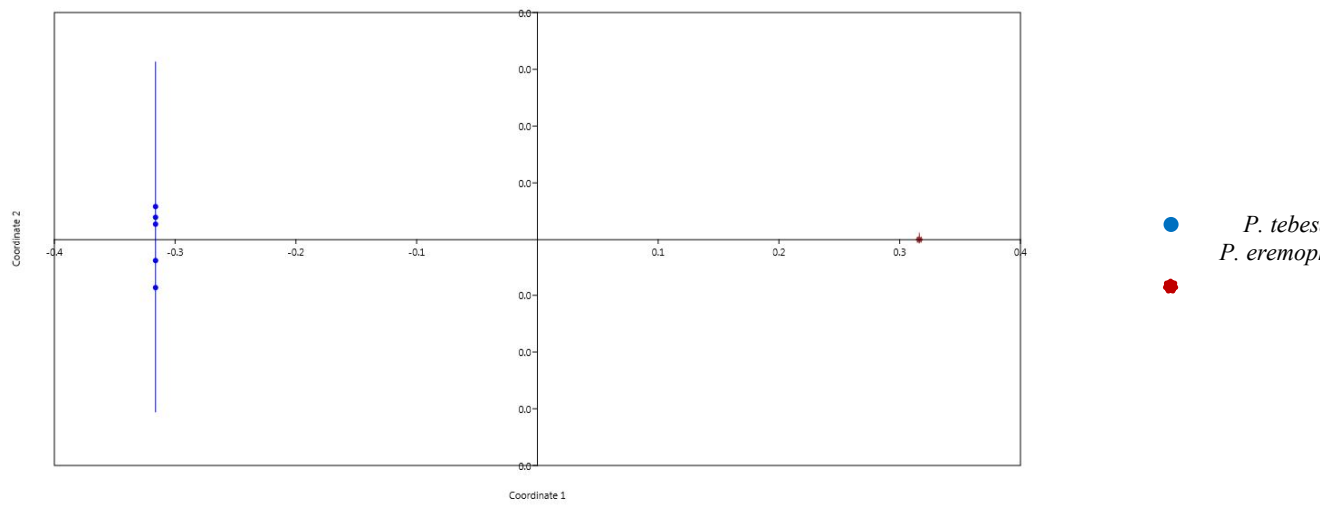
شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه گرده و تزئینات سطح آن در گونه *P. tebesana* (a,b) و *P. eremophila* (c,d). با بزرگنمایی ۷۰۰۰x (a)، ۱۰۰۰۰x (c) و ۲۵۰۰۰x (b,d)

جدول ۲- نتایج حاصل از مطالعات دانه گرده (اندازه‌ها بر حسب میکرومتر می‌باشند)

نام گونه	طول محور قطبی	طول محور استوایی	نسبت طول محور قطبی به محور استوایی	ضخامت اگزین	شکل دانه گرده	تزئینات سطح گرده	میانگین بیشترین طول لومن
<i>P. tebesana</i>	۲۹/۷۸	۳۳/۳۴	۰/۸۹	۲/۴۴	Oblate-spheroidal	Reticulate	۱/۵۶
<i>P. eremophila</i>	۳۰/۰۸	۳۶/۳۶	۰/۸۲	۳/۲۲	Oblate-spheroidal	Reticulate	۱/۰۳

بوده و نمودار آنالیز چند متغیره نیز این دو گونه را جدا نشان می‌دهد (شکل ۳).

نتایج حاصل از آنالیزهای آماری نشان داد که دو گونه از نظر صفات طول محور قطبی و استوایی، نسبت P/E، ضخامت اگزین و طول لومن‌ها دارای تفاوت معنی‌دار



شکل ۲- نمودار حاصل از آنالیز چند متغیره Non-metric MDS

Hesse, M., Halbritter, H., Zetter, R., Weber, M., Buchner, R., Frosch-Radivo, A. and Ulrich, S. (2006). Pollen terminology an illustrated handbook. University of Vienna, Austria.

Jafri, A. and Nikian, M. (2008). Micromorphological, anatomical and pollen ornamentation study on four desert species of *Salvia* in center of Iran. Asian Journal of Plant Sciences, 7: 736-741.

Rafinesque, C. S. (1837). Fl Tellur Vol. 3. 1st ed. Philadelphia, USA: published by the author.

Will, M., Schmalz, N. and Classen-Bockhoff, R. (2015). Towards a new classification of *Salvia* s.l.: (re)establishing the genus *Pleudia* Raf. Turkish Journal of Botany, 39: 1-15.

## منابع

جمزاد، ز. (۱۳۹۱). فلور ایران، شماره ۷۶: تیره نعناعیان (Lamiaceae). موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور.

قهرمان، ا. (۱۳۷۳). کورموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی)، جلد سوم. مرکز نشر دانشگاهی، تهران.

Abu-Asab, M.S. and Cantino, Ph.D. (1994). Systematic implications of pollen morphology in subfamilies Lamioideae and Pogostemoideae (Labiatae). Missouri Botanical Garden, 81(4): 653-686.

Erdtman, G. (1960). The acetolysis method. A revised description. Svensk Botanisk Tidskrift, 54: 561-564.