

بررسی جایگاه تاکسونومیک گونه‌ی *Phlomidoschema parviflorum* (Benth.) Vved. با کمک داده‌های دانه‌ی گرده

سمانه اسماعیل زاده

دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی گیاهی گرایش سیستماتیک و اکولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

جمیل واعظی*

دانشیار، سیستماتیک گیاهی مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

حمید اجتهادی

استاد، اکولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

فرشید معماربانی

استادیار، سیستماتیک گیاهی، گروه پژوهشی گیاهشناسی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

گونه *Phlomidoschema parviflorum* (Benth.) Vved. متعلق به تیره نعناعیان، زیرتیره Lamioideae و تبار Stachydeae می‌باشد. پراکنش این گیاه در شرق ایران و در مناطق کوهستانی ایران- تورانی گزارش شده است. گزارش‌ها نشان می‌دهد که مورفولوژی دانه‌ی گرده در بروز رسانی فیلوژنتیک و رده‌بندی تیره‌ی Lamiaceae مفید می‌باشد. جهت مطالعه اندازه محورها، ضخامت آگزین و شکل کلی دانه‌ی گرده از میکروسکوپ نوری (LM) و برای مشاهده تزئینات سطح آگزین و لومن‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد. صفات میکرومورفولوژی بر روی ۲۰ دانه گرده مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام تحلیل‌های آماری، از نرم افزار SPSS و آزمون معنی‌داری Mann-Whitney استفاده شد. نتایج نشان داد که دانه‌های گرده در گونه‌های مطالعه شده از نوع سه شیاری و به شکل Prolate و Oblate می‌باشند، اما به لحاظ تزئینات سطح گرده، گونه *Ph. parviflorum* متفاوت از سه گونه‌ی Stachys و تزئینات آن از نوع Perforate می‌باشد.

کلمات کلیدی: گرده شناسی، سیستماتیک، خراسان، *Stachys*

۱. مقدمه

جنس تک‌گونه‌ی *Phlomidoschema* Vved. متعلق به تیره نعناعیان، زیرتیره Lamioideae و تبار Stachydeae می‌باشد. گونه *Phlomidoschema parviflorum* (Benth.) Vved. از نظر ریخت شناسی گونه‌ای چندساله، چندشاخه‌ای با شکل رویشی نیمه بوته‌ای و کرک‌های سفید و خاکستری روی برگ‌ها و ساقه شناخته شده است. این گونه با توجه به دسته بندی IUCN آسیب پذیر و نادر در نظر گرفته شده است. بخش گلدار هوایی گیاه به صورت سنتی برای درمان اختلالات معده و روده استفاده می‌شود (Sonboli et al., 2015).

پراکنش جغرافیایی این گیاه در شرق ایران، افغانستان، ازبکستان، پاکستان، شمال غرب هند و کوه‌های راکی (آمریکا) می‌باشد (Kubitzki, 2004)، که در مناطق کوهستانی ایرانی-تورانی رویش دارد. پراکندگی این گونه در خراسان، سرایان، ارتفاعات بین کریمو و کاخک در ارتفاع ۲۱۰۰ تا ۲۴۰۰ متری و جنوب گناباد بین دیسغان و کلات در ارتفاع ۱۵۰۰ متری نیز گزارش شده است (جمزاد، ۱۳۹۱).

گزارش‌ها نشان می‌دهد که ریخت‌شناسی دانه‌ی گرده در بروز رسانی فیلوژنتیک و رده‌بندی تیره‌ی Lamiaceae مفید می‌باشد (Abu-Asab & Cantino, 1994). مطالعات گرده شناسی روی این گونه توسط (Abu-Asab & Cantino, 1994) انجام شد، که در مطالعات خود بیان کردند دانه گرده در این گونه منفرد، جور قطب و سه شیاری است و تزئینات سطح آگزین

دانه گرده این گونه از نوع Psilate می‌باشد. همچنین Salmaki و همکاران (۲۰۰۸) تزئینات دانه گرده در این گونه را Foveolate گزارش دادند.

این گونه با نام مترادف *Stachys parviflora* Benth. در سال ۱۹۴۱ به عنوان یک جنس مجزا از *Stachys* معرفی شد (Ivanovich, 1941) و این نشان می‌دهد این گونه قرابت نزدیکی با جنس *Stachys* و به ویژه گونه *Stachys trinervis* Aitch. & Hemsl. دارد. همچنین Salmaki و همکاران (2013) نشان دادند که تبار Stachydeae شامل ۱۲ جنس و حدود ۴۷۰ گونه می‌باشد، که یکی از جنس‌های تک‌گونه این تبار *Phlomidosema* می‌باشد (Salmaki, 2013). در این مطالعه سعی بر این است تا با کمک یک مطالعه گرده شناسی، جایگاه تاکسونومیک این گونه را با سه گونه *S. S. lavandulifolia* Vahl. و *S. trinervis turcomanica* Trautv. مورد مقایسه قرار داده و تفاوت‌های میکرومورفولوژیکی سطح دانه‌ی گرده را مشخص نماییم.

۲. متن اصلی

۱-۲. مواد و روش‌ها

در این پژوهش برای مقایسه‌ی خصوصیات دانه‌ی گرده گونه‌های *Stachys trinervis*, *Phlomidosema parviflorum* و *S. turcomanica* و *S. lavandulifolia* نمونه‌هایی از مناطق مختلف پراکنش چهار گونه‌ی فوق از استان‌های خراسان رضوی و خراسان شمالی جمع‌آوری شد (جدول ۱).

جدول ۱- محل جمع‌آوری گونه‌ها

گونه‌ها	محل جمع‌آوری
<i>Phlomidosema parviflorum</i> Vved. (Benth.)	استان خراسان رضوی- شهرستان گناباد- منطقه کاخک- ۲۰۵۰ متر ۰۵۸° ۳۴' ۳۹/۸" E و ۳۴° ۰۵' ۵۶/۱" N
	استان خراسان رضوی- شهرستان گناباد- منطقه کلات- ۱۷۲۰ متر ۰۵۸° ۳۲' ۳۴/۹" E و ۳۴° ۱۰' ۲۲/۲" N
<i>Stachys turcomanica</i> Trautv.	استان خراسان شمالی- شهرستان بجنورد- کیلومتر ۱۸/۵ جاده گیفان- ۹۵۰ متر ۰۵۷° ۲۳' ۴۹/۶" E و ۳۷° ۳۷' ۴۸/۱" N
<i>Stachys trinervis</i> Aitch. & Hemsl.	استان خراسان رضوی- جاده قدیم مشهد به کلات- ۱۱۶۵ متر ۰۵۹° ۵۷' ۸/۳۲" E و ۳۶° ۳۶' ۸/۶۶" N
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl.	استان خراسان شمالی- شهرستان بجنورد- کیلومتر ۱۸/۵ جاده گیفان- ۱۰۱۰ متر

دانه‌های گرده از گل‌های بالغ جمع‌آوری شد و با میکروسکوپ نوری (LM) و الکترونی روبشی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه‌ی مربوط به میکروسکوپ نوری از میکروسکوپ Olympus مدل BX51، دوربین Olympus DP71 و روش Erdtman (۱۹۶۰) برای استولایز دانه‌های گرده استفاده شد. در این روش ابتدا بساک‌های بالغ را از گل‌ها جمع‌آوری و شست و شو می‌دهیم. سپس محلول را به میکروتیوب منتقل و به مدت سه دقیقه با دور ۳۰۰۰، سانتریفوژ و محلول رویی را به دقت جدا می‌کنیم. به رسوب داخل میکروتیوب الکل ۷۰ درصد اضافه کرده و مجدداً سانتریفوژ و محلول رویی را جدا می‌کنیم. طبق روش ارتمن بعد از این مرحله محلول استولایز به نمونه افزوده می‌شود و در حمام آب گرم ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار می‌گیرد تا گرده‌ها به رنگ قهوه‌ای تیره درآیند. بعد از این مرحله، محلول مجدداً سانتریفوژ شده و محلول رویی دور ریخته می‌شود. برای از بین بردن اثر استولایز، اسید استیک به نمونه اضافه و سانتریفوژ می‌کنیم و سپس با آب مقطر شست و شو می‌دهیم. برای قرار دادن نمونه‌ها روی لام، از گلیسرین ژل و رنگ‌آمیزی سافرانین استفاده می‌شود (Erdtman, 1960). نمونه‌های آماده شده، با بزرگنمایی ۱۰۰X مشاهده شده و برای هر دانه‌ی گرده، محور قطبی (Polar view)، محور استوایی (Equatorial view) و ضخامت دیواره گرده با نرم‌افزار DinoCapture 2.0 اندازه‌گیری و نسبت P/E محاسبه گردید. برای هر گونه، ۲۰ دانه‌ی گرده مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

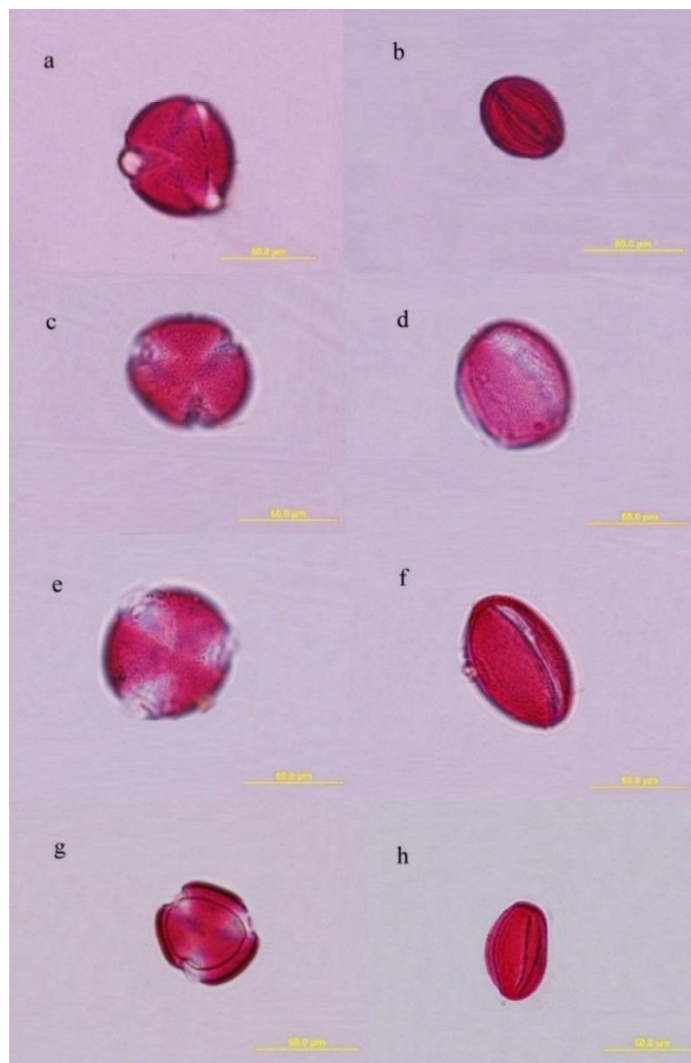
برای SEM، نمونه‌ها روی استاپ‌هایی نگهداری شده و سپس در Sputter coater به مدت ۳ دقیقه با لایه‌ای از جنس طلا-پالادیوم روکش شدند. از نمونه‌ها با میکروسکوپ SEM مدل LEO 1450VP و بزرگنمایی ۱۰۰۰۰x و ۳۰۰۰۰x عکس-برداری شد. میکروسکوپ الکترونی عمدتاً برای مطالعه‌ی شکل کلی و نوع تزئینات سطح آگزین استفاده می‌شود. برای تعیین شکل دانه گرده از اصطلاحات توصیفی Hesse و همکاران (2006) استفاده شد (جدول ۲). جهت تحلیل‌های آماری، داده‌ها وارد نرم‌افزار SPSS شدند و سپس برای بررسی تفاوت معنی‌داری در صفات از آزمون Mann-Whitney و آنالیز چند متغیره (ALSCAL) Multidimensional Scaling استفاده شد.

جدول ۲- اصطلاحات برای توصیف الگوهای سطح گرده (Hesse et al. 2006)

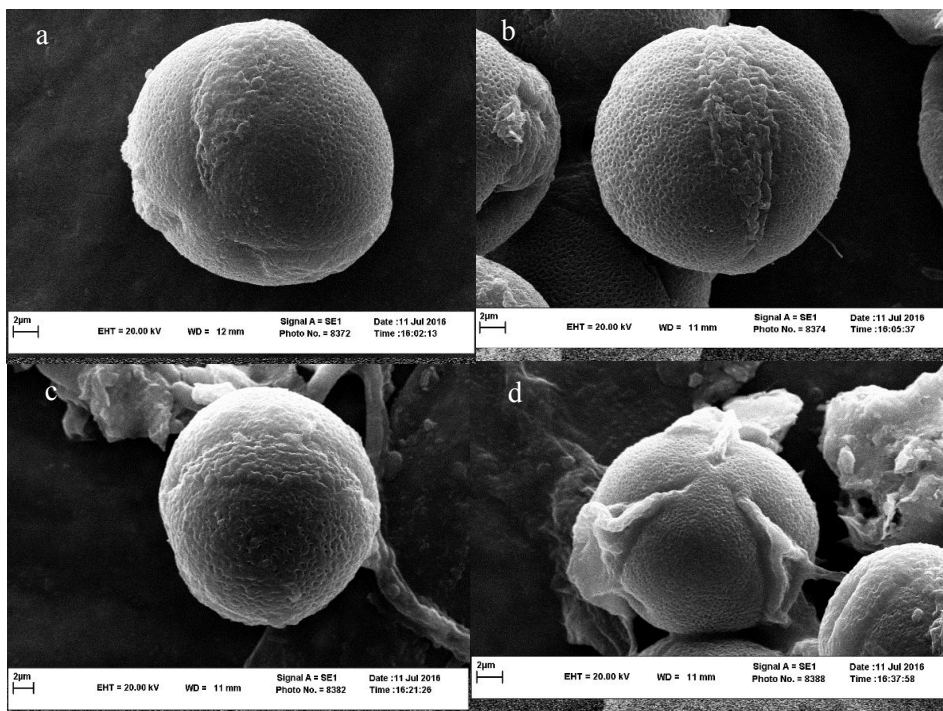
اصطلاح	تعریف
Reticulate	الگوی شبکه‌ای با لومن‌های بزرگتر از ۱ میکرومتر
Microreticulate	میکرو پیشوندی به معنی کوچک، نوعی الگوی شبکه‌ای با لومن‌های کوچکتر از ۱ میکرومتر
Psilate	دیواره دانه گرده با سطح صاف
Perforate	دیواره دانه گرده دارای حفره‌هایی با قطر کمتر از ۱ میکرومتر
Foveolate	لومن‌های مدور با قطر بیشتر از ۱ میکرومتر

دانه‌ی گرده در گونه‌های مطالعه شده از نوع منفرد، جورقطب (Isopolar)، دارای تقارن شعاعی و سه شیاری (Tricolporate) می‌باشند. طول محور قطبی در آن‌ها متفاوت و از ۲۱ میکرومتر در *Phlomidosema parviflorum* تا ۳۸ میکرومتر در *S. turcomanica* و *S. trinervis* متغیر است و طول محور استوایی از ۲۲ میکرومتر در *Ph. parviflorum* و *S. turcomanica* تا ۳۳ میکرومتر در *S. trinervis* متغیر می‌باشد. نسبت P/E در گونه‌های مورد مطالعه از ۰/۹۹ تا ۱/۱۶ و ضخامت اگزین از ۱/۱۶ تا ۱/۳۵ می‌باشد (شکل ۱).

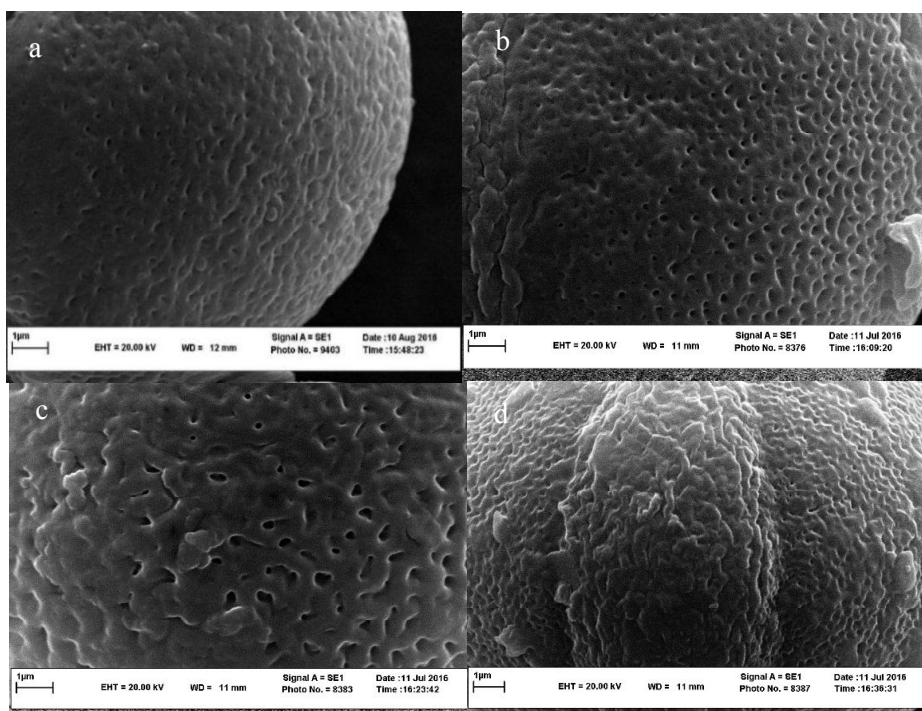
شکل دانه‌ی گرده در این ۴ گونه متنوع و دارای دو شکل مختلف Prolate-spheroidal (شکل ۱ab، ۱cd، ۱ef) که در آن‌ها محور قطبی بزرگ‌تر از محور استوایی می‌باشد و Oblate-spheroidal (شکل ۱gh) که در این شکل محور قطبی کوچکتر از محور استوایی می‌باشد. از نظر تزئینات سطح اگزین، دو نوع متفاوت مشاهده شد: در *Ph. parviflorum* تیپ Perforate (شکل ۳a) و در *S. turcomanica*، *S. trinervis* و *S. lavandulifolia* تیپ Microreticulate (شکل ۳b، ۳c، ۳d) می‌باشد. مشخصه‌های عمده دانه‌های گرده در گونه‌های مطالعه شده به طور خلاصه در جدول ۳ آورده شده است.



شکل ۱- میکروگراف میکروسکوپ نوری (LM) از سطح دانه گرده در گونه‌های *Ph. parviflorum* (a,b)، *S. turcomanica* (c,d)، *S. trinervis* (e,f) و *S. lavandulifolia* (g,h) با بزرگنمایی ۱۰۰x. a، c، e و g: نمای قطبی؛ b، d، f و h: نمای استوایی.



شکل ۲- میکروگراف میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از دانه گرده در گونه‌های *Ph. parviflorum* (a)، *S. turcomanica* (b)، *S. trinervis* (c) با بزرگنمایی $\times 10000$.

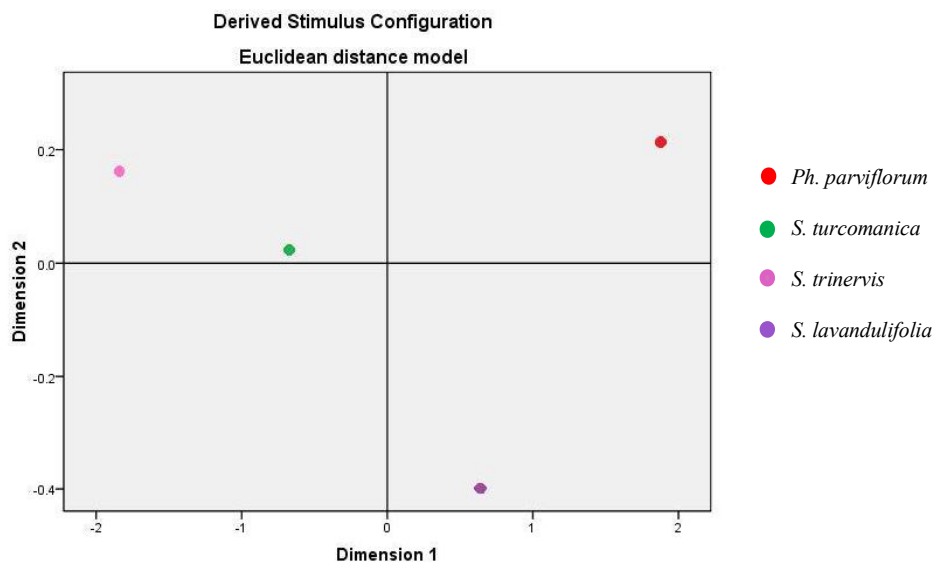


شکل ۳- میکروگراف میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از سطح دانه گرده در گونه‌های *Ph. parviflorum* (a)، *S. turcomanica* (b)، *S. trinervis* (c) با بزرگنمایی $\times 30000$.

جدول ۳- نتایج حاصل از مطالعات ریزبخت‌شناسی سطح دانه‌ی گرده (اندازه‌ها بر حسب میکرومتر هستند)

اندازه لومن	تزیینات اگزین	شکل	ضخامت اگزین	نسبت طول محور قطبی به محور استوایی	محور استوایی (E)	محور قطبی (P)	گونه
۰/۲۹	Perforate	Prolate-spheroidal	۱/۳۵	۱/۰۲	(۲۲-)/۲۴/۵(-۲۷)	(۲۱-)/۲۵(-۲۸)	<i>Phlomidosema parviflorum</i> Vved. (Benth.)
۰/۴۹	Microreticulate	Prolate-spheroidal	۱/۱۷	۱/۱۶	(۲۲-)/۲۵/۸(-۲۸)	(۲۶-)/۳۰(-۳۳)	<i>Stachys turcomanica</i> Trautv.
۰/۶	Microreticulate	Prolate-spheroidal	۱/۱۶	۱/۱۲	(۲۶-)/۲۹/۸(-۳۳)	-)/۳۳/۴(-۳۸) (۲۷)	<i>Stachys trinervis</i> Aitch. & Hemsl.
۰/۴۷	Microreticulate	Oblate-spheroidal	۱/۱۷	۰/۹۹	(۲۲-)/۲۴/۶(-۲۸)	-)/۲۵/۴(-۳۰) (۲۲)	<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl.

تحلیل‌های آماری در نرم‌افزار SPSS نشان می‌دهد که گونه‌ی *Ph. parviflorum* از نظر ویژگی‌های دانه‌ی گرده در مقایسه با سه گونه‌ی *Stachys* دارای تفاوت معنی‌دار بوده و آزمون ALSCAL این گونه را از سه گونه *Stachys* جدا می‌کند (شکل ۴).



شکل ۴- نمودار حاصل از آنالیز چند متغیره (ALSCAL) Multidimensional Scaling

طبق مطالعه Salmaki و همکاران (۲۰۰۸)، *Stachys turcomanica* و *S. trinervis* در بخش *Ambleia* و *S. lavandulifolia* در بخش *Zietenia* قرار دارند. همچنین بر اساس مطالعه Lindqvist and Albert (۲۰۰۲) گونه *Phlomidioschema parviflorum* نیز در بخش *Zietenia* قرار می‌گیرد. بررسی نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که از نظر شکل کلی، دانه‌ی گرده در *Ph. parviflorum* *S. turcomanica* و *S. trinervis* از نوع Prolate-spheroidal و در *S. lavandulifolia* از نوع Oblate-spheroidal می‌باشد. پس از نظر شکل کلی، دانه‌ی گرده‌ی گونه *Ph. parviflorum* از *S. lavandulifolia* متفاوت است و شکل دانه گرده در این گونه مشابه دو گونه دیگر *Stachys* می‌باشد. به همین علت صفت شکل کلی دانه‌ی گرده برای تفکیک این دو جنس مناسب نیست. نتایج به دست آمده بر مبنای شکل کلی دانه‌های گرده که با نسبت P/E قابل تشخیص می‌باشند، در مورد گونه‌های *Stachys* با نتایج به دست آمده توسط Salmaki و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد. از نظر شکل کلی، دانه‌ی گرده در گونه *S. lavandulifolia* مطابق نتایج به دست آمده در این پژوهش با مطالعات رضوی و میرزایی (۱۳۹۴) که شکل دانه گرده در این گونه را Prolate معرفی کردند، مغایرت دارد.

تزیینات سطح اگزین در گونه *Ph. parviflorum* از نوع Perforate می‌باشد که با نوع تزیینات در گونه‌های مطالعه شده جنس *Stachys* که microreticulate هستند، متفاوت است. این نتایج با مطالعات Salmaki و همکاران (۲۰۰۸) در مورد گونه‌های *S. turcomanica* و *S. lavandulifolia* مطابقت دارد، اما در گونه *S. trinervis* نوع تزیینات Reticulate بیان شده که در این مطالعه از نوع microreticulate می‌باشد. در گونه *Ph. parviflorum* نیز نوع تزیینات Foveolate گزارش شده است اما در این مطالعه، این گونه دارای الگوی تزیینات Perforate می‌باشد. Abu-Asab و Cantino (۱۹۹۴) نوع تزیینات سطح اگزین در گونه *Ph. parviflorum* را psilate بیان کردند که با نتایج بدست آمده در این پژوهش مغایرت دارد.

از نظر اندازه لومن که بر اساس بزرگنمایی تصویر در هر چهار گونه کمتر از یک میکرومتر می‌باشد، نتایج در گونه‌های *S. turcomanica* و *S. lavandulifolia* با مطالعات Salmaki و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد، اما در گونه *S. trinervis* با نتایج به دست آمده در این پژوهش متفاوت است. Salmaki و همکاران (۲۰۰۸)، اندازه لومن را بزرگتر از یک میکرومتر گزارش کرده‌اند، در حالی که در مطالعه حاضر اندازه لومن کمتر از یک میکرومتر اندازه‌گیری شد.

۳. نتیجه‌گیری

دانه‌ی گرده در گونه‌های مطالعه شده از نوع سه شیاری و دارای تقارن شاعی است. تزیینات سطح گرده که از ویژگی‌های تشخیصی مهم در مطالعات دانه‌ی گرده می‌باشد در گونه‌ی *Phlomidioschema parviflorum* متفاوت از گونه‌های *Stachys* و از نوع perforate می‌باشد. نتایج حاصل از آنالیز آماری صفات دانه‌ی گرده نیز این گونه را از گونه‌های *Stachys* جدا می‌کند.

مراجع

- [۱] جم‌زاد، ز. (۱۳۹۱). فلور ایران، شماره ۷۶: تیره نعناعیان (Lamiaceae). موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور.
- [۲] رضوی، س.م. و میرزایی، ر. (۱۳۹۴). بررسی ریخت‌شناسی دانه‌ی گرده‌ی گونه‌های *Stachys lavandulifolia* Vahl. و *Stachys byzantina* C.Koch در استان اردبیل. کنفرانس بین‌المللی توسعه با محوریت کشاورزی، محیط زیست و گردشگری.

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

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

- [5] 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.
- [6] Ivanovich, V.A. (1941). Flora of S.S.S.R. Botanicheskie Materialy Gerbariya Botanicheskogo Instituta Imeni V. L. Komarova Akademii Nauk S.S.S.R., 9: 55.
- [7] Kubitzki, K. (2004). The families and genera of vascular plants. Volume VII, Flowering plants. Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae). Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- [8] Lindqvist, C. and Albert, A.V. (2002). Origin of the Hawaiian endemic mints within North American *Stachys* (Lamiaceae). American Journal of Botany, 89:10, 1709–1724.
- [9] Salmaki, Y., Jamzad, Z. and Brauchler, Ch. (2008). Pollen morphology of *Stachys* (Lamiaceae) in Iran and its systematic implication. Flora, 203, 627-639.
- [10] Salmaki, Y., Zarre, Sh., Ryding, O., Lindqvist, Ch., Brauchler, Ch., Heub, G., Barber, J. and Bendiksby, M. (2013). Molecular Phylogeny of tribe Stachydeae (Lamiaceae subfamily Lamioideae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 69, 535-551.
- [11] Sonboli, A., Mirzania, F., Aliahmadi, A. and Amiri, M.S. (2015). Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Phlomidosema parviflorum* from Iran. Chemistry of Natural Compounds, 51:2, 366-368.