

## گرده شناسی در برخی از گونه های جنس همیشه بهار (*Calendula*: Asteraceae) در ایران

زهرا زکی ملا<sup>۱</sup>، منیژه پاکروان<sup>۲\*</sup>، نسرين فراست<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۹/۰۳

تاریخ تصویب: ۹۵/۰۷/۰۵

### چکیده

گل همیشه بهار *Calendula L.* متعلق به خانواده آفتابگردان و قبيله *Calenduleae* می باشد. موطن اصلی این گیاه در حوزه دریای مدیترانه، خاورمیانه و اروپای مرکزی بوده و از آنجا به سایر نواحی دیگر انتقال یافته است. در این مطالعه به بررسی گرده شناسی چند گونه از این جنس پرداختیم. گرده ها از نمونه های هرباریومی جدا شدند و به کمک میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره مورد بررسی قرار گرفتند. نوع دانه گرده *trizonocolporate* و *tetra zonocolporate* بوده و با توجه به مقدار نسبت های متفاوت P/E شکل دانه های گرده در دید استوایی متفاوت بود همچنین تزئینات از نوع خار دار (*echinate*) بود. صفات دانه های گرده با استفاده از روش های آماری چند متغیره مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و با استفاده از آنالیز خوشه ای رابطه گونه ها را مورد ارزیابی قرار دادیم. علاوه بر آن متغیر ترین صفات با استفاده از آنالیز تجزیه به عامل ها تعیین شدند و مشخص شد که با توجه به صفاتی مانند شکل دانه گرده، طول محور قطبی، طول شیار، فاصله خارها، قطر منفذ و طول قاعده خار می توان گونه ها را از هم جدا کرد. واژه های کلیدی: آنالیز خوشه ای، گرده شناسی، گل همیشه بهار، میکروسکوپ الکترونی نگاره.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد سیستماتیک-اکولوژی دانشگاه الزهرا، تهران

\*۲- دانشیار دانشکده علوم زیستی دانشگاه الزهرا(س)

(نویسنده مسئول: Pakravan@alzahra.ac.ir)

۳- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه رامین، اهواز

## مقدمه

است *Calenduleae-trizonocolporate*

و نشان دادند که دانه گرده قرابتی با سایر طایفه های *Astereae, Heliantheae* و *Senecioneae* نشان می دهند. هر چند در تحقیقات جدید در گونه های این جنس دانه گرده *Trizonocolporate* و *tetra* *zonocolporate* ذکر شده است.

## مواد و روش ها

دانه های گرده در جمعیت های هفت گونه همیشه بهار بررسی شد. دانه های گرده از نمونه های هرباریومی جدا شدند. کلیه نمونه های هرباریومی در هرباریوم دانشگاه الزهراء (ALUH) نگهداری می شوند. دانه های گرده به کمک میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره مورد بررسی قرار گرفتند. در هر جمعیت حداقل ۵ دانه گرده اندازه گیری شدند. برای اندازه گیری گرده ها از میکروسکوپ نوری Olympus (LM) مدل BX51 استفاده شد. دانه های گرده با رنگ کنگو رنگ آمیزی شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری Olympus مدل BX51 با بزرگنمایی ۱۰۰× مورد مطالعه قرار گرفتند. با استفاده از سیستم عکس برداری دیجیتال مدل DP12 از نمونه های مناسب تصویر تهیه شد و به وسیله نرم افزار Digimizer اندازه گیری شدند. تعداد منافذ و مقدار طول محور قطبی (P) و طول محور استوایی (E) ضخامت اگزین و نسبت P/E تعیین شدند. برای

گل همیشه بهار (*Calendula L.*) متعلق به خانواده *Astereae* و قبيله *Calenduleae* می باشد. این قبيله شامل ۸ جنس است. یکی از جنس ها *Calendula* که در شمال افریقا و شمال مدیترانه و اروپای مرکزی و شرق اروپا و ایران و ترکیه می باشد. طبق فلور ایرانیکا (Rechinger, 1989) این جنس شامل ۸ گونه در جهان می باشد که در ایران ۷ گونه ی آن وجود دارد.

هدف از کشت برخی گونه های این گیاه مثل *Calendula officinalis*، تولید دارو و مواد مؤثره موجود در گل ها و مخصوصاً در گلبرگها می باشد (مارتین، ۱۹۹۹). مطالعات گرده شناسی متعددی بر روی طایفه انجام شده است. انجام شده است. Stix (1960), Dimon (1971), Norlindh (1978), Praglowksi & Skvarla et al., (1978), Grafstrom (1980) بر اساس مطالعات Praglowksi و Grafstrom (1980) مطالعات گرده شناسی در طایفه *Calenduleae* برای اهداف تاکسونومی مفید است. خارهای جفت شده در تعیین گونه ها و طبقه بندی طایفه *Calenduleae* در موقعیت مربوطه در تیره *Asteraceae* می تواند مفید باشد. در بین ویژگی های دیگر ضخامت اگزین یک ویژگی دیاگنوستیک معرفی شد. Praglowksi و Grafstrom به اثبات رساندند که مورفولوژی دانه گرده در هشت جنس در طایفه

بررسی ویژگی های سطح دانه گرده، از میکروسکوپ الکترونی نگارهمدل EM3200 در KV 26 استفاده شد. دانه های گرده بدون پیش تیمار (استولیز)، ابتدا در زیر لوپ از بساک جدا شده سپس روی پایه های آلومینیومی (stub) قرار گرفتند. و با طلا به وسیله دستگاه لایه نشانی Sputter coater مدل SCDOOS به روش (P . V. D Physical Vapor Deposition) به مدت ۱۰

دقیقه پوشش دهی شدند و دانه سپس عکس برداری شدند. برای توصیف سطح دانه گرده از واژه نامه Punt et al. (2007) استفاده شد.

در بررسی نتایج از روش های Ward و تجزیه به عاملها (PCA) استفاده شد و گونه ها با آنالیز خوشه ای توسط نرم افزار spss از همدیگر تفکیک شدند.

جدول ۱: گونه های مورد بررسی و مکان جمع آوری آنها

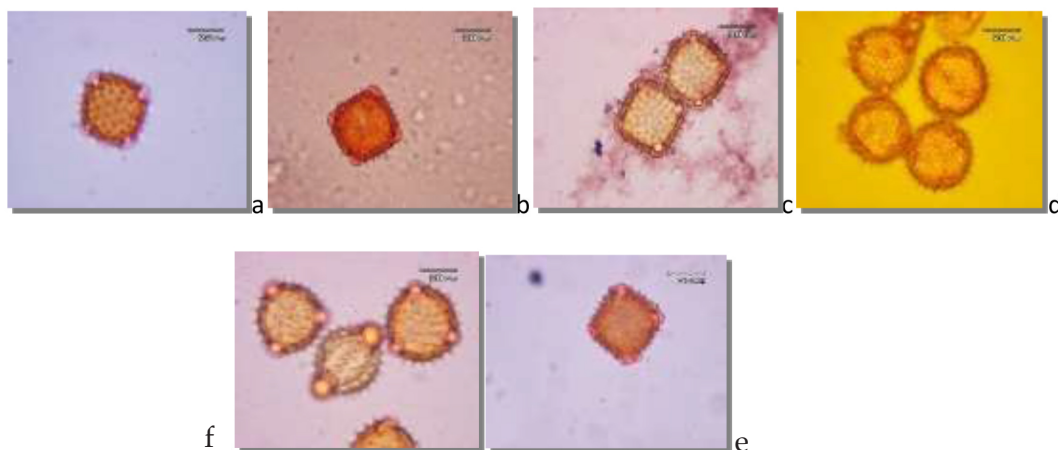
شماره هرباریومی	مکان جمع آوری	نام جمع آوری کننده	گونه
۵۶۰۶	فارس: فیروز آباد	فیروزی	<i>C. persica C.A. Mey</i>
۵۶۰۹	خوزستان: مسجد سلیمان	فراست	
۵۶۱۰	خوزستان: دزفول، شهرک کهنک	زکی مولا	
۳۶۸۲۷	خوزستان: شوش	پاکروان	<i>C. alata Rech. f.</i>
۳۶۸۵۳	لرستان: خرم آباد	پاکروان	
۵۶۱۹	خوزستان: دزفول	زکی مولا	
۵۶۱۳	خوزستان: گتوند	فراست	<i>C. palaestina Boiss.</i>
۳۶۸۰۴	خوزستان: مسجد سلیمان، ورودی شهر	پاکروان	
۶۳۱۲	تهران: دانشگاه الزهراء	زکی مولا	<i>C. officinalis L.</i>
۵۶۱۴	خوزستان: اهواز	فراست	
۵۶۰۵	خوزستان(دزفول)	پاکروان	
۳۶۵۷۲	سمنان: ۲۵ کیلومتری آزادشهر	پاکروان	<i>C. arvensis L.</i>
۳۶۸۰۸	خوزستان: بهبهان	پاکروان	
۵۶۲۰	سمنان: خوش بیلاق	پاکروان	
۵۶۲۴	خوزستان: مسجد سلیمان	ورناصری	<i>C. tripterocarpa Rupr.</i>
۳۶۸۰۶	خوزستان: چغازنبیل	پاکروان	
۵۶۱۶	تهران: جاده چالوس	پاکروان	

کلیه نمونه ها در هر باریوم دانشگاه الزهراء (ALUH) نگهداری می شوند.

## نتایج و بحث

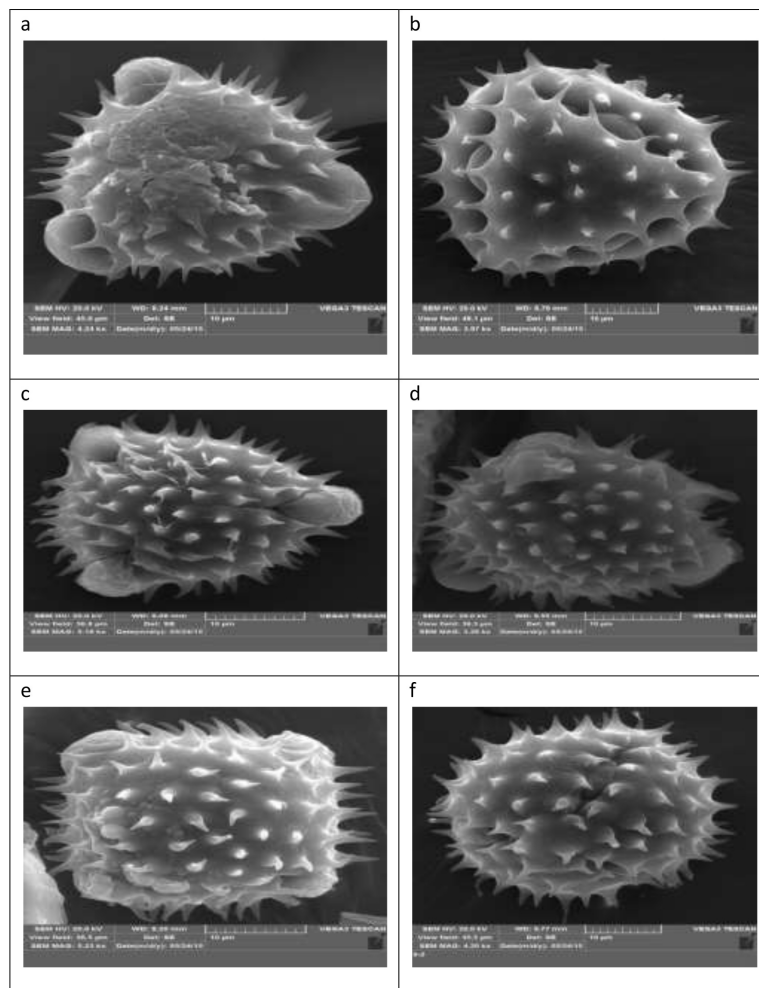
این نسبت ها مختلف می باشد. نوع دانه گرده *tri and tetra zonocolporate* و سطح دانه گرده خاردار (*Echinate*) است. خارها صاف یا مایل قرار می گیرند. کمترین فاصله بین خارها مربوط به گونه *C. palaestina* و بیشترین فاصله بین خارها مربوط به گونه *C. officinalis* می باشد.

طول محور قطبی در گونه ها بین ۶۷/۰ تا ۷۸/۰ تا  $۵۴/۴۶\mu\text{m}$  متغیر می باشد. طول محور استوایی در گونه ها بین  $۶۳/۰$  تا  $۵۷۶/۰$   $\mu\text{m}$  متغیر می باشد. نسبت طول محور قطبی به طول محور استوایی در گونه های مورد بررسی از  $۰/۸۶۳$  تا  $۱/۲۲۰$  متفاوت است و شکل دانه گرده براساس



شکل ۱: میکروسکوپ نوری از دانه های گرده گونه های

*C. persica*(a), *C. arvensis*(b), *C. alata*(c), *C. palaestina*(d), *C. officinalis*(e), *C. tripterocarpa*(f)



شکل ۱: میکروسکوپ الکترونی از دانه های گرده گونه های

*C. tripterocarpa*(f) , *C. officinalis*(e) , *C. palaestina*(d) , *C. alata*(c) , *C. arvensis*(b) , *C. persica*(a)

صفات و مقادیر اندازه گیری شده در گونه های مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: اندازه و صفات گرده شناسی گونه های مورد مطالعه

<i>C. tripterocarpa</i>	<i>C. palaestina</i>	<i>C. arvensis</i>	<i>C. officinalis</i>	<i>C. persica</i>	<i>C. alata</i>	گونه / صفت
۵۷/۸۷۹	۶۳/۰۴۷	۵۹/۶۵۲	۵۰/۵۷۶	۵۹/۴۰۸	۵۹/۳۶۵	طول محور استوایی $\mu m$
۶۱/۰۶۲	۵۴/۴۶۷	۶۲/۲۹۸	۶۱/۷۴۹	۶۷/۰۷۸	۶۱/۹۷۸	طول محور قطبی $\mu m$
۱/۰۵۴	۰/۸۶۳	۱/۰۴۴	۱/۲۲۰	۱/۱۲۹	۱/۰۴۱	(P/E)
۲/۰۲۱	۳/۲۵۳	۲/۰۹۴	۱/۸۷۷	۲/۳۲۴	۲/۴۲۹	ضخامت آگزین $\mu m$
۴۳/۷۷۹	۳۵/۸۷۳	۴۰/۲۴۲	۴۶/۳۰۲	۵۳/۷۹۵	۴۷/۷۳۳	طول شیار $\mu m$

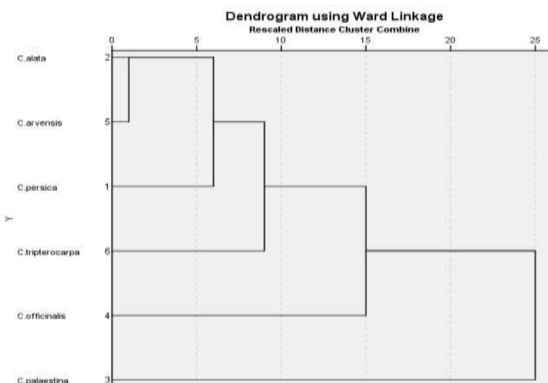
۲۲/۵۹۹	۱۷/۳۴۹	۱۸/۳۱۹	۱۷/۳۸۸	۲۱/۲۴۴	۱۸/۶۸۶	قطر منفذ $\mu m$
<i>Prolate - speroidal</i>	<i>Sub oblate</i>	<i>Prolate - speroidal</i>	<i>Sub prolate</i>	<i>Sub prolate</i>	<i>Prolate - speroidal</i>	شکل دانه گرده
۵/۶۰۲	۶/۳۹۳	۶/۴۶۶	۶/۳۹۴	۷/۰۵۱	۶/۲۰۶	طول خار $\mu m$
۶/۰۲۲	۴/۹۲۶	۶/۶۲۸	۹/۵۹۳	۷/۴۱۸	۶/۹۱۰	فاصله خارها $\mu m$
Echinate	Echinate	Echinate	Echinate	Echinate	Echinate	ترتیبیات سطح
۱۵۹	۱۸۸	۱۳۵	۷۵,۲۰۶	۱۱۰	۱۲۲	تعداد خارهای دانه گرده
۴۳/۲۸۹	۴۰/۶۱۶	۴۲/۸۲۹	۳۸/۳۴۵	۴۰/۴۳۲	۳۸/۷۶۷	مزوکلپیوم $\mu m$
۳۴/۸۱۳	۳۱/۹۵۱	۳۶/۶۹۳	۴۲/۱۲۲	۳۸/۶۹۳	۳۳/۱۶۶	آپوکلیپوم $\mu m$
۷/۱۷۲	۵/۵۸۰	۵/۲۶۹	۵/۲۵۹	۶/۰۹۳	۵/۴۹۲	قاعده خارها $\mu m$

گونه به خوبی از سایر گونه ها در سطح تشابه ۲۵ جدا می شود در حالی که گونه های دیگر نزدیکی هایی را با هم نشان می دهند. این جدایی تایید کننده نتایج ریخت شناسی می باشد چرا که *C. palaestina* از همه گونه بلندتر بوده و میوه بزرگتری دارد. و در عین حال بیشترین شباهت را با *C. officinalis* نشان میدهد بطوریکه هر دو میوه های بدون خار دارند. از طرفی *C. officinalis* و *C. tripterocarpa* که در شاخه های مجاور قرار گرفته اند با میوه های بدون منقار از سایر گونه های باقیمانده مجزا شده اند و سه گونه *C. alata* و *C. arvensis* و *C. persica* که هر سه میوه های منقار دار دارند با هم در شاخه های مجاور واقع شده اند. ولی *C. arvensis* و *C. alata* ارتباط نزدیک تری با هم دارند که وجود منقار و میوه های یک شکلی این نزدیکی را تایید میکند در حالیکه *C. persica* با میوه های دو شکلی از این

به منظور شناسایی متغیرترین صفات مطالعه شده در میان گونه ها، آنالیز PCA (تجزیه به مولفه های اصلی) انجام گرفت. آنالیزهای مقدماتی نشان می دهد که سه فاکتور اول حدود ۹۰٪ از کل تنوع را تبیین می کنند. در فاکتور اول که حدود ۵۶٪ از کل تنوع را در بردارد، صفات فاصله بین خارها، آپوکلیپوم، طول شیار، نسبت P/E، طول محور قطبی بیشترین ضریب همبستگی مثبت ( $> 0.7$ ) را نشان می دهند. در فاکتور دوم که حدود ۲۳٪ از کل تنوع را بردارد، صفات قطر منفذ، طول قاعده ی خار بیشترین ضریب همبستگی مثبت ( $> 0.7$ ) را نشان می دهد. این صفات متغیرترین صفات در گونه های مطالعه شده هستند (شکل ۴).

در فنوگرام حاصل از تجزیه خوشه ای صفات (شکل ۳) دو خوشه اصلی مشخص شده است که در یکی گونه *C. palaestina* و در دیگری سایر گونه ها وجود دارد. این

دو جدا شده است. نتایج مشابه در نمودار نشان می دهد که صفات دانه گرده می رسته بندی مشاهده می شود (شکل ۴). تواند در تشخیص گونه های همیشه بهار نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل های آماری شواهد مفیدی فراهم کند.



شکل ۳: فنوگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش Ward روی صفات گرده در تاکسون های مورد مطالعه

جدول ۳: آنالیز مقدماتی PCA روی صفات گرده در تاکسون های مورد مطالعه

Component	Total Variance Explained					
	Initial Eigenvalues			Extraction Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %
۱	۷,۲۰۷	۵۶,۲۰۹	۵۶,۲۰۹	۷,۲۰۷	۵۶,۲۰۹	۵۶,۲۰۹
۲	۳,۰۵۹	۲۳,۵۲۴	۷۹,۷۴۳	۳,۰۵۹	۲۳,۵۲۴	۷۹,۷۴۳
۳	۱,۵۴۸	۱۱,۹۱۰	۹۱,۶۵۳	۱,۵۴۸	۱۱,۹۱۰	۹۱,۶۵۳
۴	.۷۰۴	۵,۴۱۲	۹۷,۰۶۶			
۵	.۳۸۱	۲,۹۳۴	۱۰۰,۰۰۰			
۶	۳,۵۹۱E-۰۱۶	۲,۷۶۲E-۰۱۵	۱۰۰,۰۰۰			
۷	۱,۸۲۷E-۰۱۶	۱,۴۰۵E-۰۱۵	۱۰۰,۰۰۰			
۸	۷,۸۸۵E-۰۱۷	۶,۰۶۵E-۰۱۶	۱۰۰,۰۰۰			
۹	-۱,۸۱۷E-۰۱۷	-۱,۳۹۸E-۰۱۶	۱۰۰,۰۰۰			
۱۰	-۱,۱۴۱E-۰۱۶	-۸,۷۷۹E-۰۱۶	۱۰۰,۰۰۰			
۱۱	-۱,۹۹۸E-۰۱۶	-۱,۵۳۷E-۰۱۵	۱۰۰,۰۰۰			
۱۲	-۳,۷۳۰E-۰۱۶	-۲,۸۶۹E-۰۱۵	۱۰۰,۰۰۰			
۱۳	-۴,۸۳۳E-۰۱۶	-۳,۷۱۷E-۰۱۵	۱۰۰,۰۰۰			

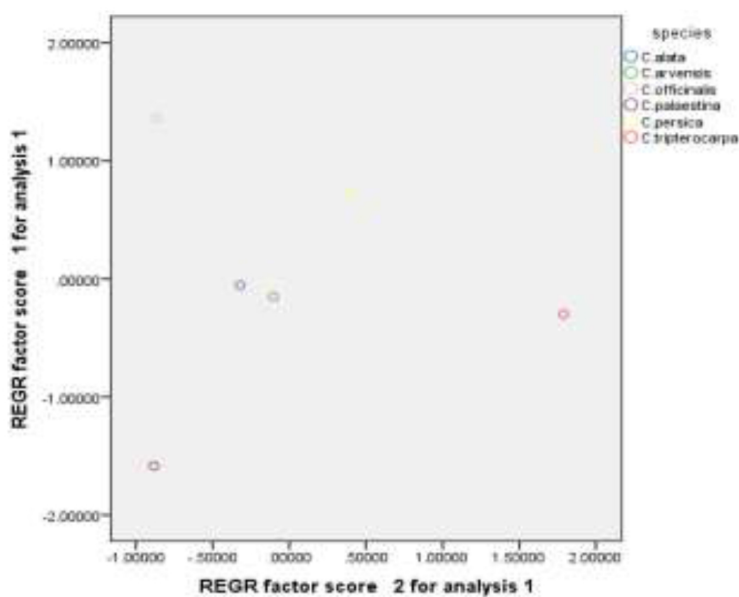
Extraction Method: Principal Component Analysis.

جدول ۴: مقادیر PCA حاصل از تجزیه به عامل ها روی صفات در تاکسون های مورد مطالعه

**Component Matrix<sup>a</sup>**

	Component		
	۱	۲	۳
<i>Polar axis length</i>	.۷۶۸	-.۳۵۳	-.۴۵۲
<i>Equatorial axis length</i>	-.۸۳۲	.۰۷۹	.۵۱۱
<i>P/E ratio</i>	.۹۹۰	.۱۰۰	-.۰۹۸
<i>Colpi length</i>	.۷۵۹	.۲۵۰	.۵۲۲
<i>Pore diameter</i>	.۱۰۲	.۹۵۴	.۲۴۹
<i>Number spine pollen</i>	-.۹۶۹	.۲۱۸	.۰۰۴
<i>Exine thickness</i>	-.۷۹۴	-.۳۹۹	.۳۶۱
<i>Spine length</i>	.۰۹۹	-.۵۶۴	.۷۲۹
<i>Length basal spine</i>	-.۱۳۳	.۹۲۴	.۰۰۹
<i>Apocolpium</i>	.۹۰۹	-.۱۰۵	-.۰۹۵
<i>Mezocolpium</i>	-.۴۱۹	.۶۹۵	-.۱۱۵
<i>Distance between spine</i>	.۹۵۳	-.۲۴۸	-.۱۶۳
<i>Shape pollen</i>	-.۹۷۵	-.۱۰۷	-.۱۷۱

نمودار رسته بندی رسم شده براساس دو فاکتور اصلی اول در صفات بیانگر میزان نزدیکی یا واگرایی گونه های مطالعه شده است.



شکل ۴: نمودار رسته بندی تاکسون های مطالعه شده براساس مولفه های اصلی PCA



## منابع

- محمدی، آ. و سپهری، ع. (۱۳۸۹) بررسی سیستم تولید مثل جنسی گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis*) و ارزیابی درصد دگرگشنی آن، مقالات گیاهان دارویی. مظفریان، و. (۱۳۹۱) شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران، تهران، فرهنگ معاصر
- کریمی، ه. (۱۳۸۱) فرهنگ رستنی های ایران - اطلس رستنی های دارویی، جلد نهم، پاره دوم، تهران، پرچم
- Dimon, M.Th. (1971) Problem generaux soul eves par letudepellingue de composes Medi-  
teranean's. Naturalia Monspeliensial Serie Botanique 22: 129-144.
- Meo , A. A. and Khan M.A. (2006) Palynological observation on the Genus *Calendula* (*Ca-  
lenduleae* – Compositae) from Pakistan., Paistank Journal of Botany 38(3): 511– 520
- Norlindh, T. (1978) *Calenduleae*–systematic review. In: The Biology and Chemistry of the  
Compositae. (Eds.): V.H. Heywood, J.B. Harborne and B.L. Turner 2: 961-987, London,  
NewYork, San Francisco.
- Praglowksi, J. and Grafstrom, E. (1980) The pollen morphology of the tribe *Calenduleae*  
with reference to taxonomy. Botanika Notiser 133:177-188.
- Punt, W., Hoen, P. P., Blackmore, S., Nilsson, S. & LeThomas, A. (2007) Glossary of pollen and  
spore terminology. Review Palaeobotany and Palynology 143 (1-2): 1-81.
- Shaheen, S., Ahmad, M., Haroon, H. and Khan, F. (2012) Systematic and ethnopharmacog-  
nostic investigation of selected medicinal plants of family Asteraceae. African Jour-  
nal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 6(46): 3184-3194.
- Skvarla, J.J., Turner, B.L. Patel, V.G. and Tomb, A. S. (1978) Pollen morphology in Compos-  
itaea and in morphologically related families. In: The biology and chemistry of the  
Compositae. (Eds.)V.H. Heywood, J.B. Harborne & B.L. Turner. pp. 141-248. Academic  
Press, London, NewYork.
- Stix, E. (1960) Pollen morphologische Untersuchungenan Compositen, Grana Palynologi-  
cal. 2: 41-104.