

DOI: 10.22092/BOTANY.2020.341327.1185

*** مطالعه گرده‌شناسی گونه‌های *Plantago lanceolata* و *Plantago major* در شمال ایران**

دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۲۴ / پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۰۳

سیده سمیرا امینی‌نسب: دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، علوم گیاهی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

آرمان محمودی اطاقوری: دانشیار گروه علوم گیاهی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

احسان نظیفی ✉: استادیار گروه علوم گیاهی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران (e.nazifi@umz.ac.ir; nazifiehsan@yahoo.com)

چکیده

بارهنگ کبیر (*Plantago major*) و بارهنگ سرنیزه‌ای (*P. lanceolata*) گونه‌های فراوان جنس بارهنگ در شمال ایران بوده که به عنوان گونه‌های دارویی با ارزش شناخته می‌شوند. در این پژوهش، جمعیت‌های این دو گونه از مناطق شمالی کشور شامل ساری، زیارت، ماسوله و شوراب جمع‌آوری و تعدادی از صفات کمی و کیفی دانه‌های گرده آن‌ها با استفاده از تصاویر تهیه شده از میکروسکوپ الکترونی نگاره بررسی و مقایسه شدند. ریخت‌شناسی دانه گرده نشان داد که اگرچه هر دو گونه دارای دانه‌های گرده منفرد با اندازه کوچک و اغلب کروی کشیده، منافذ پراکنده در سطح دانه گرده و تزیینات سطحی برآمده و دانه‌دانه‌دار بودند؛ اما ساختار منفذ آن‌ها متفاوت بوده به طوری که *P. lanceolata* دارای دانه‌های گرده بزرگ‌تر و منافذ بیش‌تری بود. منافذ دانه‌های گرده *P. lanceolata* کوچک‌تر و دارای حلقه و درپوش کامل بودند، در حالی که منافذ دانه‌های گرده *P. major* بزرگ‌تر و فاقد حلقه بوده و درپوش کامل در همه موارد وجود نداشت. به نظر می‌رسد که ساختار منفذ می‌تواند صفتی کلیدی در مطالعات گرده‌شناسی این گونه‌ها و جنس بارهنگ باشد. نتایج تحقیق حاضر پیشنهاد می‌کند که داده‌های گرده‌شناسی می‌تواند به شناسایی این گونه‌ها و به رده‌بندی و تاکسونومی جنس بارهنگ کمک نماید.

واژه‌های کلیدی: بارهنگ، تاکسونومی، ریخت‌شناسی دانه گرده، ساختار منفذ

Palynological study of *Plantago major* and *P. lanceolata* in north of Iran

Received: 14.03.2020 / Accepted: 23.05.2020

Seyedeh Samira Amininasab: MSc in Plant Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Arman Mahmoudi Otaghvari: Associate Prof., Department of Plant Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Ehsan Nazifi: Assistant Prof., Department of Plant Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran (e.nazifi@umz.ac.ir; nazifiehsan@yahoo.com)

Summary

Plantago major L. and *P. lanceolata* L. are abundantly being found in the north of Iran recognizing as valuable medicinal plants. In this study, populations of these two species from northern parts of the country including Sari, Ziarat, Masouleh and Shurab were collected and a number of qualitative and quantitative traits of their pollen grains were studied and compared using scanning electron microscope (SEM). Pollen morphology of both species showed that, although their pollen grains are monad with small-sized, often prolate-spheroidal, pantoporate, verrucated and granulated ornamentation, but their pore structures are different while *P. lanceolata* have larger pollen grains and more pores than *P. major*. The pores of *P. lanceolata* are small, with annulus and well-defined operculum, whereas the pores of *P. major* are larger, without annulus and well- or ill-defined operculum. It seems that, their pore structures could be a key trait in the palynological studies. The results suggest that, the palynological results can be effective for these species identification and can help to classification and taxonomy of *Plantago* L. genus.

Keywords: Key trait, pollen grains ornamentation, pore, scanning electron microscope, taxonomy

مقدمه

با توجه به این که تشخیص نمونه گیاهی تنها از طریق ریخت‌شناسی بسیار مشکل است، مطالعه دانه گرده در گونه‌های گیاهی مختلف می‌تواند کمک شایانی به سیستماتیک گیاهی کند. بررسی‌های گرده‌شناسی، صفات و فاکتورهای مهمی را در کلیدهای شناسایی پدید آورده‌اند. مطالعه دانه گرده نه گونه از جنس بارهنگ در لهستان به این نکته اشاره داشته که ویژگی‌های شناسایی هر آرایه شامل حضور یا عدم حضور حلقه (annulus) در اطراف منفذ و ساختار آن، تزیینات دانه گرده و درپوش (operculum)، نوع غشای درپوش، تعداد منفذ و اندازه آن هستند (Klimko et al. 2004). مطالعه دانه گرده ۱۴ گونه از جنس بارهنگ در پاکستان نیز نشان داد که بر مبنای تزیینات سطح اگزین (areolate یا scabrate)، می‌توان دو نوع متفاوت از دانه گرده شامل نوع *Plantago-major* (areolate) و نوع *Plantago-ovata* (scabrate) را تشخیص داد که گونه‌های *P. lanceolata* و *P. major* از نوع *Plantago-major* بودند (Perveen & Qaiser 2004). به علاوه، مطالعه دانه گرده ۱۴ گونه از جنس بارهنگ در عربستان سعودی و بررسی صفاتی نظیر اندازه، شکل، تزیینات سطح اگزین و ساختار منفذ منجر به شناسایی سه نوع دانه گرده شامل *Plantago albicans-type*، *Plantago lanceolata-type* و *Plantago coronopus-type* گردید (Gazer & Shalabi 2016).

تاکنون گزارشی از مطالعه گرده‌شناسی جنس بارهنگ در ایران ذکر نشده، در حالی که نتایج حاصل از این مطالعات می‌تواند منبع اطلاعاتی مناسبی برای مطالعات تاکسونومی و طبقه‌بندی گونه‌های مختلف این جنس باشد. از این رو در این پژوهش، جمعیت‌های مختلف گونه‌های *P. lanceolata* و *P. major* در شمال ایران، از لحاظ خصوصیات دانه گرده با یکدیگر مقایسه شدند.

روش بررسی

- نمونه‌برداری گیاهی

تعداد چهار جمعیت از گونه‌های *Plantago major* و *P. lanceolata* از رویشگاه‌های طبیعی آن‌ها در شمال کشور شامل مناطق ساری، زیارت، ماسوله و شوراب در شهریور ۱۳۹۵ جمع‌آوری گردید (جدول ۱). با استفاده از کلیدهای رایج و معتبر گیاه‌شناسی شامل فلورا ایرانیکا (Patzak & Rechinger 1965) و فلور ایران (Janighorban 1995)، هویت گونه‌های مورد نظر تایید و سپس برای انجام مطالعات گرده‌شناسی مورد استفاده قرار گرفتند.

جنس بارهنگ (*Plantago L.*) با ۲۴ یا ۲۵ گونه، تنها جنس از تیره *Plantaginaceae* در ایران بوده که تقریباً در تمام نقاط ایران می‌روید. در شمال ایران، دو گونه فراوان *Plantago major* و *P. lanceolata* به عنوان گونه‌های دارویی با ارزش دارای اثرات ضدباکتریایی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی شناخته شده‌اند (Patzak & Rechinger 1965, Tutel 1982, Ghahreman 1994, Samuelsen 2000, Mohsenzadeh et al. 2007, Beara et al. 2012, Karaka et al. 2012, Gonçalves & Romano 2016, Aminian et al. 2018, Amiri et al. 2018, Hassemer 2018).

بارهنگ کبیر با نام علمی *Plantago major L.* گیاهی چندساله، به ارتفاع ۳۱-۱۴ سانتی‌متر و گاهی تا ۷۰ سانتی‌متر، بدون ساقه و دارای ریزوم است. برگ‌ها طوقه‌ای، خیزان یا افراشته و دمبرگ‌دار، پهنک به شکل‌های بیضی، تخم‌مرغی و یا دایره‌ای با حاشیه صاف یا کمی کنگره‌ای-دندان‌های، دارای ۷-۳ رگبرگ مشخص، فاقد کرک یا دارای کرک‌های اندک است. دم گل‌آذین افراشته، سنبله استوانه‌ای باریک، میوه کپسول تخم‌مرغی و دارای ۱۰-۶ و ندرتا تا ۳۰ دانه کوچک و سیاه رنگ و زمان گل‌دهی آن از اواسط بهار تا اواخر تابستان است (Tutel 1982, Janighorban 1995).

بارهنگ سرنیزه‌ای با نام علمی *Plantago lanceolata L.* گیاهی چندساله به ارتفاع ۶۰-۳۰ سانتی‌متر، بدون ساقه و دارای ریزوم کوتاه است. برگ‌ها طوقه‌ای، افراشته و دمبرگ‌دار، پهنک نوک تیز یا بیضی باریک، از قاعده باریک شونده، حاشیه صاف یا دارای دندان‌های کوچک، دارای پنچ رگبرگ مشخص، با کرک‌های پراکنده یا بدون کرک است. دم گل‌آذین افراشته با کرک‌های پراکنده سفید، سنبله استوانه‌ای مخروطی کوتاه یا تقریباً کروی-متراکم، میوه کپسول تخم‌مرغی و دارای دو دانه قهوه‌ای روشن و بزرگ‌تر از بارهنگ کبیر و زمان گل‌دهی آن در بهار تا اوایل تابستان است (Tutel 1982, Janighorban 1995).

علم بیوسیستماتیک شامل علمی چون ریخت‌شناسی، گرده‌شناسی، ریخت‌سنجی، سیتولوژی، فیتوشیمی و غیره جنبه‌های بیش‌تری از زیست‌شناسی را جهت مطالعات سیستماتیک و طبقه‌بندی فراهم آورده است که برای مطالعات مقایسه‌ای گونه‌های متفاوت یک جنس و یا تیره در تعیین روابط تکاملی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Stace 1991, Reynolds 2007, Pakravan et al. 2018).

جدول ۱- مکان‌های جمعیت‌های جمع‌آوری شده گونه‌های *P. lanceolata* و *Plantago major* در شمال ایرانTable 1. Localities of the collected populations of *Plantago major* and *P. lanceolata* in north of Iran

ارتفاع (متر) Altitude (m)	طول جغرافیایی Longitude (E)	عرض جغرافیایی Latitude (N)	مکان Locality	شماره هرباریومی ; Herbarium No.	کد نمونه Specimen code	آرایه Taxon
370	53°13 39	36°15 58	Sari	Amininasab 3009-HUMZ	M ₁	<i>P. major</i>
				Amininasab 3001-HUMZ	L ₁	<i>P. lanceolata</i>
814	54°29 12	36°43 33	Ziarat	Amininasab 3010-HUMZ	M ₂	<i>P. major</i>
				Amininasab 3002-HUMZ	L ₂	<i>P. lanceolata</i>
1017	48°59 15	37°09 20	Masuleh	Amininasab 3011-HUMZ	M ₃	<i>P. major</i>
				Amininasab 3003-HUMZ	L ₃	<i>P. lanceolata</i>
2051	52°57 58	35°51 38	Shurab	Amininasab 3015-HUMZ	M ₄	<i>P. major</i>
				Amininasab 3007-HUMZ	L ₄	<i>P. lanceolata</i>

* نمونه‌های جمع‌آوری شده توسط خانم امینی‌نسب، به هرباریوم دانشگاه مازندران (HUMZ) سپرده شده است.

* The specimens collected by Ms. Amininasab, are deposited to the University of Mazandaran Herbarium (HUMZ).

- مطالعه کرده‌شناسی

نتیجه

گل‌های سالم گونه‌های *P. lanceolata* و *Plantago major*

تصاویر به دست آمده از دانه‌های جمعیت‌های مناطق ساری، زیارت، ماسوله و شوراب از هر دو گونه *Plantago major* و *P. lanceolata* مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲) و نتایج زیر حاصل شد:

دانه‌های گرده جمعیت‌های *P. major* به صورت منفرد (monad) با اندازه کوچک و دارای منفذ (pore) بوده که به صورت پراکنده در سطح (pantoporate) قرار داشتند. سطح دانه گرده دارای برآمدگی‌های (verrucate) دانه‌دانه‌دار (granulate) بودند (شکل‌های ۴-۱).

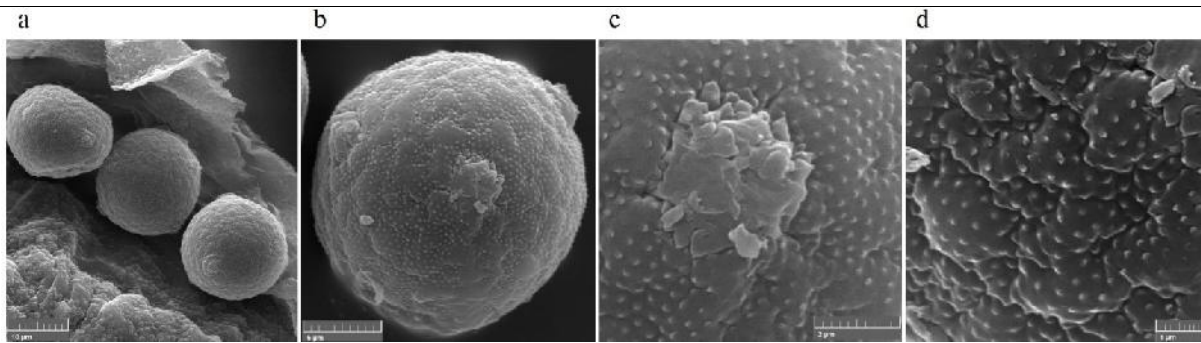
دانه‌های گرده گونه *P. major* از ساری (M₁) با طول قطبی (P) 18.06 ± 0.05 ، عرض استوایی (E) 17.50 ± 0.10 میکرومتر و نسبت P/E برابر با 1.03 ± 0.01 و کروی کشیده (prolate-spheroidal) بودند. منافذ به صورت برآمده و قطر آن‌ها 3.46 ± 0.23 میکرومتر بود. تعداد منفذ در زاویه دید و در سه نمونه تصادفی ۴، ۳ و ۳ شمارش شد (شکل ۱ و جدول ۲).

دانه‌های گرده گونه *P. major* از زیارت (M₂) با طول قطبی (P) 19.49 ± 0.24 ، عرض استوایی (E) 19.35 ± 0.13 میکرومتر، نسبت P/E برابر با 1.01 ± 0.01 ، کروی (spheroidal) یا کروی کشیده بودند. منافذ در بعضی از دانه‌های گرده به صورت برآمده و در برخی به صورت فرورفته و قطر منافذ 4.42 ± 0.16 میکرومتر بود. تعداد منفذ در زاویه دید و در سه نمونه تصادفی ۳، ۴ و ۵ شمارش شد (شکل ۲ و جدول ۲).

انتخاب و بساک‌های آن‌ها از پرچم جدا و توسط نوک سوزن شکافته شدند. دانه‌های گرده خارج شده روی پاپیک‌های مخصوصی قرار داده شد و توسط لایه نازکی از طلا پوشیده شدند. این پاپیک‌ها جهت عکس‌برداری درون محفظه میکروسکوپ الکترونی نگاره (مدل VEGA3 TESCAN) قرار گرفتند. با استفاده از تصاویر به دست آمده، صفات کمی شامل طول قطبی (P)، عرض استوایی (E)، نسبت طول قطبی به عرض استوایی (P/E)، قطر منفذ (pore)، عرض حلقه اطراف منفذ (annulus) و تعداد منفذ و صفات کیفی شامل شکل، واحد، کلاس، اندازه و تزیینات سطح دانه گرده مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفات کمی با استفاده از نرم‌افزار آنالیز تصاویر (Digimizer Ver. 4.1.1) اندازه‌گیری شدند. اصطلاحات کرده‌شناسی و شکل دانه گرده با توجه به منابع موجود تعیین و دانه‌های گرده دارای نسبت P/E برابر با یک، کروی بودن (spheroidal)، نسبت P/E بزرگ‌تر از یک (تا ۱/۱)، کروی نسبتا کشیده (prolate-spheroidal) و نسبت P/E کم‌تر از یک (تا ۰/۹)، کروی نسبتا پهن شده (oblate-spheroidal) تعریف شدند (Erdtman 1986, Klimko et al. 2004, Perveen & Qaiser 2004, Punt et al. 2007).

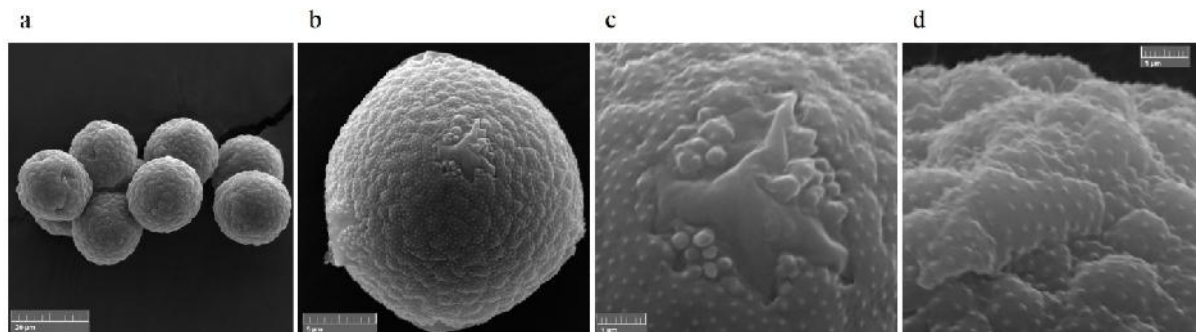
- آنالیزهای آماری

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS-18 و با روش آزمون t گروه‌های مستقل در سطح احتمال ۵٪ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه‌های گرده گونه *Plantago major* از ساری: a. دانه‌های گرده (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، b. دانه گرده (مقیاس = ۵ میکرومتر)، c. منفذ دانه گرده (مقیاس = ۲ میکرومتر)، d. تزیینات سطح دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر).

Fig. 1. SEM micrographs of pollen grains of *Plantago major* from Sari: a. Pollen grains (Bar = 20 μm), b. Monad pollen grain (Bar = 5 μm), c. Pore of pollen grain (Bar = 2 μm), d. Ornamentation of pollen grain (Bar = 1 μm).

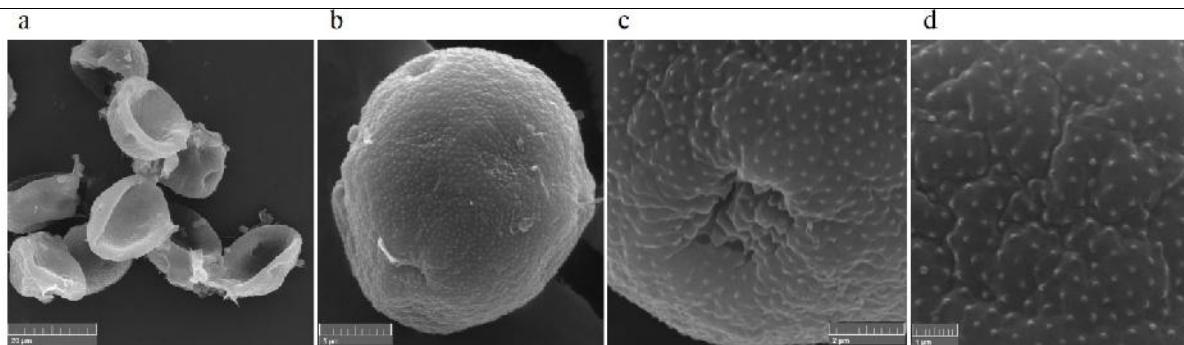


شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه‌های گرده گونه *Plantago major* از زیارت: a. دانه‌های گرده (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، b. دانه گرده (مقیاس = ۵ میکرومتر)، c. منفذ دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر)، d. تزیینات سطح دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر).

Fig. 2. SEM micrographs of pollen grains of *Plantago major* from Ziarat: a. Pollen grains (Bar = 20 μm), b. Monad pollen grain (Bar = 5 μm), c. Pore of pollen grain (Bar = 1 μm), d. Ornamentation of pollen grain (Bar = 1 μm).

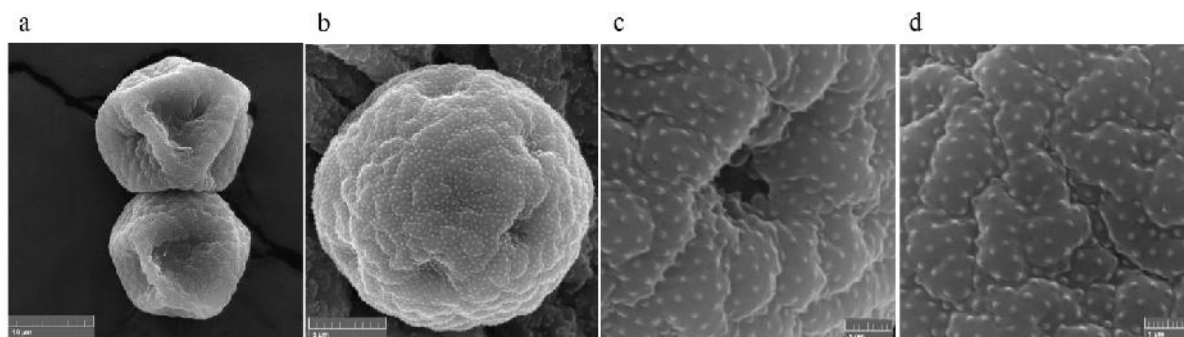
دانه‌های گرده گونه *P. major* از شوراب (M_4) با طول قطبی (P) 18.17 ± 0.06 ، عرض استوایی (E) 17.18 ± 0.09 میکرومتر، نسبت P/E برابر با 1.06 ± 0.01 و کروی کشیده بودند. منافذ به صورت فرورفته و قطر آن‌ها 1.98 ± 0.05 میکرومتر بود. تعداد منفذ در زاویه دید و در سه نمونه تصادفی ۳، ۴ و ۶ شمارش شد (شکل ۴ و جدول ۲).

دانه‌های گرده گونه *P. major* از ماسوله (M_3) با طول قطبی (P) 19.04 ± 0.04 ، عرض استوایی (E) 17.43 ± 0.25 میکرومتر و نسبت P/E برابر با 1.09 ± 0.02 و کروی کشیده بودند. منافذ به صورت فرورفته و قطر آن‌ها 1.98 ± 0.03 میکرومتر بود. تعداد منفذ در زاویه دید و در سه نمونه تصادفی ۲، ۳ و ۳ شمارش شد (شکل ۳ و جدول ۲).



شکل ۳- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه‌های گرده گونه *Plantago major* از ماسوله: a. دانه‌های گرده (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، b. دانه گرده (مقیاس = ۵ میکرومتر)، c. منفذ دانه گرده (مقیاس = ۲ میکرومتر)، d. تزیینات سطح دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر).

Fig. 3. SEM micrographs of pollen grains of *Plantago major* from Masuleh: a. Pollen grains (Bar = 20 μm), b. Monad pollen grain (Bar = 5 μm), c. Pore of pollen grain (Bar = 2 μm), d. Ornametation of pollen grain (Bar = 1 μm).



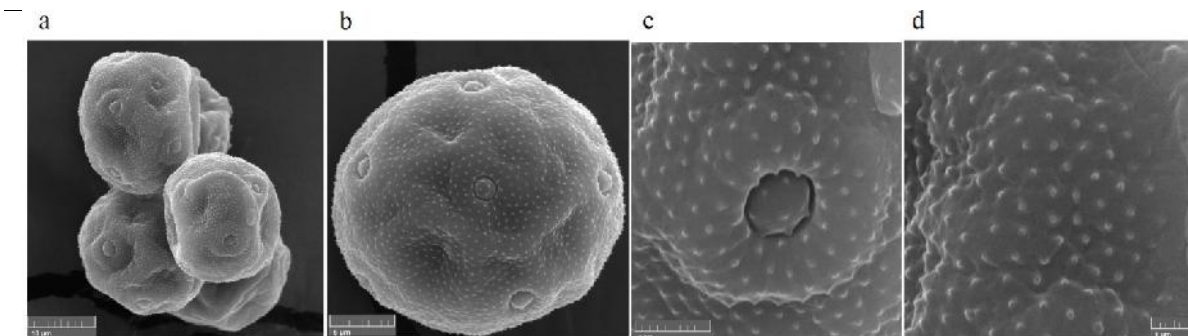
شکل ۴- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه‌های گرده گونه *Plantago major* از شوراب: a. دانه‌های گرده (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)، b. دانه گرده (مقیاس = ۵ میکرومتر)، c. منفذ دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر)، d. تزیینات سطح دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر).

Fig. 4. SEM micrographs of pollen grains of *Plantago major* from Shurab: a. Pollen grains (Bar = 10 μm), b. Monad pollen grain (Bar = 5 μm), c. Pore of pollen grain (Bar = 1 μm), d. Ornametation of pollen grain (Bar = 1 μm).

اندازه کوچک بودند. قطر منفذ 1.56 ± 0.2 و عرض حلقه اطراف آن 1.71 ± 0.6 میکرومتر بودند. تعداد منفذ در زاویه دید و در سه نمونه تصادفی ۴، ۵ و ۶ شمارش شد (شکل ۵ و جدول ۲). دانه‌های گرده گونه *P. lanceolata* از زیارت (L_2) با طول قطبی (P) 24.90 ± 0.19 ، عرض استوایی (E) 23.33 ± 0.16 میکرومتر، نسبت P/E برابر با 1.07 ± 0.1 ، کروی کشیده و اندازه کوچک یا متوسط بودند. قطر منفذ 2.13 ± 0.2 و عرض حلقه اطراف آن 1.66 ± 0.13 میکرومتر بودند. تعداد منفذ در زاویه دید و در سه نمونه تصادفی ۶، ۶ و ۷ شمارش شد (شکل ۶ و جدول ۲).

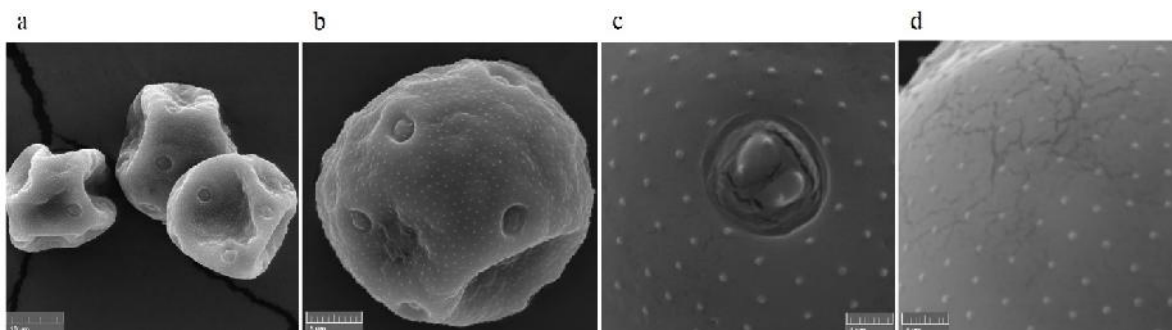
دانه‌های گرده جمعیت‌های گونه *P. lanceolata* نیز به صورت منفرد (monad) و دارای منفذ (pore) بوده که به صورت پراکنده در سطح (pantoporate) قرار داشتند. منفذ دارای درپوش (operculum) و اطراف منفذ دارای حلقه (annulus) است. سطح دانه گرده دارای برآمدگی‌هایی (verrucate) و تمام سطح دانه گرده و درپوش، دانه‌دانه‌دار (granulate) بودند (شکل‌های ۸-۵).

دانه‌های گرده گونه *P. lanceolata* از ساری (L_1) با طول قطبی (P) 22.04 ± 0.09 ، عرض استوایی (E) 20.94 ± 0.04 میکرومتر، نسبت P/E برابر با 1.05 ± 0.1 ، کروی کشیده و



شکل ۵- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه‌های گرده گونه *Plantago lanceolata* از ساری: a. دانه‌های گرده (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)، b. دانه گرده (مقیاس = ۵ میکرومتر)، c. منفذ دانه گرده (مقیاس = ۲ میکرومتر)، d. تزیینات سطح دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر).

Fig. 5. SEM micrographs of pollen grains of *Plantago lanceolata* from Sari: a. Pollen grains (Bar = 10 μm), b. Monad pollen grain (Bar = 5 μm), c. Pore of pollen grain (Bar = 2 μm), d. Ornamentation of pollen grain (Bar = 1 μm).



شکل ۶- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه‌های گرده گونه *Plantago lanceolata* زیارت: a. دانه‌های گرده (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)، b. دانه گرده (مقیاس = ۵ میکرومتر)، c. منفذ دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر)، d. تزیینات سطح دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر).

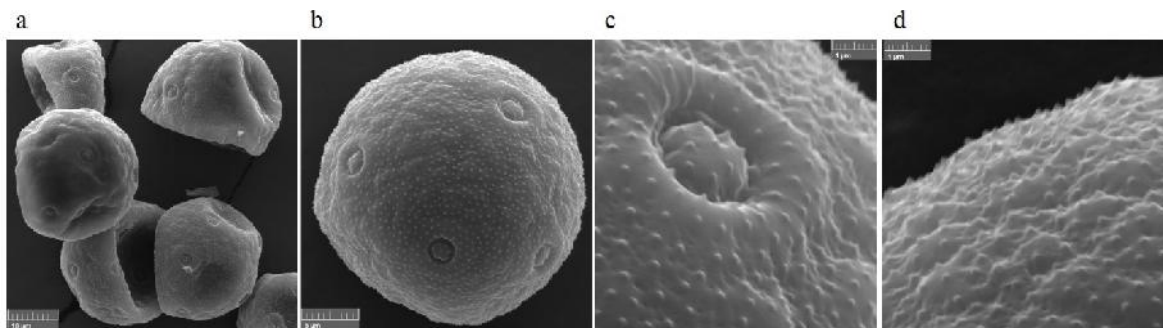
Fig. 6. SEM micrographs of pollen grains of *Plantago lanceolata* from Ziarat: a. Pollen grains (Bar = 10 μm), b. Monad pollen grain (Bar = 5 μm), c. Pore of pollen grain (Bar = 1 μm), d. Ornamentation of pollen grain (Bar = 1 μm).

دانه‌های گرده گونه *P. lanceolata* از ماسوله (L_3) با طول قطبی (P) 23.90 ± 0.1 ، عرض استوایی (E) 23.73 ± 0.12 میکرومتر، نسبت P/E برابر با 1.01 ± 0.01 ، کروی کشیده و اندازه کوچک بودند. قطر منفذ 1.75 ± 0.07 و عرض حلقه اطراف آن 1.34 ± 0.06 میکرومتر بودند. تعداد منفذ در زاویه دید و در سه نمونه تصادفی ۶، ۴ و ۵ شمارش شد (شکل ۷ و جدول ۲).

دانه‌های گرده گونه *P. lanceolata* از شوراب (L_4) با طول قطبی (P) 22.71 ± 0.2 ، عرض استوایی (E) 21.37 ± 0.09 میکرومتر، نسبت P/E برابر با 1.06 ± 0.01 ، کروی کشیده و اندازه کوچک بودند. قطر منفذ 1.16 ± 0.08 و عرض حلقه اطراف آن 1.16 ± 0.08 میکرومتر بودند. تعداد منفذ در زاویه دید و در سه نمونه تصادفی ۶، ۵ و ۵ شمارش شد (شکل ۸ و جدول ۲). میانگین اندازه صفات کمی دانه‌های گرده جمعیت‌های دو گونه *P. lanceolata* و *P. major* تفاوت معنی‌داری را در طول قطبی، عرض استوایی، قطر منفذ و تعداد منفذ نشان داد ($p < 0.05$)، به طوری که گونه *P. lanceolata* مقادیر طول قطبی، عرض استوایی و تعداد منفذ بیش‌تری به ترتیب با تفاوت میانگین 4.70 ± 0.38 ، 4.48 ± 0.45 و 1.83 ± 0.43 و قطر منفذ کم‌تری با تفاوت میانگین 1.31 ± 0.33 نسبت به گونه *P. major* داشته است (جدول ۳).

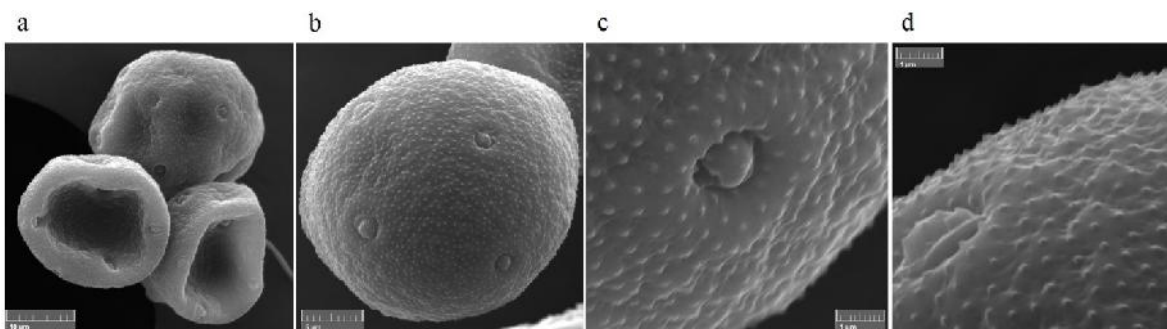
دانه‌های گرده گونه *P. lanceolata* از شوراب (L_4) با طول قطبی (P) 22.71 ± 0.2 ، عرض استوایی (E) 21.37 ± 0.09 میکرومتر، نسبت P/E برابر با 1.06 ± 0.01 ، کروی کشیده و اندازه کوچک بودند. قطر منفذ 1.16 ± 0.08 و عرض حلقه اطراف آن 1.16 ± 0.08 میکرومتر بودند. تعداد منفذ در زاویه دید و در سه نمونه تصادفی ۶، ۵ و ۵ شمارش شد (شکل ۸ و جدول ۲).

دانه‌های گرده گونه *P. lanceolata* از شوراب (L_4) با طول قطبی (P) 22.71 ± 0.2 ، عرض استوایی (E) 21.37 ± 0.09 میکرومتر، نسبت P/E برابر با 1.06 ± 0.01 ، کروی کشیده و اندازه کوچک بودند. قطر منفذ 1.16 ± 0.08 و عرض حلقه اطراف آن 1.16 ± 0.08 میکرومتر بودند. تعداد منفذ در زاویه دید و در سه نمونه تصادفی ۶، ۵ و ۵ شمارش شد (شکل ۸ و جدول ۲).



شکل ۷- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه‌های گرده گونه *Plantago lanceolata* از ماسوله: a. دانه‌های گرده (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)، b. دانه گرده (مقیاس = ۵ میکرومتر)، c. منفذ دانه گرده (مقیاس = ۲ میکرومتر)، d. تزیینات سطح دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر).

Fig. 7. SEM micrographs of pollen grains of *Plantago lanceolata* from Masuleh: a. Pollen grains (Bar = 10 μm), b. Monad pollen grain (Bar = 5 μm), c. Pore of pollen grain (Bar = 2 μm), d. Ornamentation of pollen grain (Bar = 1 μm).



شکل ۸- تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از دانه‌های گرده گونه *Plantago lanceolata* شوراب: a. دانه‌های گرده (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)، b. دانه گرده (مقیاس = ۵ میکرومتر)، c. منفذ دانه گرده (مقیاس = ۲ میکرومتر)، d. تزیینات سطح دانه گرده (مقیاس = ۱ میکرومتر).

Fig. 8. SEM micrographs of pollen grains of *Plantago lanceolata* from Shurab: a. Pollen grains (Bar = 10 μm), b. Monad pollen grain (Bar = 5 μm), c. Pore of pollen grain (Bar = 2 μm), d. Ornamentation of pollen grain (Bar = 1 μm).

جدول ۲- داده‌های صفات کمی دانه‌های گرده جمعیت‌های گونه‌های *P. lanceolata* و *Plantago major* در شمال ایران

Table 2. Quantitative characters data of pollen grains for the populations of *Plantago major* and *P. lanceolata* in north of Iran

تعداد منفذ	عرض حلقه	قطر منفذ	نسبت طول به عرض (P/E)	عرض استوایی (E)	طول قطبی (P)	کد نمونه
Number of pore	Annulus width	Pore diameter	P/E ratio	Equatorial width	Polar length	Specimen code
3, 4, 4	-	0.23±3.46	0.01±1.03	0.10±17.50	0.05±18.06	M ₁
5, 4, 3	-	0.16±4.42	0.01±1.01	0.13±19.35	0.24±19.49	M ₂
3, 2, 2	-	0.03±1.98	0.02±1.09	0.25±17.43	0.04±19.04	M ₃
6, 4, 3	-	0.05±1.98	0.01±1.06	0.09±17.18	0.06±18.17	M ₄
6, 5, 4	0.06±1.71	0.02±1.56	0.01±1.05	0.04±20.94	0.09±22.4	L ₁
7, 6, 6	0.13±1.66	0.02±2.13	0.01±1.07	0.16±23.33	0.19±24.90	L ₂
5, 4, 6	0.06±1.34	0.07±1.75	0.01±1.01	0.12±23.73	0.01±23.90	L ₃
5, 5, 6	0.15±1.21	0.08±1.16	0.01±1.06	0.09±21.37	0.02±22.71	L ₄

(M) گونه *P. major*، (L) گونه *P. lanceolata* و شماره‌های ۱-۴ به ترتیب جمعیت‌های ساری، زیارت، ماسوله و شوراب می‌باشند. مقادیر اندازه‌گیری شده بر حسب میکرومتر (μm).

تعداد منفذ با توجه به زاویه دید و در سه نمونه تصادفی شمارش شده است.

(M) *P. major*, (L) *P. lanceolata* and numbers 1-4 are the populations of Sari, Ziarat, Masuleh and Shurab, respectively. The measured values are in μm, the number of pores was counted according to the viewing angle and in three random samples.

جدول ۳- مقایسه صفات کمی دانه‌های گرده در گونه‌های *P. lanceolata* و *Plantago major* در شمال ایرانTable 3. Comparison of quantitative characters of pollen grains in *Plantago major* and *P. lanceolata* in north of Iran

p value	تفاوت میانگین‌ها Mean differences	<i>P. lanceolata</i>	<i>P. major</i>	صفات کمی Quantitative characters
0.000*	0.38±4.70	1.15±23.39	0.64±18.69	طول قطبی (P) Polar length
0.000*	0.45±4.48	1.26±22.34	0.91±17.87	عرض استوایی (E) Equatorial width
0.991	0.01±0.00	0.03±1.05	0.03±1.05	نسبت طول به عرض (P/E) P/E ratio
0.001*	0.33±1.31	0.37±1.65	1.09±2.96	قطر منفذ Pore diameter
-	-	0.24±1.48	-	عرض حلقه Annulus width
0.000*	0.43±1.83	0.90±5.42	1.17±3.58	تعداد منفذ Number of pore

* تفاوت میانگین‌ها از لحاظ آماری در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار هستند.

* The mean differences are statistically significant at the 0.05 level.

اغلب دارای دانه‌های گرده منفرد، دارای تقارن شعاعی، غیرقطبی، دارای منفذ و کروی بودند. دانه‌های گرده گونه *P. major* با میانگین اندازه ۲۶/۷ میکرومتر، دارای هشت منفذ با میانگین اندازه ۲/۱۴ میکرومتر، دارای درپوش روی منفذ (operculum) و حلقه دور منفذ (annulus) بوده و گونه *P. lanceolata* با میانگین اندازه ۲۰/۶ میکرومتر، دارای منافذ پراکنده (pantoporate) با میانگین اندازه ۲/۳۷ میکرومتر، دارای درپوش روی منفذ و حلقه دور منفذ بودند (Perveen & Qaiser, 2004).

از سوی دیگر، مطالعه انجام شده روی نه گونه از جنس بارهنگ در لهستان نشان داد که دانه‌های گرده آن‌ها متوسط یا کوچک، کروی یا کروی کشیده با تزیینات سطحی برآمده (verrucate) و دانه‌دانه‌دار (granulate) و دارای منفذ پراکنده (pantoporate) که در سطح پراکنده شده بودند (Klimko et al., 2004). براساس این پژوهش، دانه‌های گرده گونه *P. major* دارای ۹-۵ (۴) منفذ پراکنده (pantoporate) بسیار فرورفته با قطر متوسط ۴/۵۹ میکرومتر با حاشیه نامشخص و نامنظم و فاقد حلقه که غشای منفذ دانه‌دانه‌دار، درپوش نامشخصی را تشکیل داده بود. دانه‌های گرده گونه *P. major* دارای قطر قطبی متوسط (P) ۲۱/۷۶ و عرض استوایی متوسط (E) ۱۸/۵۱ میکرومتر، نسبت P/E متوسط ۱/۰۴، شکل دانه گرده معمولاً قطبی کشیده و گاهی کروی یا کشیده و تزیینات سطح دانه گرده به صورت برآمدگی‌های (verrucate) مشخص با اندازه متوسط، اندکی محدب و نامنظم که اندازه آن در اطراف منافذ

بحث

مطالعات انجام شده روی دانه گرده جنس بارهنگ، تفاوت‌هایی را در بین گونه‌های این جنس نشان می‌دهد. گزارش‌های موجود در بانک دانه گرده نشان می‌دهد که در گونه *Plantago major*، دانه گرده به صورت منفرد (monad) با اندازه کوچک (۲۵-۱۰ میکرومتر) و کروی (spheroidal) بوده و تعداد بیش‌تر از شش منفذ (pore) به صورت پراکنده در سطح دانه گرده (pantoporate) و تزییناتی روی غشای منفذ دارد. تزیینات سطح دانه گرده به صورت برآمدگی‌هایی (verrucate, microechinate, perforate) و ستون مانند (columellate) گزارش شده‌اند (Halbritter 2005b, Ulrich & Halbritter 2016b, Halbritter & Ulrich 2012b). در این بانک داده، دانه گرده گونه *P. lanceolata* نیز به صورت منفرد (monad)، با اندازه کوچک (۲۵-۱۰ میکرومتر) یا متوسط (۵۰-۲۶ میکرومتر)، کروی (spheroidal) و با تعداد بیش‌تر از شش منفذ (pore) به صورت پراکنده در سطح دانه گرده (pantoporate) گزارش شده که منافذ دارای درپوش (operculum) و حلقه (annulus) بودند. همچنین، تزیینات سطح دانه گرده به صورت برآمدگی‌هایی (verrucate, microechinate, perforate) و دانه‌دانه‌دار (granulate) و یا ستون مانند (columellate) گزارش شدند (Halbritter 2005a, Ulrich & Halbritter 2012a, Halbritter & Ulrich 2016a).

مطالعه انجام شده روی ۱۴ گونه جنس بارهنگ در پاکستان به روشنی اظهار داشته است که گونه‌های این جنس

متغیر بود، در حالی که دانه‌های گرده گونه *P. lanceolata* دارای (۱۶)۹-۱۲ (۷) منفذ پراکنده با قطر متوسط ۲/۷۶ میکرومتر با حاشیه مشخص و حلقه کمی برآمده با عرض ۱/۲۴ میکرومتر و درپوش مشخص، قطر قطبی متوسط (P) ۲۵/۲۲ و عرض استوایی متوسط (E) ۲۰/۹۳ میکرومتر، نسبت P/E متوسط ۱/۰۳، شکل دانه گرده معمولاً قطبی یا قطبی کشیده و تزیینات سطح دانه گرده به صورت برآمدگی‌های بزرگ نامنظم و پراکنده بود (Klimko et al. 2004).

برخی مطالعات دیگر نیز اشاره داشته که منافذ در دانه گرده گونه *P. major* نامشخص و فاقد درپوش (Fægri et al. 1992) و یا تزیینات سطح دانه گرده دارای برآمدگی‌های مشخص که از سایر گونه‌ها کوچک‌تر است (Clarke & Jones 1977). منفذ نیز در مطالعات مختلف به اندازه‌های ۳ میکرومتر (Dietrich 1968)، ۳-۵ میکرومتر (Clarke & Jones 1977) و ۲/۳۱-۵/۴۲ میکرومتر (Klimko et al. 2004) گزارش شده است. برخی مطالعات نیز به این نکته اشاره نموده که بارزترین ویژگی دانه گرده گونه *P. lanceolata* درپوش‌های کامل آن است (Clarke & Jones 1977). همچنین، منافذی با قطر ۳-۴ میکرومتر و حلقه اطراف آن تا ۲ میکرومتر (Clarke & Jones 1977) و یا منافذی با قطر ۴/۵-۶ میکرومتر و حلقه باریک‌تر *P. lanceolata* (Sadowska et al. 1986) نیز در مورد گونه گزارش شده است.

پژوهش حاضر، نخستین مطالعه دانه گرده گونه‌های *P. lanceolata* و *P. major* در ایران بوده که روی جمعیت‌های جمع‌آوری شده از شمال ایران انجام شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که دانه گرده همه جمعیت‌های این دو گونه، به صورت منفرد (monad)، اغلب کوچک (small) و کروی نسبتاً کشیده (prolate-spheroidal) بودند و دارای منفذ (pore) بوده که به صورت پراکنده در سطح (pantoporate) قرار داشتند. تزیینات سطحی دانه گرده به صورت برآمدگی‌های (verrucate) دانه‌دانه‌دار (granulate) بودند (شکل‌های ۸-۱). دو گونه *P. lanceolata* و *P. major* به ترتیب دارای میانگین طول قطبی

بنابراین، نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که دو گونه *P. lanceolata* و *P. major* از لحاظ ریخت‌شناسی دارای دانه‌های گرده متفاوت بودند. اگرچه هر دو گونه دانه‌های گرده کروی کشیده، اندازه کوچک با منفذهای پراکنده در سطح و تزیینات سطحی برآمده و دانه‌دانه‌دار بودند، اما گونه *P. lanceolata* به طور متوسط دارای دانه‌های گرده بزرگ‌تر و تعداد منافذ بیشتر و همچنین دارای درپوش و حلقه بوده، به طوری که گونه *P. major* به طور متوسط منافذ بزرگ‌تری داشت. نتایج حاصل از تحقیق حاضر اشاره دارد به این که داده‌های گرده‌شناسی می‌تواند در شناسایی این گونه‌ها مؤثر بوده و به همراه داده‌های حاصل از گونه‌های دیگر، به تکمیل اطلاعات در مورد رده‌بندی و تاکسونومی جنس بارهنگ کمک شایانی نماید.

References

Aminian, R., Mardani, M. & Davoodnia, B. 2018. The effect of hydro-alcoholic extract of *Plantago major* and *Astragalus hamosus* on some gram-

positive and gram-negative bacteria. Iranian Journal of Plant Researches 31(3): 956-967.

Amiri, M.S., Saeidi Mehrvarz, Sh. & Memariani, F. 2018. *Plantago lagocephala* (Plantaginaceae), a

- new record for the flora of Iran. *Nova Biologica Reperta* 5(3): 320–323.
- Beara, I.N., Lesjak, M.M., Or i , D.Z., Simin, N. , etojevi -Simin, D.D., Božin, B.N. & Mimica-Duki , N.M. 2012. Comparative analysis of phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of two closely-related Plantain species: *Plantago altissima* L. and *Plantago lanceolata* L. *LWT - Food Science and Technology* 47(1): 64–70.
- Clarke, G.C.S. & Jones, M.R. 1977. Plantaginaceae. Review of Palaeobotany and Palynology 24(4): 129–154.
- Davis, P. 1982. Flora of Turkey and the east Aegean islands. Volume 7. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Dietrich, H. 1968. Pollen bestimmungsschlüssel mitteleuropäischer Plantaginaceae. *Wiss. Z. Friedrich-Schiller-Uni., Jena. Math.-Naturwiss* 3: 359–361.
- Erdtman, G. 1986. Pollen morphology and plant taxonomy: Angiosperms (an introduction to palynology). Brill Archive, Leiden, 553 pp.
- Fægri, K., Iversen, J., Kaland, P.E. & Krzywinski, K. 1992. Textbook of pollen analysis. Wiley, Chichester, 328 pp.
- Gazer, M.H. & Shalabi, L.F. 2016. The role of pollen morphology in the identification and classification of *Plantago* (Plantaginaceae). *The Egyptian Society of Experimental Biology* 12(2): 125–132.
- Gahreman, A. 1994. Plant Systematics-Chromophytes of Iran (In Persian). University of Tehran Press, Tehran, 723 pp. (In Persian).
- Gonçalves, S. & Romano, A. 2016. The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (Plantaginaceae). *Industrial Crops and Products* 83: 213–226.
- Halbritter, H. 2005a. *Plantago lanceolata*. In: PalDat - A palynological database. https://www.palдат.org/pub/Plantago_lanceolata/113130.
- Halbritter, H. 2005b. *Plantago major*. In: PalDat - A palynological database. https://www.palдат.org/pub/Plantago_major/113132.
- Halbritter, H. & Ulrich, S. 2016a. *Plantago lanceolata*. In: PalDat - A palynological database. https://www.palдат.org/pub/Plantago_lanceolata/300502;jsessionid=9238CEBFDB4FCC08B81B590619DB50BF.
- Halbritter, H. & Ulrich, S. 2016b. *Plantago major*. In: PalDat - A palynological database. https://www.palдат.org/pub/Plantago_major/300509.
- Hassemer, G. 2018. Notes on the montane Indo-Iranian species in *Plantago* subgenus *Plantago* (Plantaginaceae). *Phytotaxa* 336(1): 59–68.
- Janighorban, M. 1995. Plantaginaceae. Pp. 1–53. In: Flora of Iran, No. 14 (Assadi *et al.*, eds). Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran.
- Karaka, F.P., Yildirim, A. & Türker, A. 2012. Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. *Turkish Journal of Biology* 36: 641–652.
- Klimko, M., Idzikowska, K., Truchan, M. & Kreft, A. 2004. Pollen morphology of *Plantago* species native to Poland and their taxonomic implications. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 73: 315–325.
- Mohsenzadeh, S., Nazeri, V. and Mirtadzadini, A.S. 2007. *Plantago lachnantha* Bge. (Plantaginaceae), a new record for flora of Iran. *Iranian Journal of Botany* 13: 107–108.
- Pakravan, M., Dastpak, A., Sonboli, A. & Khalaj, Z. 2018. A taxonomic reassessment of *Consolida* (Ranunculaceae) species: insight from morphological and molecular data. *Journal of Genetic Resources* 4(1): 14–25.
- Patzak, A. & Rechinger, K.H. 1965. Plantaginaceae. Pp. 1–21. In: Flora Iranica, Vol. 15 (Rechinger, K.H., ed). *Academische Druck und Verlagsantalt*.

- Perveen, A. & Qaiser, M. 2004. Pollen flora of Pakistan - xxxviii. Plantaginaceae. Pakistan Journal of Botany 36(1): 19–24.
- Punt, W., Hoen, P.P., Blackmore, S., Nilsson, S. & Thomas, A.L. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. Review of Palaeobotany and Palynology 143(1–2): 1–81.
- Reynolds, T. 2007. The evolution of chemosystematics. Phytochemistry 68: 887–2895.
- Sadowska, A., Kuszell, T. & Lorenk, K. 1986. *Plantago lanceolata* L. Nauk 24: tab. 294. In: Kartoteka palinologiczna ro lin polskich. Zeszyty Przyrod. Opol. Tow. Przyj.
- Samuelson, A.B. 2000. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. Journal of Ethnopharmacology 71(1–2): 1–21.
- Stace, C.A. 1991. Plant taxonomy and biosystematics. Cambridge University Press, Cambridge, 264 pp.
- Tutel, B. 1982. *Plantago* L. Pp. 505–521. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 7 (Davis, P.H., ed). Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Ulrich, S. & Halbritter, H. 2012a. *Plantago lanceolata*. In: PalDat - A palynological database. https://www.palдат.org/pub/Plantago_lanceolata/206596.
- Ulrich, S. & Halbritter, H. 2012b. *Plantago major*. In: PalDat - A palynological database. https://www.palдат.org/pub/Plantago_major/206598.