

بررسی تغییرات بافت شناسی و سلولی در جمعیت‌های گونه *Nepeta heliotropifolia* در ایران

سید مهدی طالبی ^{۱*} Ph.D.، مجید قربانی ^۲ Ph.D.، محبوبه یارمحمدی ^۱ M.Sc.

۱- دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، کد پستی ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶.

۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی. کرج. ایران.

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: seyedmehdi_talebi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۳/۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲۶

چکیده

هدف: در این بررسی ساختار تشریحی برگ چهار جمعیت از گونه *Nepeta heliotropifolia* مورد بررسی قرار گرفت. تفاوت هایی که در ساختار سلول‌ها و بافت های جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاهی ضمن تطابق با شرایط زیستگاهی پیش می آید می تواند آغازگر تنوعات درون گونه‌ای برای گونه زایی باشند.

مواد و روشها: از هر جمعیت سه فرد و از هر فرد یک برگ بالغ و سالم از ناحیه میانی ساقه انتخاب شد. برشگیری به روش دستی انجام شد. برشها رنگ آمیزی مضاعف شدند. نرم افزار های MVSP و SPSS برای بررسی های آماری مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج: در مجموع بیست و دو صفت کمی و کیفی ساختار تشریحی برگ مطالعه شدند. صفات کیفی در بین گونه های مورد مطالعه ثابت بودند ولی آزمون ANOVA تفاوت معنی داری را برای بیشتر صفات کمی مطالعه شده نشان داد. همبستگی های معنی داری بین تعدادی از صفات تشریحی با یکدیگر و عوامل اکولوژیکی زیستگاهها مشاهده شد. جمعتهای در درخت و نمودارها از یکدیگر جدا شدند. **نتیجه گیری:** عوامل محیطی می توانند بر ساختار سلول‌ها و بافتهای جمعیت‌های مختلف گیاهان اثر گذاشته و باعث ایجاد تنوعات درون گونه‌ای می شوند. این تنوعات در صفات تشریحی کمی نمود بیشتری دارد. تفاوت‌های ایجاد شده در صفات تشریحی جمعیت‌ها ارتباطی به دوری یا نزدیکی زیستگاه آن‌ها نداشته بلکه میزان شباهت یا تفاوت خصوصیات زیستگاه‌ها عامل مهمی در ایجاد شباهت یا تفاوت بین جمعیت‌ها می باشد.

واژگان کلیدی: صفات تشریحی، برگ، جمعیت، تنوعات درون گونه ای، *Nepeta heliotropifolia*

مقدمه

تنوعات درون گونه‌ای که بین جمعیت‌های مختلف یک گونه مشاهده می‌شود ارزش تطابقی داشته و در طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی دیده شده است. این تغییرات در فرایند گونه زایی به خصوص گونه زایی آلپاتریک نقش بسیار مهمی دارند (۱).

مطالعات مختلف نشان می‌دهند که تغییرات قابل توجهی در صفات کمی و کیفی تشریحی بین جمعیت‌های مختلف گونه‌های نهاندانگان که در شرایط متفاوت محیطی رشد می‌کنند وجود دارد که ناشی از تاثیر عوامل زیستگاهی یا خرد- زیستگاهی می‌باشد (۲). در مطالعات اکولوژیکی صفات تشریحی بافت‌های گیاهان می‌تواند به عنوان شاخص‌های با ارزشی در درک تطابق اکولوژیکی گیاهان تلقی شود (۳). شرایط محیطی مانند شدت نور، فراهم بودن مواد غذایی می‌تواند صفات ریخت شناسی و همچنین تشریحی اندام‌های مختلف گیاه مانند برگ‌ها را تحت تاثیر خود قرار دهند. برای مثال، در گیاهانی که در محیط‌هایی با شدت نور زیاد رشد می‌کنند در مقایسه با گیاهانی که در شرایط سایه تر قرار دارند برگ‌ها تمایل به کوچک شدن داشته و روزه‌ها در فرورفتگی‌های اپی‌درم قرار دارند (۴). همچنین تغییرات شناخته شده دیگری در صفات برگ نظیر ضخامت کوتیکول و اندازه سلول‌های اپی‌درمی مرتبط با شرایط محیطی رخ می‌دهد (۵ و ۶). این قبیل تغییرات در گونه‌های مختلفی وجود دارد. برای مثال Rôcas و همکاران تنوعات ساختار تشریحی را در بین جمعیت‌های گونه *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Müll. Arg. نشان دادند (۶).

گونه *Nepeta heliotropifolia* Lam. از اعضای گروه چهار جنس *Nepeta* از خانواده نعنا (Labiatae) می‌باشد که پراکنش بسیار وسیعی در نقاط مختلف کشور ایران دارد (۷). تاکنون مطالعات بسیاری راجع به صفات ریخت شناسی (۸)، ترکیبات شیمیایی اسانس و همچنین کرک‌های (۹) این گیاه در ایران صورت پذیرفته است ولی تاکنون مطالعه تشریحی جامعی روی ساختار تشریحی این گونه و همچنین جمعیت‌های مختلف آن در ایران و همچنین جهان انجام نشده است.

در این بررسی ساختار تشریحی برگ چهار جمعیت از گونه *N. heliotropifolia* مورد بررسی قرار گرفت. این جمعیت‌ها از مناطق مختلف دارای شرایط اکولوژیکی متفاوت جمع آوری شدند. هدف از این مطالعه ۱- بررسی میزان تغییرپذیری صفات تشریحی برگ تحت اثر عوامل محیطی، ۲- مشخص نمودن متغیرترین صفات تشریحی، ۳- بررسی وجود یا عدم ارتباط معنی دار بین صفات کمی با برخی عوامل اکولوژیکی زیستگاه‌ها، ۴- بررسی میزان شباهت جمعیت‌ها بر مبنای صفات تشریحی.

مواد و روش‌ها

در این بررسی ساختار تشریحی ۴ جمعیت از گونه *N. heliotropifolia* مورد مطالعه قرار گرفت. جمعیت‌های مورد مطالعه از رویشگاه طبیعی در بهار سال ۱۳۹۵ جمع آوری شده و توسط منابع معتبر نظیر فلور ایران (۷) و فلور ایرانیکا (۱۰) شناسایی شدند (جدول ۱).

جدول ۱: نام و آدرس جمعیت‌های مطالعه شده از گونه *N. heliotropifolia*

| نام جمعیت | آدرس زیستگاه | نام منطقه جغرافیای گیاهی | طول جغرافیایی | عرض جغرافیایی | ارتفاع زیستگاه (متر) |
|-----------|---|---|---------------|---------------|----------------------|
| قوچان | استان خراسان رضوی، قوچان. | پروانس فرعی خراسان | ۳۷° ۱۳'۹۲/۸" | ۰۵۸° ۴۹'۳۷/۶" | ۲۲۰۰ |
| سفیدخانی | استان مرکزی، اراک، خان میران، کوه سفیدخانی. | پروانس فرعی کردستان- زاگرس | ۳۳° ۵۹'۳۰/۷" | ۰۴۹° ۳۴'۱۲/۹" | ۲۱۵۰ |
| سنگک | استان مرکزی، نوبران، روستای سنگک. | پروانس فرعی آتروپاتان | ۳۵° ۱۵'۱۰/۳" | ۰۴۹° ۴۵'۳۲/۷" | ۲۲۳۷ |
| قزوین | استان قزوین، قزوین، منطقه الموت. | بین پروانس های فرعی آتروپاتان و اگزینو- هیرکانی | ۳۶° ۴۵'۱۲/۷" | ۰۵۰° ۵۶'۴۹/۳" | ۲۴۰۰ |

کلانشیمی و تعداد لایه‌های سلولی، شکل، طول، عرض و نسبت طول به عرض بافت آوند چوبی، شکل، طول، عرض و نسبت طول به عرض بافت آوند آبکش و ابعاد متاگزیم.

آنالیز آماری

در بررسی‌های آماری، میانگین و انحراف استاندارد صفات کیفی مطالعه شده محاسبه شد و همچنین از آنالیز ANOVA به منظور مشخص نمودن معنی‌دار بودن یا نبودن تفاوت‌های موجود بین صفات کیفی استفاده شد. برای گروه‌بندی جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس صفات تشریحی، داده‌ها استاندارد شده (میانگین ۰ و واریانس ۱) و سپس از تجزیه و تحلیل‌های چند گزینه‌ای مختلف مانند UPGMA (Unweighted Paired Principal Coordinate Ordination) (Group using Average method) (Principal PCA) و (Coordinate Ordination) (Principal Coordinate Analysis) استفاده شد (۱۱). از نرم افزارهای SPSS ver. 16، MVSP ver 3.1 و Image Tool ver. 2.0 برای بررسی‌های آماری استفاده شد.

نتایج

در بین صفات تشریحی کیفی مطالعه شده بین جمعیت‌ها تفاوتی مشاهده نشد. شکل سلول‌های اپی‌درمی در همه جمعیت‌ها بیضی بود. شکل دیواره سلول‌های پارانشیم نردبانی چین خورده بود. سلول‌های پارانشیم بافت رگبرگ چند ضلعی و سیستم آوندی به صورت هلالی مشاهده شد.

ابعاد سلول‌های اپی‌درمی بین جمعیت‌ها متفاوت بود. بزرگترین آن‌ها در جمعیت سنگک و کوچکترین آن‌ها در جمعیت قزوین ثبت شد. طویل‌ترین پارانشیم نردبانی در جمعیت سنگک و کوتاهترین آن‌ها در جمعیت قوچان مشاهده شد ولی عرض این سلول‌ها تفاوت محسوسی بین جمعیت‌ها نداشت. بزرگترین و کوچکترین سلول‌های پارانشیم در رگبرگ میانی به ترتیب در جمعیت‌های قزوین

از هر جمعیت سه فرد و از هر فرد یک برگ بالغ از قسمت میانی ساقه انتخاب شد. به منظور دستیابی به صفات همسان و دارای شرایط برابر، در تمامی نمونه‌ها برش‌های عرضی از قسمت میانی برگ صورت پذیرفت. نمونه‌های گیاهی خشک به مدت ۱۰ دقیقه (بسته به میزان سختی بافت) در آب جوشانده و پس از نرم شدن از آب خارج و به محلول تثبیت کننده FAA به مدت ۴۰ ساعت منتقل شدند. سپس نمونه‌ها از محلول تثبیت کننده خارج و پس از چندین مرتبه شست و شو با آب، به محلول الکل اتیلیک ۷۰ درجه انتقال یافتند.

نمونه‌ها را برای برش‌گیری عرضی از محلول الکل خارج کرده و به مدت ۱۰ دقیقه داخل آب مقطر قرار گرفتند. برش‌گیری به روش دستی با تیغ انجام شد. برش‌ها به مدت حداقل ۴۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد قرار گرفتند. بلافاصله پس از مدت زمان لازم نمونه‌ها را از آن خارج و حدود ۴۰ ثانیه با آب تحت شست و شو قرار گرفته و آن‌گاه به مدت ۱/۵ دقیقه در محلول اسید استیک گلاسیال ۱ درصد قرار گرفتند. برای رنگ آمیزی از رنگ‌های کارمن زاجی و آبی متیلن استفاده شد. برش‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در رنگ کارمن زاجی و به مدت یک دقیقه در رنگ آبی متیلن قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از شست و شو با آب به مدت یک دقیقه در محلول الکل اتیلیک ۷۰ درجه قرار گرفتند. نازکترین و سالم‌ترین نمونه‌ها را برداشته و به روی لام برجسب زده انتقال و لامل گذاری شدند. نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری Olympus با لنزهای ۴× و ۱۰× بررسی شده و از بهترین نمونه‌ها عکس تهیه شد. در مجموع بیست و دو صفت کمی و کیفی برگ نظیر شکل، طول، عرض و نسبت طول به عرض سلول‌های اپی‌درمی، طول، عرض و نسبت طول به عرض سلول‌های مزوفیل نردبانی و تعداد لایه‌های سلولی و شکل دیواره عرضی آن‌ها، شکل، طول، عرض و نسبت طول به عرض سلول‌های پارانشیم رگبرگ اصلی، ابعاد سلول‌های

جمعیت‌ها داشت. عریض‌ترین متاگزیم در جمعیت قزوین و کوچکترین در جمعیت سنگگ مشاهده شد. بزرگترین بافت آوند آبکش به جمعیت قوچان و کوچکترین آن به جمعیت سفید خانی متعلق داشت (جدول ۲).

و قوچان وجود داشت. اگر چه تعداد لایه های سلولی بافت کلانشیم بین نمونه‌های مطالعه شده ثابت بود ولی ابعاد آن‌ها متفاوت بود. بزرگترین آن‌ها در جمعیت سنگگ و کوچکترین آن‌ها در جمعیت‌های سفید خانی و قوچان یافت شد. قطر متاگزیم تغییرات محسوسی بین

جدول ۲: میانگین و انحراف استاندارد تعدادی از صفات تشریحی جمعیت‌های مورد مطالعه (اندازه‌ها بر اساس میلی‌متر است).

| شکل بافت آوندی | قطر متاگزیم | طول آوند آبکش | طول آوند چوبی | طول کلانشیم | طول پارانشیم | شکل پارانشیم | طول اپی‌درم | شکل اپی‌درم | طول پالیساد | |
|----------------|-------------|---------------|---------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | ۰.۰۷ | ۳.۰۴ | ۳.۲۶ | ۰.۲۵ | ۰.۲۹ | | ۰.۱۵ | | ۰.۴۸ | میانگین |
| هلالی | ۰.۰۱ | ۰.۰۹ | ۰.۱۲ | ۰.۰۴ | ۰.۰۵ | چند ضلعی | ۰.۰۵ | بیضی | ۰.۰۳ | انحراف معیار |
| | ۰.۱۳ | ۲.۰۴ | ۱.۷۱ | ۰.۲۲ | ۰.۴۱ | | ۰.۱۰ | | ۰.۴۰ | میانگین |
| هلالی | ۰.۰۳ | ۰.۰۸ | ۰.۱۴ | ۰.۰۲ | ۰.۰۲ | چند ضلعی | ۰.۰۱ | بیضی | ۰.۰۴ | انحراف معیار |
| | ۰.۱۱ | ۲.۱۱ | ۲.۱۱ | ۰.۲۲ | ۰.۳۶ | | ۰.۱۲ | | ۰.۴۱ | میانگین |
| هلالی | ۰.۰۱ | ۰.۰۳ | ۰.۰۸ | ۰.۰۲ | ۰.۰۲ | چند ضلعی | ۰.۰۲ | بیضی | ۰.۰۳ | انحراف معیار |
| | ۰.۰۹ | ۲.۳۰ | ۲.۶۳ | ۰.۲۲ | ۰.۲۱ | | ۰.۱۲ | | ۰.۳۴ | میانگین |
| هلالی | ۰.۰۲ | ۰.۰۸ | ۰.۰۸ | ۰.۰۸ | ۰.۰۴ | چند ضلعی | ۰.۰۲ | بیضی | ۰.۰۴ | انحراف معیار |

پارانشیم نردبانی، قطر آوند چوب، طول بافت آبکش، عرض بافت آبکش، قطر متاگزیم نشان داد. ولی در اکثر صفات بررسی شده تغییرات معنی داری مشاهده نشد (جدول ۳).

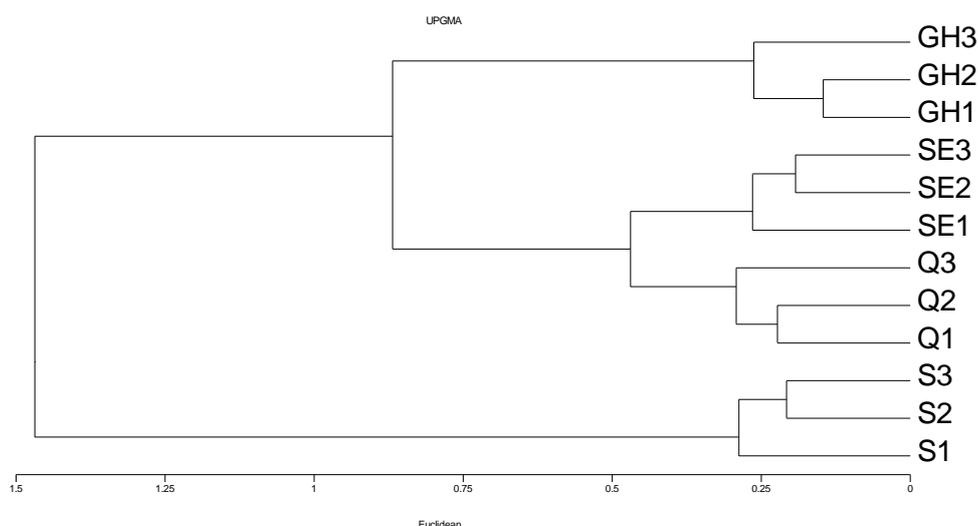
آنالیز آماری ANOVA تغییرات معنی‌داری ($p \leq 0.05$) را برای تعداد کمی از صفات کمی مطالعه شده مانند: طول و عرض سلول‌های پارانشیم رگبرگ میانی، طول

جدول ۳: آزمون ANOVA جهت بررسی معنی دار بودن/ نبودن تغییرات صفات کمی تشریحی بین جمعیت‌ها

| نام صفات | | مجموع مربع‌ها | درجه آزادی | Mean Square | F | احتمال |
|----------------------|--------------|---------------|------------|-------------|---------|--------|
| طول سلول‌های نردبانی | بین گرو هها | 0.030 | 3 | 0.010 | 8.313 | 0.008 |
| | داخل گروه‌ها | 0.010 | 8 | 0.001 | | |
| | مجموع | 0.040 | 11 | | | |
| عرض سلول‌های نردبانی | بین گرو هها | 0.000 | 3 | 0.000 | .184 | 0.904 |
| | داخل گروه‌ها | 0.002 | 8 | 0.000 | | |
| | مجموع | 0.002 | 11 | | | |
| طول سلول اپی‌درم | بین گرو هها | 0.005 | 3 | 0.002 | 1.779 | 0.229 |
| | داخل گروه‌ها | 0.007 | 8 | 0.001 | | |
| | مجموع | 0.012 | 11 | | | |
| عرض سلول اپی‌درم | بین گرو هها | 0.001 | 3 | 0.000 | .455 | 0.721 |
| | داخل گروه‌ها | 0.006 | 8 | 0.001 | | |
| | مجموع | 0.007 | 11 | | | |
| طول سلول پارانشیم | بین گرو هها | 0.066 | 3 | 0.022 | 9.061 | 0.005 |
| | داخل گروه‌ها | 0.019 | 8 | 0.002 | | |
| | مجموع | 0.085 | 11 | | | |
| عرض سلول پارانشیم | بین گرو هها | 0.040 | 3 | 0.013 | 4.530 | 0.039 |
| | داخل گروه‌ها | 0.024 | 8 | 0.003 | | |
| | مجموع | 0.064 | 11 | | | |
| طول سلول پارانشیم | بین گرو هها | 0.003 | 3 | 0.001 | 0.365 | 0.780 |
| | داخل گروه‌ها | 0.018 | 8 | 0.002 | | |
| | مجموع | 0.021 | 11 | | | |
| عرض سلول پارانشیم | بین گرو هها | 0.000 | 3 | 0.000 | 0.259 | 0.853 |
| | داخل گروه‌ها | 0.003 | 8 | 0.000 | | |
| | مجموع | 0.003 | 11 | | | |
| قطر آوند چوب | بین گرو هها | 4.084 | 3 | 1.361 | 110.682 | 0.000 |
| | داخل گروه‌ها | 0.098 | 8 | 0.012 | | |
| | مجموع | 4.183 | 11 | | | |
| طول بافت آبکش | بین گرو هها | 1.880 | 3 | 0.627 | 122.307 | 0.000 |
| | داخل گروه‌ها | 0.041 | 8 | 0.005 | | |
| | مجموع | 1.921 | 11 | | | |
| عرض بافت آبکش | بین گرو هها | 0.065 | 3 | 0.022 | 27.069 | 0.000 |
| | داخل گروه‌ها | 0.006 | 8 | 0.001 | | |
| | مجموع | 0.071 | 11 | | | |
| قطر متا گزیلم | بین گرو هها | 0.008 | 3 | 0.003 | 9.676 | 0.005 |
| | داخل گروه‌ها | 0.002 | 8 | 0.000 | | |
| | مجموع | 0.011 | 11 | | | |

قطر سلول‌های کلانشیم ($r = 0.91$, $p \leq 0.05$) یافت شد. بین قطر متاگزیم با پروتوگزیم یک ارتباط منفی معنی داری ($r = -0.99$, $p \leq 0.01$) ثبت شد. همچنین یک ارتباط مثبت معنی داری ($r = 0.96$, $p \leq 0.05$) بین طول جغرافیایی و ابعاد متاگزیم مشاهده شد. جمعیت‌های مورد مطالعه در درخت UPGMA از یکدیگر جدا شدند (شکل ۱).

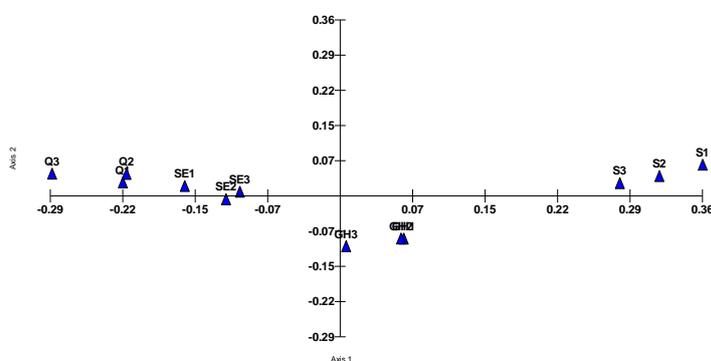
ارتباط‌های معنی‌دار مثبت و منفی بین ابعاد سلول‌های مختلف مشاهده شد. برای مثال، ارتباط منفی معنی‌داری ($p \leq 0.05$) بین عرض سلول‌های پارانشیم رگبرگ میانی با عرض سلول‌های نردبانی مزوفیل ($r = -0.97$) و عرض اپی‌درم برگ ($r = -0.96$) وجود داشت. اما یک ارتباط مثبت معنی داری ($r = 0.96$, $p \leq 0.05$) بین عرض و طول سلول‌های پارانشیم رگبرگ میانی مشاهده شد. یک ارتباط مثبت معنی داری بین طول بافت آوند آبکشی با



شکل ۱: درخت UPGMA افراد جمعیت‌های گونه *N. heliotropifolia* بر اساس صفات تشریحی برگ. GH: افراد جمعیت قوچان، SE: افراد جمعیت سفید خانی، Q: افراد جمعیت قزوین و S: افراد جمعیت سنگک.

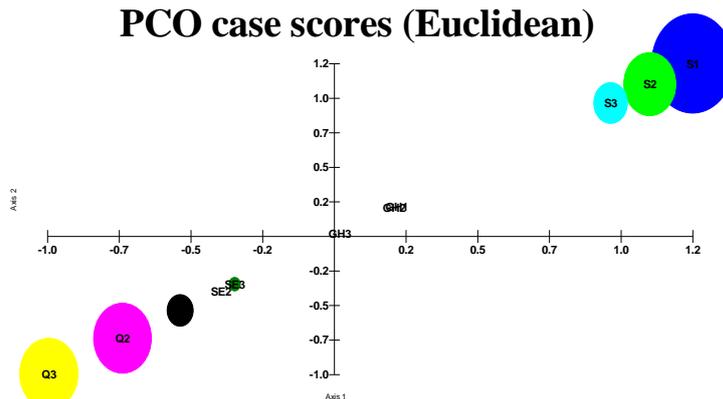
همچنین نمودارهای PCA و PCO نتایج مشابهی تولید کردند (شکل‌های ۲ و ۳).

PCA case scores



شکل ۲: نمودار PCA جمعیت‌های مطالعه شده بر مبنای صفات تشریحی. GH: افراد جمعیت قوچان، SE: افراد جمعیت سفید خانی، Q: افراد جمعیت قزوین و S: افراد جمعیت سنگک.

PCO case scores (Euclidean)

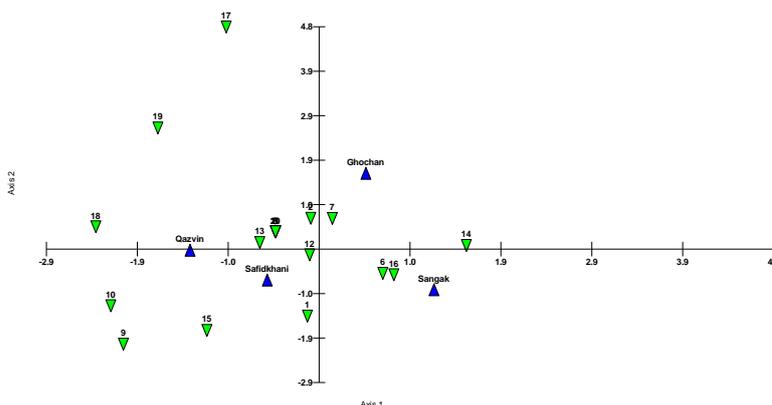


شکل ۳: نمودار PCO جمعیت‌های مطالعه شده از گونه *N. heliotropifolia*

بر مبنای صفات تشریحی برگ، GH: افراد جمعیت قوچان، SE: افراد جمعیت سفیدخانی، Q: افراد جمعیت قزوین و S: افراد جمعیت سنگک.

دیگر جمعیت‌ها متمایز می‌شوند. برای مثال جمعیت سنگک به وسیله صفاتی مانند طول سلول‌های بافت اپی‌درم، طول بافت آوند چوبی و آوند آبکش از دیگر جمعیت‌ها متمایز بود. صفاتی نظیر عرض آوند چوبی، طول و عرض سلول‌های بافت پارانشیم پوستی شاخص جمعیت قزوین بودند (شکل ۴).

نکته قابل توجه قرار گرفتن افراد هر جمعیت در کنار یکدیگر بود. بنابراین آرایش جمعیت‌ها در درخت بحث می‌شود. این درخت دارای دو شاخه است. در شاخه کوچک جمعیت سنگک و در شاخه بزرگتر سایر جمعیت‌ها قرار داشتند. در شاخه بزرگ جمعیت قوچان در یک زیر شاخه و دو جمعیت قزوین و سفیدخانی در زیر شاخه دیگر وجود داشتند. هر یک از جمعیت‌های مورد مطالعه دارای صفات خاصی بودند که به وسیله آن‌ها از



شکل ۴: نمودار CA- Joind صفات تشریحی برگ و جمعیت‌های گونه *N. heliotropifolia*. اعداد سبز رنگ نشانگر صفات تشریحی به صورت ذیل می‌باشند: ۱: طول سلول‌های پالیساد، ۲: عرض سلول‌های پالیساد، ۳: نسبت سلول‌های پالیساد/سفنجی، ۴: شکل دیواره سلول‌های پالیساد، ۵: طول سلول اپی‌درم، ۶: عرض سلول اپی‌درم، ۷: شکل سلول‌های پارانشیم، ۸: نسبت طول پارانشیم عرض پارانشیم، ۹: تعداد لایه سلول‌های کلانشیم، ۱۰: طول سلول کلانشیم، ۱۱: عرض سلول‌های کلانشیم، ۱۲: طول بافت آوند چوبی، ۱۳: عرض بافت آوند چوبی، ۱۴: نسبت طول به عرض آوند آبکش، ۱۵: طول بافت آوند آبکش، ۱۶: عرض بافت آوند آبکش، ۱۷: نسبت طول به عرض آوند آبکش، ۱۸: طول متاگزیم، ۱۹: عرض متاگزیم.

بحث

عوامل محیطی می‌تواند تاثیر قابل توجهی در صفات ریخت شناسی، تشریحی، فیتوشیمی و ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مختلف گیاهان ایجاد کند، به این دلیل در این تحقیق تغییرات بافت شناسی برگ در چهار جمعیت از گونه *N. heliotropifolia* مورد بررسی قرار گرفت.

جمعیت‌های مطالعه شده از مناطقی با شرایط اکولوژیکی بسیار متفاوت جمع آوری شده بودند. علاوه بر این زیستگاه جمعیت‌ها از نظر جغرافیای گیاهی نیز متفاوت بود. جمعیت قوچان از پروانس فرعی خراسان، جمعیت سفیدخانی از پروانس فرعی کردستان- زاگرس، جمعیت سنگک از پروانس فرعی آتروپاتان و جمعیت قزوین از ناحیه گذر بین پروانس های فرعی آتروپاتان و آگزینو- هیرکانی جمع آوری شدند. میزان بارندگی سالانه و همچنین جنس خاک در این زیستگاه‌ها بسیار متفاوت است. بنابراین طبیعی است که این جمعیت‌ها جهت تطابق با شرایط متفاوت زیستگاهی باید صفات تشریحی ساختار برگ خود را تغییر دهند. این الگوها در بسیاری از گیاهان و گونه‌های در معرض تنش‌های محیطی مشاهده شده است. شکل پذیری بسیار بالای صفات تشریحی- ریخت شناسی در گونه‌هایی با دامنه اکولوژیکی گسترده به‌خوبی پراکنش بسیار زیاد این گونه را توجیح می‌کند (۱۲ و ۱۳).

گیاهان به متغیرهای محیطی به‌ویژه میزان آب در دسترس از طریق تطابق‌های تشریحی و ریخت شناسی پاسخ می‌دهند که این مسئله موجب تطابق آن‌ها به محیط‌های متفاوت می‌شود (۱۴). اگرچه صفات تشریحی کیفی مطالعه شده در بین جمعیت‌ها متفاوت نبود ولی آزمون ANOVA تفاوت معنی‌داری را در اکثر صفات کمی مطالعه شده نشان داد. ابعاد سلول‌های پارانشیمی و سیستم آوندی از متغیرترین صفات بودند.

همبستگی مثبتی که بین قطر متاگزیم با طول جغرافیایی زیستگاه‌ها وجود داشت یکی از شواهد بسیار قوی برای تطابق اکولوژیکی ساختار تشریحی جمعیت‌ها با

عوامل محیطی زیستگاه‌ها بود. در کشور ایران از جنوب به سمت شمال و از سمت شرق به غرب بر میزان رطوبت محیط افزوده می‌شود بنابراین جمعیت‌هایی که در نقاط شرقی‌تری نسبت به سایر جمعیت‌ها قرار دارند تنش بیشتری از نظر مقدار آب در دسترس خواهند داشت. برای مقابله با این شرایط همراه با افزایش طول جغرافیایی و تنش خشکی ابعاد سیستم آوندی گسترش یافته تا گیاه به‌خوبی با شرایط محیطی تطابق یابد.

این نتایج با یافته‌های پیشین مطابق بود. برای مثال گیاهان به تنش‌های خشکی با گسترش صفاتی نظیر کاهش اندازه برگ (۱۵)، افزایش ضخامت دیواره سلولی، فشرده شدن سیستم آوندی، افزایش بافت مزوفیل نردبانی و کاهش بافت مزوفیل اسفنجی پاسخ می‌دهند (۱۶، ۱۷ و ۱۸).

این قبیل تغییرات در بین جمعیت‌های گونه‌های مختلف به‌طور مکرر مشاهده می‌شوند. برای مثال افزایش تعداد لایه‌های سلول‌های اپی‌درمی، کوتیکول، پارانشیم نردبانی و در مجموع افزایش ضخامت برگ با افزایش شدت خشکی محیط می‌تواند میزان بقا و رشد گونه *Pistacia atlantica* را به‌وسیله بهبود روابط آب و محافظت از بافت‌های داخلی در محیط‌های بسیار خشک افزایش داده و موجب پراکنش اکولوژیکی وسیع آن‌ها شود (۲، ۱۶ و ۱۷).

مطالعات پیشین روی ساختار ترکیبات شیمیایی، نوع و تراکم کرک‌ها (۹) و همچنین صفات ریخت شناسی (۸) جمعیت‌های مختلف این گونه حاکی از وجود تنوع بسیار زیاد بین جمعیت‌های این گونه است که یافته‌های تشریحی این مطالعه نیز آن‌ها را تایید کرد.

جمعیت‌های مورد بررسی در درخت و نمودارهای ترسیم شده با فاصله متفاوتی از یکدیگر قرار گرفتند. هریک از این جمعیت‌ها دارای صفات شاخصی بودند که وجه تمایز آن‌ها تلقی می‌شوند. نحوه آرایش جمعیت‌ها ارتباطی با فاصله زیستگاه‌های آن‌ها به یکدیگر نداشت به طوریکه بعضاً جمعیت‌هایی که فاصله آن‌ها بالغ بر ۵۰۰ کیلومتر

در بین جمعیت‌ها بدون تغییر باقی می‌مانند اما صفات تشریحی کمی بستر ارزش تطابقی داشته و جهت سازش با شرایط اقلیمی در بین جمعیت‌ها تغییر می‌کنند. جهت حفظ ساختار تشریحی گیاه همبستگی‌هایی نیز بین صفات کمی مشاهده شد به طوری که تغییر یک صفت کمی با شماری دیگری از صفات همبستگی مثبت/ منفی وجود داشت. همچنین ارتباط معنی‌داری بین تعدادی از عوامل اکولوژیکی زیستگاه‌ها با صفات کمی مشاهده شد که نشان دهنده اثر عوامل محیطی در شکل‌پذیری صفات تشریحی می‌باشد. افراد جمعیت‌های مورد مطالعه در کنار یکدیگر قرار گرفتند که این مسئله نشانگر تنوع کم در ساختار آناتومیکی داخل جمعیت می‌باشد. بر اساس نحوه آرایش جمعیت‌ها در درخت و نمودارهای ترسیم شده و همچنین صفاتی مانند عرض سلول اپی‌درم، نسبت طول به عرض آوند آبکش و عرض بافت آوند آبکش می‌توان جمعیت سنگک را به‌عنوان فرم جدیدی معرفی نمود اما انتساب آن به تاکسون جدید یا اکوتیپ مستلزم بررسی‌های تکمیلی مانند مطالعات مولکولی می‌باشد.

منابع

1. Talebi SM, Rezakhanlou A, Matsyura A. Do we have infraspecific taxa of *Salvia multicaulis* Vahl. (Lamiaceae) in Iran? Ukrainian Journal of Ecology. 2017a; 7(4): 432-439.
2. Guerfel M, Baccouri O, Boujnah D, Chaibi W, Zarrouk M. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Sci Hortic. 2009; 119: 257-263.
3. Fahn A. Some anatomical adaptations of desert plants. Phytomorphology. 1964; 14:93-102.
4. Mclellan T. Geographic Variation and Plasticity of Leaf Shape and Size in *Begonia Dregei* and *B. homonyma* (Begoniaceae). Bot J Linn Soc. 2000; 132: 79-95.

می‌شود در کنار یکدیگر بوده و جمعیت‌هایی با فاصله کمتر، دورتر از یکدیگر استقرار یافته بودند. این مسئله به‌خوبی نشانگر این واقعیت است که شباهت سلول‌ها و بافت‌های گیاهان ارتباط زیادی با نزدیکی زیستگاه‌شان ندارد بلکه شباهت شرایط اکولوژیکی رویشگاه‌ها اهمیت بسیار بیشتری دارد. افراد جمعیت‌های مورد مطالعه در کنار یکدیگر قرار داشتند که این مسئله تایید کننده تنوع داخل جمعیتی کم در صفات تشریحی می‌باشد.

هر یک از جمعیت‌های مورد مطالعه دارای صفات خاصی بودند که دارای ارزش تشخیصی برای آن‌ها می‌باشد. این موضوع نشانگر تطبیق جنبه‌های مختلفی از ساختار تشریحی گیاه با شرایط محیطی می‌باشد.

جمعیت‌های گیاهی سطوح متفاوتی از پاسخ‌های خود را به عوامل محیطی مانند شدت نور و قابلیت دسترسی به آب ابراز می‌کنند. نور موجب تغییراتی در پارانشیم نردبانی و اسفنجی برگ می‌شود. در حالی که ترکیب نور و آب خاک موجب تغییر ضخامت دیواره سلول‌های اپی‌درمی، درصد بافت اسکلرانشیمی نسبت به کل بافت رگبرگ میانی و در نهایت میزان فشردگی پارانشیم اسفنجی می‌شود. به‌عنوان مثال نور می‌تواند موجب تغییرات در بافت تشریحی برگ گونه *A. triplinervia* شود که اثرات آن بیشتر از زمانی است که مجموع نور و آب دخالت می‌کنند (۶). به‌رحال جمعیت‌های گیاهی دارای پراکنش جغرافیایی وسیع می‌توانند به‌طور موضعی به‌دلیل ایجاد فشارهای محیطی موضعی یا اثرات انسانی منقرض شوند (۱۹).

نتیجه‌گیری

اگرچه صفات تشریحی کیفی در بین جمعیت‌های مطالعه شده ثابت بود ولی بیشتر صفات کمی در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده متغییر بود. شماری از صفات تشریحی برگ مانند شکل سیستم آوندی و یا شکل دیواره پارانشیم نردبانی صفات شاخص گونه محسوب می‌شوند و معمولاً

5. Olson ME, Carlquist S. Stem and root anatomical correlations with life form diversity, ecology and systematics in *Moringa* (Moringaceae). *Bot J Linn Soc.* 2000; 135(4): 315–348.
6. Rôças G, Barros CF, Scarano FR. Leaf anatomical variation in *Alchornea triplinervia* (Spreng) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) under distinct light and soil water regimes. *Bot J Linn Soc.* 2001; 136: 231–238.
7. Jamzad Z. Flora of Iran, no. 76, Lamiaceae. Research Institute of Forest and Rangelands, Tehran. 2012; 76: 542-544.
8. Talebi SM, Ghorbani Nahooji M, Yarmooammadi M. Infra-generic morphological variations in some *Nepeta* L. taxa of Iran. *Ukrainian Journal of Ecology*, 2017; 7(3): 208–216.
9. Yarmooammadi M, Talebi SM, Nohooji MG. Intraspecific variations in essential oil and glandular trichomes in *Nepeta heliotropifolia*. *Biodiversitas* 2017; 18(3): 964-970.
10. Rechinger KH, Hedge IC, Ietswaart JH, Jalas J, Mennema J, Seybold S. (eds). *Labiatae*. In: Rechinger KH. (ed.). *Flora Iranica*. Vol. 150. Akademische Druck- u. Verlagsanstalt. Graz. 1982; 150: 108-216.
11. Podani J. Introduction to the Exploration of Multivariate Data, Backhuyes, Leide Ltd. 2000: 57-85.
12. Huang X, Xiao X, Zhang S, Korpelainen H, Li C. Leaf morphological and physiological responses to drought and shade in two *Populus cathayana* populations. *Biol Plant.* 2009; 53(3): 588–592.
13. Macek P, Mackova J, De Bello F. Morphological and ecophysiological traits shaping altitudinal distribution of three *Polylepis* treeline species in the dry tropical Andes. *Acta Oecol.* 2009; 35(6): 778–785.
14. Lukovic J, Maksimovic I, Zoric L, Nagl N, Percic M, Polic D, Putnik-Delic M. Histological characteristics of sugar beet leaves potentially linked to drought tolerance. *Ind Crop Prod.* 2009; 30(2): 281–286.
15. Trubat R, Cortina J, Vilagrosa A. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* L. *Trees.* 2006; 20: 334–339.
16. Bussotti F, Bettini D, Grossoni P, Mansuino S, Nibbi R, Soda C, Tani C. Structural and functional traits of *Quercus ilex* in response to water availability. *Environ Exp Bot.* 2002; 47: 11–23.
17. Bacelar EA, Santos DL, Moutinho-Pereira JM, Goncalves BC, Ferreira HF, Correia CM. Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Sci.* 2006; 170: 596–605.
18. Syros T, Kofidis G, Economou AS, Bosabalidis AM. Leaf structural dynamics associated with adaptation of two *Ebenus cretica* ecotypes. *Biol Plant.* 2006; 50(2): 245–250.
19. McKinney ML. How do rare species avoid extinction? A palaeontological view. In: Kunin WE, Gaston KJ, eds. *The biology of rarity: causes and consequences of rare–common differences*. London: Chapman & Hall. 1997; 129: 110–129.

Histological and cellular variations in populations of *Nepeta heliotropifolia* in Iran

Talebi SM, Ph.D^{1*}, Ghorbani Nohooji M, Ph.D², Yarmohammadi M, M.Sc.¹

1-Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak 38156-8-8349, Iran.

2-Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran.

* Email corresponding author: seyedmehdi_talebi@yahoo.com

Received: 16 Jan. 2018

Accepted: 27 May. 2018

Abstract

Aim: One of the most important infraspecific variations is differences of tissues and cells in plant that occur between various populations of the same species for adaption with environmental factors. These variations can be consider as a starter for speciation.

Material and methods: In the present study, leaf anatomical traits of four *Nepeta heliotropifolia* populations were examine. Three flowering stems were collected from each population, and from each stem a mature intact leaf was elected. Leaves were fixed in fixative and then transferred to ethanol. Hand sections were decolorized, double stained and their anatomical structure were studied using light microscopy. The MVSP and SPSS soft wares were used for statistical analyses.

Results: In total, twenty two qualitative and quantitative anatomical characteristics were studied. Qualitative features were stable between populations, while ANOVA test showed significant differences for most of the studied variables. In addition, significant correlations were found between morphological characters with each other and ecological factors of habitats. The studied populations clustered separately in UPGMA tree, PCA and PCO plots.

Conclusion: Environmental factors have effects on tissues and cells of plant and create infraspecific variations. They have more effects on quantitative variables compared with qualitative ones. Leaf anatomical variations of populations have no relationship with distances between the populations, but similarity or difference of ecological factors is a very important factor in creating similarity or difference between populations. The pattern of population's arrangement in the created tree and plots approved it.

Key words: Anatomical features, Leaf, population, Infraspecific variations, *Nepeta heliotropifolia*