



دانشگاه گوارش و منابع طبیعی

نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل
جلد بیستم و دوم، شماره دوم، ۱۳۹۴
<http://jwfst.gau.ac.ir>

تیپ‌های مختلف روزنه برگ توس (*Betula spp.*) در ایران

امیر کردعلیوند^۱، * وحیده پیام‌نور^۱، علی ستاریان^۲ و جهانگیر محمدی^۳

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، آستادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، آستادیار، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۴/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۱۹

چکیده

سابقه و هدف: ریخت‌شناسی روزنه به‌عنوان معیار تاکسونومیک مناسب برای تعیین گونه‌های مختلف یک جنس، سالیان متمادی است که استفاده می‌شود. پژوهش پیش‌رو به‌منظور شناسایی تیپ‌های مختلف روزنه و تعیین موقعیت قرارگیری آن نسبت به سلول‌های اپیدرم در جنس توس (*Betula spp.*) انجام گرفته است. در عین حال میزان اهمیت این صفات ریختی، به‌ویژه تیپ روزنه در تفکیک گونه‌های مختلف یک جنس، باهدف تقویت فرضیه حضور گونه‌های مختلف از جنس (*Betula spp.*) در ایران بررسی و با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی شاخص‌های کمی و کیفی در ارتباط با روزنه و آرایش سلول‌های همراه در بین سه جمعیت مختلف مطالعه شد.

مواد و روش‌ها: سه رویشگاه از درختان توس در جنگل‌های ایران (سیاه مرزکوه، سنگده و شهرستانک) انتخاب و در هر رویشگاه با فواصل حداقل ۱۰۰ متری ۱۰ پایه انتخاب و از هر پایه ۱۰ عدد برگ از چهار جهت از سمت بیرونی تاج جمع‌آوری شد. از نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰× و ۴۰× و میکروسکوپ الکترونی عکس‌هایی تهیه و صفات ریختی روزنه اندازه‌گیری گردید. برای بررسی معنی‌داری و تفاوت بین صفات کمی روزنه در بین جمعیت‌های مختلف، از آزمون آنالیز واریانس آشیانه‌ای استفاده گردید و تنوع بین و درون جمعیتی در بین این سه رویشگاه بررسی گردید.

*مسئول مکاتبه:

یافته‌ها: نتایج آنالیز طرح آشیانه‌ای، حاکی از تفاوت‌های معنی‌دار بین جمعیت‌های مختلف از نظر صفات طول بزرگ و کوچک روزنه، عرض بزرگ روزنه و مساحت روزنه و عدم معنی‌داری در صفات عرض کوچک روزنه و تراکم روزنه است. بیشترین و کمترین میزان مساحت روزنه به ترتیب مربوط به جمعیت سیاه مرزکوه و سنگده بود. بررسی همبستگی بین صفات روزنه با مشخصات جغرافیایی رویشگاه نشان داد، که با افزایش ارتفاع از سطح دریا، طول، عرض و مساحت روزنه کاهش و با افزایش طول و عرض جغرافیایی، طول، عرض و مساحت روزنه افزایش می‌یابد. نتایج آنالیز تشخیص حاکی از مطابقت ۷۰ درصدی بین خصوصیات روزنه با شرایط اکولوژیکی رویشگاه بود. دو تیپ روزنه شامل آنموستیک و پاراستیک برای جنس توس شناسایی شدند، که تیپ پاراستیک تیپ غالب در این جنس بود. از نظر موقعیت قرارگیری روزنه نسبت به سلول همراه، یک تیپ مشابه برای سه رویشگاه شناسایی گردید که در این تیپ روزنه بالاتر از سلول‌های اپیدرم قرار گرفته است.

نتیجه‌گیری: گونه توس در شرایط اقلیمی سخت ارتفاعات گونه مقاوم و بردبار به شرایط سخت محیطی می‌باشد. به طوری که دامنه حضور این گونه در ارتفاعات نسبت به گونه‌های دیگر بالاتر است. با توجه به این که تمام پارامترهای مورد مطالعه تأثیرپذیری زیادی از شرایط محیطی نشان می‌دهند نمی‌توان از روزنه به عنوان شاخصی جهت تفکیک گونه‌های توس استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آنالیز تشخیص، توس، تیپ روزنه، مساحت روزنه

مقدمه

روزنه اندام اصلی در گیاهان آوندی برای تبادل گاز بین سلول‌های مزوفیل برگ و محیط است. در واقع، گیاهان سبز برای تولید انرژی نیاز به ورود دی‌اکسید کربن از طریق روزنه دارند، که این عمل خود سبب از دست رفتن آب از این طریق می‌شود. بنابراین، گیاهان برای برقراری توازن بین ورود دی‌اکسید کربن و خروج آب، در شرایط رویشگاهی متفاوت، تعداد (تراکم) روزنه را در واحد سطح تنظیم می‌کنند (کورنر و همکاران، ۱۹۸۶) (۱۱). ریخت‌شناسی روزنه به عنوان معیار تاکسونومیک مناسب برای تعیین گونه‌های مختلف یک جنس، سالیان متمادی است که استفاده می‌شود (پرابهکر، ۲۰۰۴) (۲۱). اولین بار استراسبرگر (۱۸۶۶) (۲۴) و به‌دنبال وی وسکیو (۱۸۸۹) (۲۵)، بر اساس ترتیب

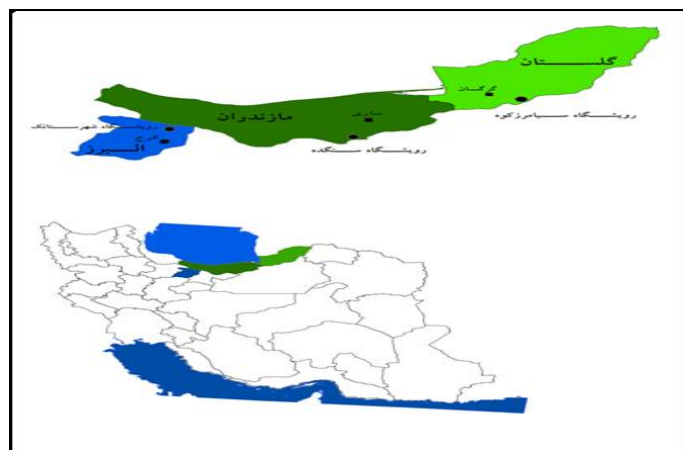
قرار گرفتن سلول‌های همراه اطراف روزنه و نحوه شکل‌گیری آن، چهار نوع تیپ روزنه را شناسایی کردند. در این راستا، متکالف (۱۹۸۸)، ۲۵ نوع روزنه برای گیاهان دولپه و استیس (۱۹۸۰) ۳۱ نوع روزنه برای گیاهان تک‌لپه شناسایی و معرفی نمودند (۱۳)، (۲۳). یوسف‌زاده و همکاران (۲۰۱۰) از نظر موقعیت قرار گرفتن روزنه نسبت به سلول‌های همراه سه تیپ متمایز بسته به شرایط اقلیمی رویشگاه شناسایی کردند. در تیپ اول، روزنه پایین‌تر از سطح سلول‌های اپیدرم و در ارتفاعات فوقانی جنگل‌های هیرکانی و بالاتر از ۲۰۰۰ متر (رویشگاه دلیر) مشاهده شد. تیپ دوم، روزنه بالاتر از سلول‌های سطحی، که در شرق جنگل‌های هیرکانی (رویشگاه لوه) دیده شد. تیپ سوم، روزنه هم‌سطح با سلول‌های اپیدرم، که برای درختان واقع در رویشگاه‌های میانی جنگل‌های شمال کشور (شامل رویشگاه‌های ولیک بن، واز، چمستان) مشاهده شد (۲۷). امروزه مطالعه ریختی روزنه به‌طور فزاینده‌ای بین متخصصان علوم گیاهی برای بررسی تنوع در بین گونه‌های گیاهی، رایج شده است (هارون و مور، ۱۹۹۶)، (۱۰). که می‌توان مطالعات دانلپ و استتلیر (۲۰۰۱) در گونه *Populus trichocarpa* (8)، بله‌اج و همکاران (۲۰۱۱) در گونه *Pistacia atlantica* (6)، باتوس و همکاران (۲۰۱۰) در گونه *Quercus robur* (4) را نام برد. در ایران نیز مطالعاتی در این خصوص انجام شده است که می‌توان به تحقیق اکبری‌نیا و همکاران (۲۰۱۱) در *Castanea sativa* (1)، بایرام‌زاده (۲۰۱۱) در گونه *Fagus orientalis* (5)، چاپلاق و همکاران (۲۰۱۲) در *Carpinus L* (7) و پناهی و همکاران (2012 a,b,c,d) در جنس بلوط اشاره کرد (۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰). جنس توس (*Betula* spp) از خانواده *Betulaceae link* با بیش از ۱۴۰ گونه درختی و درختچه‌ای در ایالات متحده آمریکا، نواحی مختلف کانادا تا آلاسکا، اکثر نقاط اروپا، سرتاسر اسکاندیناوی و از آن‌جا تا سیبری، آسیای غربی، قفقاز، ایران و عراق تا کوه‌های هیمالیا، چین و ژاپن انتشار دارد (کروسمن، ۱۹۸۱) (۱۲). باوجودی که در منابع قدیمی‌تر فقط از گونه *B. pendula*، به‌عنوان تنها گونه توس موجود در ایران نام‌برده شده است (قهرمان، ۱۹۹۰) (۹)، وجود گونه‌های دیگر محرز شده است، به‌طوری که زارع و همکاران (۲۰۱۰) با مطالعه بر صفت کرک برگ‌ها و با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر، گونه موجود در رویشگاه سنگده در استان مازندران را *B. litwinowii* معرفی کرده‌اند (۲۸). باوجود ارزش زیاد گونه‌های جنس توس در ایران و لزوم حفاظت اصولی از ژنتیک گیاهی آن، مطالعات بسیار کمی در خصوص این جنس است. در تحقیق حاضر برای اولین بار صفات ریختی روزنه باهدف شناسایی تیپ‌های مختلف در *Betula spp* و میزان ارتباط این صفات با شرایط اقلیمی رویشگاه مطالعه شد. در

عین حال میزان اهمیت این صفات ریختی، به‌ویژه تیپ روزنه در تفکیک گونه‌های مختلف یک جنس، باهدف تقویت فرضیه حضور گونه‌های مختلف از جنس *Betula spp* در ایران بررسی شد. به‌این منظور برای نخستین بار در ایران، با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی شاخص‌های کمی و کیفی در ارتباط با روزنه و آرایش سلول‌های همراه در بین سه جمعیت مختلف مطالعه گردید. البته در خارج از ایران نیز بررسی‌های انجام‌شده بر روی گونه‌های توس محدود می‌باشند. به‌طور مثال می‌توان به مطالعه پواکورل و ونگ (۲۰۱۴) که مورفولوژی برگ و تنوع روزنه *B.papyrifera* را در شانزده منطقه کانادا مورد بررسی قرار داده و تنوع مشاهده‌شده را ناشی از تفاوت رویشگاهی اعلام نموده‌اند، اشاره نمود (۲۲).

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، سه رویشگاه از درختان توس در جنگل‌های ایران انتخاب شد (جدول ۱). شکل ۱ موقعیت رویشگاه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. با استفاده از روش میلز و همکاران (۱۹۹۵) (۱۴) در چهار جهت و از سمت بیرونی تاج از ۱۰ پایه، با فواصل حداقل ۱۰۰ متر در هر رویشگاه و از هر پایه ۱۰ عدد برگ جمع‌آوری شد. نمونه‌های برگ جمع‌آوری شده از هر پایه با یکدیگر ترکیب شده، از میان آن‌ها ۴ برگ و در مجموع ۱۲۰ برگ برای مطالعات روزنه استفاده شد. پس از قرار دادن برگ‌های خشک‌شده در آب‌جوش به‌مدت ۲۰ دقیقه، با استفاده از اسکالپل از سطح پشتی برگ‌ها برش‌های نازکی تهیه گردید. برش‌ها باهدف از بین بردن سبزینه یا کلروفیل برگ حدود ۵ دقیقه داخل آب‌ژاول قرار داده شدند. نمونه‌ها پس از سفید شدن به‌مدت ۵ دقیقه در محیط بازی آب قرار داده شدند. از نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $\times 10$ و $\times 40$ عکس‌هایی تهیه و صفات ریختی روزنه شامل طول بزرگ روزنه (LB)، طول کوچک روزنه (LK)، عرض بزرگ روزنه (WB)، عرض کوچک روزنه (WK) - میکرون -، مساحت روزنه (Area) - میکرومتر مربع - و تراکم روزنه (Density) - تعداد در $0/1$ میکرومتر مربع - با نرم‌افزار Axio Vision اندازه‌گیری گردید. نحوه اندازه‌گیری این صفات نیز در شکل‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. برای عکس‌برداری روزنه‌ها با میکروسکوپ الکترونی، ابتدا از برگ تازه برش کوچکی تهیه و نمونه‌ها به‌مدت ۱۰-۱۵ دقیقه در

دستگاه لایه نشان^۱ قرار داده شدند. طبق روش physical Vapor deposition لایه نازکی از طلا بر روی نمونه‌ها قرار داده شد. سپس ساختار روزنه‌های برگ با بزرگ‌نمایی متفاوت توسط میکروسکوپ الکترونی مطالعه شد. برای بررسی معنی‌داری و تفاوت بین صفات کمی روزنه در بین جمعیت‌های مختلف، از آزمون آنالیز واریانس آشیانه‌ای استفاده گردید و تنوع بین و درون جمعیتی در بین این سه رویشگاه بررسی گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام گرفت. جهت تعیین میزان شکل‌پذیری هرگونه گیاهی و توان سازگاری آن‌ها با شرایط متغیر محیطی پلاستیسیته^۲ کل (PL) از رابطه $PL = 1 - (x/X)$ محاسبه شد (بروشی و همکاران، ۲۰۰۳) (۳). برای بررسی میزان تمایز درختان مطالعه شده بر اساس شرایط رویشگاه‌ها از آنالیز تشخیص^۳ استفاده و تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی^۴ نیز انجام شد.



شکل ۱- موقعیت رویشگاه‌های مورد مطالعه.

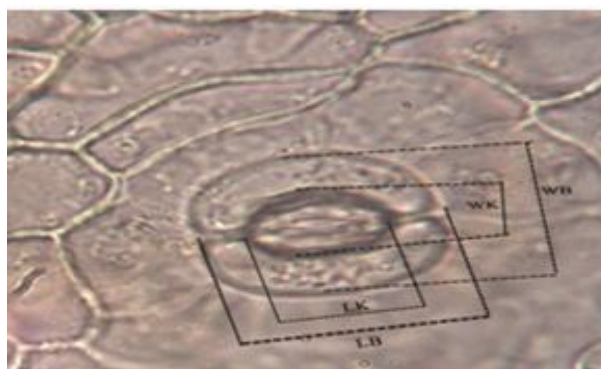
Figure 1- Location of studied habitat.

-
- 1- Sputter coater
 - 2- Plastisity
 - 3- Discriminant Analysis
 - 4- Principal component analysis

جدول ۱- ارتفاع و مختصات جغرافیایی رویشگاه‌های مورد مطالعه.

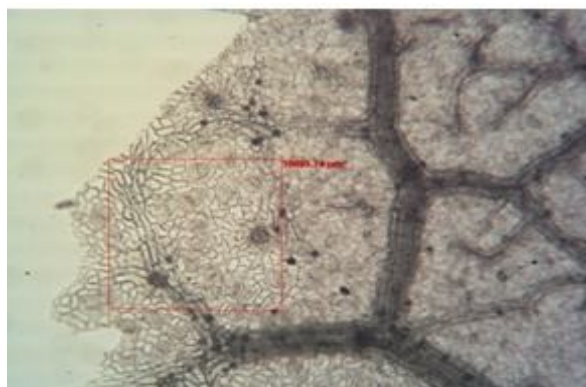
Table 1- Geographic height and coordinates of the studied habitat.

ارتفاع از سطح دریا (متر) Height from sea level(M)	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	شهرستان City	استان State	منطقه Area
2000-2400	36° 42' تا 36° 35'	54° 50' تا 54° 42'	گرگان gorgan	گلستان Golestan	سیاه مرزکوه Siahmarzkoo
2300-3000	36° 3' تا 35° 10'	53° 27' تا 53° 10'	ساری Sari	مازندران Mazandaran	سنگده Sangdeh
2200-2500	35° 56' تا 35° 45'	51° 35' تا 51° 22'	کرج Karaj	البرز Alborz	شهرستانک Shahrestanak



شکل ۲- اندازه‌گیری صفات ریختی روزنه (بزرگنمایی $\times 40$)

Figure 2- Measurement of stomata morphometric ($\times 40$ magnification)



شکل ۳- اندازه‌گیری تراکم روزنه در سطح (۱۰۰×۱۰۰) میکرون با بزرگنمایی $\times 10$.

Figure 3- stomata density measurement in surface (100 ×100μ) with $\times 10$ magnification.

نتایج

صفات کمی روزنه برگ: نتایج آنالیز طرح آشیانه‌ای برای بررسی تنوع بین و درون جمعیتی در بین این سه رویشگاه، نشان داد بین جمعیت‌های مختلف از نظر طول بزرگ روزنه، عرض بزرگ، مساحت و طول کوچک روزنه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. اثر جمعیت بر روی تراکم و عرض کوچک روزنه برگ معنی‌دار نیست (جدول ۲). به طوری که رویشگاه سیاه مرزکوه از نظر طول و عرض روزنه بزرگ‌تر از دو رویشگاه دیگر می‌باشد، همچنین از نظر مساحت روزنه بیشترین میزان مساحت روزنه مربوط به جمعیت سیاه مرزکوه (شرق جنگل‌های هیرکانی) و کم‌ترین آن مربوط به جمعیت سنگده است (جدول ۳). بررسی همبستگی بین صفات روزنه با مشخصات جغرافیایی رویشگاه نشان داد که با افزایش ارتفاع، افزایش طول و عرض جغرافیایی طول و عرض بزرگ روزنه و مساحت روزنه افزایش می‌یابد (جدول ۴).

جدول ۲- نتایج آنالیز واریانس صفات مطالعه شده در قالب طرح آشیانه‌ای (میانگین مربعات).

Table 2- Variance analysis results of studied attributes in case of nested scheme (mean squares).

صفات	جمعیت	درخت (جمعیت)
Attributes	Population	(Population) tree
طول بزرگ روزنه (میکرون) Stomata large length(μ)	446.15**	48.12*
طول کوچک روزنه (میکرون) Stomata small length(μ)	513.59**	32.80*
عرض بزرگ روزنه (میکرون) Stomata large width(μ)	91.03*	24.67 ^{ns}
عرض کوچک روزنه (میکرون) Stomata small width(μ)	6.37 ^{ns}	13.65**
مساحت روزنه (میکرومتر مربع) Stomata area(μm^2)	568524.36**	656463.60 ^{ns}
تراکم روزنه (تعداد در 0.1 میلی‌متر مربع) Stomata density (0.1 per mm^2)	17.30 ^{ns}	6.55 ^{ns}

*, ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۹۹ و ۹۵ درصد، ^{ns} غیر معنی‌دار.

نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل جلد (۲۲)، شماره (۲) ۱۳۹۴

جدول ۳- خلاصه داده‌های آماری شش صفت مورد بررسی بر روی روزنه برگ گونه توس در سه رویشگاه سیاه مرزکوه، سنگده و شهرستانک.

Table 3- Statistic data abstract six studied attributes on leaf stomata (*Betula spp*) in tree habitat Siahmarzkoo, Sangdeh, Shahrestanak

سیاه مرزکوه Siahmarzkoo							
صفات مورد بررسی Studied attributes	طول بزرگ روزنه Stomata large length(μ)	طول کوچک روزنه Stomata large length(μ)	عرض بزرگ روزنه Stomata large width(μ)	عرض کوچک روزنه Stomata small width(μ)	مساحت روزنه Stomata area(μm^2)	تعداد روزنه Number stomata	طول / عرض (شکل روزنه) Shape stomata
میانگین Mean	43.20 ^a	30.67 ^a	31.11 ^a	13.12 ^a	1075.13 ^a	12.32 ^a	1.38
حداقل داده‌ها Min data	33.28	19.98	23.55	7.75	756.49	5	بیضوی کشیده Stretched ellipsoid
حداکثر داده‌ها Max data	54.49	39.48	44.60	18.98	1680.11	18	
تعداد نمونه‌ها Number of sample	40	40	40	40	40	40	
اشتباه معیار Standard deviation	0.71	0.67	0.67	0.41	36.29	0.42	
انحراف معیار Standard error	4.55	4.25	4.26	2.61	229.54	2.71	
سنگده Sangdeh							
صفات مورد بررسی Studied attributes	طول بزرگ روزنه Stomata large length(μ)	طول کوچک روزنه Stomata large length(μ)	عرض بزرگ روزنه Stomata large width(μ)	عرض کوچک روزنه Stomata small width(μ)	مساحت روزنه Stomata area(μm^2)	تعداد روزنه Number stomata	طول / عرض (شکل روزنه) Shape stomata
میانگین Mean	36.62 ^c	23.79 ^b	28.10 ^b	12.34 ^a	838.21 ^b	11.85 ^a	1.30
حداقل داده‌ها Min data	26.19	13.59	20.99	6.79	511.67	7	بیضوی کشیده Stretched ellipsoid
حداکثر داده‌ها Max data	48.08	33.61	38.83	17.18	1434.75	16	
تعداد نمونه‌ها Number of sample	40	40	40	40	40	40	
اشتباه معیار Standard deviation	0.89	0.75	0.62	0.44	33.50	0.33	
انحراف معیار Standard error	5.67	4.78	3.97	2.83	211.91	2.09	
شهرستانک Shahrestanak							
صفات مورد بررسی Studied attributes	طول بزرگ روزنه Stomata large length(μ)	طول کوچک روزنه Stomata large length(μ)	عرض بزرگ روزنه Stomata large width(μ)	عرض کوچک روزنه Stomata small width(μ)	مساحت روزنه Stomata area(μm^2)	تعداد روزنه Number stomata	طول / عرض (شکل روزنه) Shape stomata
میانگین Mean	38.92 ^b	25.49 ^b	29.41 ^{ab}	12.59 ^a	933.41 ^c	13.15 ^a	1.32
حداقل داده‌ها Min data	29.09	18.61	22.09	7.35	545.21	10	بیضوی کشیده Stretched ellipsoid
حداکثر داده‌ها Max data	59.46	39.43	40.75	20.80	1562.37	20	
تعداد نمونه‌ها Number of sample	40	40	40	40	40	40	
اشتباه معیار Standard deviation	1	0.80	0.69	0.50	38.96	0.31	
انحراف معیار Standard error	6.38	5.07	4.36	3.17	246.44	2	

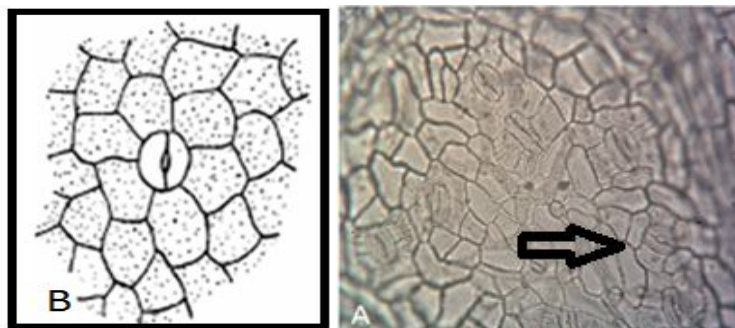
بررسی همبستگی بین صفات روزنه با مشخصات جغرافیایی رویشگاه نشان داد بین ارتفاع از سطح دریا با صفات طول بزرگ و کوچک روزنه و مساحت روزنه در سطح ۹۹ درصد و با صفت عرض بزرگ روزنه در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود، صفات تراکم و عرض کوچک روزنه با ارتفاع از سطح دریا همبستگی ندارند.

جدول ۴- همبستگی (r) بین صفات روزنه با مشخصات جغرافیایی رویشگاه.

Table 4- Correlation between stomata attributes with geographic characteristics habitat.

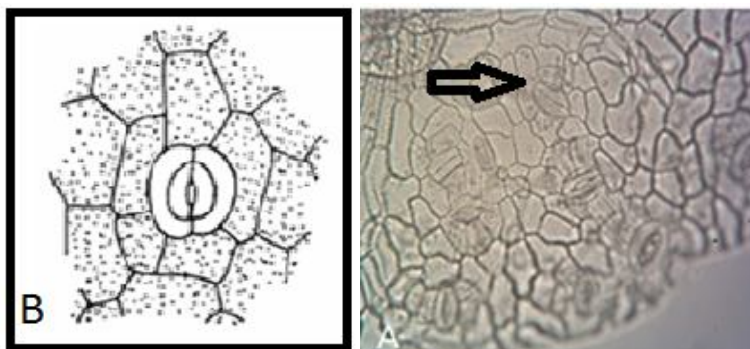
تراکم روزنه Stomata density	مساحت روزنه Stomata area	عرض کوچک روزنه Stomata small width(μ)	عرض بزرگ روزنه Stomata large width(μ)	طول کوچک روزنه Stomata small length(μ)	طول بزرگ روزنه Stomata large length(μ)	
-0.13	-0.62**	-0.17	-0.46*	-0.70**	-0.62**	ارتفاع از سطح دریا Height from sea level(M)
0.1	0.62**	0.18	0.46*	0.72**	0.63**	طول جغرافیایی Longitude
-0.09	0.55**	0.17	0.40*	0.70**	0.58**	عرض جغرافیایی Latitude

تیپ روزنه: نتایج مطالعه روزنه نشان داد که در جمعیت‌های مورد مطالعه، روزنه تنها در سطح پشتی برگ وجود دارد و سطح‌رویی بدون روزنه است. دو تیپ مختلف روزنه شامل: آنموسیتیک و پاراستیک شناسایی شدند. شکل ۴ تیپ روزنه آنموسیتیک را نشان می‌دهد در این تیپ روزنه توسط تعداد زیادی از سلول‌های همراه محصور شده است که در کل با سلول‌های اپیدرم تفاوتی نشان نمی‌دهند. این تیپ روزنه در برگ تمامی رویشگاه‌ها ولی با درصد خیلی پایین مشاهده شد. شکل ۵ تیپ روزنه پاراستیک را نشان می‌دهد. در این تیپ، روزنه‌ها توسط دو سلول همراه محصورند که محور طولی این سلول‌های همراه موازی با طول روزنه می‌باشد. این تیپ روزنه در برگ هر سه رویشگاه مورد مطالعه مشاهده شد.



شکل ۴- فرم آنموسیتیک روزنه (A عکس برداری با میکروسکوپ نوری، B فرم شماتیک)

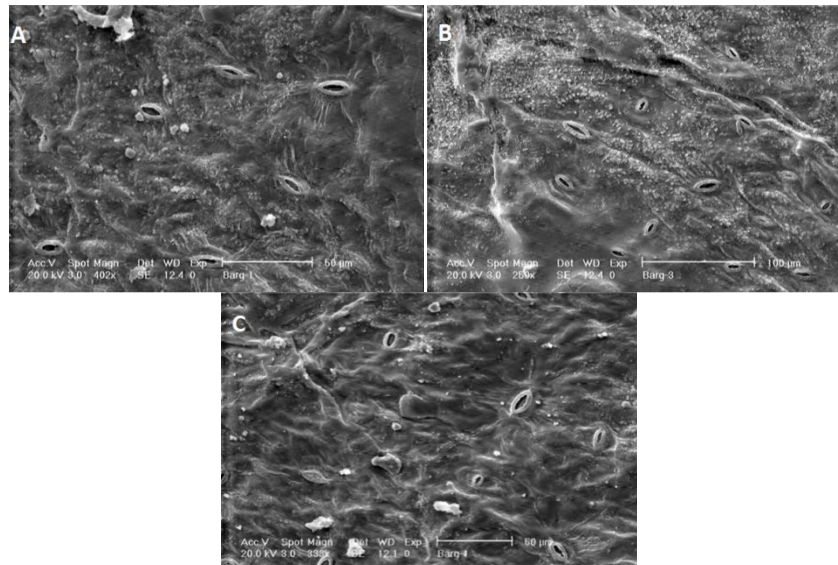
Figure 4- anomocytic form of stomata (A. photography by light microscope, B form schematic)



شکل ۵- فرم پاراستیک روزنه (A عکس برداری با میکروسکوپ نوری، B فرم شماتیک).

Figure 5- paracytic form of stomata (A. photography by light microscope, B form schematic).

موقعیت قرارگیری روزنه نسبت به سلول‌های اپیدرم: موقعیت قرارگیری روزنه نسبت به سلول‌های اپیدرم، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مورد بررسی قرار گرفت و برای هر سه رویشگاه مورد مطالعه یک تیپ مشابه شناسایی گردید (شکل ۶). در این تیپ روزنه‌های سه رویشگاه حالت برجسته و بالاتر از سلول‌های اپیدرم قرار گرفته است.



شکل ۶- موقعیت قرارگیری روزنه در سطح زیرین برگ نسبت به سلول‌های اپیدرم سطح برگ با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (A رویشگاه سیاه‌مرزکوه، B رویشگاه سنگده، C رویشگاه شهرستانک روزنه بالاتر از سلول‌های اپیدرم).

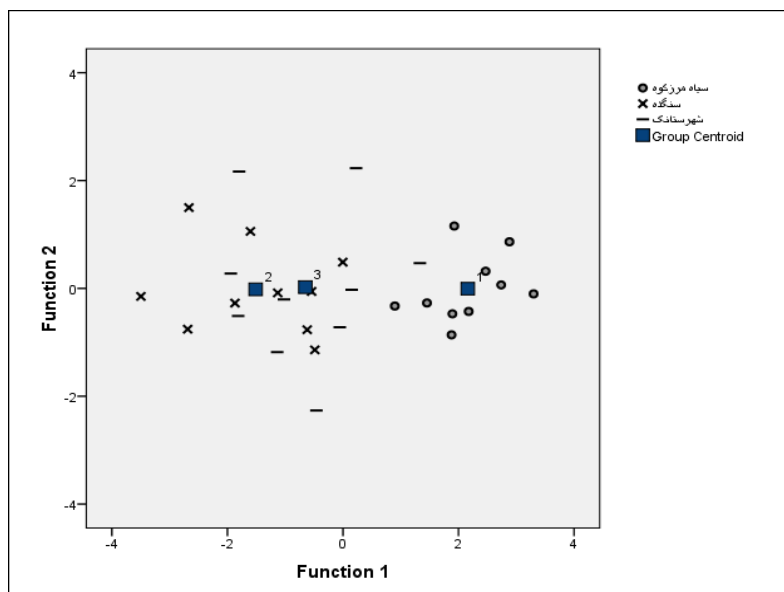
Figure 6- Position of stomata in below surface of leaf then epiderm cells of leaf surface with electronic microscope (A Siahmarzkooh, B Sangdeh C Shahrestanak upper stomata from epiderm cells).

برای بررسی میزان مطابقت صفات روزنه بر اساس شرایط رویشگاه از آنالیز تشخیص استفاده شد. نتایج نشان داد که دو تابع اول حاصل از آنالیز تشخیص ۱۰۰ درصد واریانس را توجیه نموده‌اند. عرض روزنه، مساحت روزنه و طول روزنه به‌ترتیب بیشترین همبستگی را با تابع دوم نشان دادند (جدول ۵). میزان مطابقت آنالیز تشخیص با گروه‌بندی درختان بر اساس جمعیت‌ها حدود ۷۰ درصد قابل‌تأیید است، به طوری‌که از ۱۰ پایه درختی مورد مطالعه از رویشگاه سیاه‌مرزکوه همه پایه‌ها درون رویشگاه سیاه‌مرزکوه قرار گرفت. در مورد رویشگاه سنگده از ۱۰ پایه درختی ۴ پایه درختی درون رویشگاه شهرستانک و در مورد رویشگاه شهرستانک از ۱۰ پایه درختی ۴ پایه درون رویشگاه سنگده و ۱ پایه درون رویشگاه سیاه‌مرزکوه قرارگرفته است (جدول ۶). پراکنش پایه‌های درختی در فضای دو تابع اول که ۱۰۰ درصد تغییرات را توجیه می‌کند، درختان رویشگاه سیاه‌مرزکوه را از دو رویشگاه دیگر به‌وضوح تفکیک نموده است (شکل ۷).

جدول ۵- همبستگی بین صفات مورد مطالعه با تابع اول و دوم حاصل از آنالیز تشخیص

Table 5- Correlation between studied attributes with first and second function of Discriminat analysis

تابع دوم second function	تابع اول first function	
0.75*	0.49	طول بزرگ روزنه (میکرون) Stomata large length(μ)
0.76*	0.64	طول کوچک روزنه (میکرون) Stomata small length(μ)
0.99*	0.03	عرض بزرگ روزنه (میکرون) Stomata large width(μ)
0.84*	0.11	عرض کوچک روزنه (میکرون) Stomata small width(μ)
0.82*	0.24	مساحت روزنه (میکرومتر مربع) Stomata area(μm^2)
0.07	-0.29	تراکم روزنه (تعداد در ۰/۱ میلی‌متر مربع) Stomata density (0.1 per mm^2)



شکل ۷- پراکنش پایه‌های درختی در فضای محورهای تابع تشخیص.

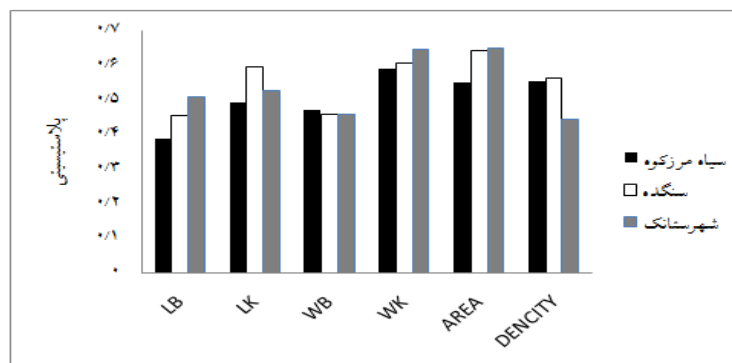
Figure 7- Transmittal of basses tree in Discriminat function axes space.

جدول ۶- نتایج حاصل از آنالیز تشخیص.

Table 6- Result of Discriminat analysis.

کل	شهرستانک	سنگده	سیاه مرزکوه	
Total	Shahrestanak	Sangdeh	Siahmarzkoo	
10	-	-	10	سیاه مرزکوه Siahmarzkoo
10	4	6	-	سنگده Sangdeh
10	5	4	1	شهرستانک Shahrestanak
70	50	60	100	درصد صحت گروه‌بندی هر رویشگاه Accuracy percent grouping of any habitat

پلاستیسیته هر صفت نشان‌دهنده میزان تأثیرپذیری آن صفت از محیط می‌باشد. بنابراین هر چه میزان آن بیشتر باشد نشان از متأثر بودن آن صفت از محیط دارد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که میزان پلاستیسیته صفات مختلف روزنه نشان از تأثیرپذیری زیاد این صفات از محیط دارند (شکل ۸).



شکل ۸- نمودار پلاستیسیته صفات روزنه درختان در مناطق موردبررسی (LB- طول بزرگ روزنه، LK- طول کوچک روزنه، WB- عرض بزرگ روزنه، WK- عرض کوچک روزنه، Area- مساحت روزنه و Density- تراکم روزنه).

Figure 8- Attributes plasticity schemes of trees stomata in studied regions.

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش پیش‌رو دو نوع روزنه برای رویشگاه‌های مختلف جنس توس، شناسایی شد. نوع اول که تیپ غالب روزنه در برگ تمامی رویشگاه‌ها بود، پاراستیک است که از آن به‌عنوان ابتدایی‌ترین نوع

روزنه برای گیاهان به‌ویژه دولپه‌ای‌ها نام‌برده شده است (باراوونوا، ۱۹۹۲) (۲). تیپ دیگر شامل تیپ آنموستیک در روزنه برگ رویشگاه‌های مختلف به‌میزان یا به‌عبارتی با درصد کمتری مشاهده شد. این تحقیق با تحقیقات محققان دیگر از جمله یوسف‌زاده و همکاران (۲۰۱۰) در شناسایی تیپ‌های روزنه برگ نمدار در جنگل‌های هیرکانی مطابقت دارد. در مطالعه یادشده چهار نوع تیپ روزنه اعم از آنموستیک- آنیزوستیک- پاراستیک- آنموستیک با دیواره مواج مشاهده شده است و از لحاظ موقعیت قرار گرفتن روزنه به سه تیپ، هم‌سطح سلول- بالاتر از سلول- و پایین‌تر از سلول‌های اپیدرم تقسیم می‌شوند (۲۷). همچنین اکبری‌نیا و همکاران (۲۰۱۱) در روی درخت شاه‌بلوط اروپایی در اکوسیستم خزری فقط یک نوع روزنه آنموستیک مشاهده کردند (۱). در سلسله تحقیقات دیگری که پناهی و همکاران (a,b,c,d 2012) در بررسی صفات ماکرومورفولوژی (کرک، روزنه، گرده) گونه‌ها و زیرگونه‌های مختلف بلوط انجام دادند، از صفات برگ به‌عنوان صفات تشخیصی مناسب در تفکیک گونه‌ها نام‌برده شده است؛ ضمن این‌که بر صفات ریختی گرده به‌عنوان صفت بارز تشخیص بین گونه‌ها و زیر گونه‌های فوق تأکید بیشتری شده است. در مطالعات فوق، نوع تیپ روزنه در همه گونه‌ها آنموستیک شناسایی شده و به لحاظ شکل، بیضوی تا گرد بودند (17, 18, 19, 20). در تحقیق حاضر با توجه به نوع روزنه پاراستیک و داشتن سلول‌های همراه کمتری در اطراف این تیپ روزنه و همچنین قرار گرفتن این رویشگاه‌ها در ارتفاعات با اقلیم خاص خود، نتیجه‌گیری می‌شود که تعرق در سطح برگ درختان توس این رویشگاه‌ها کمتر می‌باشد. ارتباط میان نوع روزنه و میزان تعرق توسط محققینی چون اوبیرمی و الادله (۲۰۰۱) و اویلکه و همکاران (۲۰۰۴) تأیید شده است به‌طوری‌که در هر دو مطالعه گونه‌های با تعداد سلول‌های همراه بیشتر اطراف روزنه، دارای تعرق بیشتری در مقایسه با گونه‌های با تعداد سلول‌های همراه کمتر بودند (۱۵) (۱۶). یکی از مکانیسم‌های گونه‌های گیاهی که در ارتباط با شرایط رطوبتی رویشگاه آن را کسب می‌کنند، قرار گرفتن روزنه در سطح بالاتر از سلول‌های اپیدرم است، با توجه به شرایط سخت اقلیمی این رویشگاه‌ها که در ارتفاعات کوهستانی می‌باشند، انتظار می‌رفت روزنه‌های برگ نسبت به سلول‌های اپیدرم در سطح پایین‌تری قرار بگیرند، یوسف‌زاده (۲۰۱۱) و چاپلاق و همکاران (۲۰۱۱) در نتایج خود به چنین مکانیسمی رسیدند به طوری‌که در ارتفاعات، روزنه‌ها پایین‌تر از سلول‌های اپیدرم قرار گرفتند (۲۶)(۷). ولی در این تحقیق خلاف این امر به اثبات رسید و در همه رویشگاه‌ها روزنه بالاتر از سلول‌های اپیدرم قرار گرفته است. در تحقیقی که چاپلاق و همکاران (۲۰۱۱) در مورد گونه‌های جنس ممرز انجام داد به‌این نتیجه رسید

که روزنه کچف^۱ و لور^۲ نیز به خاطر قرار گرفتن در ارتفاعات، پایین تر از سلول‌های اپیدرم قرار گرفته است (۷). احتمال می‌رود در مناطق کوهستانی قرار گرفتن روزنه بالاتر از سلول‌های اپیدرم، باعث می‌شود که سرما و یخبندان ارتفاعات، تأثیر زیادی بر این گونه ندارد. از آنجاکه درختان توس در رویشگاه‌های مورد مطالعه با گونه کچف و لور همراه هستند، بنابراین این نتیجه می‌تواند به این مطلب منتهی شود که گونه توس در شرایط اقلیمی سخت ارتفاعات نسبت به گونه کچف و لور، گونه مقاوم‌تر و بردبارتری به شرایط سخت محیطی می‌باشد. به طوری که دامنه حضور این گونه در ارتفاعات نسبت به این دو بالاتر است. نکته دیگر این که علی‌رغم یکسان بودن تیپ روزنه‌ها در هر سه رویشگاه، ولی تفاوت قابل توجهی از نظر داده‌های کمی مشاهده شد. به طوری که رویشگاه سیاه مرزکوه از نظر داده‌های کمی در تمامی پارامترهای مورد نظر مقدار بیشتری را به خود اختصاص داده است، از نظر تراکم روزنه تفاوتی در سه رویشگاه مشاهده نشد به طوری که در هر میلی‌متر مربع به طور میانگین بالغ بر ۱۵۰ عدد روزنه قابل شمارش می‌باشد. این میزان تراکم در مقایسه با گونه‌های لور و کچف (۴۰۰ عدد روزنه در هر میلی‌متر مربع) مقدار پایین‌تری می‌باشد. به طور معمول گیاهان جهت تحمل و سازگاری به شرایط موجود در ارتفاعات، میزان تراکم روزنه خود را افزایش می‌دهند. به نظر می‌رسد بردباری این جنس نسبت به شرایط سخت ارتفاعات و سرما منجر به این قضیه نشده است. در آخر نیز می‌توان به این نتیجه رسید که با توجه به این که تمام پارامترهای مورد مطالعه از روزنه تأثیرپذیری زیادی از شرایط محیطی نشان می‌دهند، نمی‌توان از این پارامترها به عنوان پارامترهایی که متأثر از ژنتیک گونه می‌باشند یاد کرد، زیرا بیشتر تحت تأثیر محیط می‌باشند.

منابع

1. Akbarinia, M., Zarafshar, M., Sattarian, A., Babaie Sustani, F., Ghanbari, E. and Chaplagh Paridari, I. 2011. Morphological variations in stomata, epidermal cells and trichome of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Caspian ecosystem. *Taxonomy and Biosystematics*, 3rd Year, No. 7, 23-33. (In Persian)
2. Baranova, M. 1992. Epidermal Structure and Taxonomical Place of *Austrobaileyaceae*. *Botanicheskii Zhurnal*, 77: 1-17.

1- *Carpinus schuschaensis*

2- *Carpinus orientalis*

3. Bruschi, P., Grossoni, P. and Bussotti, F. 2003. Within and among tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt) Liebl. Natural Population Trees, 17: 164-172.
4. Batos, B., Vilotic, D., Orlovic, S. and Miljkovic, D. 2010. Inter and Intra-Population Variation of leaf Stomatal Traits of *Quercus robur* L. in Northern Serbia. Archives of Biological Science, 62: 1125-1136.
5. Bayramzadeh, V., Attarod, P., Ahmadi, M.T., Ghadiri, M., Akbari, R., Safarkar, T., Shirvany, A. 2011. Variation of leaf morphological traits in natural populations of *Fagus orientalis* Lipsky in the Caspian forests of Northern Iran. Ann. For. Res. 54(2): 34-56. (In Persian)
6. Belhadj, S., Derridj, A., Moriana, A., Gijon, M.D.C., Mevy, J.P. and Gauquelin, T. 2011. Comparative Analysis of Stomatal Characters in Eight Wild Atlas Pistachia Populations (*Pistacia atlantica* Desf.; Anacardiaceae). International Research Journal Plant Science, 2: 60-69.
7. Chapolagh Paridari, I., Jalali, Gh., Sonboli, A. and Zarafshar, M. 2012. Leaf, Stomata and Trichome Morphology of the species in *Carpinus* Genus. Taxonomy and Biosystematics, 10: 12-26. (In Persian)
8. Dunlap, J.M. and Stettler, R.F. 2001. Variation in leaf Epidermal and Stomatal Traits of populus trichocarpa from Two Transects across the Washington Cascades. Canadian Journal of Botany, 79: 528-536.
9. Ghahreman, A. 1990. Plant Systematics, Cormophytes of Iran. Tehran University Publication, 736p. (In Persian)
10. Haron, N.W. and Moore, D.M. 1996. The taxonomic significance of leaf micro morphology in the genus *Eugenia* L. (Myrtaceae). Botanical Journal of the Linnean Society. 120: 265-277.
11. Körner, C., Bannister, P., and Mark, A.F. 1986. Altitudinal variation in stomatal conductance, nitrogen content, and leaf anatomy in different plant life forms in New Zealand. Oecologia, 69: 577-588.
12. Krussmann, G. 1981. Manual of Cultivated Broad-leaved Trees and Shrubs, VI, A-D, Trans. By Michael E. London, 220-233p.
13. Metcalfe, C.R. and Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons, 2. vols. Clarendon Press, Oxford, UK.
14. Miles, L.M., Jeanne, A.M. and Robert, D.W. 1995. Provenance and progeny variation in growth and frost tolerance of *Casuarina Cunninghamiana* in California, USA. Forest Ecology and Management, 79: 161-171.
15. Obiremi, E.O. and Oladele, F.A. 2001. Water-conserving stomatal systems in selected *Citrus* species. South African Journal of Botany, 67: 258-260.
16. Oyeleke, M.O., AbdulRahaman, A.A., and Oladele, F.A. 2004. Stomatal anatomy and transpiration rate in some afforestation tree species. Nigerian Society for Experimental Biology Journal (NISEB) 4: 83-90.

17. Panahi, P., Jamzad, Z., Pourmajidian, M.R., Fallah, A., Pourhashemi, M. 2012a. Falior epidermis morphology in *Quercus* (subgenus *Quercus*, section *Quercus*) in Iran. *Acta Bot. Croat.* 71(1): 95–113.
18. Panahi, P., Jamzad, Z., Pourmajidian, M.R., Fallah, A., and Pourhashemi, M, 2012b. Taxonomic implications of micro-morphological features for taxon delimitation within the *Quercus libani* complex (Fagaceae) in Iran. *Phytologia Balcanica*, 18(3): 263-276.
19. Panahi, P., Jamzad, Z., Pourmajidian, M.R., Fallah, A., Pourhashemi, M. and Sohrabi, H. 2012c. Taxonomic revision of the *Quercus brantii* complex (Fagaceae) in Iran with emphasis on leaf and pollen micromorphology. *Acta Botanica Hungarica*, 54(3-4): 355-375.
20. Panahi, P., Jamzad, Z., Pourmajidian, M.R., Fallah, A., Pourhashemi, M, 2012c. Pollen morphology of *Quercus* (subgenus *Quercus*, section *Quercus*) in Iran and its systematic implication. *Acta societatis Botanicorum Poloniae.* 81(1): 33-41.
21. Prabhaker, M. 2004. Structure, delimitation, nomenclature and classification of stomata. *Acta Botanica Sinica*, 46: 242-252.
22. Pyakurel, A., and Wang, J.R. 2014. Leaf morphological and stomatal variations in paper birch populations along environmental gradient in Canada. *American Journal of plant Sciences*, 5: 1508- 1520.
23. Stace, C. 1980. *Plant taxonomy and biosystematics*. Edward Arnold Publisher Ltd., London.
24. Stresburger, E. 1866. Ein Beitrag zur entwicklungsgeschichte der spaltöffnungen. *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik*, 5: 297-342.
25. Vesque, I. 1889. De l'emploi des caractères anatomiques dans la classification des végétaux. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 36: 41-77.
26. Yosefzadeh, H. 2011. *Biosystematics in the genus Tilia*. PhD thesis, Tarbiat Modarres University of Tehran. 156p. (In Persian)
27. Yosefzadeh, H., Hosseinzadeh Colagar, A., Tabari, M., Sattarian, A. and Assadi, M. 2010. Recognition of different stomata types of *Tilia* spp. in hyrcanian forests. *Taxonomy and Biosystematics*. 5: 17-28. (In Persian)
28. Zare, H., Akbarinia, M., Hosseini, S.M., Ejtehadi, H., and Amini Eshkevari, T., 2010. A new record of *Betula litwinowii* (Betulaceae) and a review of the geographical distribution of the genus *Betula* L. in Iran– Iran. *Journal of Botany*. 16(2): 237-241. (In Persian)



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Wood & Forest Science and Technology, Vol. 22 (2), 2015
<http://jwfst.gau.ac.ir>

Different types of leaf stomata in genus *Betula* L. in Iran

A. Kordalivand¹, *V. Payamnoor¹, A. Sattarian² and J. Mohammadi³

¹M.Sc. Student, Forest Sciences Faculty, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Gorgan, ²Assistant Prof., Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavus, ³Assistant Prof., Forest Sciences Faculty, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Gorgan

Received: 07/14/2013 ; Accepted: 05/09/2014

Abstract

Background and objectives: Stomata morphology as a taxonomic standard has been used for many years to determine different species in a genus. This research has been done to identify the different types of stomata and determine its position relative to the epidermal cells of the genus birch (*Betula* spp.). Also the importance of these morphological characteristics especially stomata type has been studied to separate different species in a genus with the aiming supporting existence theory of different species of the genus *Betula* spp in Iran and quantitative and qualitative parameters has been investigated in relating with stomata and along cells decor in 3 different population.

Materials and methods: Three sites in the forests of birch trees including Siahmarzkoo, Sangde and Shahrestanak has been selected. In every habitat, leaves were collected from four geographical base from outer of crown from 10 trees with minimum 100 meters distance of each other. The photos were taken by light ($\times 10$ and $\times 40$) and electron microscopy and morphological traits of stomata were measured. Nested variance test were used for meaningful survey and differences between stomata quantitative in different populations and diversity between and within populations of the three sites were investigated.

Results: Significant differences in nested layout analysis were calculated between large and small stomata length, large stomata width, its area and no significant differences between small stomata width and densities in different populations. The highest and lowest stomata area related to Siahmarzkoo and Sangde respectively. Correlation between stomata traits and geographical habitat characteristics showed that length, width and area of the stomata decreased by increasing height above sea level and will increase by increasing latitude and longitude. 70 percent match

*Corresponding author:

between stomata characteristics and ecological conditions of the habitats were showed by Detection analysis. Two types of stomata including paracytic and anomocytic were identified in this genus with paracytic dominant. One similar type of stomata was recognized for three sites in terms of position of stomata in comparison with epidermal cells and in this type, stomata located over than epidermal cells.

Conclusion: Birch is more seen in the mountains compared to other species so it is tolerant in height difficult climatic conditions. Stomata cannot be used as a marker for predicting birch species in Iran because all studied parameters has been showed the high influence of environmental conditions.

Keywords: Discriminat analysis, *Betula*, Stomata type, Area stomata

