

بررسی ریخت شناسی و هیستولوژی کرک در شش گونه از جنس *Nepeta* با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره

سید مهدی طالبی* Ph.D. و محبوبه یار محمدی M.Sc.

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

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: seyedmehdi_talebi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۱۹

چکیده

هدف: در این مطالعه ریخت شناسی و هیستولوژی کرک‌های ترش‌خی و غیر ترش‌خی در شش گونه از جنس *Nepeta* در ایران بررسی شد.

مواد و روش‌ها: شش گونه از جنس *Nepeta* از نقاط مختلف ایران جمع آوری شد. از هر گونه یک جمعیت و از هر جمعیت سه فرد به صورت تصادفی انتخاب شدند. از هر فرد یک برگ بالغ جدا شده و بعد از تثبیت نمونه‌ها، تهیه برش‌های دستی و رنگ آمیزی مضاعف، انواع کرک‌های برگ با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. در مطالعات میکروسکوپ الکترونی، قطعه‌ای از برگ بعد از طلا پوشی داخل میکروسکوپ الکترونی نگاره قرار گرفته و عکس‌هایی با بزرگ‌نمایی مختلف از آن تهیه شد. از نرم افزار SPSS جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

نتایج: تعداد سبزه نوع کرک غده‌ای و غیر غده‌ای در سطح برگ گونه‌های مورد مطالعه وجود داشت. شکل و تراکم کرک‌های مشاهده شده در بین گونه‌ها متفاوت بود و آزمون ANOVA تفاوت‌های معنی‌داری را در تعداد کرک‌ها در بین گونه‌ها نشان داد. مهم‌ترین کرک‌های غده‌ای در گونه‌های مورد مطالعه، انواع صفحه‌ای و سردار بودند. همچنین کرک‌های غیر غده‌ای به دو شکل منشعب و غیر منشعب وجود داشتند که نوع منشعب فقط در یک گونه مشاهده شد.

نتیجه گیری: با توجه به تفاوت تعداد کرک‌های غده‌ای در بین گونه‌های مورد بررسی می‌توان چنین پیش بینی نمود که میزان روغن‌های اسانسی موجود در گیاه بین گونه‌های مختلف متفاوت بوده و همچنین توانایی نگهداری اسانس در بین گونه‌ها متفاوت است و همچنین می‌توان از کرک‌ها جهت بهبود رده بندی این جنس استفاده نمود.

واژگان کلیدی: جنس *Nepeta*، ریخت شناسی، کرک ساده، کرک غده‌ای

مقدمه

جنس *Nepeta* از اعضای خانواده نعنا بوده که تقریباً از ۲۵۰ گونه تشکیل شده است. بسیاری از گونه‌های این جنس خواص دارویی دارند. این گیاهان معطر به صورت طبیعی در ایران می‌رویند و تا کنون حدود ۷۹ گونه از این جنس در ایران گزارش شده است (۱).

طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی مهم به‌وسیله سلول‌های تخصص یافته (کرک‌ها) ترشح می‌شود که دارای عملکردهای متفاوتی هستند (۲). بعضی از ترکیبات ترشح شده به‌وسیله کرک‌های غده‌ای در صنایع دارویی- غذایی، بهداشتی و آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳). کرک‌ها اغلب به‌عنوان ابزار در شناسایی گیاهان مورد استفاده قرار گرفته و نقشی کلیدی در طبقه بندی گیاهان دارند (۴).

کرک‌ها برجستگی‌های تک سلولی یا چند سلولی در سطح خارجی سلول‌های اپیدرمی اندام‌های هوایی می‌باشند (۵) و به‌طور قابل توجهی از نظر ریخت‌شناسی، جایگاه، توانایی و شیوه ترشح مواد متفاوت از یکدیگر می‌باشند. گزارش‌ها نشان داده که نوع و تراکم کرک در بین گونه‌های مختلف و یا حتی بین اندام‌های یک گیاه متفاوت می‌باشد (۶). کرک‌ها به‌طور بسیار زیاد در سطح خارجی اندام‌های هوایی رویشی و زایشی گیاهان خانواده نعنا وجود داشته و معمولاً به‌دو شکل غده‌ای و غیر غده‌ای مشاهده می‌شوند (۷).

به‌طور کلی کرک‌های غده‌ای به اشکال سردار، بدون پایه، صفحه‌ای، انگشتی و منشعب مشاهده می‌شوند و صفتی شاخص برای این خانواده تلقی می‌شوند (۷، ۸). کرک‌های غده‌ای معمولاً از چهار بخش: سلول‌های پایه ای، قاعده ای، ناحیه گردن و راسی تشکیل شده اند (۹).

در خانواده نعنا، کرک‌های غیر غده‌ای رایج تر از انواع غده‌ای بوده و بر اساس شکل و تعداد سلول‌ها *Cantino* (۱۰) این کرک‌ها را به چهار گروه اصلی: تک سلولی ساده، چند سلولی ساده، تک سلولی منشعب و چند سلولی منشعب تقسیم کرده است.

با توجه به اهمیت بسیار زیاد کرک‌ها در خانواده نعنا، در این مطالعه ساختار ریخت‌شناسی و بافت شناسی کرک‌های برگ شش گونه از جنس *Nepeta* که یکی از مهم‌ترین جنس‌های این خانواده در ایران است با میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره مورد بررسی قرار می‌گیرد تا شکل و تراکم انواع مختلف کرک در گونه‌های مورد مطالعه مشخص شده و نوع کرک غده‌ای غالب در هر گونه که محل اصلی ذخیره اسانس در گیاه است مشخص شود. اگر چه مقدار، ساختار و ترکیبات شیمیایی روغن‌های اسانسی گونه‌های مورد مطالعه در ایران مورد بررسی قرار گرفته است و مشخص شده نوع و درصد ترکیبات اسانس در بین این گونه‌ها بسیار متفاوت می‌باشد (۱۱، ۱۲ و ۱۳) ولی تاکنون مطالعه جامع و مقایسه ای در مورد کرک‌ها، به‌ویژه کرک‌های غده‌ای این گونه‌ها صورت نپذیرفته تا مشخص شود آیا تفاوت شاخص و بارزی بین انواع مختلف کرک بین این گونه‌ها وجود دارد یا نه؟

مواد و روش‌ها

در این بررسی ساختار کرک در شش گونه از جنس نعنا مورد مطالعه قرار گرفت. گونه‌های جمع آوری شده همگی از اعضای گروه ۴ (Group IV) این جنس بودند و از رویشگاه طبیعی در بهار سال ۱۳۹۵ جمع آوری شده و توسط منابع معتبر نظیر فلور ایران (۱) و فلور ایرانیکا (۱۴) شناسایی شدند.

از هر گونه سه فرد و از هر فرد یک برگ بالغ از قسمت میانی ساقه انتخاب شد (جدول ۱).

جدول ۱: نام و محل جمع آوری گونه‌های مورد مطالعه از جنس نپتا

نام گونه	آدرس رویشگاه
<i>N. heliotropifolia</i> Lam.	استان مرکزی، غرق آباد، سنگک
<i>N. fissa</i> Mey.	استان مازندران، جاده هراز، پلور
<i>N. meyeri</i> Benth.	استان آذربایجان شرقی، جاده تبریز به زنجان
<i>N. saccharata</i> Bunge	استان زنجان، ۲۰ کیلومتری جاده دندی به زنجان
<i>N. haussknechtii</i> Bornm.	استان اردبیل، جاده اسالم به خلخال
<i>N. wettsteinii</i> H. Braun	استان آذربایجان غربی، ارومیه، سرو

برچسب زده انتقال و لامل گذاری شدند.

نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری Olympus با لنزهای ۴X و ۱۰X بررسی شده و از بهترین نمونه‌ها عکس تهیه شد.

آنالیز آماری

در بررسی‌های آماری، میانگین و انحراف استاندارد انواع کرک مشاهده شده محاسبه شد و همچنین از آنالیز ANOVA به منظور مشخص نمودن معنی دار بودن یا نبودن تفاوت‌های موجود بین تعداد هر نوع کرک در بین گونه‌هایی مورد بررسی استفاده شد. از نرم افزار SPSS ver. 16 برای بررسی‌های آماری استفاده شد. برای بررسی‌های میکروسکوپ الکترونی نگاره، قطعه‌ای از بافت برگ هر گونه بروی پایه‌های مخصوص چسبانده شد و بعد از طلا پوشی با دستگاه اسپوتر کوتر با میکروسکوپ الکترونی نگاره تحت اختلاف الکتریکی ۵ ولت عکس برداری شد.

نتایج

در مجموع سیزده نوع کرک در سطوح پشتی و شکمی برگ مشاهده شد که به دو گروه اصلی غده‌ای و بدون غده (ساده) تعلق داشتند. کرک‌های غده‌ای در سه شکل صفحه‌ای، سردار و بدون پایه وجود داشتند. کرک‌های غیر غده‌ای (ساده) به دو شکل منشعب و غیر منشعب مشاهده شدند. انواع غیر منشعب به اشکال تک، دو، سه، چهار، پنج، شش و هفت سلولی بوده و کرک‌های منشعب به صورت دو شاخی بودند (جدول ۲).

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 ۵ تا ۱۵ دقیقه (بسته به میزان سختی بافت) در آب جوشانده و پس از نرم شدن از آب خارج و به محلول تثبیت کننده F.A.A (۵ میلی لیتر فرمالدئید ۴۰ درصد، ۹۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد و میلی لیتر ۵ اسید استیک گلاسیال) به مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند. سپس نمونه‌ها از محلول تثبیت کننده F.A.A خارج و پس از چندین مرتبه شست و شو با آب، به محلول الکل اتیلیک ۷۰ درجه انتقال یافتند. نمونه‌ها را قبل از برش گیری عرضی از محلول الکل خارج کرده و به مدت ۱۰ دقیقه داخل آب مقطر قرار گرفتند. برش گیری به روش دستی با تیغ انجام شد. برش‌ها به مدت حداقل ۲۰ الی ۳۰ دقیقه در محلول هیپوکلیت سدیم ۵ درصد قرار گرفتند. بلافاصله پس از مدت زمان لازم نمونه‌ها را از آن خارج و حدود ۳۰ ثانیه با آب تحت شست و شو قرار گرفته و آنگاه به مدت ۱ الی ۲ 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 ۳۰ تا 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

جدول ۲: نوع و تعداد متوسط کرک در گونه‌های مورد مطالعه از جنس *Nepeta*

نام گونه	منشعب دو شاخه ای	بدون پایه دو سلولی	بدون پایه تک سلولی	سردار پایه بلند	سردار پایه کوتاه	صفحه ای	شش سلولی ساده	پنج سلولی ساده	چهار سلولی ساده	سه سلولی ساده	دو سلولی ساده	تک سلولی ساده
<i>N. heliotropifolia</i>	میانگین	۰	۰	۰.۳۳	۲۲.۳۳	۴.۶۷	۰	۱	۲۱.۶۷	۷۶.۶۷	۲۰.۶۷	۲
	تعداد	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳
	انحراف استاندارد	۰	۰	۰.۵۷	۹.۴۵	۱.۵۲	۰	۱	۶.۶۵	۲۶.۸۳	۶.۴۲	۳.۴۶
<i>N. fissa</i>	میانگین	۰	۱.۶۷	۱.۳۳	۰	۱.۶۷	۰	۰.۳۳	۵.۶۷	۷۰.۶۷	۳۳.۶۷	۱.۳۳
	تعداد	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳
	انحراف استاندارد	۰	۰.۵۷	۰.۵۷	۰	۰.۵۷	۰	۰.۵۷	۵.۶۸	۱۶.۵۶	۱۱.۵۹	۱.۵۲
<i>N. meyeri</i>	میانگین	۰	۰	۰	۰	۴.۵۰	۱	۸.۳۳	۵۵	۹۰	۷۵.۳۳	۲
	تعداد	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳
	انحراف استاندارد	۰	۰	۰	۰	۰.۷۰	۱	۷.۰۲	۳.۶۰	۲۵.۹۸	۱۰.۹۷	۱
<i>N. saccharata</i>	میانگین	۰	۰.۶۷	۱.۶۷	۲۲.۶۷	۴	۳	۴	۳.۶۷	۱۲	۱۱.۳۳	۲
	تعداد	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳
	انحراف استاندارد	۰	۱.۱۵	۲.۰۸	۴.۰۴	۳	۱.۴۱	۵.۱۹	۴.۱۶	۲.۵۱	۳.۲۱	۱.۵۲
<i>N. haussknechtii</i>	میانگین	۰.۳۳	۰.۳۳	۱	۰.۶۷	۴.۶۷	۲.۶۷	۴.۶۷	۴۵.۶۷	۹۹.۳۳	۱۳۰.۳۳	۲
	تعداد	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳
	انحراف استاندارد	۰.۵۷	۰.۵۷	۰	۱.۱۵	۲.۸۸	۲.۵۱	۲.۸۸	۱۸.۵۸	۳۴.۴۲	۳۴.۷۹	۱.۷۳
<i>N. wettsteinii</i>	میانگین	۰	۰.۶۷	۱.۶۷	۰	۴.۶۷	۰	۰	۶.۶۷	۹۷.۳۳	۱۶۵.۶۷	۸
	تعداد	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳
	انحراف استاندارد	۰	۰.۵۷	۲.۰۸	۰	۴.۷۲	۰	۰	۱.۱۵	۱۰.۰۱	۳۱.۲۴	۴.۵۸

آنالیز آماری ANOVA تفاوت معنی‌داری ($p \leq 0.05$) را در تعداد کرک‌های غیر غده‌ای دو، سه، چهار، پنج سلولی و کرک‌های غده‌ای سردار پایه

کوتاه و بلند در بین گونه‌های مورد مطالعه نشان داد (جدول ۳).

جدول ۳: نتایج آزمون ANOVA جهت بررسی معنی دار بودن تفاوت بین تعداد کرک‌ها در گونه‌های مورد مطالعه

نوع کرک		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
تک سلولی ساده	Between Groups	۹۵.۱۱۱	۵	۱۹.۰۲۲	۲.۸۳	.۰۰۶
	Within Groups	۸۰.۶۶۷	۱۲	۶.۷۲۲		
	Total	۱۷۵.۷۷۸	۱۷			
دو سلولی ساده	Between Groups	۵۰.۶۶۹.۷۸	۵	۱۰.۱۳۳.۹۶	۲۰.۱۷۶	.۰۰۰
	Within Groups	۶۰.۲۷.۳۳۳	۱۲	۵۰.۲.۲۷۸		
	Total	۵۶۶۹۷.۱۱	۱۷			
سه سلولی ساده	Between Groups	۲۳۲۳۴.۹۴	۵	۴۶۴۶.۹۸۹	۹.۳۲۳	.۰۰۰
	Within Groups	۵۹۸۱.۳۳۳	۱۲	۴۹۸.۴۴۴		
	Total	۲۹۲۱۶.۲۸	۱۷			
چهار سلولی ساده	Between Groups	۲۱۹۲۲.۶۷	۵	۴۳۸۴.۵۳۳	۲۰.۵۱	.۰۰۰
	Within Groups	۲۵۶۵.۳۳۳	۱۲	۲۱۳.۷۷۸		
	Total	۲۴۴۸۸	۱۷			
صفحه ای	Between Groups	۲۷.۸۳۳	۵	۵.۵۶۷	۰.۸۰۵	.۰۵۷
	Within Groups	۶۹.۱۶۷	۱۰	۶.۹۱۷		
	Total	۹۷	۱۵			
سردار پایه کوتاه	Between Groups	۱۷۱۰.۴۴۴	۵	۳۴۲.۰۸۹	۷.۳۷۴	.۰۰۰
	Within Groups	۵۵۶.۶۶۷	۱۲	۴۶.۳۸۹		
	Total	۲۲۶۷.۱۱۱	۱۷			
سردار پایه بلند	Between Groups	۱۲۶۲.۹۴۴	۵	۲۵۲.۵۸۹	۸۴.۱۹۶	.۰۰۰
	Within Groups	۳۶	۱۲	۳		
	Total	۱۲۹۸.۹۴۴	۱۷			
غده ای بدون پایه تک سلولی	Between Groups	۸.۹۴۴	۵	۱.۷۸۹	۱.۱۹۳	.۰۳۶
	Within Groups	۱۸	۱۲	۱.۵		
	Total	۲۶.۹۴۴	۱۷			
منشعب دو شاخه	Between Groups	۰.۲۷۸	۵	۰.۰۵۶	۱	.۰۴۵۸
	Within Groups	۰.۶۶۷	۱۲	۰.۰۵۶		
	Total	۰.۹۴۴	۱۷			

کرک صفحه‌ای شکل

این کرک‌ها دارای یک سلول قاعده‌ای، یک سلول کوتاه ساقه و راس بزرگ دایره‌ای شکل بوده که دارای چهار سلول ترش‌حی می‌باشد که در یک صفحه دیسک مانند آرایش یافته‌اند. در میکروگراف الکترونی، سطح بیرونی سلول‌های راسی صاف می‌باشد. اندازه سلول‌های ناحیه گردن و قاعده می‌تواند کوچک یا بلند باشد (شکل ۱.۱). بیشترین تعداد (۶)، این نوع کرک در گونه *N. saccharata* و کمترین آن‌ها (۱/۶۷) در گونه *N. fissa* وجود داشتند.

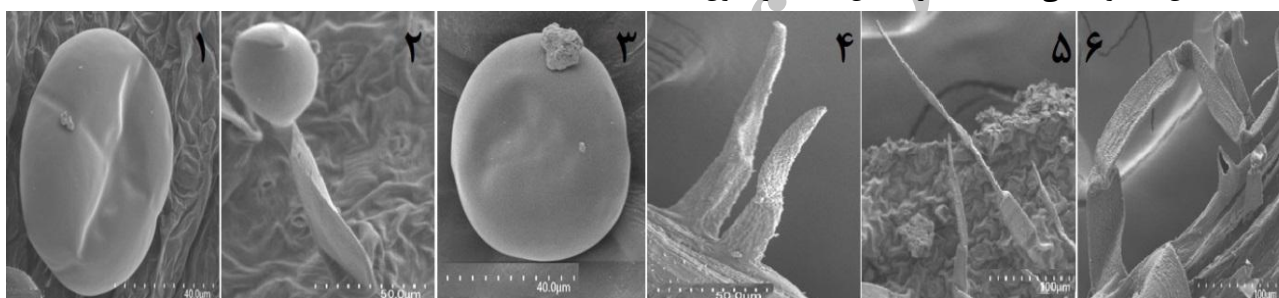
کرک‌های سردار

کرک‌های سردار، دارای یک سلول قاعده‌ای، یک تا چند سلول بلند یا کوتاه ساقه‌ای، راس تک سلولی یا دو سلول به اشکال متفاوت می‌باشند که بر اساس تعداد و طول

سلول‌های ساقه، شکل و تعداد سلول‌های غده‌ای راس به دو گروه اصلی تقسیم شدند

کرک‌های سردار پایه کوتاه

کرک‌های سردار کوتاه دارای یک سلول قاعده‌ای، یک سلول ساقه کوتاه با دیواره ضخیم و راس تک یا دو سلول تخم مرغی یا دایره‌ای شکل می‌باشند. تعداد این کرک در بین گونه‌های مورد مطالعه متفاوت بوده به‌صورتی که کمترین تعداد آن (۴) در گونه *N. saccharata* و بیشترین تعداد آن، ۳۳، در گونه *N. meyeri* ثبت شد. کرک سردار پایه کوتاه فراوان‌ترین نوع کرک غده‌ای در همه گونه‌های مورد مطالعه بودند به‌جزی گونه *N. saccharata* که نوع سردار پایه بلند کرک غده‌ای غالب بود (شکل ۱.۲).



شکل ۱: میکروگراف الکترونی از کرک‌های موجود در سطح برگ گونه‌های مطالعه شده. (۱) کرک صفحه‌ای، (۲) کرک سردار پایه کوتاه، (۳) کرک غده‌ای بدون پایه تک سلولی، (۴) کرک ساده دو سلولی، (۵) کرک ساده ۳ و ۴ سلولی، (۶) کرک پنج سلولی.



شکل ۲: تصویر میکروسکوپ نوری از کرک‌های موجود در سطح برگ گونه‌های مطالعه شده. (۱) کرک سردار پایه کوتاه، (۲) کرک ساده تک سلولی، (۳) کرک ساده دو سلولی، (۴) کرک ساده ۳ و ۴ سلولی.

کرک‌های سر دار پایه بلند

این تیپ از کرک‌ها دارای یک سلول قاعده‌ای، ساقه‌ای بلند متشکل از دو یا سه سلول با طول متغیر و ناحیه گردن با تک تا دو سلول و راس تک سلولی دایره‌ای شکل می‌باشند. این نوع از کرک در گونه *N. saccharata* در بیشترین تعداد (۲۲/۶۷) مشاهده شد ولی در تعداد دیگری از گونه‌ها مانند *N. fissa* و *N. meyeri* و *N. wettsteinii* وجود نداشت (شکل ۲۰۱).

کرک‌های غده‌ای بدون پایه

کرک‌های غده‌ای بدون پایه بر سطح خارجی اپیدرم چسبیده اند و فاقد هر گونه سلول پایه‌ای یا قاعده‌ای می‌باشند و به شکل‌های کروی یا بیضی مشاهده می‌شوند. این نوع از کرک‌ها به دو شکل تک سلولی و دو سلولی یافت شدند که تعداد آن‌ها در بین گونه‌های مطالعه شده متفاوت بود. بیشترین تعداد کرک غده‌ای بدون پایه تک سلولی در گونه‌های *N. saccharata* و *N. wettsteinii* مشاهده شد در حالی که کمترین تعداد آن در گونه‌های *N. heliotropifolia* و *N. meyeri* وجود داشتند (شکل ۱۰۳). کمترین تعداد کرک‌های غده‌ای دو سلولی در گونه‌های *N. heliotropifolia* و *N. meyeri* یافت شد و بیشترین تعداد آن متعلق به گونه *N. fissa* بود.

کرک‌های غیر غده‌ای (ساده)

کرک‌های غیر غده‌ای فاقد هر گونه ساختار ترشعی می‌باشند و به شکل‌های تک سلولی یا چند سلولی، ساده یا منشعب مشاهده می‌شود. چند تیپ از کرک‌های غیر غده‌ای مشاهده شدند که در دو گروه اصلی کرک‌های غیر غده‌ای بدون انشعاب و کرک‌های غیر غده‌ای منشعب وجود داشتند.

کرک‌های غیر غده‌ای بدون انشعاب

این نوع کرک فاقد هر گونه انشعاب بوده و دارای تعداد متفاوتی سلول می‌باشد که به صورت خطی در طول یکدیگر قرار داشته و به صورت صاف یا پیچ خورده هستند. این نوع کرک بر حسب تعداد سلولی به انواع، تک، دو، سه، چهار، پنج، شش و هفت سلولی تقسیم می‌شوند. انواع یک (شکل ۲۰۲) تا چهار سلولی (شکل‌های ۱۰۵ و ۲۰۴) در همه گونه‌ها وجود داشته، و فراوان ترین نوع آنها در همه گونه‌های مورد مطالعه نوع سه سلولی بود (شکل‌های ۱۰۵ و ۲۰۴). به استثنای گونه *N. wettsteinii*، که

نوع دو سلولی غالب است (شکل‌های ۱۰۴ و ۲۰۳). کرک پنج سلولی نسبت به انواع ۱ تا چهار سلولی فراوانی کمتری داشته ولی به تعداد زیاد در *N. haussknechtii* مشاهده شد (شکل ۱۰۶). کرک هفت سلولی حضور بسیار محدودی داشته و در بین گونه‌های تحت بررسی تنها در *N. haussknechtii* یافت شد.

کرک‌های غیر غده‌ای منشعب

این کرک‌ها در گونه‌های مورد مطالعه دو شاخه‌ای بوده و دارای دو بازوی برابر می‌باشند. این نوع کرک در بین گونه‌های مورد بررسی، فقط در *N. haussknechtii* دیده شد.

بحث

نتایج بررسی نشان داد که سطح خارجی اندام‌های هوایی گونه‌های مورد مطالعه از انواع مختلفی از کرک‌های ترشعی و غیر ترشعی پوشیده شده است. هر یک از کرک‌های مشاهده شده دارای نقش خاصی در گیاه می‌باشند. در میان انواع متفاوت کرک‌های غده‌ای موجود، انواع صفحه‌ای و سردار دارای اهمیت بسیار زیادی می‌باشند به دلیل اینکه بسیاری از متابولیت‌های گیاهان در این ساختارها نگه‌داری می‌شوند (۱۵، ۱۶ و ۱۷).

کرک‌های غده‌ای در دفاع شیمیایی گیاه در مقابل حشرات گیاه‌خوار، باکتری‌ها و قارچ‌های بیماریزا نقش ایفا می‌کنند. همچنین این کرک‌ها در جذب گرده افشان‌ها و ترشح نمک نیز دخالت دارند (۵ و ۱۸).

بر اساس نظریات Evert (۱۹) کرک‌های صفحه‌ای دارای یک سلول قاعده‌ای، یک سلول پایه کوتاه و راس بزرگ متشکل از ۴ تا ۱۸ سلول می‌باشند. در گونه‌های مطالعه شده از جنس *Nepeta* کرک‌های صفحه‌ای دارای چهار سلول راسی با سلول قاعده‌ای کوتاه می‌باشند. مطالعات پیشین نشان داده که وجود کرک‌های صفحه‌ای دارای چهار سلول راسی ترشعی در این جنس بسیار رایج است (۲۰). برای مثال، اندام‌های هوایی گیاه *N. congesta* var. *congesta* دارای پوشش متشکل از کرک‌های صفحه‌ای بوده که دارای یک سلول قاعده‌ای نهفته در

داده که در خانواده نعنا کرک‌های صفحه‌ای بیشترین میزان روغن‌های اسانس را تولید می‌کنند (۲۹). گرچه، کرک‌های سردار مقدار اندکی ترکیبات چربی دوست می‌سازند (۲۷ و ۳۰). حضور ترکیبات پلی ساکاریدی در راس کرک‌های سردار در دو گونه از جنس *Lavandula* و *Thymus* به‌وسیله نشانگرهای ویژه (رتینیوم رد) به اثبات رسیده است (۳۰، ۳۱ و ۳۲).

بنابراین با توجه به تفاوت‌های معنی‌دار انواع مختلف کرک سردار بین گونه‌های مورد مطالعه، می‌توان چنین استنتاج نمود که ترکیبات ثانویه موجود در بین گونه‌ها نیز تفاوت‌هایی با یکدیگر دارند. زیرا ارتباط بین نوع کرک با ترکیبات روغن اسانسی در گیاهان به اثبات رسیده است. برای مثال *Yarmoohammadi* و همکاران (۳۳) ترکیبات اسانس و نوع کرک‌ها را در دو جمعیت از گونه *N. heliotropifolia* بررسی کردند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد که نوع ترکیبات موجود در روغن اسانسی در گیاهان با نوع کرک‌ها ارتباط مستقیم دارد.

می‌توان از نتایج حاصله چنین پیش‌بینی کرد که میزان روغن اسانسی که می‌توان از گیاه استخراج نمود در گونه‌های مورد مطالعه تفاوت چشم‌گیری داشته باشد به‌دلیل اینکه تعداد کرک‌های سردار و صفحه‌ای و همچنین تناسب بین آن‌ها در گونه‌های بررسی شده تفاوت زیادی دارد. گرچه میزان تولید اسانس در گونه صفتی ژنتیکی می‌باشد که بسیار تحت تاثیر محیط قرار می‌گیرد ولی ساختارهای دخیل در نگهداری اسانس‌های تولید شده نیز در این مسئله موثر هستند. بررسی‌های انجام شده ثابت نموده که کرک‌های سردار و صفحه‌ای که محل تجمع روغن‌های اسانسی در گیاهان هستند در حفظ اسانس‌های انباشته شده به یک شکل عمل نمی‌کنند. ترکیبات جمع شده در کرک‌های سردار اغلب از طریق سوراخ‌های موجود در کوتیکول سلول‌های راسی به خارج از گیاه ترشح می‌شوند. در صورتی که در کرک‌های صفحه‌ای این ترکیبات در فضای ایجاد شده در حد فاصل

بافت اپیدرم، یک سلول ساقه‌ای و یک راس ترش‌جی چهار سلولی می‌باشند (۲۱).

کرک‌های صفحه‌ای با چهار سلول راسی منحصر به جنس *Nepeta* نبوده بلکه در سایر جنس‌ها و گونه‌های این خانواده مشاهده می‌شود. به‌عنوان مثال در گونه‌های این خانواده نظیر *Ocimum basilicum* و *Ocimum obovatum* کرک‌های صفحه‌ای با ۴ سلول ترش‌جی در راس مشاهده شده است (۲۲ و ۲۳).

البته گونه‌هایی نیز در این خانواده وجود دارند که دارای تعداد بیشتری سلول ترش‌جی در راس کرک‌ها صفحه‌ای هستند. در گونه‌هایی مانند *Leontis leonurus*، *Salvia aurea*، *Mentha piperita*، *Thymus* و *Origanum vulgare* تاکسون‌هایی نظیر *quinquecostatus* دوازده سلول ترش‌جی وجود دارد (۱۶، ۲۴، ۲۵، ۲۶ و ۲۷).

کرک‌های سردار دارای یک سلول قاعده‌ای، یک سلول پایه و راسی متشکل از ۱ تا ۴ سلول بوده و سلول پایه‌ای در آن‌ها از نظر طول دو برابر بقیه است (۱۹). کرک‌های سردار فراوان‌ترین کرک غده‌ای بوده و به‌دو شکل پایه کوتاه و بلند مشاهده می‌شوند. گرچه نوع پایه بلند فراوانی بسیار کمتری از نوع دیگر داشته و در تعدادی از گونه‌های مطالعه شده مشاهده نشدند ولی در *N. saccharata* کرک غده‌ای غالب بودند.

وجود کرک‌های سردار در سایر گونه‌های این جنس نیز گزارش شده است. *Kaya* و همکاران (۲۱) در گیاه *N. congesta var. congesta* کرک‌های سردار دارای راسی تک سلولی و پایه‌ای تک یا دو سلولی یا راسی دو سلولی همراه با پایه‌ای دو سلولی مشاهده نمودند.

نه تنها شکل ظاهری کرک‌های صفحه‌ای و سردار بسیار متفاوت است، بلکه جنس مواد ترش‌جی این دو نوع کرک نیز متفاوت می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده که مهم‌ترین انواع کرک‌ها در تولید و ذخیره‌سازی اسانس کرک‌های غده‌ای صفحه‌ای می‌باشند (۲۸). مطالعات پیشین نشان

کرک‌ها در نوع ترکیبات روغن اسانس گیاه بسیار موثر می‌باشند زیرا مطالعات پیشین نشان داده که تنوع زیادی در نوع و درصد ترکیبات شیمیایی روغن‌های اسانسی این گونه‌ها وجود دارد.

منابع

1. Jamzad Z. Flora of Iran, no. 76, Lamiaceae (first ed). Tehran: Research Institute of Forest and Rangelands; 2012.
2. Fahn A. Structure and function of secretory cells. Adv. Bot. Res. 2000; 31: 37–75.
3. Duke SO. Commentary: glandular trichomes – a focal point of chemical and structural interactions. Int. J. Plant Sci. 1994; 155: 617–620.
4. Giuliani C, Pellegrino R, Tirillini B, Bini LM. Micromorphological and chemical characterisation of *Stachys recta* subsp. *serpentina* (Fiori) Arrigoni in comparison to *Stachys recta* L. subsp. *recta* (Lamiaceae). Flora 2008; 203:376–385.
5. Werker E. Trichome diversity and development. Adv. Bot. Res. 2000; 31: 1–35.
6. Uphof JCT. Plant hairs. Encyclopedia Plant Anat. 1962; 4 (5): 1–206.
7. Navarro T, El Oualidi J. Trichome morphology in *Teucrium* L. (Labiatae). A taxonomic review. Ann. Jard. Bot. Madrid. 2000; 57(2): 277–297.
8. Werker E, Putievský E, Ravid U. The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. Ann. Bot. 1985; 55: 793–801.
9. Abu-Asab MS, Cantino PD. Phylogenetic implications of leaf anatomy in subtribe Melittidinae (Labiatae) and related taxa. J. Arnold Arbor. 1987; 68: 1–34.
10. Cantino PD. The phylogenetic significance of stomata and trichomes in the Labiatae and Verbenaceae. J. Arnold Arbor. 1990; 71: 323–370.
11. Alamshahi A, Dabiri M, Sefidkon F. Analysis of the essential oil of *Nepeta fissa*

کوتیکول و دیواره سلول‌های راسی این کرک‌ها تجمع یافته و فقط زمانی که کوتیکول به‌وسیله عوامل فیزیکی سوراخ شود مواد از آن خارج شوند. بنابراین، کرک‌های صفحه‌ای به‌عنوان ذخیره‌گاه ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه عمل می‌کنند (۲۸).

اشکال متفاوتی از کرک‌های ساده در سطوح خارجی برگ گونه‌های مورد مطالعه دیده شدند. در اکثر گونه‌ها کرک‌های غیر غده‌ای از نوع غیر منشعب بوده و به شکل‌های تک تا هفت سلولی بودند ولی کرک‌های ۳ سلولی در پنج گونه، شکل غالب بوده و کرک دو سلولی در یک گونه تیپ غالب کرک غده‌ای تلقی شدند. این نتایج تایید کننده مطالعات قبلی در این جنس بود که نشان می‌داد در جنس *Nepeta* کرک‌های غیر غده‌ای به‌صورت چند سلولی بوده و در سطح خارجی همه اندام‌های هوایی وجود دارند. این کرک‌ها اغلب ۲ یا ۳ سلولی بوده و بسیار فراوان‌تر از اشکال تک سلولی می‌باشند (۲۰).

اگرچه کرک‌های ساده نقشی در ذخیره و ترشح اسانس در گیاه ندارند، اما وجود آن‌ها در حفاظت گیاهان در برابر عوامل محیطی و همچنین گیاه خواران بسیار مفید می‌باشد. به‌دلیل اینکه کرک‌های غیر غده‌ای دمای پیکر گیاه را کاهش داده و دامنه تحمل به سرما و یخ زدگی را افزایش می‌دهند و در پراکنش دانه و نگه‌داری تعادل آب در برگ‌ها، انعکاس اشعه خورشید و دفاع در مقابل حشرات گیاه خوار مفید هستند (۵).

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این بررسی نشان داد که تفاوت بارزی بین نوع و تراکم کرک‌های غده‌ای و غیر غده‌ای در بین گونه‌های مورد مطالعه وجود دارد. با توجه به اینکه این گونه‌ها متعلق به یک گروه تاکسونومیک این جنس می‌باشند ولی دارای اختلاف قابل توجهی در شکل و تراکم کرک‌ها می‌باشند که علاوه بر کاربرد تاکسونومیک در شناسایی گونه‌ها، نشانگر این نکته هستند که شکل

- C.A. Mey from Iran. *Flav Fragr J.* 2002; 17: 89-90.
12. Sefidkon F, Shaabani A. Essential oil composition of *Nepeta meyeri* Benth. from Iran. *Flavour Fragrance J.* 2004; 19(3): 236-238.
13. Rustaiyan A, Ariaee Fard M, Faridchehr A. Further constituents and biological activities of some *Nepeta* species from Iran. *EJPMR*, 2017;4(4), 135-138
14. Rechinger KH, Labiatae in Flora Iranica (first ed). Graz, Akademische Druckund Verlagsanstalt, 1982.
15. Choi JS, Kim ES. Structural features of glandular and non – glandular trichomes in three species of *Mentha*. *Applied Microscopy*. 2013; 43 (2): 47–53.
16. Jia P, Liu H, Gao T, Xin H. Glandular trichomes and essential oil of *Thymus quinquecostatus*. *Sci. World J.*, 2013. doi.org/10.1155/2013/387952.
17. Konarska A. Comparative micromorphology and anatomy of flowers and floral secretory structures in two *Viburnum* species. *Protoplasma*. 2017; 254(1): 523–537.
18. Van Dam NM, Hare JD, Elle E. Inheritance and distribution of trichome phenotypes in *Datura wrightii*. *J. Hered.* 1999; 91: 220–227.
19. Evert RF. *Esau's Plant Anatomy* (3rd edn). New Jersey: Wiley-Interscience; 2006.
20. Metcalfe CR, Chalk L. *Anatomy of the Dicotyledons*, vol. 2 (first ed). London: Oxford University Press; 1950.
21. Kaya A, Demirci B, Baser KH. Micromorphology of glandular trichomes of *Nepeta congesta* Fisch. & Mey. var. *congesta* (Lamiaceae) and chemical analysis of the essential oils. *S. Afr. J. Bot.* 2007; 73: 29–34
22. Werker E, Putievsky E, Ravid U, Dudai N, Katzir I. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *Ann. Bot.* 1993; 71: 43–50.
23. Naidoo Y, Kasim N, Heneidak S, Nicholas A, Naidoo G. Foliar secretory trichomes of *Ocimum obovatum* (Lamiaceae): micromorphological structure and histochemistry. *Plant Syst. Evol.* 2013; 299 (5): 873–885.
24. Ascensão L, Marques N, Pais MS. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). *Ann. Bot.* 1995; 75: 619–626.
25. Turner GW, Gershenzon J, Croteau RB. Development of peltate glandular trichomes of peppermint. *Plant Physiol.* 2000; 124 (2): 665–680.
26. Huang SS, Kirchoff BK, Liao JP. The capitate and peltate glandular trichomes in *Lavandula pinnata* L. (Lamiaceae): histochemistry, ultra structure and secretion. *J. Torrey Bot. Soc.* 2008; 135: 155–167.
27. Shafiee-Hajiabad M, Hardt M, Honermeier B. Comparative investigation about the trichome morphology of common oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*) and Greek oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*). *JARMAP*. 2014; 1 (2): 50–58.
28. Siebert DJ. Localization of Salvinorin A and related compounds in glandular trichomes of the psychoactive sage, *Salvia divinorum*. *Ann Bot.* 2004; 93(6): 763-771.
29. Werker E. Function of essential oil-secreting glandular hairs in aromatic plants of the Lamiaceae – a review. *Flavour Frag. J.* 1993; 8(5): 249–255.
30. Jia P, Gao T, Xin H. Changes in structure and histochemistry of glandular trichomes of *Thymus quinquecostatus* Celak. *Sci. World J.*, 2012; doi.org/10.1100/2012/18726.
31. Marin M, Budimir S, Janošević D, Marin PD, Duletić-Laušević SO, Ljaljević-Grbić M. Morphology, distribution, and histochemistry of trichomes of *Thymus lycae* Degen & Jav. (Lamiaceae). *Arch. Biol. Sci.* 2008; 60(4): 667–672.
32. Teixeira G, Correia AI, Vasconcelos T, Feijão D, Madureira AM. 2013. *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* and *L. pedunculata*—phytochemical study, micromorphology and

histochemistry. Revista De Ciências Agrárias. 2013; 36 (2):220–228.

33. Yarmoohammadi M, Talebi SM, Nohooji MG. Intraspecific variations in essential oil and glandular trichomes in *Nepeta heliotropifolia*. Biodiversitas. 2017; 18(3): 964-970.

Archive of SID

Morphological and histological study of trichomes in six *Nepeta* species by light and scanning electron microscopy

Talebi SM, Ph.D^{*}, Yarmohammadi M, M.Sc

Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran

* Email corresponding author: Seyedmehdi_Talebi@yahoo.com

Received: 10 Jul. 2017

Accepted: 14 Nov. 2017

Abstract

Aim: in the present study, morphology and also histology of six *Nepeta* species were investigated.

Material and method: six species of the genus were collected from different parts of Iran. From each species, one population and from each populations three flowering stems were randomly elected. The mature intact leaf of each sample was fixed in FAA solution, and then transverse hand sections of them were double stained and examined under light microscopy. For scanning electron microscopy, a small part of leaves were coated with gold then, samples transferred to SEM for taking micrograph. The used software was SPSS.

Results: Thirteen glandular and non-glandular trichomes were observed in the studied species. The morphology and density of trichomes varied between species and ANOVA test showed significant differences in some trichome types between the studied species. The peltate and capitate were the most important glandular trichomes. In addition, non-glandular hairs were existed in two forms: branched and non-branches. The branched ones were found in only one species.

Conclusion: on the basis of variations in glandular trichomes, it is expected that the amount of essential oil is variable between the studied species. In addition, the abilities of species are different in maintenance of essential oil. Moreover, the trichomes can use a good trait for improvement of *Nepeta* taxonomy.

Key words: *Nepeta*, morphology, non-glandular trichomes, glandular trichomes.