

تنوع ریختی روزنه، سلول‌های همراه و کرک‌های پوششی برگ شاه بلوط اروپایی (*Castanea sativa* Mill.) در اکوسیستم خزری

مسلم اکبری نیا*، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
مهرداد زرافشار، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
علی ستاریان، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
فریبا بابایی سوسستانی، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
احسان قنبری، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
ایمان چاپلاقی پریدری، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

چکیده

حضور گونه‌های ارزشمند و کم‌یاب از قبیل شاه بلوط اروپایی (*Castanea sativa*) از خصوصیات منحصر به فرد اکوسیستم خزری است که زمینه‌های مطالعاتی فراوانی برای متخصصان علوم گیاهی فراهم کرده است. با وجود این، نه تنها تحقیقات زیادی بر روی این گونه صورت نگرفته، بلکه روند تخریب، ادامه حیات آن را نیز با خطر روبه‌رو کرده است. در پژوهش حاضر، علاوه بر شناخت انواع کرک پوششی برگ و نوع روزنه با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی در گونه شاه بلوط با مبدأ جنگل‌های خزری، مقایسه آن با گونه شاه بلوط با مبدأ جنگل‌های اروپا نیز انجام شده است. به منظور شناخت سطح تنوع فنوتیپی در سه جمعیت اصلی این گونه در غرب جنگل‌های خزری (سیاه‌مزی، قلعه رودخان و ویسرود)، صفات کمی روزنه برگ از قبیل: طول بزرگ، طول کوچک، مساحت و تراکم روزنه به انضمام شاخص روزنه اندازه‌گیری شد. آزمون‌های آماری نیز در غالب طرح آشیان به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها به کار گرفته شد. نتایج حاصل حاکی از آن است که تیپ روزنه شاه بلوط در جنگل‌های خزری آنموسیستیک (anomocytic) بوده، سطح زیرین برگ دارای کرک‌های ساده (simple unicellular)، کرک ستاره‌ای (stellate) و کرک چند شاخه‌ای (fasciculate) است. مقایسه شاه بلوط با دو مبدأ جنگل‌های خزری و اروپا نیز نشان می‌دهد که از لحاظ صفات کمی روزنه و انواع کرک‌های پوششی اختلافات چشمگیری بین آنها وجود دارد. در مورد تنوع بین جمعیت‌ها، تجزیه و تحلیل آماری تنها اختلاف معنی‌دار را در مورد قطر روزنه نشان می‌دهد و قادر به تفکیک سه جمعیت سیاه‌مزی، قلعه رودخان و ویسرود نیست. در تأیید مطالعات پیشین به نظر می‌رسد شواهدی مبنی بر تمایز فنوتیپی جمعیت قلعه رودخان از دو جمعیت دیگر وجود دارد که نتایج مطالعات مولکولی در آینده برای اثبات این فرضیه قطعاً ارزشمند خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: جنگل‌های هیرکانی، شاه بلوط اروپایی، روزنه، کرک پوششی، تنوع فنوتیپی

مقدمه

طبق گزارش‌های اخیر FAO، هر ساله ۱۳ میلیون هکتار از جنگل‌های جهان به علل مختلف، از جمله: تخریب و تغییر کاربری از بین می‌روند، در حالی که قسمتی از این تخریب‌ها هر ساله با کاشت حدود ۵/۷ میلیون هکتار جنگل کاری و برنامه‌های احیا جبران می‌شود. با وجود این هنوز هم کره زمین روزانه حدود ۲۰۰ کیلومتر مربع جنگل را از دست می‌دهد (Chazdon, 2008). در فرآیند این تخریب گسترده، فرسایش ژنتیکی گونه‌های جنگلی دور از انتظار نیست که به علت دانش ناکافی ما از منابع ژنتیکی، جلوگیری از این فرسایش غیر ممکن است. تنوع ژنتیکی به‌عنوان اصلی مهم در تکامل گونه‌های درختی، می‌تواند شرایط انطباق اکوسیستم جنگل را با تغییرات محیطی برای هزاران سال فراهم نماید، که این امر، نقش منحصر به فرد تنوع ژنتیکی درختان را بیش از پیش نمایان می‌سازد. با این حال، در نتیجه فشار ناشی از استفاده ناپایدار از منابع جنگلی، بخش عظیمی از تنوع ژنتیکی جنگل پیش از شناخته شدن و استفاده درست از آن در معرض خطر نابودی قرار گرفته است. جنگل‌های خزری نیز به‌عنوان یکی از ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی زیست کره، به دلیل داشتن قدمت بسیار طولانی و حضور گونه‌های کم‌یاب و ارزشمند - که اکنون فقط فسیل آنها در سایر نقاط جهان یافت می‌شود - توجه اکثر پژوهشگران علوم گیاهی را به خود جلب کرده است. با وجود این، تخریب بی‌رویه، سوء مدیریت، بیماری و آفات گیاهی خطر انقراض برخی از گونه‌های نادر این جنگل‌ها، از قبیل: ملج (*Ulmus glabra*)، اوجا (*Ulmus carpiniifolia*)، سفید پلت (*Populus caspica*) و ... را

در آینده‌ای نه چندان دور فراهم کرده است. با توجه به اینکه آگاهی از ارزش بالای تنوع ژنتیکی جنگل‌ها، می‌تواند راهکاری برای کاهش تخریب و نابودی این نعمت خدادادی فراهم نماید، حفظ جنگل‌های ارزشمند هیرکانی باید با توجه به اصول توسعه پایدار و با تکیه بر مطالعات اکولوژیک و آگاهی از تنوع ژنتیکی در مورد هر یک از گونه‌ها انجام شود.

درخت شاه بلوط اروپایی *Castanea stiva* Mill. متعلق به خانواده Fagaceae یکی از عناصر بسیار نادر و با ارزش جنگل‌های معتدل و مرطوب است (Little, 1953) که به‌صورت محدود و لکه‌ای در جنگل‌های شهرستان فومن (استان گیلان) و تنها در چهار رویشگاه با خاک اسیدی به نام‌های ویسروود، سیاه‌مزگی، قلعه رودخان و سفارود پراکنش دارد. شناسایی این گونه برای نخستین بار توسط جزیره‌ای (۱۳۴۰) صورت گرفت. محدوده ارتفاعی پراکنش این گونه ۲۰۰ تا ۶۰۰ متر است و جهات غربی و شمالی و همچنین، شیب‌های ۵۰ تا ۷۰ درصد را ترجیح می‌دهد (هدایتی، ۱۳۸۲). متأسفانه، به علت جمع‌آوری بذر درختان توسط روستاییان برای مصارف خوراکی، مشکلات اقتصادی و اجتماعی، از جمله چرای دام، مساحت تپ خالص شاه بلوط به حداقل مقدار سطح کاهش یافته و به مرور از تعداد در هکتار آن کاسته شده است، که بدین ترتیب، فرسایش ژنتیکی این گنجینه گرانبها نیز دور از انتظار نخواهد بود (هدایتی و همکاران، ۱۳۸۲). با وجود ارزش بالای گونه شاه بلوط در ترکیب و تنوع عناصر رویشی جنگل‌های خزری، مطالعات بسیار کمی در خصوص این گونه انجام شده‌است که از این میان می‌توان به مطالعه ویژگی‌های

میان آنها ۵ برگ از هر پایه و در مجموع ۱۵۰ برگ برای مطالعات میکرومورفولوژیک استفاده شد.

به منظور مطالعه شاخص‌های روزنه، از میکروسکوپ نوری (light microscope) استفاده شد؛ به طوری که پس از جوشاندن نمونه‌های برگ به مدت ۱۰ دقیقه، به وسیله کاتر (cutter) از لایه‌های اپیدرم برگ در سطح زیرین نمونه‌های بسیار نازک تهیه و پس از بین بردن کلروفیل توسط تیمارهای آب ژاول و آب مقطر، لام و لامل نمونه تهیه شد. پس از تهیه عکس‌های مربوط، شاخص‌های روزنه، از قبیل: طول، عرض و مساحت روزنه با استفاده از نرم‌افزار Image tools با دقت $0.1 \mu\text{m}$ اندازه‌گیری شد. تراکم روزنه و برآورد شاخص روزنه نیز در واحد میلی‌متر مربع صورت گرفت. برای مقایسه جمعیت‌ها بر اساس کلیه صفات کمی روزنه، از آزمون آنالیز واریانس با طرح آشیانه‌ای (نرم‌افزار MINITAB نسخه ۱۴) استفاده شد. همچنین، مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون دانکن (نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷) و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز با استفاده از نرم‌افزار Pcord4 انجام شد.

در فاز دوم این مطالعه، برای زدودن مواد ناخالص، نمونه‌های برگ درون محلول سود ۱۰٪ (NaOH) قرار گرفتند. تثبیت نمونه‌ها نیز پس از تبدیل آنها به قطعات کوچکتر و روکش‌گیری با استفاده از روکش طلا انجام شد. پس از طی این مراحل، نمونه‌های تثبیت شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM اسکن شدند (Wang et al., 2001).

اکولوژیک گونه شاه بلوط (هدایتی، ۱۳۸۲؛ Porbabaie, 2008)، تکثیر جنسی آن از طریق بذری (هدایتی و همکاران، ۱۳۸۲) و تکثیر غیر جنسی آن از طریق کشت سرشاخه‌ای (نراقی، ۱۳۸۱) اشاره کرد، که با توجه به فراهم بودن زمینه‌های پژوهشی فراوان، فقدان مطالعات بنیادی در زمینه تنوع ژنتیکی این گونه برای حفاظت اصولی از غنای ژنتیک گیاهی آن بسیار محسوس است.

مطالعات اولیه در زمینه تنوع ژنتیکی این گونه با توجه به ویژگی‌های مورفولوژیک برگ، گویای تنوع فنوتیپی بسیار بالای برگ در جمعیت‌های مختلف است (Zarafshar et al., 2010). هدف از تحقیق حاضر، تکمیل مطالعات مورفولوژیک برگ گونه شاه بلوط در جمعیت‌های مختلف بوده که بدین منظور، برای نخستین بار، با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی شاخص‌های کمی و کیفی در رابطه با روزنه، آرایش سلول‌های همراه و کرک‌های پوششی مطالعه گردید. البته، ویژگی‌های یاد شده در شاه بلوط با مبدأ اکوسیستم خزری و جنگل‌های اروپا نیز مقایسه خواهد شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های برگ از سه رویشگاه اصلی و طبیعی این گونه در استان گیلان واقع در جنگل‌های شهرستان فومن جمع‌آوری شد (جدول ۱). از هر رویشگاه ۱۰ پایه درختی با رعایت حداقل فاصله ۱۰۰ متری (Miles et al., 1995) انتخاب و از هر پایه ۱۰ عدد برگ از قسمت بیرونی تاج جمع‌آوری گردید. نمونه‌های برگ جمع‌آوری شده از هر پایه با یکدیگر ترکیب شده، از

جدول ۱- ویژگی مناطق مورد مطالعه

رویشگاه	ارتفاع از سطح دریا (m)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	نوع خاک
سیاه‌مزگی	۴۰۰-۲۰۰	۳۷° ۴'	۴۹° ۱۸'	خاک قهوه‌ای - اسیدی
ویسرود	۵۰۰-۲۰۰	۳۷° ۱۵'	۴۹° ۱۵'	خاک قهوه‌ای - اسیدی
قلعه رودخان	۵۰۰-۳۵۰	۳۷° ۵'	۴۹° ۱۴'	خاک قهوه‌ای - اسیدی

نتایج

الف) شناسایی انواع کرک در گونه شاه بلوط با مبدأ جنگل‌های خزری

نتایج میکروگراف‌های حاصل از میکروسکوپ الکترونی سه نوع کرک پوششی را برای گونه شاه بلوط در اکوسیستم خزری نشان می‌دهد که در ذیل به تفکیک توضیح داده خواهد شد.

کرک‌های منفرد ساده یا تک سلولی ساده (simple unicellular): کرک‌هایی تک شاخه که در محل انشعاب دارای برجستگی متورم هستند (شکل ۱: C, K, M و N).

کرک‌های ستاره‌ای (stellate): کرک‌هایی که دارای ۵، ۶ یا ۸ شاخه یا انشعاب هستند که از یک ناحیه منشعب می‌شوند. شاخه‌ها کاملاً ضخیم بوده، که نسبت به سطح برگ موازی قرار گرفته‌اند (شکل ۱: K و N).

کرک‌های گروهی یا چند شاخه (fasciculate): کرک‌های یک، دو یا سه سلولی که از یک ناحیه مشترک منشعب می‌شوند و نسبت به یکدیگر زوایای متفاوتی را به وجود می‌آورند (شکل ۱: C, J و G).

ب) نوع و ابعاد روزنه در گونه شاه بلوط با مبدأ جنگل‌های خزری

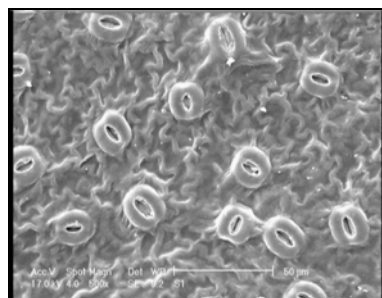
نتایج مطالعات میکروسکوپ نوری، گویای آن است که بین سلول‌های نگهبان (guard cells) و سلول‌های همراه (subsidiary cells) تمایزی از لحاظ شکل و ابعاد وجود ندارد و هر روزنه توسط ۴-۷ عدد سلول همراه با

دیواره مواج احاطه شده است (شکل ۲). بنابراین، نتایج گویای آن است که نوع روزنه آنموسیستیک (anomocytic) است که در میکروگراف‌های حاصل از میکروسکوپ الکترونی نیز تأیید شد (شکل ۱: A و B). نتایج مورفومتری روزنه گونه شاه بلوط نشان می‌دهد که میانگین قطر بزرگ و کوچک روزنه به ترتیب ۲۳/۲ و ۱۶/۴۳ میکرومتر است (جدول ۲). میانگین مساحت روزنه نیز ۲۹۷/۸۷ میکرومتر مربع ثبت گردید. گونه شاه بلوط تراکم بالایی از روزنه را نیز نشان داد (۵۹۰/۴۱ عدد در هر میلی‌متر مربع). نتایج میکروگراف‌های حاصل از میکروسکوپ الکترونی (SEM) به‌طور واضح نشان می‌دهد که در اطراف روزنه‌ها کوتیکول یا واکس (cuticle یا wax granule) وجود دارد (شکل ۱: D, F, H و L).

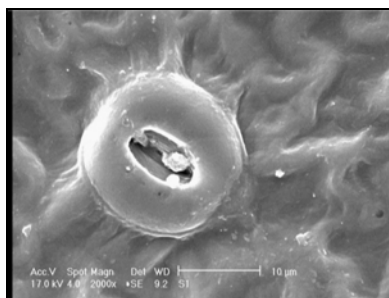
پ) تنوع روزنه بین جمعیت‌های شاه بلوط در جنگل‌های خزری

مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از روش دانکن نشان داد که بجز صفات طول و عرض روزنه در رویشگاه ویسرود، سایر صفات تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نشان نمی‌دهند (جدول ۳).

نمودار پراکنش داده‌ها روی دو محور مختصات نیز نشان داد که سه رویشگاه مورد بررسی به راحتی قابل تفکیک نیستند و تنها دو پایه از جمعیت ویسرود و یک پایه از جمعیت سیاه‌مزگی بر اساس محور دوم تفکیک شده‌اند (شکل ۳).



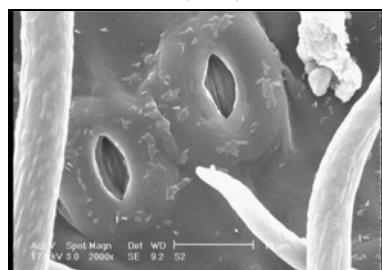
A (500X)



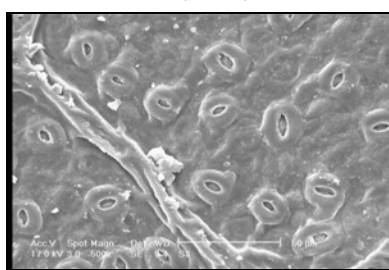
B (2000X)



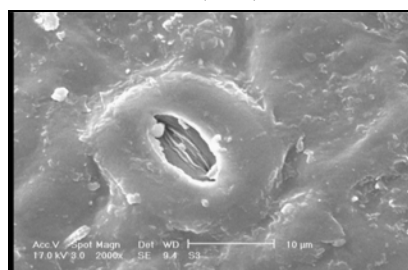
C (500X)



D (2000X)



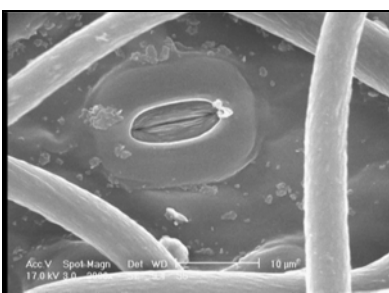
E (500X)



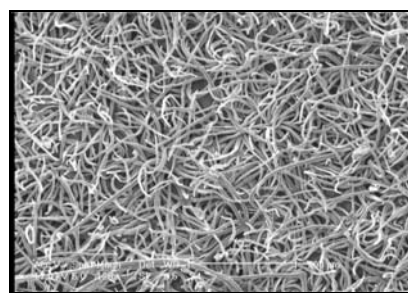
F (2000X)



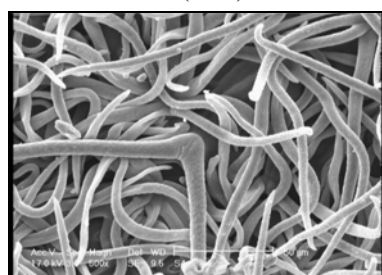
G (500X)



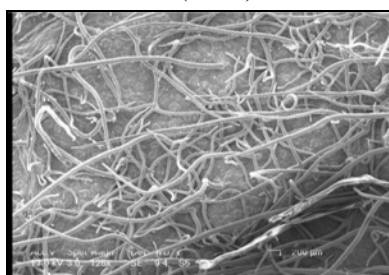
H (2000X)



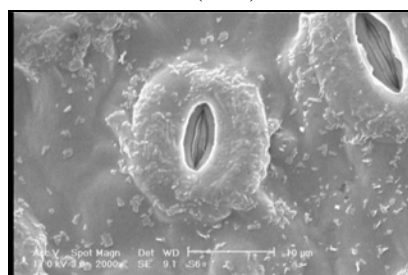
I (126X)



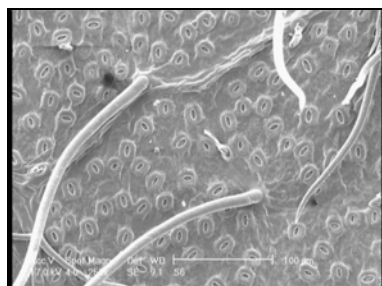
J (500X)



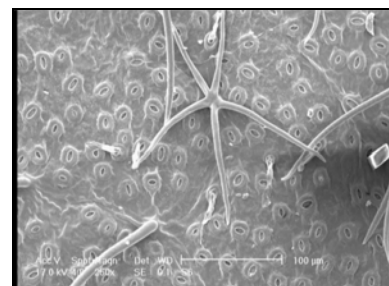
K (120X)



L (2000X)



M (250X)

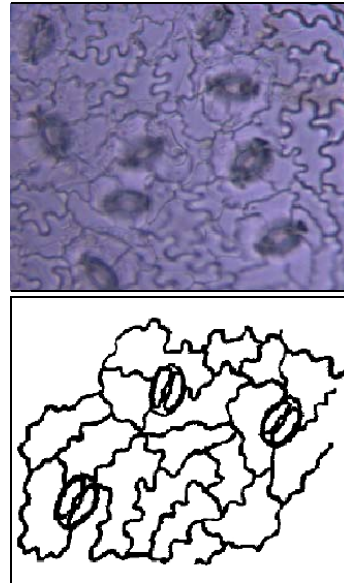


N (260X)

شکل ۱- میکروگراف الکترونی نگاره از خصوصیات ریختی روزنه، سلول‌های همراه و کرک‌های پوششی در سطح زیرین برگ شاه بلوط در سه جمعیت طبیعی در اکوسیستم خزری؛ A، B، C و D مربوط به جمعیت سیاه‌مزگی؛ E، F، G، H و I مربوط به جمعیت قلعه رودخان و L، M و N مربوط به جمعیت ویسرود.

جدول ۲- مقادیر حداقل، حداکثر و میانگین صفات روزنه گونه شاه بلوط در جنگل های خزری و مقایسه آن با شاه بلوط در جنگل های اروپا

شاه بلوط در جنگل های اروپا (Moldovan and Moldovan, 1993)	شاه بلوط در جنگل های خزری	شاخص های کمی روزنه
۲۵	(۱۸/۵۵-۲۶/۲۵) ۲۳/۲	قطر بزرگ روزنه (میکرومتر)
۱۸	(۱۳/۲۰-۱۹/۷۴) ۱۶/۴۳	قطر کوچک روزنه (میکرومتر)
۳۵۲	(۱۹۸-۴۰۰/۱۸) ۲۹۷/۸۷	مساحت روزنه (میکرومتر مربع)
۱۶۰-۲۳۰	(۴۲۷/۱۴-۷۵۲/۴۹) ۵۹۰/۴۱	تراکم روزنه (تعداد در میلی متر مربع)



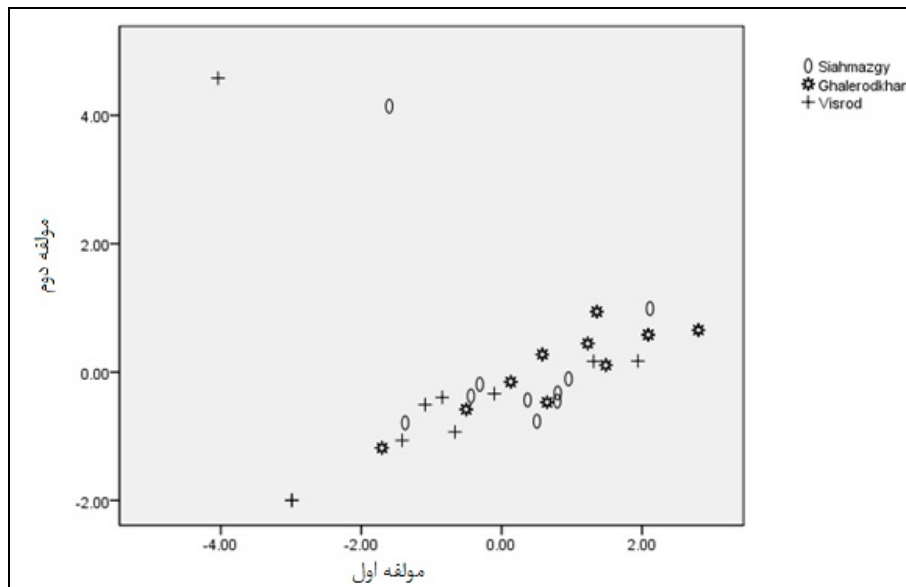
شکل ۲- روزنه های آنموسیتییک (anomocytic) در گونه شاه بلوط با مبدأ جنگل های خزری؛ بزرگنمایی ۴۰×

جدول ۳- خلاصه داده های آماری (میانگین، حداکثر و حداقل داده ها، تعداد نمونه ها، اشتباه معیار و انحراف معیار) پنج صفت مورد بررسی بر روی گونه شاه بلوط در سه رویشگاه سیاه مزگی، قلعه رودخان و ویسرود

سیاه مزگی					
شاخص روزنه	تعداد روزنه	مساحت روزنه	عرض روزنه	طول روزنه	صفات مورد بررسی
Mean	۵۵۶/۲۵	۲۹۶	۱۶/۹۴	۲۳/۴۲	۱۶۶۴۴/۲۱
Min	۴۲۷	۱۹۸	۱۵/۵۱	۲۲/۱۳	۹۴۲۶/۴۵
Max	۷۰۴/۸۱	۳۳۴/۶۷	۱۹/۷۴	۲۵/۴۴	۴۸۳۵۴/۸۴
N	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
SE	۲۹/۸۸	۱۴/۹۹	۰/۳۸	۰/۳۶	۵/۳۶
SD	۹۴/۴۹	۴۲/۶۲	۱/۲۲	۱/۱۶	۱۱۳۸۴/۲۵
قلعه رودخان					
شاخص روزنه	تعداد روزنه	مساحت روزنه	عرض روزنه	طول روزنه	صفات مورد بررسی
Mean	۵۷۷/۳۶	۳۲۰/۴۴	۱۷/۰۳	۲۴/۳۷	۱۴۰۱۷/۷۷
Min	۴۶۲/۷۴	۲۴۸/۳۵	۱۳/۵۶	۲۱/۹۲	۱۱۴۲۵/۷۰
Max	۷۴۵/۹۹	۴۰۰/۱۸	۱۸/۶۱	۲۶/۲۵	۱۸۱۰/۷۳
N	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
SE	۳۱/۰۲	۱۳/۴۷	۰/۵۳	۰/۴۴	۷/۱۸
SD	۹۸/۱۱	۴۷/۴۲	۱/۶۹	۱/۳۹	۱۷۸۳/۶۱
ویسرود					
شاخص روزنه	تعداد روزنه	مساحت روزنه	عرض روزنه	طول روزنه	صفات مورد بررسی
Mean	۶۳۷/۶۴	۲۷۷/۱۹۸	۱۵/۳۶	۲۱/۸۱	۱۳۸۰۴/۰۲
Min	۴۴۲/۷۸	۲۱۶	۱۳/۲۰	۱۸/۵۵	۱۱۴۴۶/۶۲
Max	۷۲۵/۴۹	۳۷۹/۶۷	۱۷/۸۱	۲۵/۸۵	۱۶۴۸۱/۰۸
N	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
SE	۲۹/۳۵	۱۶/۳۶	۰/۴۴	۰/۷۱	۳/۶
SD	۹۲/۸۴	۵۱/۴۷	۱/۴۲	۲/۲۷	۶۶۷۳/۶۱

جدول ۴- نتایج آنالیز واریانس با طرح آشیانه‌ای

F					
منابع تغییرات	طول روزنه	عرض روزنه	مساحت روزنه	تعداد روزنه	شاخص روزنه
جمعیت	*۱۵۴۴/۸۷	*۸۱۷/۳۶۷۴	۴۴۴۹۶۴/۳	۱۸۵۸۴۹۱۴	۵۰/۶۵۰۷
جمعیت (درخت)	۲۶/۶۶۹۳	*۱۴۱۱۰/۲۷	*۲۱۷۷۷/۰۶	۲۸۸۰۸۶۴	۱۳/۱۰۲۷
خطا	۱/۲۹۷۴	۱/۳۴۳۴	۱۵۴۷/۳۶	۶۶۹۸۳۰/۵	۳/۰۵۹



شکل ۳- نمودار پراکنش پایه‌های درختی بر روی دو محور مختصات بر اساس شاخص‌های کمی روزنه

بحث و نتیجه‌گیری

جنس شاه بلوط (*Castanea*) دارای گستره وسیعی در اروپا، آسیا و امریکای شمالی است، از این رو، تنوع کرک و روزنه در گونه‌های مختلف آن دور از انتظار نیست. بر اساس مطالعات انجام شده، نوع روزنه در اکثر گونه‌های متعلق به جنس شاه بلوط آنموسیتیک (*anomocytic*) یا سیکلوسیتیک (*cyclocytic*) است و سطح زیرین برگ نیز از کرک‌های متنوعی، از قبیل: کرک ساده، ستاره‌ای و چند شاخه پوشیده شده است (Liu et al., 2009). در تحقیق حاضر، مورفولوژی کرک و روزنه برگ در گونه شاه بلوط اروپایی (*C. sativa*) مطالعه شده است که در ادامه پس از تشریح نتایج حاصل، مقایسه این نتایج با نتایج به دست

آمده از مورفومتری گونه شاه بلوط اروپایی با مبدأ جنگل‌های اروپا (Moldovan and Moldovan, 1993) نیز، مورد بحث قرار خواهد گرفت.

نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که این گونه در جنگل‌های خزری، همانند سایر گونه‌های شاه بلوط دارای روزنه‌های آنموسیتیک است که در مورد شاه بلوط اروپا نیز مورد تأیید شده است، اما حضور توأم کرک‌های تک سلولی ساده (*simple unicellular*)، کرک ستاره‌ای با ۵، ۶ یا ۸ شاخه (*stellate*) و کرک‌های چند شاخه‌ای با ۲، ۳ و ۴ شاخه (*fasciculate*) مؤید این مطلب است که تنوع کرک این گونه در جنگل‌های هیرکانی بیشتر از جنگل‌های اروپاست، چرا که در اروپا تنها حضور کرک‌های ساده و ستاره‌ای با ۴

دمبرگ آن کوچکتر است (Zarafshar *et al.*, 2010). تحقیق حاضر نیز نشان‌دهنده تفاوت آشکار دو مبدأ از لحاظ صفات کمی روزنه است. البته، با توجه به انجام مطالعات مولکولی در مورد گونه شاه بلوط در کشورهای مختلف اروپایی (Fineschi *et al.*, 2000) انجام مطالعات مشابه در ایران نیز به طور حتم می‌تواند جوابگوی پرسش‌هایی از قبیل: مقایسه تنوع، قدمت و سطح تکامل گونه شاه بلوط در جنگل‌های خزری و جنگل‌های اروپا باشد. در این بررسی، تنوع روزنه بین جمعیت‌های مختلف موجود در جنگل‌های هیرکانی نیز مطالعه شد. نتایج به دست آمده گویای آن است که با وجود نبود اختلاف معنی‌دار از لحاظ مساحت، تراکم و شاخص روزنه بین سه جمعیت سیاه‌مزگی، قلعه رودخان و ویسرود، از لحاظ ابعاد روزنه بین رویشگاه ویسرود (با کمترین مقدار) و قلعه رودخان و سیاه‌مزگی (با بیشترین مقدار) اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود. هرچند سه جمعیت مذکور از نظر شاخص‌های مورد بررسی از یکدیگر تفکیک نشده‌اند، اما جمعیت قلعه رودخان هم راستا با تحقیقات گذشته بر روی سه جمعیت مذکور، از میانگین بالاتری نسبت به دو جمعیت دیگر برخوردار است (Zarafshar *et al.*, 2010). با توجه به نتایج حاصل از این بررسی، وجود تنوع مورفولوژیک با وجود تشابه اقلیمی و اداپتیکی سه جمعیت نکته حایز اهمیتی است که می‌تواند در مطالعه تنوع جمعیت‌های شاه بلوط با استفاده از نشانگرهای مولکولی برای تصمیم‌گیری نهایی درباره تنوع زنتیکی این گونه مورد توجه پژوهشگران علوم گیاهی کشور قرار گیرد.

تا ۱۶ شاخه گزارش شده و در مورد کرک‌های چند شاخه‌ای (fasiculate) گزارشی وجود ندارد. همچنین، در تحقیق Johnson و Hardin در سال ۱۹۸۵ حضور توأم کرک‌های ساده، ستاره‌ای و چند شاخه در مورد گونه *Castanea pumila* و واریته‌های متفاوت آن در امریکا گزارش شده است. مقایسه قطر بزرگ و کوچک و مساحت روزنه در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که ابعاد و مساحت روزنه گونه شاه بلوط در جنگل‌های اروپا، در مقایسه با جنگل‌های خزری بزرگتر و در مقابل تراکم روزنه در جنگل‌های خزری بسیار فراوان‌تر است. طبق مطالعات Liu و همکاران (۲۰۰۹) در سطح زیرین برگ گونه‌های شاه بلوط و گونه‌های خزان‌کننده بلوط به استثنای شاه بلوط اروپایی (*C. sativa*) در هر میلی‌متر مربع، بالغ بر ۴۰۵ عدد روزنه قابل شمارش است. نتایج تحقیق حاضر نیز برای شاه بلوط اروپایی در جنگل‌های هیرکانی به طور متوسط حضور ۵۹۰ روزنه در هر میلی‌متر مربع را تأیید می‌کند. با وجود این، Moldovan و Moldovan در سال ۱۹۹۳ میانگین بسیار پایین‌تری را برای جنگل‌های اروپا (۱۶۰-۲۳۰ عدد در هر میلی‌متر مربع) گزارش کرده‌اند. بین تراکم روزنه و خصوصیات رویشگاه ارتباط تنگاتنگی وجود دارد (Zhou *et al.*, 1995; Luo and Zhou, 2001). طبق نظر Liu و همکاران (۲۰۰۹) متوسط تراکم روزنه در جنس شاه بلوط (به جز گونه *C. sativa*) (۱۶۰-۲۳۰) حدود ۴۷۶-۷۲۶ است. نتایج پژوهش حاضر نیز با ارائه میانگین نسبتاً مشابه (۴۲۷-۷۵۲) در مورد شاه بلوط اروپایی در اکوسیستم خزری نتایج این محققان را تأیید می‌کند. مطالعات پیشین گویای آن است که ابعاد برگ شاه بلوط در جنگل‌های خزری نسبت به جنگل‌های اروپا بزرگتر و در مقابل طول

منابع

- جزیره‌ای، م. (۱۳۴۰) شاه بلوط درخت جنگلی ایران. انتشارات سازمان جنگل‌بانی ایران، تهران.
- نراقی، س. (۱۳۸۱) بررسی تکثیر غیر جنسی شاه بلوط از طریق کشت سرشاخه‌ایی. دو فصلنامه تحقیقات ژنتیک گیاهان مرتعی و جنگلی ۱۰ (۱۰): ۸۹-۶۹.
- هدایتی، م. (۱۳۸۲) بررسی جنگل‌شناسی درخت شاه بلوط در استان گیلان و نحوه تکثیر پرورش. رساله دکتری جنگلداری، دانشگاه تهران، تهران.
- هدایتی، م.، مروی مهاجر، م.، جزیره‌ای، م. و زبیری، م. (۱۳۸۲) بررسی امکان تولید نهال شاه بلوط (*Castanea sativa*) در استان گیلان. مجله منابع طبیعی ایران ۳ (۵۶): ۲۴۴-۲۲۹.
- Chazdon, R. L. (2008) Beyond deforestation: Restoring forests and ecosystem services on degraded lands. *Science* 320: 1458-1460.
- Fineschi, S., Turchini, D., Villani, F. and Vendramin, G. G. (2000) Chloroplast DNA polymorphism reveals little geographical structure in *Castanea sativa* Mill. (Fagaceae) throughout southern European countries. *Molecular Ecology* 9: 1495-1503.
- Hardin, J. W. and Johnson, G. P. (1985) Atlas of foliar surface features in woody plants, VIII. *Fagus* and *Castanea* (Fagaceae) of eastern North America. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 112(1): 11-20.
- Little, E. L. (1953) Check list of native and natural, bed trees of the U.S.A. (including Alaska) U.S. Forest Service, Washington D. C.
- Liu, M. Q., Deng, T. M. and Zhou, E. Z. K. (2009) Taxonomic and ecological implications of leaf cuticular morphology in *Castanopsis*, *Castanea* and *Chrysolepis*. *Plant Systematic and Evolution* 283:111-123.
- Luo, Y. and Zhou, Z. K. (2001) Cuticle of *Quercus sugen*. *Cyclobalanopsis* (Oerst.) chneid. (Fagaceae). *Acta Phytotax. Sinica* 39:489-501.
- 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.
- Moldovan, I. and Moldovan, A. (1993) The epidermical study of sweet chestnut-tree leaf (*Castanea sativa* Hill.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 23(1):5-9.
- Porbabaie, H. (2008) Stand structure and spatial pattern of sweet Chestnut (*Castanea sativa*.) trees in the Gilan forests, north of Iran. Global Conference on Global Warming. July 6-10, Istanbul, Turkey.
- Wang, Y. F., Ferguson, D., Zetter, R., Denk, T. and Garfi, G. (2001) Leaf architecture and epidermal characters in *Zelkova*, Ulmaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 136(2): 255-265.
- Zarafshar, M., Akbarinia, M., Bruschi, P., Hosseini S. M., Yousefzadeh, H., Taieby, M. and Sattarian, A. (2010) Phenotypic variation of Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) natural populations in Hyrcanian forest (north of Iran), revealed by leaf morphometrics. *Folia Oecologica* 37(1): 113-121.
- Zhou, Z. K., Wilkinson, H. P. and Wu, Z. Y. (1995) Taxonomical and evolutionary implications of the leaf anatomy and architecture of *Quercus* L. Subg. *Quercus* from China. *Cathaya* 7:1-34.

Morphological variations in stomata, epidermal cells and trichome of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Caspian ecosystem

Moslem Akbarinia ^{1*}, Mehrdad Zarafshar ¹, Ali Sattarian ², Fariba Babaie Sustani ¹
Ehsan Ghanbari ¹ and Iman Chaplugh Paridari ¹

1 Department of Forestry, Faculty of Natural Resource, Trabiati Modares University, Noor, Iran

2 Department of forestry, Faculty of Natural Resource, University of Gonbad Kavus, Gonbad Kavus, Iran

Abstract

There are many rare and important species such as sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Caspian ecosystem which could be regarded as unique characteristics by plant biologists. Habitat destruction had strong adverse effects on sweet chestnut in the Hyrcanian forest. Unfortunately, had been adequate research on the species. In our current research, trichome and stomata morphology of *C. sativa* in the Hyrcanian forest were surveyed by light microscopy and scanning electron microscopy and the results were compared with that of the European *C. sativa*. Furthermore, phenotypic variation of the three natural populations of the species (Siahmazgi, Ghalerodkhan and Visrod) was evaluated by stomata morphometrics. Large and small diameters of stomata, area and frequency of stomata and stomata area index were studied. Finally, nested ANOVA was performed. The results showed that stomata type was anomocytic with simple Unicellular, Stellate and fasciculate trichomes on the abaxial surface. There were clear differences between Caspian and European populations of sweet chestnut. As for population variability, statistical analysis of stomata diameters showed significant differences. The three Hyrcanian populations, however, could not be separated. In line with past research, the Ghalerodkhan population showed clear variation but verifying, the hypothesis molecular markers are necessary.

Key words: Hyrcanian forest, Sweet chestnut, Stomata, Trichome, Phenotypic variation

* akbarim@modares.ac.ir