مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران
جلد ۲۹ شماره ۳، صفحه ۲۴۴-۲۳۰، (۱۴۰۰)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijfpr.2021.355062.2008
شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350883.1400.29.3.3.0

اثر عوامل بوم‌شناختی بر سازگاری‌های فیزیولوژیکی، آناتومیکی و مورفولوژیکی برگ توسکای ییلاقی (*Alnus subcordata* C.A.Mey.) در جنگل‌های هیرکانی

روح‌انگیز عباس‌عظیمی [۱*]، عادل جلیلی [۲]، غلامرضا بخشی خانیکی [۳]، محمد متینی‌زاده [۴] و حمید سبحانیان [۵]

۱*- نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری، فیزیولوژی گیاهی ، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
پست الکترونیک: rouhangiz_azimi@yahoo.com

۲- استاد پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۴- دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۵ – استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۲

چکیده

در پژوهش پیش‌رو، اثر عوامل بوم‌شناختی بر تغییرات کمی ۱۰ صفت فیزیولوژیکی، ۱۲ صفت آناتومیکی و دو صفت مورفولوژیکی برگ در شش جمعیت مختلف توسکای ییلاقی (*Alnus subcordata* C.A.Mey.) در سه طبقه ارتفاعی پایین‌بند، میان‌بند و بالابند در غرب (استان گیلان) و شرق (استان گلستان) جنگل‌های هیرکانی مقایسه شد. از تجزیه واریانس دوطرفه به‌منظور بررسی اثر عوامل بوم‌شناختی (دما و بارش) و برهم‌کنش آن‌ها بر متغیرهای مورد مطالعه استفاده شد. روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز برای ارزیابی همبستگی بین صفات برگ و ارتباط آن‌ها با عوامل بوم‌شناختی به‌کار برده شد. براساس نتایج به‌دست‌آمده، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و مقدار پرولین در شرق جنگل‌های هیرکانی به‌طور معنی‌داری کم‌تر از غرب این جنگل‌ها و مقدار فنل برگ در استان گلستان بیش از ۱/۵ برابر استان گیلان بود. تفاوت معنی‌داری بین دو این استان ازنظر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و مقدار قند محلول مشاهده نشد. سوپراکسیددیسموتاز با افزایش ارتفاع از سطح دریا به‌طور معنی‌داری زیاد شد، درحالی‌که مقدار قند محلول از پایین‌بند تا میان‌بند، افزایش و در بالابند کاهش یافت. در مقدار کلروفیل‌های a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ بین دو استان و در ارتفاعات مختلف و نیز اثر ناشی از برهم‌کنش عوامل بوم‌شناختی بر آن‌ها، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مهم‌ترین سازگاری‌های مهم مورفولوژیکی و آناتومیکی برگ نسبت به خشکی شامل افزایش صفات ضخامت برگ، تراکم و طول روزنه سطح پایینی، ضخامت کوتیکول سلول‌های پایینی، ضخامت سلول‌های اپیدرم بالایی، ضخامت سلول‌های نردبانی، ضخامت سلول‌های اسفنجی، ضخامت رگ‌برگ میانی، ضخامت و تعداد سلول‌های پارانشیمی پایینی رگ‌برگ میانی بودند. بین صفات مورفولوژیکی و بیشتر ویژگی‌های فیزیولوژیکی برگ توسکای ییلاقی با عوامل بوم‌شناختی، همبستگی وجود داشت. همچنین، اثرات متقابل عوامل بوم‌شناختی بر برخی صفات آناتومیکی برگ، معنی‌دار بودند. به‌نظر می‌رسد سازش‌های آناتومیکی که طی مدت طولانی در گیاهان ایجاد می‌شوند، شاخص‌های مناسب‌تری برای سنجش اثرات تنش خشکی بر آن‌ها باشند.

واژه‌های کلیدی: اکوفیزیولوژی، پراکسیداز، پرولین، روزنه، صفات اپیدرمی، کاتالاز.

مقدمه

افراد یک جمعیت به‌ویژه گونه‌های درختی با پراکنش وسیع جغرافیایی در اقلیم‌های متفاوت به‌طور معمول صفات مورفولوژیکی، آناتومیکی و فیزیولوژیکی خود را به‌خصوص در برگ تغییر می‌دهند تا جامعه‌های محلی سازگار با شرایط محیطی را تشکیل دهند (Rezai *et al*., 2014). تغییرات عوامل بوم‌شناختی مانند ارتفاع از سطح دریا، مقدار بارش و نیز تغییر جهانی اقلیم که می‌تواند سبب افزایش دما شود، از مهم‌ترین عوامل محیطی تأثیرگذار بر تجمع متابولیت‌های ثانویه مانند کربوهیدرات‌ها، هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها در برگ درختان هستند (Lykholat *et al*., 2016; Shen *et al*., 2017). تراکم و اندازه روزنه، تغییر در اندازه سطح برگ، ضخامت، شکل و ویژگی‌های آناتومیکی دیگر آن، معیارهای مناسبی برای درک سازگاری یا پاسخ گونه‌های گیاهی به تغییر شرایط محیطی در مقیاس‌های بزرگ مکانی هستند (Abbas-Azimi *et al*., 2020).

تنش خشکی، استرس اکسیداتیو را در پی دارد که به‌نوبه‌خود باعث تجمع گونه‌های اکسیژن فعال سمی (ROS: Reactive Oxygen Species) در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها می‌شود (Liu *et al*., 2011; Wang *et al*., 2014). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تولیدشده در گیاهان مانند پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات‌پراکسیداز و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند فلاونوئید، ترکیب‌های فنلی، آلکالوئید و کاروتنوئید، نقش مهمی در فرایند سم‌زدایی ROS دارند (Shen *et al*., 2017). با ارزیابی محتوی و نسبت رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئیدها می‌توان اطلاعات با ارزشی درمورد سازگاری گیاه در محیط‌های خشک به‌دست آورد. کمبود آب به‌طور معمول باعث کاهش محتویات کلروفیل و کاروتنوئیدها می‌شود (Guo *et al*., 2016; Tariq *et al*., 2018).

براساس پژوهش Lykholat و همکاران (۲۰۱۶) روی گونه‌های درختی ون (*Fraxinus excelsior* L.) و بلوط قرمز اروپایی (*Quercus robur* L.) کاتالازها از آنزیم‌هایی هستند که با افزایش ارتفاع از سطح دریا، خشکی و درجه‌حرارت، زیاد می‌شوند و هنگام فتوسنتز و تنفس، نقش مهمی در از بین بردن پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) در فرایندهای آنتی‌اکسیدانی موجود در برگ ایفا می‌کنند. همچنین، پژوهش مذکور نشان داد که تغییرات ارتفاع از سطح دریا بر مقدار تجمع قندهای محلول نیز اثر می‌گذارند. Zarrabi و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی نقش فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیایی زیتون (*Olea europaea* L.) در برابر تنش خشکی گزارش کردند که این عامل سبب تجمع معنی‌دار آنزیم پراکسیداز در برگ زیتون می‌شود. به‌طورکلی، پراکسیدازها در فرایندهای متابولیکی مانند کاتابولیسم هورمون، دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا، اکسیداسیون فنل، ایجاد پیوند با پروتئین‌های ساختاری سلول و پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی، نقش دارند (Zarrabi *et al*., 2011). پرولین نیز اسیدآمینه‌ای غیرپروتئینی است که نقش مهمی در مهار ROS در شرایط تنش‌زای زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کند (Tariq *et al*., 2018). از وظایف دیگر آن، سازش، بازیابی و انتقال پیام به‌هنگام مبارزه با تنش است. ازجمله سازوکارهای حفاظتی مهم دیگر در گیاهان می‌توان به سلول‌های اپیدرمی، موم، کرک‌های غده‌ای و مواد ترشحی آن‌ها اشاره کرد که علاوه‌بر حفاظت گیاهان از گیاه‌خواران و عوامل بیماری‌زا (Stavrianakou *et al*., 2010)، با جذب و بازتاب اشعه UV-B به‌همراه فعالیت آنزیم‌ها و سیستم‌های غیرآنزیمی به از بین بردن رادیکال‌های آزاد کمک می‌کنند (Li *et al*., 2018).

پژوهش‌های زیادی درزمینه بررسی همبستگی بین تغییرات کمی ویژگی‌های آناتومیکی و مورفولوژیکی برگ و تغییرات فیزیولوژیکی گیاه و اثر عوامل محیطی بر آن‌ها وجود ندارد. Saeedi و همکاران (۲۰۲۱) با بررسی خصوصیات اکوفیزیولوژیکی برگ راش شرقی (*Fagus orientalis* Lipsky) در سه استان گیلان، مازندران و گلستان گزارش کردند که در رویشگاه شصت‌کلاته (استان گلستان) با بارش کمتر، مقدار آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز در برگ‌های درختان مادری این گونه زیادتر هستند. همچنین، تفاوت کلروفیل a بین جمعیت‌های مختلف، معنی‌دار بود. Guo

و همکاران (۲۰۱۶) تغییرات معنی‌داری را بین صفات عملکردی برگ نراد (*Abies georgei* var. *smithii* (Viguié & Gaussen) C.Y.Cheng & L.K.Fu) و نیز شاخص‌های سازگاری فیزیولوژیکی آن در طول شیب ارتفاعی گزارش کردند.

توسکا (*Alnus* Mill.) معلق به تیره Betulaceae از جنس‌های درختی و درختچه‌ای است که در نواحی معتدله شمالی پراکنش دارد و با تعداد اندکی گونه به آمریکای مرکزی و جنوب کوه‌های آند گسترش یافته است. توسکای ییلاقی (*Alnus subcordata* C.A.Mey.) گونه‌ای رطوبت‌پسند و حساس به خشکی از بازماندگان دوران سوم زمین‌شناسی در منطقه هیرکانی است که به‌عنوان یک گونه پیش‌گام، نقش مهمی در ساختار پوشش گیاهی این منطقه منحصربه‌فرد ایفا می‌کند (Akhani *et al.*, 2010). درختان این گونه در مناطق پست، کوهپایه‌ای و کوهستانی از ارتفاع پایین‌تر از ۴۰ متر تا ۲۰۰۰ متر بالاتر از سطح دریا و نیز از غرب تا شرق جنگل‌های هیرکانی پراکنش دارند. از غرب به شرق این جنگل‌ها به‌علت فاصله زیاد جغرافیایی، تفاوت‌های آشکار بوم‌شناختی مانند کاهش بارش و افزایش دما مشاهده می‌شود. پژوهش پیش‌رو در دو استان گیلان و گلستان با هدف ارزیابی پاسخ‌های مورفولوژیکی، آناتومیکی و فیزیولوژیکی در برگ توسکای ییلاقی نسبت به تغییرات ارتفاع از سطح دریا، دما و مقدار بارش طراحی شد. نتایج این پژوهش می‌تواند به‌طور غیرمستقیم، درک مناسبی از چگونگی تطابق و مواجهه گونه‌های مهم درختی جنگل‌های هیرکانی در برابر شرایط تنش‌زا و تغییر اقلیم ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

منطقه موردمطالعه

پژوهش پیش‌رو در اواسط خردادماه سال ۱۳۹۸ در شش منطقه از جنگل‌های هیرکانی انجام شد (شکل ۱). داده‌های مربوط به بارندگی و دما در استان گیلان (ایستگاه‌های هواشناسی پلیمبرا، پیسه‌سون و اسبهونی) و در استان گلستان (ایستگاه‌های هواشناسی گرگان، پل اردوگاه و زیارت) و سایر ویژگی‌های این رویشگاه‌ها که سه منطقه آن در استان گیلان و سه منطقه دیگر در استان گلستان قرار دارند، در جدول ۱ آمده است. در هر استان، رویشگاه‌ها به یکی از طبقه‌های ارتفاعی شامل پایین‌بند (۱۳۵ تا ۵۰۰ متر از سطح دریا)، میان‌بند (۹۳۰ تا ۱۰۰۶ متر از سطح دریا) و بالابند (۱۶۵۰ متر از سطح دریا) تعلق داشتند.

شکل ۱- موقعیت جغرافیایی شش منطقه مورد مطالعه (مربع‌های زردرنگ)

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی و بوم‌شناختی شش جمعیت توسکای ییلاقی در رویشگاه‌های مورد مطالعه

استان	موقعیت	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	متوسط دمای سالانه (درجه سانتی‌گراد)	بارندگی سالانه (میلی‌متر)
گیلان	اسالم به خلخال (پایین‌بند)	″۳۱ ′۵۳ °۴۸	″۲۳ ′۴۲ °۳۷	۱۳۵	۱۵/۶	۱۹۵۸
	اسالم به خلخال (میان‌بند)	″۷۱ ′۴۸ °۴۸	″۵۳ ′۴۰ °۳۷	۱۰۰۶	۸/۵	۱۲۸۶/۵
	اسالم به خلخال (بالابند)	″۵۴ ′۴۸ °۴۸	″۴۶ ′۳۷ °۳۷	۱۶۵۰	۸/۶	۸۸۸
گلستان	مسیر توسکستان (پایین‌بند)	″۳۳ ′۳۴ °۵۴	″۴۱ ′۴۴ °۳۶	۵۰۰	۱۳/۹	۶۵۱/۳
	مسیر توسکستان (میان‌بند)	″۲۰ ′۳۵ °۵۴	″۳۵ ′۴۳ °۳۶	۹۳۰	۱۳/۷	۲۶۶
	مسیر توسکستان (بالابند)	″۹۳ ′۳۴ °۵۴	″۹۱ ′۴۱ °۳۶	۱۶۵۰	۱۲/۱	۱۹۸

روش پژوهش

در هرکدام از شش منطقه مورد مطالعه در جهت شیب جنوبی، پنج پایه درختی توسکای ییلاقی با سن مشابه در فاصله حدود ۱۰۰ متری از یکدیگر انتخاب شدند (Danquash *et al*., 2011). از هر پایه، ۲۰ برگ در بلوغ کامل و بدون آلودگی از شاخه بیرونی نیمه بالایی تاج‌پوشش در سمت جنوبی درخت جمع‌آوری شد. نمونه‌ها مخلوط شدند (Aas *et al*., 1994) و به‌طور تصادفی پنج برگ از بین آن‌ها جدا شد (Yosefzadeh *et al*., 2009). درمجموع ۷۵۰ نمونه برگ از ۳۰ پایه توسکای ییلاقی انتخاب شد. از این تعداد نمونه برگ، ۴۵۰ نمونه مربوط به اندازه گیری‌های مورفولوژیکی، ۱۵۰ نمونه مربوط به آناتومی و ۱۵۰ نمونه مربوط به پژوهش‌های فیزیولوژیکی است. آزمایش‌های آنزیم در شرایط سرد (ازت مایع) به آزمایشگاه منتقل و در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری‌های آناتومیکی و اپیدرم نمونه های برگ در الکل ۷۰ درصد تثبیت شدند.

درمجموع، ۱۰ متغیر برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی در نظر گرفته شد. برای محاسبه مقدار کل محتوای قندهای محلول از روش آنترون (Irigoyen *et al*., 1992)، پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) و فنل کل به‌روش متانول (Etebarian, 1988) استفاده شد. اندازه‌گیری رنگ‌دانه‌های گیاهی شامل کلروفیل‌های a و b، کاروتنوئید و کلروفیل کل با استفاده از روش استون انجام شد (Lichtenthaler & Wellburn, 1983). فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز نیز به‌ترتیب با استفاده از روش‌های استفاده‌شده توسط Ghanati و همکاران (۲۰۰۲)، Siminis و همکاران (۱۹۹۴) و Giannopolitis و Ries (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد.

دو صفت مورفولوژیکی شامل سطح و ضخامت برگ به‌ترتیب با استفاده از دستگاه مساحت‌سنج مدل Light. AOX. 230V, GATEHOUSE, U.K. برحسب سانتی‌متر مربع و کولیس ورنیه برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شدند. دوازده صفت آناتومیکی برگ شامل تراکم و طول روزنه در سطح پایینی، تراکم کرک‌های غده‌ای در سطح پایینی، ضخامت سلول‌های کوتیکول در دو سطح پایینی و بالایی، ضخامت سلول‌های اپیدرمی در سطح بالایی، عرض و ضخامت سلول‌های نردبانی، ضخامت سلول‌های اسفنجی، ضخامت رگ‌برگ میانی (اصلی) و ضخامت و تعداد سلول‌های پارانشیم پایینی رگ‌برگ میانی با روش برش‌گیری دستی و با استفاده از اصطلاحات رایج در ریخت‌شناسی (Anatomy) گیاهان (Metcalfe & Chalk, 1950) تعیین شد. اندازه‌گیری‌های مربوط به روزنه، کرک و صفات دیگر با استفاده از

میکروسکوپ نوری Olympus مدل CH30 مجهز به میکرومتر انجام شد (Hosseini Sarghein *et al.*, 2011).

به‌منظور تحلیل‌های آماری پس از تایید نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به‌ترتیب با آزمون‌های کولموگروف- سمیرنوف و لون، میانگین و اشتباه معیار برای ۲۴ صفت مورد نظر در هر منطقه به‌دست آمد.

بررسی نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها، میانگین و اشتباه معیار برای ۲۴ صفت مورد نظر در هر منطقه به‌دست آمد. از آنالیز واریانس دوطرفه برای بررسی اثر عوامل بوم‌شناختی منطقه (دما و بارش) و برهم‌کنش آن‌ها بر متغیرهای مورد مطالعه استفاده شد. روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA: Principal Component Analysis) نیز برای تعیین مهم‌ترین صفات در رویشگاه‌ها، همبستگی بین آن‌ها و ارتباط عوامل بوم‌شناختی با این صفات به‌کار برده شد. همه آنالیزهای آماری در نرم‌افزارهای SPSS 22 و Minitab 16 انجام گرفت. نقشه موقعیت جغرافیایی مناطق مورد مطالعه نیز با استفاده از نرم‌افزار ArcGIS 10.3 تهیه شد.

نتایج

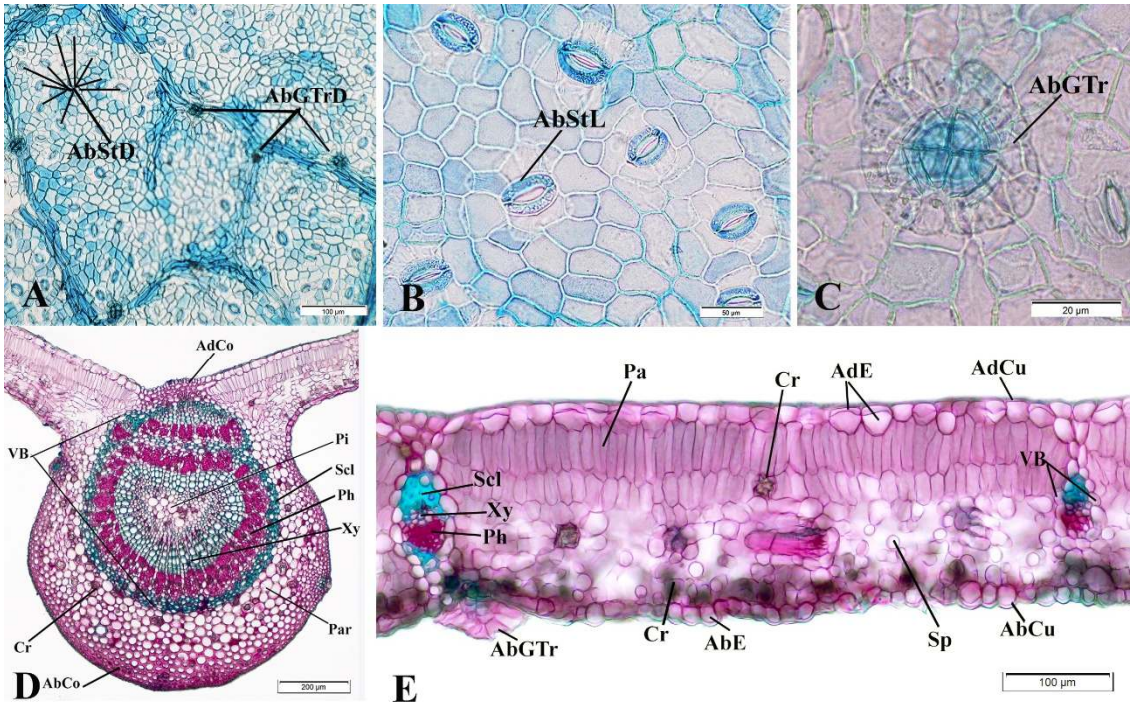
نتایج تجزیه واریانس ۲۴ متغیر فیزیولوژیکی، آناتومیکی و مورفولوژیکی برگ درختان توسکای ییلاقی تحت تأثیر عوامل بوم‌شناختی میانگین دما (ارتفاع از سطح دریا) و مقدار بارش (منطقه جغرافیایی) در جدول ۲ آمده است. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و مقدار فنل و پرولین بین مناطق مختلف جغرافیایی، اختلاف معنی‌داری داشتند. به‌طوری‌که مقدار آنزیم‌های مذکور و پرولین در برگ‌های توسکای ییلاقی مربوط به رویشگاه‌های استان گلستان به‌طورمعنی‌داری کم‌تر از استان گیلان بودند، اما مقدار فنل برگ در استان گلستان بیش از ۱/۵ برابر استان گیلان بود. باوجود عدم معنی‌داری اثرات متقابل دما و بارش بر کاتالاز، عوامل بوم‌شناختی مذکور بر مقدار آنزیم پراکسیداز، اثرات متقابل معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد داشتند. با افزایش ارتفاع از سطح دریا، فعالیت سوپراکسیددیسموتاز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین، اثرات متقابل دما و بارش بر فعالیت این آنزیم در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار بود. قند محلول در برگ‌های توسکای ییلاقی از پایین‌بند تا میان‌بند افزایش و سپس در بالابند کاهش نشان داد. اثرات متقابل عوامل بوم‌شناختی بر مقدار قند محلول نیز معنی‌دار نبود.

اندازه سطح و ضخامت برگ، تراکم روزنه و طول آن در سطح پایینی، تراکم کرک‌های غده‌ای در سطح پایینی، ضخامت سلول‌های کوتیکول در هر دو سطح اپیدرم و ضخامت سلول‌های اپیدرمی سطح بالایی برگ بین دو استان و در شیب ارتفاعی، اختلاف معنی‌دار داشتند. درحالی که طول روزنه در سطح پایینی و ضخامت سلول-های اپیدرمی سطح بالایی، تنها، بین دو استان اختلاف معنی‌دار داشتند. تفاوت عرض و ضخامت سلول‌های نردبانی، ضخامت سلول‌های اسفنجی، ضخامت رگ‌برگ اصلی، ضخامت و تعداد لایه‌های سلول‌های پارانشیمی در سطح پایینی رگ‌برگ اصلی بین طبقات مختلف ارتفاعی در سطح اطمینان حداقل ۹۹ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). ساختار سلول‌های اپیدرم پایینی (روزنه و کرک غده‌ای) و ساختار تشریحی برش عرضی برگ توسکای ییلاقی در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج تجزیه واریانس و اثرات متقابل عوامل بوم‌شناختی بر ویژگی‌های کمی آناتومیکی برگ در توسکای ییلاقی را می‌توان به‌تفصیل در Abbas-Azimi و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده کرد.

جدول ۲- میانگین ± اشتباه معیار صفات فیزیولوژیکی، آناتومیکی و مورفولوژیکی برگ توسکای ییلاقی تحت تأثیر ارتفاع از سطح دریا و منطقه جغرافیایی و اثرات متقابل آن‌ها

متغیر	میانگین ± اشتباه معیار					سطح معنی‌داری		
	گیلان	گلستان	هر دو استان			استان	ارتفاع	استان × ارتفاع
	سه طبقه ارتفاعی		پایین‌بند	میان‌بند	بالابند			
کلروفیل a (mg/g F.W.)	۴/۰۹±۰/۰۴	۴/۱±۰/۰۶	۴/۱±۰/۰۸	۴/۱۱±۰/۰۴	۴/۰۷±۰/۰۶	ns	ns	ns
کلروفیل b (mg/g F.W.)	۲/۳±۰/۱۸	۲/۲۶±۰/۱۳	۱/۹۳±۰/۱۸	۲/۴۶±۰/۱۴	۲/۴۵±۰/۲۱	ns	ns	ns
کلروفیل کل (mg/g F.W.)	۶/۳۹±۰/۲۱	۶/۳۶±۰/۱۵	۶/۰۳±۰/۲۲	۶/۵۶±۰/۱۴	۶/۵۳±۰/۲۶	ns	ns	ns
کاروتنوئید (mg/g F.W.)	۱/۳±۰/۰۴	۱/۱±۰/۰۱	۱/۱۹±۰/۰۴	۱/۲۳±۰/۰۵	۱/۱۹±۰/۰۶	ns	ns	ns
کاتالاز (U/ml)	۱۶۰/۱۲±۲۲/۰۸	۸۴/۰۸±۱۹	۱۳۲/۱۳±۳۱/۷۵	۸۶/۲۱±۲۰/۵۷	۱۴۷/۹۶±۲۸/۳۳	**	ns	ns
پراکسیداز (U/ml)	۰/۱۵±۰/۰۱	۰/۱۳±۰/۰۱	۰/۱۵±۰/۰۱	۰/۱۴±۰/۰۱	۰/۱۵±۰/۰۱	*	ns	*
سوپراکسیددیسموتاز (U/ml)	۲۳/۰۴±۱/۸۵	۲۲/۴۶±۲/۹۷	۱۴/۲۸±۱/۴۸	۲۲/۸۲±۲/۵۷	۳۱/۱۶±۲	ns	***	**
فنل (µg/g F.W.)	۹۷/۵۸±۲/۸۸	۱۴۴/۲۳±۶/۵۵	۱۱۵/۷±۸/۴۵	۱۲۱/۲۵±۹/۸۸	۱۲۵/۷۷±۱۱/۲۳	***	ns	ns
قندهای محلول (µg/g D.W.)	۴۹۲/۴۱±۵۹/۲۷	۶۲۴/۳±۷۴/۴	۵۹۰/۵۸±۵۹/۹۵	۶۸۰/۶۵±۸۵/۷	۴۰۳/۸۳±۸۴/۷۷	ns	*	ns
پرولین (µg/g F.W.)	۱/۴۸±۰/۱۲	۱±۰/۱۲	۱/۳۲±۰/۱۸	۱/۲۹±۰/۱۷	۱/۱±۰/۱۴	ns	ns	ns
سطح برگ (cm^2)	۵۵/۳۷±۱/۸۱	۴۴/۷۵±۱/۲۲	۵۲/۸۹±۲/۲۵	۵۱/۰۸±۲/۰۹	۴۶/۰۲±۱/۵۷	***	*	ns
ضخامت برگ (mm)	۰/۱۳±۰	۰/۱۸±۰	۰/۱۶±۰/۰۱	۰/۱۷±۰/۰۱	۰/۱۸±۰	***	***	***
تراکم روزنه‌های سطح پایینی ($no.\ mm^2$)	۱۸۸/۸۴±۴/۷۳	۱۷۴/۸۵±۴/۹۱	۱۷۵/۵۴±۶/۱۳	۱۷۱/۰۸±۵/۹۱	۱۹۹/۱۳±۵/۱۳	*	**	ns
طول روزنه سطح پایینی (µm)	۲۹/۰۱±۰/۲۹	۳۲/۲۶±۰/۳	۳۰/۱۷±۰/۴۸	۳۰/۴۷±۰/۴۲	۳۱/۳۱±۰/۳۷	***	ns	ns
تراکم کرک‌های غده‌ای سطح پایینی ($no.\ mm^2$)	۷۶/۸۷±۰/۶۱	۷۲/۳۹±۰/۷۱	۷۶/۳۲±۰/۸۱	۷۴/۹۵±۰/۸۷	۷۲/۵۴±۰/۸۷	***	**	***
ضخامت کوتیکول سلول‌های بالایی (µm)	۴/۷±۰/۱۲	۴/۳۵±۰/۰۹	۴/۴۸±۰/۱۴	۴/۷۶±۰/۱۴	۴/۳۳±۰/۱	*	*	**
ضخامت کوتیکول سلول‌های پایینی (µm)	۳/۲۳±۰/۱۳	۲/۶۹±۰/۱	۲/۸۴±۰/۱۳	۲/۸±۰/۱۴	۳/۲۴±۰/۱۷	**	*	**
ضخامت سلول‌های اپیدرم بالایی (µm)	۲۰/۱۹±۰/۵۲	۲۳/۰۴±۰/۴۱	۲۱/۴۴±۰/۶۴	۲۱/۹۶±۰/۶۹	۲۱/۴۷±۰/۴۸	***	ns	ns
عرض سلول‌های نردبانی (µm)	۹/۲۲±۰/۱۶	۹/۲۷±۰/۱۷	۸/۸۴±۰/۱۸	۹/۸۶±۰/۱۹	۹/۰۴±۰/۲۱	ns	***	***
ضخامت سلول‌های نردبانی (µm)	۷۰/۴۳±۱/۵۶	۷۰/۷۵±۱/۴۸	۶۴/۴۴±۱/۳۵	۶۹/۵۲±۲/۱۲	۷۷/۹۶±۱/۴۷	ns	***	**
ضخامت سلول‌های اسفنجی (µm)	۶۴/۹۶±۱/۴۳	۶۶/۸۸±۱/۵۷	۶۰/۳۶±۱/۵۴	۶۴/۷۸±۲/۰۳	۷۲/۷۸±۱/۴۶	ns	***	**
ضخامت رگ‌برگ میانی (µm)	۱۱۰۰/۳±۱۸/۹	۱۰۵۴/۸±۱۹/۸	۱۰۰۶/۹±۱۸/۸	۱۰۹۱/۲±۲۷/۲	۱۱۳۵/۲±۲۱/۴	ns	***	ns
ضخامت سلول‌های پارانشیم پایینی رگ‌برگ میانی (µm)	۱۳۹/۸۹±۴/۴	۱۳۴/۱۹±۴/۹۴	۱۳۳/۸۴±۶/۴۴	۱۲۶/۷۲±۴/۶۸	۱۵۰/۷۸±۵/۴۸	ns	**	ns
تعداد سلول‌های پارانشیم پایینی رگ‌برگ میانی)	۴/۹۵±۰/۱۴	۴/۸۷±۰/۱۴	۴/۸±۰/۱۶	۴/۵۲±۰/۱۶	۵/۴۱±۰/۱۷	ns	**	ns

*** معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹/۹ درصد؛ ** معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد؛ * معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد؛ ns غیرمعنی‌دار



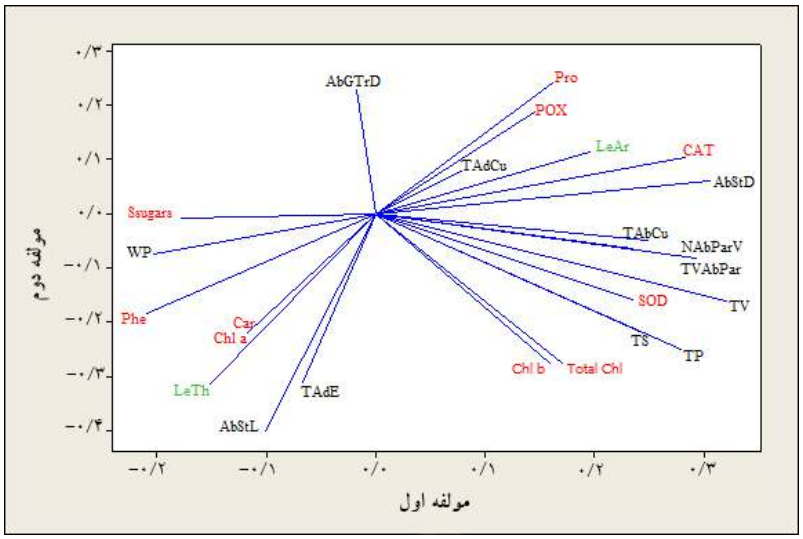
شکل ۲- ویژگی‌های آناتومیکی برگ توسکای ییلاقی

A، **B** و **C**: سلول‌های اپیدرم پایینی، **D**: رگ‌برگ میانی، **E**: پهنک، **AbStD**: تراکم روزنه‌های سطح پایینی، **AbStL**: طول روزنه سطح پایینی، **AbGTrD**: تراکم کرک غده‌ای سطح پایینی، **AbGTr**: کرک غده‌ای سطح پایینی، **Par**: سلول‌های پارانشیم رگ‌برگ میانی، **AdCo**: سلول‌های کلانشیم بالایی رگ‌برگ میانی، **AbCo**: سلول‌های کلانشیم پایینی رگ‌برگ میانی، **Scl**: سلول‌های اسکلرانشیم، **Pi**: سلول‌های مغزی، **Cr**: کریستال، **Ph**: آوند آبکش، **Xy**: آوند چوبی، **AdCu**: کوتیکول سلول‌های بالایی، **AbCu**: کوتیکول سلول‌های پایینی، **AdE**: سلول‌های اپیدرم بالایی، **AbE**: سلول‌های اپیدرم پایینی، **Pa**: سلول‌های نردبانی، **Sp**: سلول‌های اسفنجی و **VB**: دسته‌های آوندی.

براساس نتایج به‌دست‌آمده از روش PCA، سه مؤلفه اصلی شامل مؤلفه‌های اول، دوم و سوم به‌ترتیب با ۲۱/۷، ۱۷/۷ و ۱۳/۳ درصد، درمجموع ۵۲/۷ درصد از واریانس کل را به‌خود اختصاص دادند (جدول ۳). ۳۰/۲ درصد از واریانس کل نیز به مؤلفه‌های چهارم تا هشتم تعلق داشت. مهم‌ترین متغیرهایی که در بخش مثبت مؤلفه اول با یکدیگر همبستگی داشتند، شامل کلروفیل b، کلروفیل کل، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، تراکم روزنه‌های سطح پایینی، ضخامت کوتیکول سلول‌های پایینی، ضخامت سلول‌های نردبانی، ضخامت سلول‌های اسفنجی، ضخامت رگ‌برگ میانی، ضخامت سلول‌های پارانشیمی پایینی رگ‌برگ میانی و تعداد سلول‌های پارانشیمی پایینی رگ‌برگ میانی بودند (شکل ۳). مقدار این صفات با افزایش ارتفاع از سطح دریا و کاهش دما افزایش یافت. در بخش منفی مؤلفه اول با کاهش دما و افزایش ارتفاع از سطح دریا، مقدار قندهای محلول کم شد (شکل ۴). مهم‌ترین متغیرها در بخش مثبت مؤلفه دوم شامل پراکسیداز، پرولین، سطح برگ و تراکم کرک‌های غده‌ای سطح پایینی بودند (شکل ۳). مقدار بارش در مؤلفه دوم با این متغیرها همبستگی مثبت نشان داد و به‌عنوان مهم‌ترین عامل محیطی در افزایش یا کاهش آن‌ها تأثیرگذار بود (شکل ۴). ازسوی دیگر، مقدار متغیرهای فنل، ضخامت برگ، طول روزنه سطح پایینی و ضخامت سلول‌های اپیدرم بالایی در بخش منفی مؤلفه دوم با مقدار بارش، همبستگی منفی داشتند (شکل‌های ۳ و ۴). کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید و کلروفیل کل در بخش منفی مولفه سوم با یکدیگر همبستگی داشتند. مؤلفه سوم با یکدیگر همبستگی نشان دادند (شکل ۳).

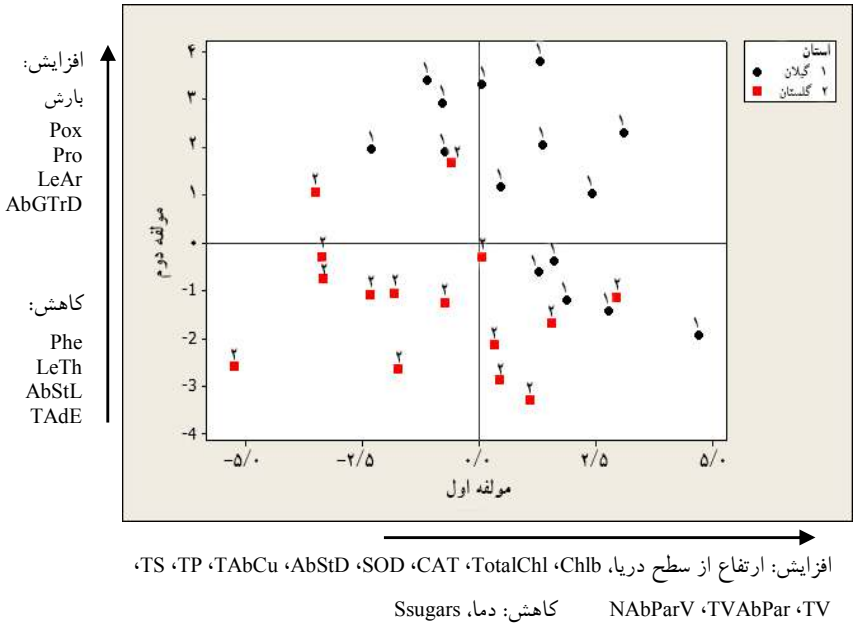
جدول ۳- مقدار ویژه و واریانس ۲۴ صفت مورد بررسی برای هشت مؤلفه در روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

	مؤلفه اول	مؤلفه دوم	مؤلفه سوم	مؤلفه چهارم	مؤلفه پنجم	مؤلفه ششم	مؤلفه هفتم	مؤلفه هشتم
مقدار ویژه	۵/۲۴۱	۴/۲۴	۳/۱۹۹	۲/۳۴۸	۱/۶۶۵	۱/۳۹۳	۰/۹۸۴	۰/۸۶۴
واریانس تبیین‌شده (درصد)	۲۱/۷	۱۷/۷	۱۳/۳	۹/۸	۶/۹	۵/۸	۴/۱	۳/۶
واریانس تجمعی (درصد)	۲۱/۷	۳۹/۴	۵۲/۷	۶۲/۵	۶۹/۴	۷۵/۲	۷۹/۳	۸۲/۹



شکل ۳- رسته‌بندی صفات فیزیولوژیکی، آناتومیکی و مورفولوژیکی برگ توسکای ییلاقی با مؤلفه‌های اول و دوم در روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

Chl a: کلروفیل a، **Chl b**: کلروفیل b، **Total Chl**: کلروفیل کل، **Car**: کاروتنوئید، **CAT**: کاتالاز، **POX**: پراکسیداز، **SOD**: سوپراکسیددیسموتاز، **Phe**: فنل، **Ssugars**: قندهای محلول، **Pro**: پرولین، **LeAr**: سطح برگ، **LeTh**: ضخامت برگ، **AbStD**: تراکم روزنه‌های سطح پایینی، **AbStL**: طول روزنه سطح پایینی، **AbGTrD**: تراکم کرک‌های غده‌ای سطح پایینی، **TAdCu**: ضخامت کوتیکول سلول‌های بالایی، **TAbCu**: ضخامت کوتیکول سلول‌های پایینی، **TAdE**: ضخامت سلول‌های اپیدرم بالایی، **WP**: عرض سلول‌های نردبانی، **TP**: ضخامت سلول‌های نردبانی، **TS**: ضخامت سلول‌های اسفنجی، **TV**: ضخامت رگ‌برگ میانی، **TVAbPar**: ضخامت سلول‌های پارانشیم پایینی رگ‌برگ میانی و **NAbParV**: تعداد سلول‌های پارانشیم پایینی رگ‌برگ میانی. صفات فیزیولوژیکی، آناتومیکی و مورفولوژیکی به‌ترتیب با رنگ‌های قرمز، مشکی و سبز مشخص شده‌اند.



شکل ۴- رسته‌بندی ۷۵۰ نمونه برگ توسکای ییلاقی از شش منطقه مورد مطالعه براساس صفات فیزیولوژیکی، آناتومیکی و مورفولوژیکی و عوامل بوم‌شناختی

Chl b: کلروفیل b، **Total Chl**: کلروفیل کل، **CAT**: کاتالاز، **POX**: پراکسیداز، **SOD**: سوپراکسیددیسموتاز، **Phe**: فنل، **Ssugars**: قندهای محلول، **Pro**: پرولین، **LeAr**: سطح برگ، **LeTh**: ضخامت برگ، **AbStD**: تراکم روزنه‌های سطح پایینی، **AbStL**: طول روزنه سطح پایینی، **AbGTrD**: تراکم کرک‌های غده‌ای سطح پایینی، **TAbCu**: ضخامت کوتیکول سلول‌های پایینی، **TAdE**: ضخامت سلول‌های اپیدرم بالایی، **TP**: ضخامت سلول‌های نردبانی، **TS**: ضخامت سلول‌های اسفنجی، **TV**: ضخامت رگ‌برگ میانی و **TVAbPar**: ضخامت سلول‌های پارانشیم پایینی رگ‌برگ میانی و **NAbParV**: تعداد سلول‌های پارانشیم پایینی رگ‌برگ میانی.

بحث

تغییر جهانی اقلیم به‌دلیل افزایش دمای محیط ممکن است تنش گرمایی در گیاهان را به‌دنبال داشته باشد که سبب پژمردگی برگ‌ها، تغییر در ویژگی‌های آناتومیکی، فیزیولوژیکی و متابولیسم‌های اولیه و ثانویه (Shen *et al.*, 2017) و ایجاد سازوکارهای دفاعی ویژه در آن‌ها می‌شود. کمبود پژوهش‌های متمرکز و بلندمدت پایش پوشش گیاهی در ایران، بررسی واکنش‌های دفاعی گیاهان به‌ویژه درختان جنگلی به پدیده‌های گرما و خشکی را با مشکل مواجه می‌کند (Mohebi Bijarpasi *et al.*, 2019). با ارزیابی ویژگی‌های زیستی در گیاهانی با پراکنش وسیع در ارتفاعات و موقعیت‌های جغرافیایی مختلف می‌توان داده‌های مناسبی برای بررسی چگونگی پاسخ آن‌ها به محیط و درنتیجه، پیش‌بینی حضور آن‌ها در آینده جمع‌آوری کرد.

شرایط محیطی در استان گلستان، گرم‌تر و خشک‌تر از استان گیلان است. به‌طوری‌که مقدار بارش در استان گلستان کاهش و مقدار دما افزایش می‌یابد. براساس نتایج پژوهش پیش‌رو، ضخامت برگ، ضخامت سلول‌های اپیدرم بالایی، طول روزنه سطح پایینی و مقدار فنل برگ با مقدار بارش، همبستگی منفی و با افزایش دما، همبستگی مثبت داشتند (شکل ۴). براساس جدول ۲، این صفات در استان گلستان به‌طور معنی‌داری بیشتر از استان گیلان بودند ($p<۰/۰۰۱$). کاهش در دمای درونی برگ و سرعت تعرق به‌دنبال افزایش ضخامت برگ رخ می‌دهد. سلول‌های اپیدرمی، مانع از انتقال

اشعه مادون‌قرمز به مزوفیل داخلی برگ در برگ‌های بدون کرک می‌شوند (Liu *et al*., 2015; Abbas-Azimi *et al*., 2020). کرک‌های غده‌ای، نقش مهمی در کاهش جذب اوزن (O_3) برگ دارند. O_3 به‌طور عمده ازطریق روزنه به گیاهان وارد می‌شود و با واکنش با مولکول‌های آلی در آپوپلاست به‌طور مستقیم ROS را تشکیل می‌دهد (Li *et al*., 2018). حضور کرک‌های غده‌ای در توسکای ییلاقی نیز می‌تواند یکی از سازوکارهای حفاظتی آناتومیکی این درخت به‌منظور از بین بردن رادیکال‌های آزاد باشد. به‌طوری‌که این گونه با تغییر صفات آناتومیکی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی نسبت به خشک‌تر و گرم‌تر بودن محیط، واکنش دفاعی نشان می‌دهد. در پژوهش‌های دیگر نیز به نقش آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند ترکیب‌های فنلی در فرایند سم‌زدایی ROS اشاره شده است (Shen *et al*., 2017).

با افزایش مقدار بارش، همبستگی مثبتی بین سطح برگ (سازش مورفولوژیکی) و تراکم کرک‌های غده‌ای سطح پایینی (سازش آناتومیکی) با مقدار پراکسیداز و پرولین (سازش فیزیولوژیکی) مشاهده شد. این صفات در استان گیلان (غرب) نسبت به استان گلستان (شرق) به‌طور معنی‌داری بیشتر بودند. در پژوهش‌های پیشین، اثر ارتفاع از سطح دریا بر تجمع پرولین در گونه‌های درختی گزارش شده است (Lykholat *et al*., 2016). نتایج دیگر پژوهش پیش‌رو نشان داد که افزایش ارتفاع از سطح دریا و کاهش دما سبب کاهش تراکم کرک‌های غده‌ای سطح پایینی و کوچک‌تر شدن اندازه برگ‌ها می‌شود (جدول ۲). Körner و همکاران (۱۹۸۹) و Velízquez Rosas و همکاران (۲۰۰۲)، نتایج مشابهی را گزارش کردند. این پژوهشگران تأکید کردند که سطح برگ به‌شدت تحت تأثیر عوامل بوم‌شناختی به‌ویژه ارتفاع از سطح دریا و کاهش دما قرار می‌گیرد. این عوامل در کوچک شدن اندام‌ها و نیز افزایش در ضخامت دیواره سلولی و ضخامت برگ، نقش دارند. فتوسنتز، تعرق، تنفس و جذب نور به‌طور مستقیم با سطح برگ و تراکم روزنه‌ها ارتباط دارند (Avci & Aygün, 2014). بسته شدن روزنه‌های سطح برگ به‌دنبال تنش خشکی سبب استرس اکسیداتیو و تجمع ROS می‌شود (Liu *et al*., 2011; Wang *et al*., 2014). کاهش سطح برگ، افزایش ضخامت آن و تراکم بیشتر کرک‌ها ازجمله راهبردهای جلوگیری از خشکی در درختان هستند (Tariq *et al*., 2018).

پراکسیداز ممکن است با تأثیر بر تجمع فنل‌ها و قندها، نقش مهمی در مسیرهای متابولیکی آن‌ها داشته باشد (Lykholat *et al*., 2016). Zare-Maivan و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که با افزایش ارتفاع از سطح دریا در جنگل‌های هیرکانی، مقدار آنزیم پراکسیداز در برگ‌های توسکای ییلاقی و افرا پلت (*Acer velutinum* Boiss.) کاهش یافت، درحالی‌که Mohebi Bijarpasi و همکاران (۲۰۱۸)، نتایج معکوسی را برای راش شرقی به‌دست آوردند. در پژوهش پیش‌رو، اختلاف معنی‌داری بین مقدار پراکسیداز برگ‌های توسکای ییلاقی در تغییرات شیب ارتفاعی مشاهده نشد. همبستگی مثبت بین مقدار کاتالاز برگ و ارتفاع از سطح دریا (شکل ۴) در این پژوهش درراستای نتایج گزارش‌شده توسط Zare-Maivan و همکاران (۲۰۱۵) و Mohebi Bijarpasi و همکاران (۲۰۱۸) بر روی توسکای ییلاقی، افرا پلت و راش شرقی در جنگل‌های هیرکانی و Lykholat و همکاران (۲۰۱۶) بر روی ون و بلوط قرمز اروپایی در جنگل‌های استپی اوکراین بود.

در مؤلفه اول PCA، صفات آناتومیکی مانند تراکم روزنه های سطح پایینی، ضخامت کوتیکول سلول‌های پایینی، ضخامت سلول‌های نردبانی، ضخامت سلول‌های اسفنجی، ضخامت رگ‌برگ میانی و ضخامت سلول‌های پارانشیم پایینی رگ‌برگ میانی با یکدیگر و با صفات فیزیولوژیکی کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز و عوامل بوم‌شناختی ارتفاع از سطح دریا (پایین‌بند، میان‌بند و بالابند) همبستگی مثبت نشان دادند، درحالی‌که همبستگی متغیرهای ذکرشده با دما و قندهای محلول، منفی بود (شکل‌های ۳ و ۴). مطابق با نتایج پژوهش پیش‌رو، Saeedi و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که تراکم روزنه‌های برگ راش شرقی از پایین‌بند تا میان‌بند و از غرب به شرق جنگل‌های هیرکانی، روند کاهشی دارد. در مقیاس جهانی، حداقل درمورد گیاهان علفی، رژیم تابشی بر

تراکم روزنه‌های برگ تأثیر می‌گذارد، اما این متغیر، ارتباط مشخصی با ارتفاع از سطح دریا نشان نمی‌دهد. (Körner *et al*., 1989). به‌طورکلی، تراکم روزنه‌های برگ در شیب ارتفاعی زیاد می‌شود. سپس در نزدیکی حد بالایی انتشار گونه، کاهش می‌یابد. دمای کم و شدت نور زیاد در ارتفاعات بالا با تأثیر بر توزیع و تراکم روزنه‌ها سبب افزایش ضخامت مزوفیل برگ می‌شوند. به‌طوری‌که آن‌ها را به برگ‌های بسیار کارآمد برای فتوسنتز تبدیل می‌کنند (Körner *et al*., 1989). به‌نظر می‌رسد که تراکم روزنه‌ها، نوعی تکامل و سازگاری مهم برای تعادل بهینه به‌منظور دستیابی به نور همراه با تبادل گاز است. ازطرف دیگر، کمبود آب نیز ممکن است افزایش تراکم روزنه‌ها را به‌دنبال داشته باشد (Muir, 2018). در پژوهش پیش‌رو با افزایش ارتفاع از سطح دریا در هر دو استان گیلان و گلستان، روند کاهش بارندگی مشاهده شد (جدول ۱). همبستگی مثبت بین ضخامت سلول‌های نردبانی، ضخامت سلول‌های اسفنجی و تراکم روزنه‌های سطح پایینی با ارتفاع از سطح دریا و روند افزایشی مشابه آن‌ها (جدول ۲، شکل‌های ۳ و ۴) نشان‌دهنده سازش بهتر برگ در ارتفاعات هیرکانی و شرایط سخت‌تر محیطی است. ضخامت کوتیکول زیرین برگ نیز مانند تراکم روزنه‌ها با افزایش ارتفاع از سطح دریا ابتدا کاهش و سپس، روند افزایشی نشان داد (جدول ۲). Velízquez Rosas و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی ویژگی‌های برگ ۴۳ گونه غالب درختی در جنگل‌های بارانی جنوب مکزیک گزارش کردند که همبستگی مثبتی بین ضخامت پهنک، سلول‌های نردبانی و پارانشیم اسفنجی با ارتفاع از سطح دریا وجود دارد، اما این رابطه برای ضخامت کوتیکول، معنی‌دار نبود. به‌طور معمول، کوتیکول ضخیم، تراکم روزنه‌ای زیاد و پارانشیم‌های نردبانی و اسفنجی ضخیم از ویژگی‌های گیاهانی هستند که در رویشگاه‌های خشک‌تر حضور دارند (Velízquez Rosas *et al*., 2002; Thadani *et al*., 2009).

هدایت هیدرولیکی ممکن است در درختان بلند کاهش یابد. ازاین‌رو حتی در شرایطی که رطوبت خاک، عامل محدودکننده‌ای برای رشد گیاهان محسوب نمی‌شود، جلوگیری از کمبود آب در برگ، مهم است (Hubbard *et al*., 1999). به‌عبارت‌دیگر، مجموعه‌ای از صفات مورفولوژیکی، آناتومیکی و فیزیولوژیکی همسو نشان‌دهنده نوعی سازگاری برای جلوگیری از دست دادن آب به‌ویژه در گونه‌های درختی مانند توسکای ییلاقی است. نتایج آنالیز اثر متقابل عوامل بوم‌شناختی در پژوهش پیش‌رو نشان داد که برهم‌کنش دما و مقدار بارندگی بر تعدادی از صفات برگ، معنی‌دار بود (جدول ۲). هرچند در مناطق مورد مطالعه با افزایش ارتفاع از سطح دریا، دما کم می‌شود، اما کاهش بارش در ارتفاعات، نقش اصلی را در سازگاری صفات برگ توسکای ییلاقی به‌سمت خشکی‌رُست (Xerophyte) شدن ایفا می‌کند. در مؤلفه دوم PCA نیز مقدار بارش، نقش اصلی را در همبستگی با صفات برگ نشان داد (شکل ۴).

رفتار عملکردی گیاه در ارتباط با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در مؤلفه اول مانند صفات آناتومیکی ذکرشده، افزایشی بود (شکل ۴). آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز مانند یک تیم دفاعی عمل می‌کنند که هدف مشترک آن‌ها، دفاع در برابر اثرات مخرب انواع ROS است. فعالیت کاتالاز در شرایط رشد طبیعی به‌طور معمول کم است و فقط در غلظت به‌نسبت زیاد H_2O_2 یا در شرایط تنش افزایش می‌یابد تا از سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیدازهای دیگر که در هموستازی ROS نقش دارند، پشتیبانی کند. سوپراکسیددیسموتاز نه‌تنها اولین خط دفاعی، بلکه تنها آنزیمی است که قادر به تبدیل O_2 به H_2O_2 و کاهش خطر تشکیل رادیکال‌هیدروکسیل (HO^-) به‌عنوان یکی از واکنش‌پذیرترین انواع اکسیژن (O_2) است. ازاین‌رو، سوپراکسیددیسموتاز، موقعیت کلیدی در شبکه آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارد (Papalia *et al*., 2018). در پژوهش پیش‌رو نیز با افزایش ارتفاع از سطح دریا و کاهش مقدار بارش، تفاوت معنی‌داری در فعالیت این آنزیم مشاهده شد (جدول ۲).

مقدار قندهای محلول در استان گلستان به‌طور معنی‌داری بیشتر از استان گیلان بود و با دما، همبستگی مثبت داشت (جدول ۲، شکل‌های ۳ و ۴). یکی از راه‌های پایداری رشد سلولی و جلوگیری از آسیب سلول‌ها از کم‌آبی، کاهش فعالانه

پتانسیل اسمزی با ورود آب به سلول است که با افزایش قندهای محلول صورت می‌گیرد. این ترکیب‌ها، نقش مهمی در حفظ تعادل اسمزی، محافظت از درشت‌مولکول‌ها و نیز غشاها دارند و از این طریق، گیاه را در برابر خشک‌سالی و کم‌آبی مقاوم می‌کنند (Tariq *et al*., 2018).

به‌طور معمول، کمبود آب سبب کاهش محتویات کلروفیل و کاروتنوئیدها می‌شود (Guo *et al*., 2016; Tariq *et al*., 2018). کلروفیل‌های a و b، کاروتنوئید و به‌طورکلی کلروفیل کل بین استان گیلان و گلستان و در شیب ارتفاعی، اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۲)، اما همه این صفات در مؤلفه سوم PCA با یکدیگر، همبستگی مثبت نشان دادند. در مؤلفه اول نیز همبستگی مثبتی بین کلروفیل b و کلروفیل کل با ارتفاع از سطح دریا مشاهده شد (شکل ۳). کاروتنوئیدها در گیاهان به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی از تشکیل اکسیژن واحد جلوگیری می‌کنند. کاروتنوئیدها می‌توانند حالت سه‌گانه‌شده کلروفیل را خاموش کنند، بنابراین آن‌ها به‌طور غیرمستقیم شکل‌گیری اکسیژن واحد را کاهش می‌دهند (Siefermann-Harms, 1987). Mohebi Bijarpasi و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی برگ‌های راش شرقی در جنگل‌های گیلان گزارش کردند که با افزایش ارتفاع از سطح دریا، همبستگی منفی بین اندازه سطح برگ این گونه با مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید وجود دارد. در پژوهش پیش‌رو نیز بین مقدار کاروتنوئید و کلروفیل a با اندازه سطح برگ، همبستگی منفی مشاهده شد (شکل ۳).

باتوجه‌به تغییر اقلیم و گرمایش جهانی، نیاز به درک بهتری از وضعیت جنگل‌ها در آینده احساس می‌شود. به‌طوری‌که باید واکنش هر گونه گیاهی نسبت به تغییرات آب‌وهوایی بررسی شود. در سطح درون‌گونه، جمعیت‌ها در انتخاب راهبردهای رشد و سازوکارهای مورفولوژیکی، آناتومیکی و فیزیولوژیکی خود برای مقابله با تنش آبی، عملکرد متفاوتی دارند. علت این موضوع ممکن است با زیستگاه آن‌ها مرتبط باشد. زیرا هر جمعیت، راهبردهای مختلف سازگاری یا عادت به محیط‌های جدید را دنبال خواهد کرد (Borrajo *et al*., 2018). مقایسه ویژگی‌های مختلف برگ توسکای ییلاقی در دو محیط مرطوب (ارتفاعات پایین و استان گیلان) و به‌نسبت خشک (ارتفاعات بالاتر و استان گلستان) نشان داد که اگر این گونه با خشکی مواجه شود، سازگاری‌های احتمالی فیزیولوژیکی شامل افزایش در مقدار فنل، سوپراکسیددیسموتاز، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاتالاز و سازگاری‌های مهم مورفولوژیکی و آناتومیکی شامل افزایش در ضخامت برگ، تراکم و طول روزنه سطح پایینی، ضخامت کوتیکول سلول‌های پایینی، ضخامت سلول‌های اپیدرمی، ضخامت سلول‌های نردبانی، ضخامت سلول‌های اسفنجی، ضخامت رگ‌برگ میانی، ضخامت سلول‌های پارانشیمی پایینی رگ‌برگ و تعداد لایه‌های سلول‌های پارانشیمی پایینی رگ‌برگ را در پیش می‌گیرد. آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و پراکسیداز در شرایط استرس‌زا تولید می‌شوند و به‌عنوان شاخص تنش‌های روزانه یا موضعی در یک گیاه استفاده می‌شوند (Zare-Maivan *et al*., 2015). به‌نظر می‌رسد سازش‌های آناتومیکی که در طی مدت طولانی در گیاهان ایجاد می‌شوند، شاخص‌های مناسب‌تری برای سنجش تنش خشکی در گیاهان هستند، بنابراین توصیه می‌شود که در جنگل‌کاری‌های آینده با این گونه باارزش هیرکانی، ژنوتیپ‌هایی انتخاب شوند که سازگاری‌های محیطی و آناتومیکی لازم را در طی زمان به‌دست آورده باشند.

سپاسگزاری

از آقای دکتر بهنام حمزه برای ارائه نظرات ارزشمند و ارتقاء علمی مقاله سپاس‌گزاری می گردد. همچنین از آقای دکتر علی اشرف جعفری و آقای دکتر محمد حسین صادق زاده حلاج برای برای راهنمایی در تجزیه و تحلیل‌های آماری، خانم‌ها دکتر آناهیتا شریعت برای راهنمایی در کارهای محاسباتی آزمایشگاهی مربوط به آنزیم، مهندس فائزه تقوی، مهندس طاهره علیزاده، دکتر الهام نوری و مهندس صدیقه نجفی برای همکاری در مراحل انجام کارهای آزمایشگاهی آنزیم و از آقایان مهندس اسداله کریمی دوست، مهندس محمد کریم مقصودلو و دکتر طهمورث خزایی و

مهندس باباخانجانی شیراز و نیز خانم مهندس مائده فدایی خجسته نیز برای کمک در عملیات میدانی تشکر می‌گردد. از مسئولین محترم موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور برای فراهم نمودن امکانات لازم جهت انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Aas, G., Maier, J., Baltisberger, M. and Matzger, S., 1994. Morphology, isozyme variation, cytology, and reproduction of hybrids between *Sorbus aria* (L.) Crantz and *S. torminalis* (L.) Crantz. Botanica Helvetica, 104(2): 195-214.
- Abbas-Azimi, R., Jalili, A., Bakhshi-Khaniki, Gh., Sobhanian, H. and Matinizadeh, M., 2020. Effect of latitude and longitude on quantitative changes of some anatomical and morphological features of *Alnus subcordata* C. A. Mey. leaves in Hyrcanian forests. Iranian Journal of Botany, 26(1): 75-90.
- Akhani, H., Djamali, M., Ghorbanalizadeh, A. and Ramezani, E., 2010. Plant biodiversity of Hyrcanian relict forests, N Iran: an overview of the flora, vegetation, palaeoecology and conservation. Pakistan Journal of Botany, 42(1): 231-258.
- Avci, N. and Aygün, A., 2014. Determination of stomatal density and distribution on leaves of Turkish hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. Journal of Agricultural Sciences, 20(4): 454-459.
- Bates, I.S., Waldern, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207.
- Borrajo, C.I., Sánchez-Moreiras, A.M. and Reigosa, M.J., 2018. Morpho-physiological responses of tall wheatgrass populations to different levels of water stress. Plos One, 13(12): e0209281.
- Danquash, J.A., Appiah, M. and Ari, P., 2011. Leaf morphometric variation in two species of African mahoganies: *Khaya ivorensis* and *Khaya anthotheca* (Meliaceae). European Journal of Scientific Research, 54(3): 325-338.
- Etebarian, H.R., 1988. Investigation of quantitative phenolic changes in different barley cultivars during the growth of *Puccinia hordei* fungi and their relationship with the resistance of these cultivars to barley brown rust disease. Journal of Plant Diseases, 24(1): 61-69 (In Persian).
- Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H., 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cells. Soil Science and Plant Nutrition, 48(3): 357-364.
- Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K., 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology, 59(2): 309-314.
- Guo, Q.Q., Li, H.E. and Zhang, W.H., 2016. Variations in leaf functional traits and physiological characteristics of *Abies georgei* var. *smithii* along the altitude gradient in the Southeastern Tibetan Plateau. Journal of Mountain Science, 13(10): 1818-1828.
- Hosseini Sarghein, S., Carapetian, J. and Khara, J., 2011. The effects of UV radiation on some structural and ultrastructural parameters in pepper (*Capsicum longum* A.DC.). Turkish Journal of Biology, 35(1): 69-77.
- Hubbard, R.M., Bond, B.J. and Ryan, M.G., 1999. Evidence that hydraulic conductance limits photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees. Tree Physiology, 19(3): 165-172.
- Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and Sánchez Díaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84(1): 58-60.
- Körner, C., Neumayer, M., Menendez-Riedl, S.P. and Smeets-Scheel, A., 1989. Functional morphology of mountain plants. Flora, 182(5-6): 353-383.
- Li, S., Tosens, T., Harley, P.C., Jiang, Y., Kanagendran, A., Grosberg, M., ... and Niinemets, Ü., 2018. Glandular trichomes as a barrier against atmospheric oxidative stress: relationships with ozone uptake, leaf damage, and emission of LOX products across a diverse set of species. Plant, Cell and Environment, 41(6): 1263-1277.
- Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11(5): 591-592.
- Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., ... and Yang, R., 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. Environmental and Experimental Botany, 71(2): 174-183.
- Liu, Y., Li, X., Chen, G., Li, M., Liu, M. and Liu, D., 2015. Epidermal micromorphology and mesophyll structure of *Populus euphratica* heteromorphic leaves at different development stages. PLos One, 10(9): e0137701.
- Lykholat, Y., Khromyk, N., Ivan'ko, I., Kovalenko, I., Shupranova, L. and Kharytonov, M., 2016. Metabolic responses of steppe forest trees to altitude-associated local environmental changes. Agriculture and Forestry, 62(2): 163-171.
- Metcalfe, C.R. and Chalk, L., 1950. Anatomy of the

protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. Physiologia Plantarum, 69(3): 561-568.
- Siminis, C.I., Kanellis, A.K. and Roubelakis-Angelakis, K.A., 1994. Catalase is differentially expressed in dividing and nondividing protoplasts. Plant Physiology, 105(4): 1375-1383.
- Stavrianakou, S., Liakopoulos, G., Miltiadou, D., Markoglou, A.N., Ziogas, B.N. and Karabourniotis, G., 2010. Antifungal and antibacterial capacity of extracted material from non-glandular and glandular leaf hairs applied at physiological concentrations. Plant Stress, 4(1): 25-30.
- Tariq, A., Pan, K., Olatunji, O.A., Graciano, C., Li, Z., Sun, F., ... and Zhang, A., 2018. Phosphorous fertilization alleviates drought effects on *Alnus cremastogyne* by regulating its antioxidant and osmotic potential. Scientific Reports, 8(1): 5644.
- Thadani, R., Berlyn, G.P. and Ashton, M.S., 2009. A comparison of leaf physiology and anatomy of two Himalayan oaks in response to different light environments. Journal of Sustainable Forestry, 28(1-2): 74-91.
- Velízquez Rosas, N., Meave, J. and Vízquez Santana, S., 2002. Elevational variation of leaf traits in montane rain forest tree species at La Chinantla, Southern México. Biotropica, 34(4): 534-546.
- Wang, R., Yu, G., He, N., Wang, Q., Xia, F., Zhao, N., ... and Ge, J., 2014. Elevation-related variation in leaf stomatal traits as a function of plant functional type: evidence from Changbai Mountain, China. PLoS One, 9(12): e115395.
- Yosefzadeh, H., Akbarian, M.R. and Akbarinia, M., 2009. Variation in leaf morphology of *Parrotia persica* along an elevational gradient in Eastern Mazandaran Province (N. Iran). Rostaniha, 9(2): 178-189 (In Persian).
- Zare-Maivan, H., Lotfi Fard, F. and Tayebi, Z., 2015. Stress response of dominant forest tree species south of the Caspian Sea in relation to soil from coast to upland. Journal of the Persian Gulf, 6(22): 1-12.
- Zarrabi, M.M., Talaai, A., Soleimani, A. and Haddad, R., 2011. Physiological characteristic and biochemical changes six olive (*Olea europaea* L.) cultivars under drought stress. Journal of Horticultural Science, 24(2): 234-244 (In Persian).

Dicotyledons. Leaves, Stem, and Wood in Relation to Taxonomy with Notes on Economic Uses, Volume II. Clarendon Press, Oxford, 1500p.
- Mohebi Bijarpasi, M., Rostami Shahraji, T. and Samizadeh Lahiji, H., 2018. Study of antioxidant enzymes activity of *Fagus orientalis* Lipsky to environmental changes along altitude gradient (Case Study: Guilan forests, Masal). Nova Biologica Reperta, 5(2): 95-105 (In Persian).
- Mohebi Bijarpasi, M., Rostami Shahraji, T. and Samizadeh Lahiji, H., 2019. Effect of elevation gradient on morphological and physiological responses of *Fagus orientalis* Lipsky leaves in Guilan forests. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 26(4): 577-590 (In Persian).
- Muir, C.D., 2018. Light and growth form interact to shape stomatal ratio among British angiosperms. New Phytologist, 218(1): 242-252.
- Papalia, T., Panuccio, M.R., Sidari, M. and Muscolo, A., 2018. Reactive oxygen species and antioxidant enzymatic systems in plants: role and methods: 177-193. In: Sánchez-Moreiras, A.M. and Reigosa, M.J. (Eds.). Advances in Plant Ecophysiology Techniques. Springer, Cham, 497p.
- Rezai, Gh., Yezdian, F., Shafizadeh, F. and Hedayati, M.A., 2014. Effects of altitiudinal variation on physical and physiological characteristics of alder seeds (*Alnus Subcordata* C.A.M) (case study Vaz forest management plan-district 1). Journal of Natural Ecosystems of Iran, 5(1): 15-22 (In Persian).
- Saeedi, Z., Azadfar, D. and Saghebtalebi, Kh., 2015. Leaf stomata characteristics diversity of oriental beech in Hyrcanian forests. Journal of Wood and Forest Science and Technology, 22(1): 167-184 (In Persian).
- Saeedi, Z., Azadfar, D., Saghebtalebi, Kh. and Tohidfar, M., 2021. Study of the ecological characteristics of *Fagus orientalis* Lipsky in four different sites of Hyrcanina forests. Journal of Forest Research and Development, 7(1): 1-13 (In Persian).
- Shen, H.F., Zhao, B., Xu, J.J., Liang, W., Huang, W.M. and Li, H.H., 2017. Effects of heat stress on changes in physiology and anatomy in two cultivars of *Rhododendron*. South African Journal of Botany, 112: 338-345.
- Siefermann-Harms, D., 1987. The light-harvesting and

The effects of ecological factors on physiological, anatomical and morphological adaptations of *Alnus subcordata* C.A.Mey. in the Hyrcanian Forests

R. Abbas-Azimi [1*], A. Jalili [2], Gh. Bakhshi-Khaniki [3], M. Matinizadeh [4] and H. Sobhanian [5]

1*- Corresponding author, Ph.D. Student of Plant Physiology , Department of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran. E-mail: rouhangiz_azimi@yahoo.com
2- Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, AREEO, Tehran, Iran
3- Prof., Department of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran
4- Associate Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, AREEO, Tehran, Iran
5- Assistant Prof., Department of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran

Received: 10.07.2021 Accepted: 13.09.2021

Abstract

The effects of ecological factors and their interaction on quantitative changes of 10 physiological, 12 anatomical and two morphological traits of leaves in six different populations of Caucasian alder (*Alnus subcordata* C.A.Mey.) in the west (Guilan province) and east (Golestan province) of Hyrcanian forests were examined and statistically compared in three altitudinal ranges of lowlands, midlands and highlands. Two-way analysis of variance was used to investigate the effect of ecological factors in the region (temperature and precipitation) and their interaction on the studied variables. The principal component analysis (PCA) was used for the correlation between leaf traits and the relationship between environmental factors. The activity of catalase, peroxidase enzymes and proline were significantly different between the two provinces and showed an increasing trend from west to east. In addition, the amount of phenol in the site located in Golestan province was about 1.5 times that of Guilan province. There was no significant difference between the levels of superoxide dismutase activity and the amount of soluble sugar between the two provinces. Superoxide dismutase showed an increasing trend from lowlands to highlands, but the amount of soluble sugar increased from low altitudes to midlands and decreased in the highlands. There was no significant difference in the amount of chlorophylls a and b, total chlorophyll and carotenoids between the two provinces and at different altitudes, as well as the effects of the interaction of ecological factors on them. The most important morphological and anatomical adaptations to drought included increased leaf thickness, stomata density and length, abaxial cuticle thickness, epidermal cell thickness, thickness of palisade cells, thickness of spongy cells, middle vein thickness, thickness of vein abaxial parenchyma cells and number of abaxial parenchyma layers of vein. There was a correlation between most leaf physiological as well as morphological traits and ecological factors. The results of analysis of variance and the interaction of ecological factors on some anatomical features of Caucasian alder leaves were significant. It seems that the anatomical adaptations that are formed in plants over a long period of time are more appropriate indicators for measuring drought stress in plants.

Keywords: Catalase, ecophysiology, epidermal traits, peroxidase, proline, stomata.