

مطالعات ریخت شناسی و ریزریخت شناسی برای تعیین جایگاه آرایه‌شناختی دو گونه

N. kotschy و *Nepeta persica*فاطمه ربیع زاده^{۱*}، فرزانه بهادری^۲^۱ایران، سمنان، دانشگاه سمنان، پردیس فرزندگان، گروه زیست شناسی، ^۲ایران، سمنان، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی سازمان آموزش و

ترویج (AREEO)

مسئول مکاتبات: فاطمه ربیع زاده f.rabizade@semnan.ac.ir

چکیده. ایران با دارا بودن حدود ۷۹ گونه از سرده پونه‌سا به عنوان یکی از مناطق پیدایش این سرده تلقی می‌شود. در حدود ۷۷ درصد از گونه‌های شناسایی شده این سرده در ایران، گونه‌های انحصاری هستند. گونه پونه‌سای ایرانی که در منابع مرجع گیاهشناسی به عنوان گونه‌ای مستقل به نام پونه‌سا نامیده می‌شد، در فلور ایران موقعیت آرایه‌شناختی گونه *Nepeta persica* به واریته‌ای از گونه *Nepeta kotschy* تغییر یافته است. در این تحقیق صحت جایگاه آرایه‌شناختی این دو گونه با بررسی صفات مختلف ریخت‌شناختی و ریزریخت‌شناختی آنها مانند ارتفاع گیاه، اندازه برگ‌ها، تاج پوشش، نوع کرک‌ها و فندقه، با استفاده از تصاویر استریومیکروسکوپ الکترونی (SEM) و مطالعات آماری SPSS و بررسی معنی‌داری صفات توسط نرم افزار ANOVA مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که اختلاف معنی‌داری در ویژگی‌هایی مانند شکل برگ‌ها، کرک‌ها و روزنه‌های آن و همچنین ارتفاع آنها وجود دارد. هر چند در اندازه و شکل بذرها به وضوح اختلافی مشاهده نشد. هر دو گونه دارای فندقه‌های مشبک با زوائد زگیل مانند بودند. همچنین شکل ظاهری کرک‌های بلند در برگ‌های دو گونه کاملاً متفاوت هستند به طوری که در گونه *N. persica* دارای زوائد زگیل مانند ولی در گونه *N. persica* با سطح صاف هستند. بر اساس داده‌های به دست آمده از مطالعات آرایه‌شناختی دو گونه *N. persica* و *N. kotschy* و نتایج مطالعات ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی و تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح برگ‌ها که برای اولین بار در این مقاله آورده شده است پیشنهاد مستقل بودن دو گونه ارائه گردید.

واژه‌های کلیدی: انحصاری، ایران، پونه‌سا، گونه، نعنائیان

Morphological and micromorphological analyses of two species of *N. persica* and *Nepeta kotschy* to determine their taxonomic statusFatemeh Rabizadeh¹, Farzane Bahadori²¹ Iran, Semnan, Semnan University, Farzanegan Campus, Department of biology, ² Iran, Semnan, Research center of Agricultural and natural resources, Education and Extension Organization (AREEO)

Corresponding author: Fatemeh Rabizadeh, f.rabizade@semnan.ac.ir

Abstract. Iran, home to about 79 species of the genus Lamiaceae, is a key region for this genus, with 77% of these species being exclusive to the country. An Iranian *Nepeta* species, initially classified as a separate species, was reclassified as a variety of *Nepeta kotschy* in the flora of Iran (Jamzad, 2012). This study aimed to verify the taxonomic position of these two species by examining various morphological and micromorphological traits, including plant height, leaf size, canopy, hair type, and nuts, using stereo electron microscope (SEM) photos and SPSS statistical analysis. The results showed significant differences between *N. persica* and *N. kotschy* in leaf shape, hair apertures, and plant height. Although seed size and shape differences were not clearly observed, both species had reticulated nuts with papillae. Additionally, the long hairs on the leaves of the two species differed, with *N. persica* having papillae on its hairs, while *N. kotschy* had smooth-surfaced hairs. These findings suggest that *N. persica* and *N. kotschy* are independent species.

Key words. Endemic, Labiatae, *Nepeta*, Iran, Species

Received 01.04.2024/ Revised 07.06.2024/ Accepted 22.07.2024/ Published 17.09.2024

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۳۰؛ اصلاح: ۱۴۰۳/۰۳/۱۸؛ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۱؛ انتشار: ۱۴۰۳/۰۶/۲۷

مقدمه

تیره نعنا (Lamiaceae / Labiatae) دارای گیاهان دارویی و معطر مهمی است که برخی در تولید عسل و صنایع آرایشی-بهداشتی و غذایی بسیار مهم هستند و برخی مانند مریم گلی، نعنا، آویشن و مرزه به عنوان ادویه مورد استفاده قرار می‌گیرند. وجود ترکیبات شیمیایی، از جمله ترپنوئیدها و فلاونوئیدها باعث خواص آنتی اکسیدانی در گیاهان این تیره می‌شوند (Baghizadeh et al. 2018). همچنین تعداد زیادی از گیاهان زینتی در این تیره شناخته شده‌اند که به طور گسترده در باغبانی و محوطه‌سازی مورد استفاده قرار می‌گیرند. جنوب غربی آسیا با ۶۶ سرده و حدود ۱۱۰۰ گونه یکی از مراکز تنوع این تیره است (Hedge and Wendelbo, 1978). در میان کشورهای جنوب غرب آسیا، ایران با ۴۶ سرده و ۴۰۶ گونه (Rechinger et al. 1982; Jamzad 2012) و ترکیه با ۴۵ سرده و ۵۳۰ گونه (Davis, 1982) بیشترین تعداد گونه را از این تیره دارند. از دیدگاه بومی‌گرایی (Localism)، Lamiaceae با ۱۶۵ گونه انحصاری ک تیره مهم در فلور ایران است (Rechinger et al. 1982; Jamzad, 2012). بیشتر گونه‌های بومی در منطقه ایران-تورانی، مهم‌ترین و گسترده‌ترین منطقه جغرافیایی گیاهی ایران، پراکنش دارند (Briquet, 1896). طبق آخرین طبقه‌بندی خانواده نعنا در ایران شامل پنج زیرتیره Viticoideae، Ajugoideae، Scutellarioideae، Lamioideae و Nepetoideae است (Talebi et al. 2018; Talebi et al., 2022). Nepetoideae با ۲۴۲ گونه بزرگترین زیرتیره است و شامل ۲۸ سرده می‌شود که ۱۶ سرده آن در ایران رویش دارند (Jamzad, 2013).

سرده *Nepeta* L. با حدود ۳۰۰ گونه یکی از بزرگترین سرده‌ها در تیره Lamiaceae، زیرتیره Nepetoideae، قبيله Mentheae محسوب می‌شود (Pojarkova, 1954; Baser et al., 2000; Jamzad et al., 2005). مطالعات مولکولی ITS ریبوزوم هسته‌ای (nrITS) نشان داد که سرده *Nepeta* کاملاً تک نیایی (Monophyletic) است (Jamzad et al, 2003). گونه‌های آن در سراسر آسیای

جنوب غربی و مرکزی، اروپا، شمال آفریقا، آمریکای شمالی و مرکزی، ژاپن، کره، چین و جزایر قناری پراکنده هستند (Pojarkova, 1954; Jamzad et al., 2000). بیشتر گونه‌ها در آسیای جنوب‌غربی به ویژه ایران، آسیای مرکزی و قفقاز یافت می‌شوند. ایران یکی از خاستگاه‌های اصلی این سرده با ۷۹ گونه گزارش شده است (Mozaffarian, 1998, 2013). در فلور ایرانیکا ۶۳ گونه از *Nepeta* ذکر شده است (Rechinger et al, 1982)، اما اکنون این تعداد به ۷۵ گونه افزایش یافته‌است که حدود ۷۷٪ آنها انحصاری هستند (Jamzad and Assadi, 1984; Delghandi, 1993). برخی از گونه‌های نپتا در طب سنتی ایران بیشتر به عنوان مدر، معرق، ضدسرفه، ضد اسپاسم، ضد آسم، تب‌بر، منافذ و آرام‌بخش استفاده می‌شوند (Zargari, 2011). شکل و اندازه برگ، ویژگی‌های کاسه گل و تاج گل از جمله ویژگی‌های مورفولوژیکی مهم در تشخیص گونه‌های نپتا هستند (Dirmenci et al. 2023) اغلب گونه‌های سرده *Nepeta* چند ساله علفی، دارای ساقه‌های محکم، برگ‌های قلبی شکل متقابل و اغلب معطر هستند. دارای گل‌های لوله‌ای به رنگ صورتی تا بنفش باشند. کاسه گل لوله‌ای تا فنجانی است. گل‌ها دارای ۴ پرچم بدون بدون کرک هستند. میوه‌ها از نوع فندقه (nut) با سطح صاف تا زگیل مانند هستند (Hassan et al. 2011). گزارش‌های زیادی در رابطه با فعالیت‌های بیولوژیکی متابولیت‌های ثانویه سرده *Nepeta* وجود دارد که اهمیت این سرده را نشان می‌دهد.

Nepeta kotschy Boiss. و *N. persica* Boiss. (پونه-سای ایرانی) به صورت گونه‌های مستقل معرفی شدند (Boisser, 1879). *Nepeta kotschy* Boiss. در فلورا ایرانیکا در تیره Lamiaceae و در بخش Sect. *Stenostegiae* قرار گرفت. در این بخش گونه‌های *N. elymaitica* Bornm., *N. betonicifolia* C.A. Mey., *N. autraniana* Bornm., *N. crassifolia* Boiss. & Buhse, *N. speciosa* Boiss. & Noe., *N. racemose* Lam., *N. Kronenburgii* Feryn, *N. stenantha* Kotschy & Boiss., *N. persica* Boiss., *N. Kotschy* Boiss., *N. Haussknechtii* Bornm. قرار دارند (Recinger, 1982). در فلور ایران (Jamzad, 2012)

موقعیت آرایه‌شناختی گونه *N. persica* Boiss به واریته‌ای از گونه *N. kotschy* تغییر یافته است.

تاکنون مطالعات فیتوشیمیایی زیادی در مورد گونه‌های *Nepeta* انجام گرفته است. از جمله بررسی اسانس جمعیت‌های گونه انحصاری ایران *Nepeta kotschy* Boiss. انجام گرفته است (Hadi et al., 2016). نپتالاکتون-ها و فلاونوئیدها، متابولیت‌های ثانویه اصلی گونه‌های پونه‌سا و عامل اصلی ارزش دارویی و فعالیت‌های بیولوژیکی آنها است. همچنین پژوهش‌های انجام شده بر روی ترکیبات اسانس گونه‌های مختلف سرده پونه‌سا نشان می‌دهد که گونه‌ها را می‌توان بر اساس ترکیب غالب اسانس گروه بندی کرد (Hadi et al., 2016). همچنین مطالعه تنوع مواد موثره‌های ۲۱ جمعیت از گونه اندمیک *N. kotschy* Boiss. نشان داد که بین ترکیبات فیتوشیمیایی دو واریته *N. kotschy* var. *kotschy* و *N. kotschy* var. *persica* تفاوت‌های متمایزکننده‌ای وجود داشت (Hadi et al., 2016).

هدف از این مطالعه بررسی موقعیت آرایه‌شناختی دو گونه *N. persica* و *N. kotschy* با استفاده از داده‌های ریخت-شناسی و ریزریخت‌شناسی است.

مواد و روش‌ها

۱. تهیه مواد گیاهی

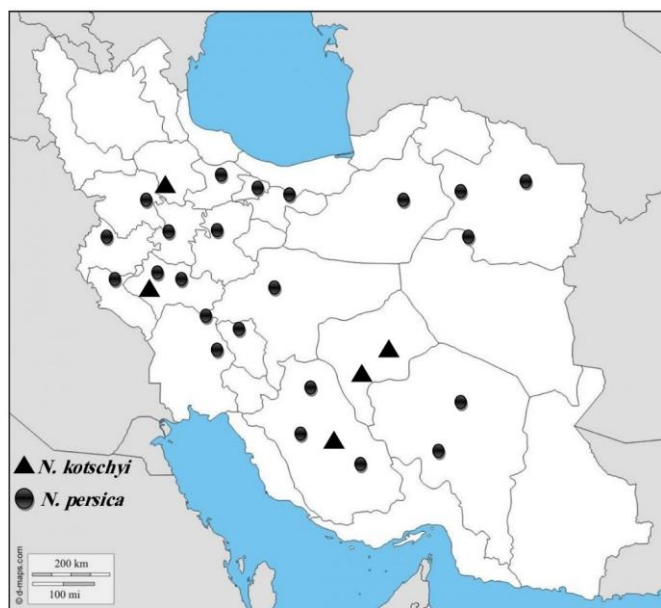
در جهت بررسی دو گونه بذره‌ای دو گونه نپتا، نمونه‌های هرباریومی و همچنین نمونه‌های تازه از کرمان و کرمانشاه از موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع (RIFR)، تهران، ایران تهیه شد. گواهی گیاه‌شناسی مواد گیاهی از هرباریوم موسسه

تحقیقات جنگل‌ها و مراتع (TARI) اخذ شد. برای مطالعات ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی، بذور گیاهی در مزارع آزمایشی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان واقع در شه‌میرزاد کشت شدند. بذرها در اوایل بهمن ماه ۱۴۰۱ داخل سینی درون گلخانه کشت شدند و نشاها در اواسط اردیبهشت به زمین اصلی در شه‌میرزاد منتقل شدند. کشت به صورت کرتی و بر روی خطوطی به فواصل ۶۰ سانتی‌متر و فاصله دو بوته روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر بود. آبیاری گیاهان در مزرعه به روش قطره‌ای و کنترل علف‌های هرز به روش مکانیکی انجام گردید. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی شه‌میرزاد واقع در ۸ کیلومتری شهرستان مهدیشهر با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۵ دقیقه شمالی و ۵۶ ثانیه، طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۲۱ دقیقه و ۱۱ ثانیه شرقی، ارتفاع از سطح دریا ۱۹۰۰ متر، حداقل درجه حرارت ۴/۹ درجه سانتی‌گراد و حداکثر درجه حرارت ۱۵/۹ درجه سانتی‌گراد، بافت خاک لومی شنی، طبقه آب و هوایی نیمه خشک سرد، میانگین بارندگی ۳۰ ساله ۲۴۵/۵۳ میلی‌متر (Jalali et al. 2016) بود. سپس اندام‌های هوایی گیاهان در سال دوم استقرار در مزرعه در مرحله گلدهی کامل برداشت شدند. از نمونه‌های گیاهی برداشت شده پس از پرس و خشک نمودن نمونه‌های هرباریومی با شماره 1431 و *(Nepeta kotschy Boiss. var. persica)* FGU و *(Nepeta kotschy Boiss. var. kotschy)* 1460 FGU تهیه شدند که در هرباریوم دانشگاه سمنان نگهداری می‌شوند (جدول ۱). پراکنش دو گونه در ایران در شکل ۱ نمایش داده شده است.

جدول ۱. مشخصات پراکنش دو آرایه *Nepeta kotschy* Boiss. var. *persica* و *Nepeta kotschy* Boiss. var. *kotschy* در فلور ایران و مشخصات منشا بذر و محیط کشت آنها

Table 1. Characteristics of the distribution of two taxa *Nepeta kotschy* Boiss. var. *kotschy* and *Nepeta kotschy* Boiss. var. *persica* in Flora of Iran and characteristics of seed origin and their cultivation environment

Taxon	Locality in Iran (Flora of Iran)	Altitude	Origin of seeds	Characteristics of the seed cultivation environment	voucher no.
<i>Nepeta kotschy</i> Boiss. var. <i>persica</i>	Endemic of Iran and Afghanistan Distribution in Iran: Borujard, Isfahan, Arak, Chahar Mahal Bakhtiari, Shahrekord, Fars's province, near Shiraz, Kerman, Kashmer, Qazvin, Khorasan, Turan protected area, Kashan, Niaser, Karaj and Tehran.	1000-500(m)	Ardakan, Yazd, Iran Taft, Yazd, Iran Khorasan, Khorasan, Iran	Shahmirzad, Semnan, Iran 35° 45' 56" N 53° 21' 11" E	1431 FGU
<i>Nepeta kotschy</i> Boiss. var. <i>kotschy</i>	Endemic of Iran Distribution in Iran: Lorestan, Hamadan, Fars, Yasuj	1700-400(m)	Buyer-ahmad, Kohgiluyeh and Buyer-ahmad, Iran		1460 FGU

شکل ۱- پراکنش دو گونه *N. kotschy* و *N. persica* در ایران**Fig. 1.** Distribution of two species *N. kotschy* and *N. persica* in Iran

۲. مطالعه ریخت‌شناسی دو گونه

مطالعات ریخت‌شناسی شامل شکل رویشی، تاج پوشش، برگ‌ها، گل‌آذین و بذرها بر روی نمونه‌های تازه و هرباریومی با تعریف کدهای N_1 و N_2 با سه تکرار برای هر گونه انجام گرفت.

۳. مطالعه ریزریخت‌شناسی دو گونه

ویژگی‌های سطح برگ از جمله طول و تراکم کرک‌های بلند و غده‌ای، مساحت و فاصله بین روزنه‌های هر دو گونه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد مطالعه قرار گرفتند. بدین منظور قطعات برگ هر دو گونه در محلول تثبیت کننده گلو تار آلدهید ۳ درصد به مدت نیم ساعت در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. سپس ۳ بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه در بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار (pH ۷/۲) شستشو داده شدند. پس از شستشو مرحله آگیری قطعات برگ با سری‌های صعودی ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد اتانول به ترتیب انجام شد. سپس جهت خشک شدن و تبخیر اتانول، نمونه‌ها بر روی کاغذ صافی قرار داده شدند. بدین صورت که بخش میانی نمونه‌های برگ‌ی نزدیک به محور اصلی با تیغ اسکالپل به قطعات کوچک میلی‌متری

برش داده شده و با استفاده از چسب‌های دو طرفه به استاب‌های آلومینیومی مخصوص میکروسکوپ الکترونی SEM چسبانده شدند و در نهایت مرحله پوشش‌دهی نمونه‌ها با استفاده از ذرات پالادیوم و سپس قرار گرفتن در دستگاه خلأ اسپاتر کوتر به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. پس از پوشش دهی با یک لایه نازک (حدود ۲۵ نانومتر) طلا با استفاده از SEM (Tescan, Vega-3 LMU) با ولتاژ شتاب دهنده ۱۵-۲۲ کیلوولت مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج بررسی کمی و کیفی ویژگی‌های ریزریخت‌شناسی در جدول ۳ و شکل‌های ۶ و ۷ ارائه شده‌اند.

۴. تجزیه و تحلیل آماری

بررسی صفات کمی و کیفی و اندازه‌گیری هر یک از گونه‌ها با ۵ تکرار صورت گرفت. پس از اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناختی و ریز ریخت‌شناختی، آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین بین گونه‌ای و درون گونه‌ای داده‌های کمی (آزمون دانکن) با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۹،۱،۳ انجام شد.



شکل ۲- A: *N. persica*; B: *N. kotschy*

Fig. 2. A: *N. persica*; B: *N. kotschy*

نتایج

مطالعات ریخت‌شناسی دو گونه *N. persica* و *N. kotschy*ویژگی‌های ریخت‌شناسی گونه *N. persica*

ساقه: گونه *N. persica* گیاهی چند ساقه‌ای، به رنگ سفید با کرک‌های غده‌ای-زگیل مانند (papilus) است، که ساقه-های آن در تمام طول خود برگی هستند. ارتفاع ساقه‌ها به طور متوسط ۴۲ سانتی متر اندازه گیری گردید (شکل ۲، جدول ۲).

برگ: برگ‌های گونه *N. persica* به طول متوسط ۱/۷ میلی متر و عرض ۱/۲ میلی‌متر اندازه گیری گردید. برگ‌ها بیضی شکل یا گرد مثلثی شکل از پایه و در بالا تیزتر، همه به طور منظم دندانه‌ای شده اند، برگ‌ها تا حدی گوشتی مشاهده گردید. برگ‌های پایینی ساقه بلند هستند، برگ‌های بالایی ساقه به تدریج کوتاه‌تر می‌شوند (شکل ۱).

تاج پوشش (canopy): متوسط تاج پوشش این گونه ۱۷۴۷/۴۱ سانتی متر مربع اندازه گیری گردید (جدول ۲).

گل آذین: گل آذین‌های گونه *N. persica* به دو شکل دارای دم‌گل (بخش‌های بالایی گیاه) و بدون دم‌گل (بخش‌های پایین گیاه) مشاهده شدند. کاسه گل به طول ۵/۵ تا ۶/۵ میلی‌متر، تاج گل یاسی سفید یا کم رنگ مشاهده گردید. جام گل‌ها ۲-۲/۵ برابر بلندتر از کاسه گل اندازه گیری شد. همچنین بساک‌ها سیاه رنگ مشاهده شدند (شکل ۴).

Nut (فندقه): در این مطالعه فندقه‌های گونه *N. persica* به طول ۱/۵ میلی‌متر، کوتاه بیضی شکل، به صورت شدیداً زگیل دار با شیارهای عرضی صاف هستند (شکل ۵).

ویژگی‌های ریخت‌شناسی گونه *N. kotschy*

ساقه: گونه *N. kotschy* گیاهی چند ساله است که در این مطالعه ارتفاع ساقه به طور متوسط ۲۴ سانتی‌متر اندازه‌گیری گردید (جدول ۲). ساقه این گونه به حالت ایستاده از قاعده کمائی، با انشعابات زیاد مشاهده گردید.

برگ: در این تحقیق برگ‌های گونه *N. kotschy* همگی به شکل بیضی-دایره‌ای، منفرد و کرک دار مشاهده گردید. طول متوسط برگ‌ها ۱/۲۶ میلی متر و عرض متوسط آنها ۰/۷ میلی‌متر اندازه‌گیری گردید (شکل ۳).

تاج پوشش (canopy): در این مطالعه تاج پوشش گونه *N. kotschy* به طور متوسط ۶۸۷/۴۰ سانتی‌متر مربع اندازه‌گیری گردید.

گل آذین: گل آذین این گونه به صورت متعدد که گل‌های بالایی اغلب بدون دم گل و گل‌های پایینی بدون دم‌گل مشاهده گردید. کاسه گل به طور میانگین ۵/۶ میلی متر اندازه گیری گردید، تاج گل آبی کم رنگ مشاهده گردید. گل‌ها ۲ برابر بلندتر از کاسه گل اندازه گیری شدند. همچنین بساک‌ها سیاه رنگ مشاهده شدند (شکل ۴).

Nut (فندقه): میوه‌ها ناصاف، سفید مایل به قرمز و به طول ۸ میلی‌متر محاسبه شد. فندقه (nut)، به طول متوسط ۱/۵ میلی‌متر اندازه‌گیری و به رنگ قهوه‌ای رنگ مشاهده شد (شکل ۵).

محاسبات آماری و بررسی معنی‌داری ویژگی‌های ریخت‌شناختی دو گونه نشان داد که برخی صفات مانند ارتفاع، عرض برگ، تاج پوشش دو گونه اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با هم دارند (جدول ۲). همچنین مقایسه دو برگ این گونه در شکل ۳ نشان می‌دهد که تفاوت‌های کاملاً مشهودی در ظاهر دو برگ از لحاظ ظاهری وجود دارد به طوریکه دندانه‌های حاشیه برگ در *N. kotschy* تیز ولی دندانه‌های حاشیه برگ در *N. persica* کندتر است و نیز پوشش برگ *N. persica* سفیدتر و کرکی‌تر از گونه *N. kotschy* است. همچنین مشاهده شد که برگ‌های گونه *N. persica* به طور کاملاً مشهودی گوشتی‌تر از برگ گونه *N. kotschy* است (شکل ۳).

جدول ۲. اندازه‌گیری اندام‌های ریخت‌شناسی دو گونه *N. kotschy* و *N. persica*

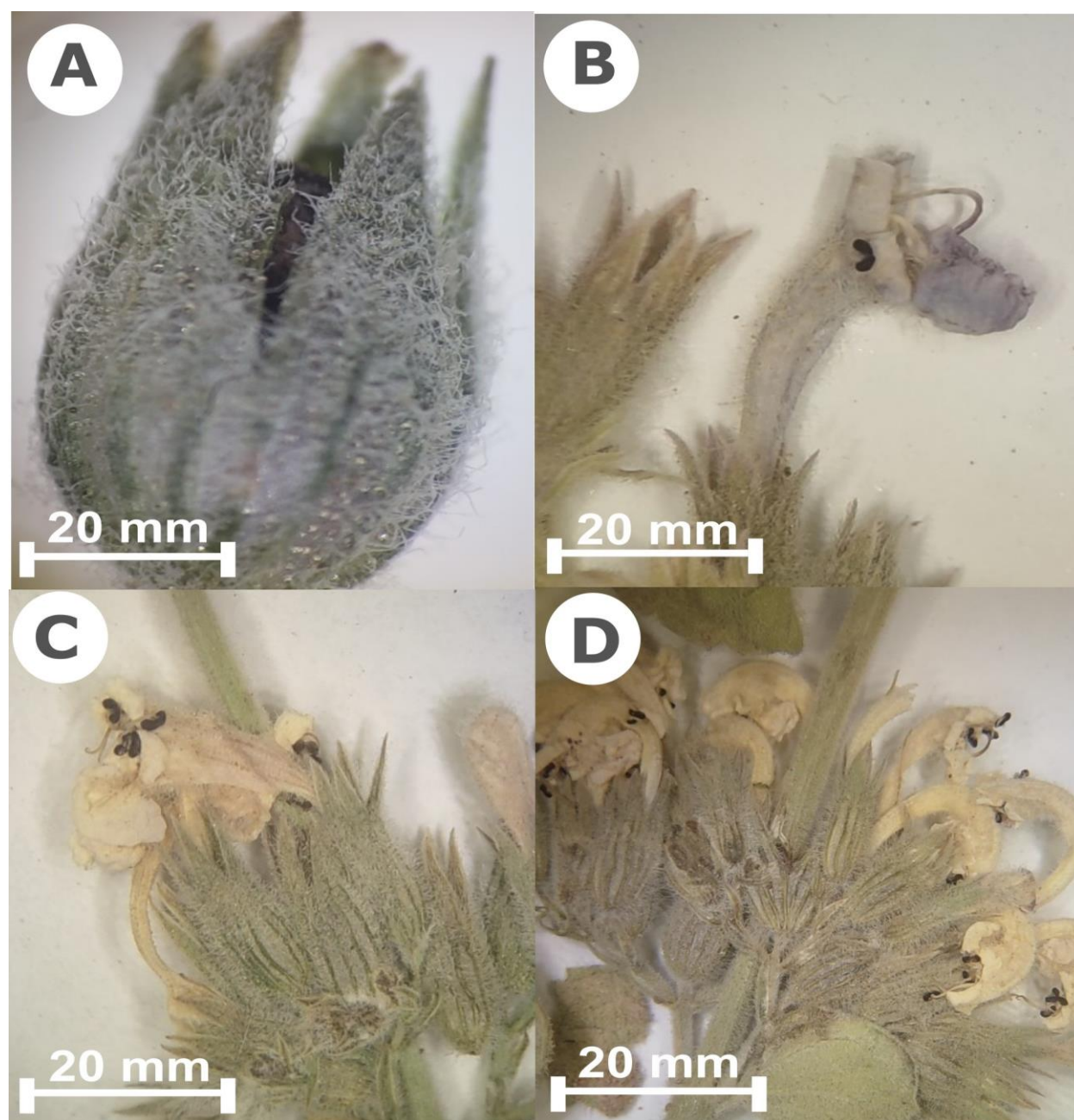
2. Measurements of morphological organs of *N. persica* and *N. kotschy* Table

Morphological organs	Mean of <i>N. persica</i>	Mean of <i>N. kotschy</i>	Sig.
Plant height (cm)	42.32	24.45	0.00*
Leaf length (mm)	1.73	0.81	0.72
Leaf width (mm)	1.26	0.7	0.22*
Canopy (cm ²)	1747.41	687.40	0.00*

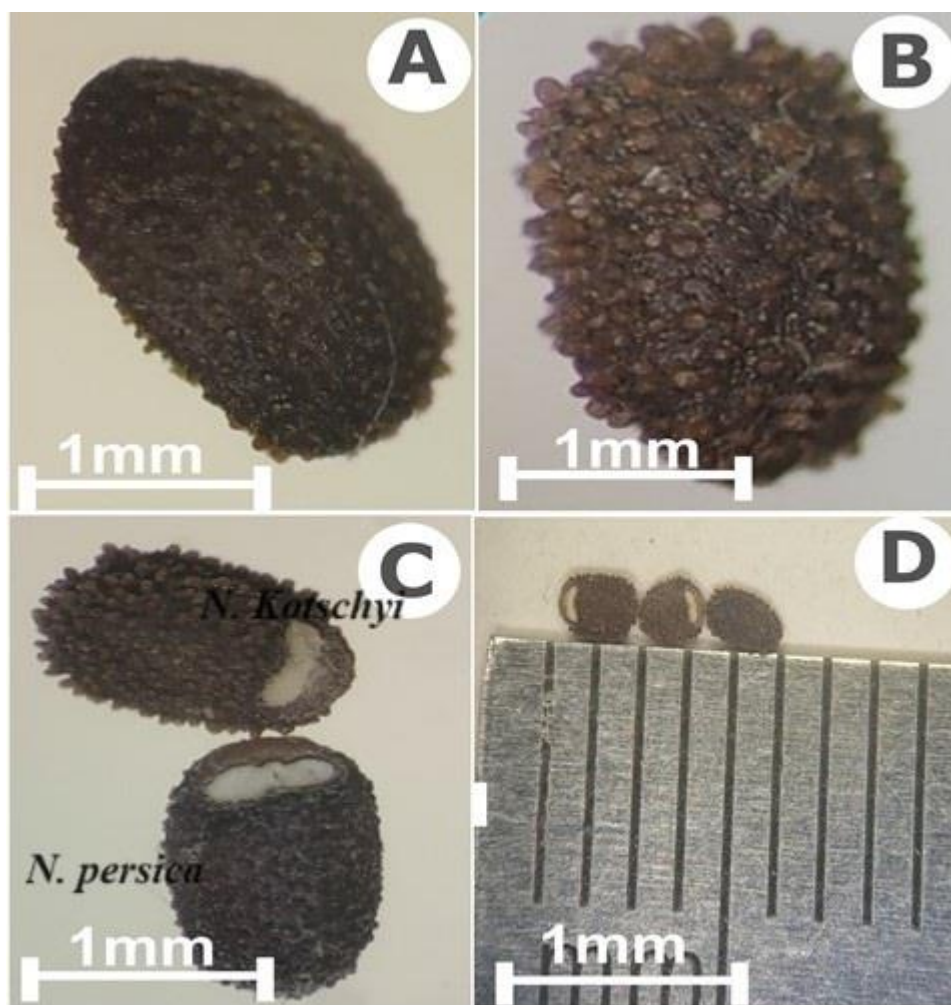


شکل ۳- مقایسه برگ دو گونه، A: *N. persica*؛ B: *N. kotschy*

Fig. 3. Comparison of leaves of two species, A: *N. persica*; B: *N. kotschy*



شکل ۴- A: کاسه گل *N. kotschy*; B: گل آذین *N. kotschy*; C: کاسه گل *N. persica*; D: گل آذین *N. persica*.
Fig. 4. A: Calyx of *N. kotschy*; B: Inflorescent of *N. kotschy*; C: Calyx of *N. persica*; D: Inflorescent of *N. persica*.



شکل ۵- نمایش بذره‌های دو گونه. A: سطح بالایی بذر *N. persica*; B: سطح بالایی بذر *N. kotschy*; C: سطح زیرین دانه‌های هر دو گونه. D: مطالعه اندازه بذر دو گونه با خط کش

Fig. 5. Showing the seeds of two species. A: The upper surface of the seed of *N. persica*; B: The upper surface of the seed of *N. kotschy*; C: The lower surface of the seeds of both species; D: Studying the sizes of seeds of two species with a ruler

طور متوسط $48/6$ میکرومتر اندازه گیری شد (شکل‌های ۶ و ۷؛ جدول ۳).

روزنه: میانگین مساحت روزنه‌ها در گونه *N. persica* $32/65$ میکرومتر محاسبه شد. همچنین میانگین فاصله روزنه‌ها $38/04$ میکرومتر اندازه گیری گردید. (شکل‌های ۶ و ۷؛ جدول ۳).

مطالعات ریزریخت‌شناختی سطح برگ‌های دو گونه *N. persica* و *N. kotschy*

ویژگی‌های ریزریخت‌شناختی سطح برگ‌های گونه *N. persica*

کرک: کرک‌ها در گونه *N. persica* تنها به شکل ساده و با طول بلند مشاهده شد. متوسط طول کرک‌ها 837 میکرومتر محاسبه شد متوسط فاصله کرک‌ها در گونه *N. persica* به

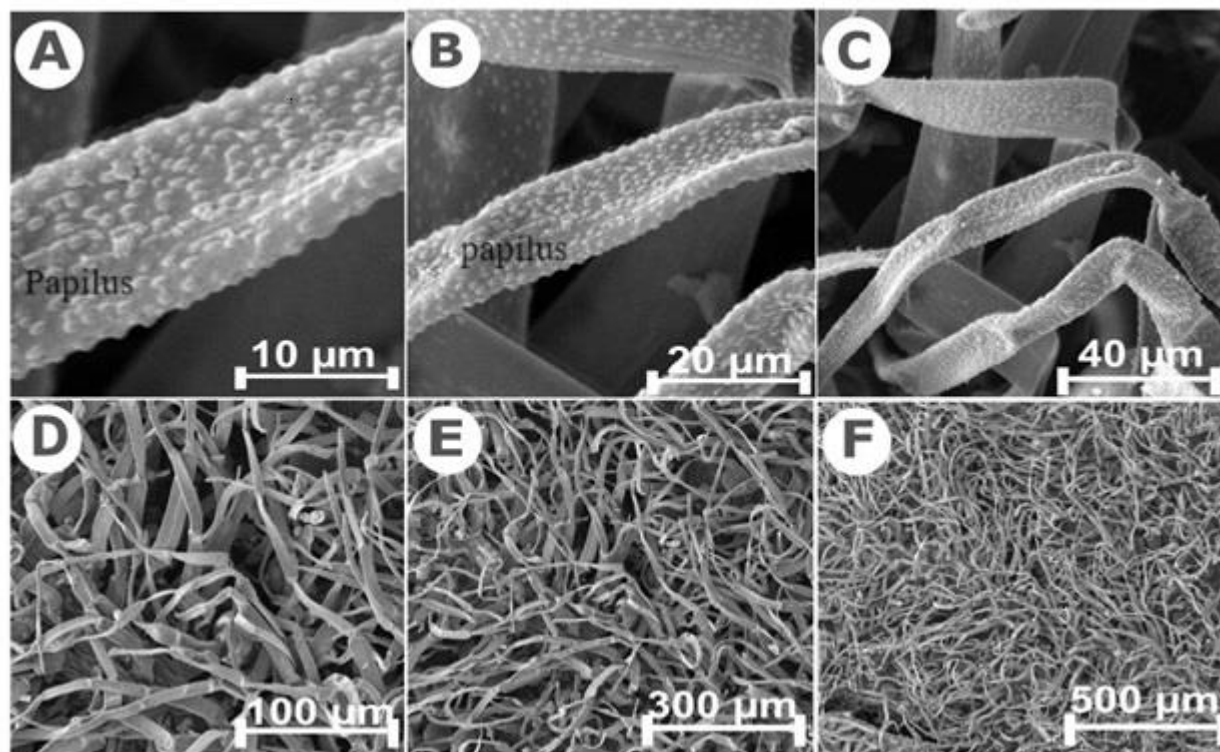
روزنه‌ها ۲۸/۳۴ میکرومتر اندازه گیری گردید (شکل‌های ۶ و ۷؛ جدول ۳).

کرک‌ها در گونه *N. persica* متراکم‌تر از گونه *N. kotschy* مشاهده شد. همچنین در روی سطح کرک‌های *N. persica* زوائد زگیل مانندی مشاهده شد که این زوائد در *N. kotschy* مشاهده نگردید (شکل‌های ۶ و ۷). محاسبات آماری و بررسی معنی‌داری در مقایسه صفات ریخت‌شناختی که توسط ANOVA انجام گردید نشان داد که تمامی صفات ریخت‌شناسی گونه اختلاف معنی‌داری را در سطح ۵٪ با هم دارند (جدول ۳).

ویژگی‌های ریخت‌شناختی سطح برگ‌های گونه *N. kotschy*

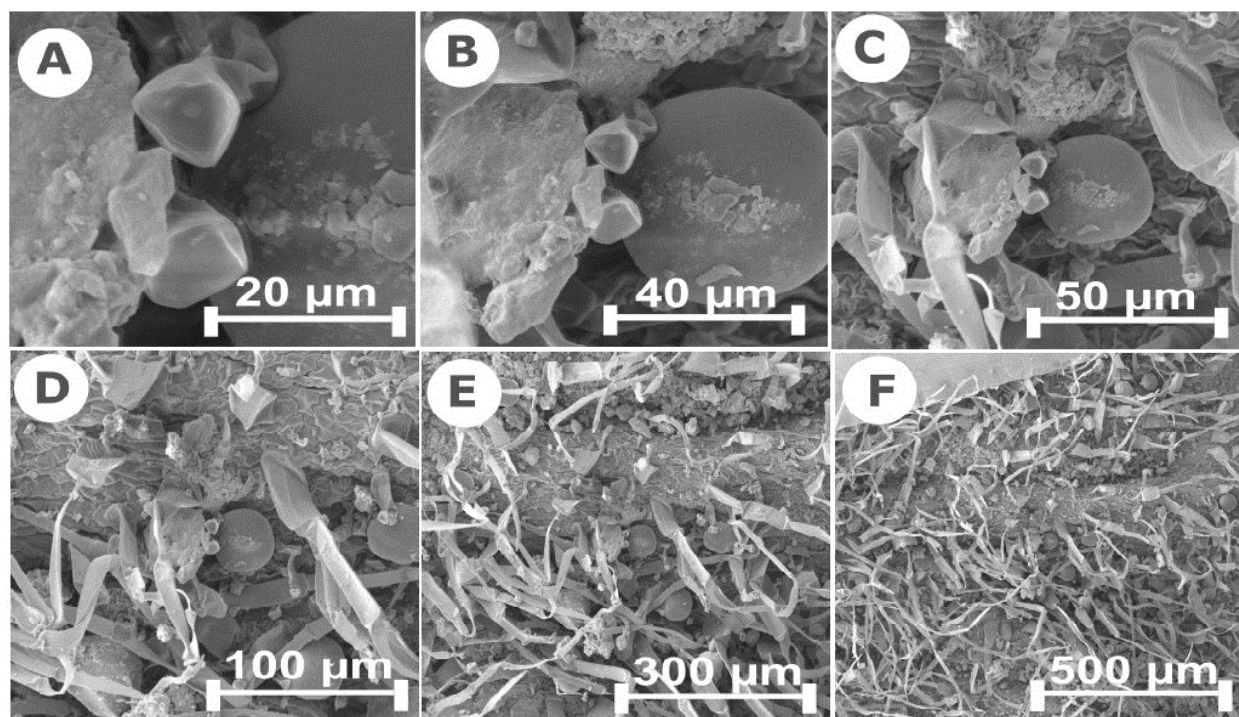
کرک: در گونه *N. kotschy* علاوه بر کرک‌های بلند کرک‌های غده‌ای نیز مشاهده گردید. متوسط طول کرک‌های بلند ۶۱۶ میکرومتر محاسبه شد. میانگین فاصله بین کرک‌ها در گونه *N. kotschy* ۸۳/۳۳ میکرومتر محاسبه شد (شکل‌های ۶ و ۷؛ جدول ۳).

روزنه: میانگین مساحت روزنه‌ها در گونه *N. kotschy* ۸۶/۶۶ میکرومتر محاسبه شد. همچنین میانگین فاصله



شکل ۶- میکروگراف‌های الکترونی روبشی سطح زیرین برگ در *N. persica*. در شکل‌های A و B کرک‌های دارای زوائد زگیل مانند یا papilus نشان داده شده است.

Fig. 6. Scanning electron micrographs of the lower surface of the leaf in *N. persica*, in figures A and B, the hairs of the papillus are shown.



شکل ۷- میکروگراف‌های الکترونی روبشی سطح زیرین برگ در *N. kotschy*

Fig.7. Scanning electron micrographs of the lower surface of the leaf in *N. kotschy*

جدول ۳. خلاصه تغییرات مشاهده شده در برگ و ویژگی‌های اپیدرمی و آماره‌های F از ANOVA گونه‌های مورد مطالعه.

Table 3. Summary of observed variation in leaf anatomy and epidermal features and F-statistics from ANOVA of the taxa studied.

آرایه	میانگین مساحت روزنه/میکرومتر	میانگین فاصله روزنه‌ها (حداقل- حداکثر)/میکرومتر	میانگین فاصله کرک‌ها (حداقل - حداکثر) میکرومتر	میانگین طول کرک‌ها (حداقل - حداکثر) میکرومتر	تراکم کرک‌ها	نوع کرک‌ها	میانگین طول گلادین (حداقل- حداکثر) میلی متر
<i>N. persica</i>	32.65	38.04(27-50)	48.6(42-56)	873.1(612-1000)	خیلی متراکم	ساده با طول بلند	5.6(4-7)
<i>N. kotschy</i>	28.34	86.66(50-100)	83.33(100-50)	616.9(426-700)	متراکم	ساده با طول بلند	6.2(5-7.5)
				57.28	با تراکم کم	غده‌ای	
Sig.	0.008*	0.32*	0.00*	0.03*	---	-	0.62

کلید شناسایی دو گونه

۱. چند ساله، علفی، ساقه ایستاده از قاعده کمائی، با انشعابات زیاد، ارتفاع گیاه متوسط ۲۵ سانتی متر..... ۳
۲. چند ساله، علفی، ساقه به رنگ سفید با کرک‌های غده‌ای-زگیل مانند (papilus) است، که ساقه‌های آن در تمام طول خود برگ‌ها هستند، ارتفاع گیاه متوسط ۴۰ سانتی متر..... ۴
۳. برگ‌ها همگی به شکل بیضی-دایره‌ای، منفرد و کرک دار، با طول متوسط ۱/۳ میلی متر و عرض متوسط ۰/۷ میلی متر..... ۵
۴. برگ‌ها به شکل بیضی یا گرد، با طول متوسط ۱/۷ میلی متر و عرض متوسط ۱/۲ میلی متر، همه به طور منظم دندانه‌ای، برگ‌های پایینی ساقه، بلند برگ‌های بالایی ساقه، کوتاه و برگ‌ها تا حدی گوشتی ۶
۵. کاسه گل به طور میانگین ۵/۶ میلی متر، گل‌ها ۲ برابر بلندتر از کاسه گل، تاج گل آبی کم رنگ، فندقه‌ها قهوه‌ای رنگ..... *N. Kotschy*
۶. کاسه گل به طول ۵/۵ تا ۶/۵ میلی متر، گل‌ها ۲-۲/۵ برابر بلندتر از کاسه گل، تاج گل یاسی سفید یا کم رنگ، فندقه‌ها کوتاه بیضی شکل، به صورت شدیداً زگیل دار با شیارهای عرضی صاف..... *N. persica*

بحث و نتیجه گیری

بر اساس مطالعات انجام گرفته دو نظر متفاوت در خصوص دو گونه نپتا وجود دارد:

۱. معرفی مستقل بودن دو گونه *N. persica* و *N. kotschy* (Boissier, 1879).
۲. معرفی گونه *N. persica* به عنوان واریته‌ای از گونه *N. kotschy* var. *N. kotschy* به شکل *N. kotschy* var. *persica* (Jamzad, 2012).

نتایج حاصل از مطالعه ریخت‌شناختی و ریزریخت‌شناختی از دو گونه *N. persica* و گونه *N. kotschy* نشان داد که اختلاف معنی‌داری در ویژگی‌های برگ مانند طول، شکل و تراکم کرک‌ها، مساحت روزنه‌ها و فاصله بین آنها، شکل برگ‌ها و همچنین ارتفاع دو گونه وجود دارد. هر چند این اختلافات در اندازه و شکل بذرها به وضوح مشاهده نشد. با وجود مغایرت‌های مشاهده‌شده استدلال مستقل بودن دو گونه *N. persica* و گونه

N. kotschy (نظر اول) مورد تأیید این مطالعه است. هرچند تفاوت‌هایی در نوع کرک‌های ساقه و کاسه گل این دو گونه نیز در فلور ایران اشاره شد و بیان شد که ساقه پوشیده از کرک‌های خوابیده، نمدی، کاسه گل بدون غده‌های ترش‌چی از ویژگی‌های *N. kotschy* و ساقه پوشیده از کرک‌های بلند گسترده ساده و کرک‌های غده‌دار کوتاه‌تر، کاسه گل با کرک‌های ساده و غده‌های ترش‌چی از ویژگی‌های گونه *N. persica* است (Jamzad, 2012). یافته‌ها ما در این مطالعه نیز این نتایج را تأیید می‌کند. مطالعات آماری این مطالعه نشان داد در صفات ریخت‌شناسی دو گونه مانند ارتفاع گیاه، عرض برگ، تاج پوشش و همچنین در صفات ریزریخت‌شناختی دو گونه مانند میانگین مساحت روزنه‌ها، فاصله روزنه‌ها، فاصله کرک‌ها و تراکم کرک‌ها تمایزهای معنی‌داری وجود داشت. علاوه بر این برخی از صفات مانند مقایسه حاشیه برگ در دو گونه نشان داد که برگ‌های گونه *N. kotschy* در حاشیه دارای دندانه‌های نوک تیز ولی در گونه *N. persica* در حاشیه دارای دندانه‌های نوک کند است. علاوه بر اینکه کرک‌ها از نظر اندازه و تراکم تفاوت‌های معنی‌داری را در دو گونه نشان دادند، بررسی عکس‌های الکترونی از دو گونه نشان داد که شکل ظاهری کرک‌های بلند در دو گونه کاملاً متفاوت است به طوری که کرک‌ها در گونه *N. persica* دارای زوائد زگیل مانند است ولی کرک‌ها در گونه *N. persica* با سطح صاف مشاهده گردید (شکل‌های ۵ و ۶). با مطالعات کرک‌های گونه‌های *Nepeta* ایرانی ثابت شده، که انواع کرک‌ها کلیدهای آرایه‌شناسی برای شناسایی گونه‌های *Nepeta* به حساب می‌آید (Talebi et al. 2018). با مقایسه نتایج کرک‌هایی حاصل از این مطالعه مشاهده شد که کرک‌های گونه‌های *N. cataria* شبیه به گونه *N. kotschy* در این مطالعه که با ظاهری صاف است و کرک‌های گونه *N. crassifolia* شبیه *N. persica* با سطوح زائده یا زگیل مانند است. همچنین کرک‌های غده‌ای در برگ‌های گونه *N. kotschy* مشاهده شد که در گونه *N. persica* مشاهده نگردید. با مطالعه فندقه‌های ۱۳ گونه از سرده *Nepeta* فندقه‌ها را به دو دسته مشبک و صاف دسته‌بندی کردند (Bhat & Tauheeda, 2012). در این مطالعه هر دو گونه *N. kotschy* و *N. persica* دارای فندقه‌های مشبک با زوائد زگیل مانند بودند (شکل ۵).

مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی گونه‌های متنوع *Nepeta* ایرانی نشان داد، که گونه *N. persica* به عنوان گونه مجزا معرفی می‌شود و همچنین داده‌های ژنتیکی و خوشه‌بندی آنها در شناسایی گونه‌ها و زیر گونه‌های *Nepeta* با طبقه‌بندی

Bahreininejad (et al., 2019) نپتالاکتون برای صنایع دارویی توصیه نمود.

نتیجه گیری کلی

بر اساس داده های به دست آمده از مطالعات آرایه‌شناختی دو گونه *N. persica* و گونه *N. kotschy* و نتایج مطالعات ریخت-شناسی و ریزریخت‌شناسی و عکس های میکروسکوپ الکترونی از سطح برگ‌ها که برای اولین بار در این مقاله ذکر شده است و همچنین اختلاف معنی داری که توسط آنالیز های آماری در صفات کمی به ویژه در کرک‌های دو گونه مشاهده گردید. می توان به طور واضح این دو گونه را جدا از هم قرار داد.

سپاسگزاری

از زحمات کارکنان مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان کمال تشکر را داریم.

Jamzad متفاوت است که یافته‌های حاصل از مطالعات ژنتیکی، طبقه‌بندی Jamzad (2012) از گونه های مورد مطالعه *Nepeta* را تأیید نمی کند (Talebi et al., 2022).

۲۳ ترکیب در اسانس گونه *N. kotschy* شناسایی گردید (Hadi et al., 2016) در حالی که جمعیت‌های دو واریته *N. kotschy* var. *persica* و *N. kotschy* var. *kotschy* دارای درصد اسانس و ترکیبات متفاوتی هستند به عنوان مثال نپتالاکتون و جمعیت‌های گونه *N. persica* مشاهده گردید ولی در *N. kotschy* مشاهده نگردید (Hadi et al., 2016).

علاوه بر این مطالعه خصوصیات رویشی، عملکرد و ترکیبات اسانس گونه دارویی، پونه‌سای ایرانی (*Nepeta kotschy* var. *persica*) نشان داد که برتری گونه ایرانی نسبت به سایر گونه‌های پونه سا کاملاً چشمگیر است، به طوری که می‌توان گونه پونه سای ایرانی را به عنوان یک منبع ارزشمند جهت تامین

REFERENCES

- Baghizadeh, A., Mashayekhi, Z., Ebrahimi, M. A. 2018. Investigation of genetic and phytochemical diversity of some catnip (*Nepeta cataria* L.) populations by RAPD molecular marker and GC/MS method. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 34(5), 836-848.
- Bahreininejad, B., Sefidkon, F., Abbaszadeh, B., Jaberlansar, Z. 2019. Study of growth, yield and essential oil composition in two medicinal species, *Nepeta kotschy* var. *persica* and *N. glomerulosa*, Iranian Journal of Horticultural Science, 50(2), pp. 473-482. doi: 10.22059/ijhs.2019.271899.1563.
- Baser, K. H. C., Kirimer, N., Kurkcuglu, M., Demirci, B. E. T. Ü., L. 1879. Essential oils of *Nepeta* species growing in Turkey. Chemistry of Natural compounds 36 (2000): 356-359.
- Boissier, E. 1879. Flora orientalis/4 Corolliflorae et Monochlamydeae. Flora orientalis sive enumeratio plantarum in oriente a Graecia et Aegypto and Indiae fines hucusque observatarum.
- Davis, P.D. 1982. Labiatae. Pp. 36-463. In: Davis, P.H. (ed.), Flora of Turkey. Vol. 7. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Delghandi, M. 1993. *Nepeta leucostegia* (Labiatae), a new record for the flora of Iran. Iranian Journal of Botany. 6: 149-151.
- Dirmenci, T., Haloob, A., Celep, F., Ghazanfar, S.A., 2023. Revision of the genus *Nepeta* L. (Lamiaceae) in Iraq. Turkish Journal of Botany, 47(2), pp.169-189.
- Hadi, N., Sefidkon, F., Shojaeiyan, A., Jafari, A. 2016. 'Essential oil diversity of 21 populations from Iranian endemic species *Nepeta kotschy* Boiss.', Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 32(2), pp. 189-202. doi: 10.22092/ijmapr.2016.106555.
- Hassan, T., Dar, G.H., Khuroo, A.A., 2011. Taxonomic status of genus *Nepeta* L.(Lamiaceae) in kashmir himalaya, India.
- Hedge, I.C., Wendelbo, P. 1978. Patterns of distribution and endemism in Iran. Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh 36: 441-464.
- Jalali, M., Jalali, M. 2016. Relation between various soil phosphorus extraction methods and sorption parameters in calcareous soils with different texture. Science of the Total Environment, 566, pp.1080-1093.
- Jamzad, Z., Assadi, M. 1984. New species of the genera *Nepeta* and *Ajuga* (Labiatae) from Iran. - Iranian Journal of Botany. 2: 95-102.
- Jamzad, Z. 2009. Notes on the genus *Nepeta* L. (Lamiaceae, Nepetoideae). The Iranian Journal of Botany, 15(2), 141-145.
- Jamzad, Z. 2012. Lamiaceae. In: Assadi, M., Maassoumi, A. & Mozaffarian, V. (eds). Flora of Iran. Vol. 76. Research Institute of Forests & Rangelands, Tehran (in Persian).
- Jamzad, Z. 2013. A survey of Lamiaceae in the flora of Iran. Rostaniha, 14(1), pp.59-67.
- Jedrzejczyk, I., Rewers, M. 2018. Genome size and ISSR markers for *Mentha* L. (Lamiaceae) genetic diversity assessment and species identification. Industrial Crops and Products, 120, 171-179.
- Pojarkova, A. I. 1954. *Nepeta*. In: Shishkin, B. K. & Yuzepchuk, S. V. (eds.), Flora of the USSR. Vol. 20. 191-292. -Acad. Sci. U.S.S.R., Moscow.

Rechinger, K.H., Hedge, I.C., Ietswaart, J.H., Jalas, J., Mennema, J., Seybold, S. (eds). 1982. Labiatae. In: Rechinger, K.H. (ed.). *Flora Iranica*. Vol. 150. Akademische Druck- u. Verlagsanstalt. Graz.

Talebi, S.M., Nohooji, M.G., Yarmohammadi, M., Azizi, N., Matsyura, A. 2018. Trichomes morphology and density analysis in some *Nepeta* species of Iran. *Mediterranean Botany*, 39(1), pp.51-62.

Talebi, S.M., Tabaripour, R., Matsyura, A. 2022. Genetic diversity and population structure of

diverse Iranian *Nepeta* L. taxa. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 69(1), pp.285-296.

Tauheeda, H., Bhat, B.A. 2012. Comparative chemical constituents and morphological characters of the essential oil of *Nepeta nervosa* Royle ex Benth. and *Nepeta laevigata* (D. Don) Hand. -Mazz. in Kashmir Himalaya. *Journal of Pharmacy Research*, 5(5), pp.2460-2462.

How to cite this article:

Rabizadeh, F. & Bahadori, F. 2024. Morphological and micromorphological analyses of two species of *N. persica* and *Nepeta kotschy* to determine their taxonomic status. *Nova Biologica Reperta* 11 (2): 31-44. (In Persian).

ربیع زاده، ف. بهادری، ف. ۱۴۰۳. مطالعات ریخت شناسی و ریزریخت شناسی برای تعیین جایگاه آرایه‌شناختی دو گونه *Nepeta persica* و *N. kotschy*. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۱(۲): ۳۱-۴۴