فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال سیزدهم، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۹ ص. ۶۲-۵۳

مقاله پژوهشی

بررسی ساختار تشریحی اندام‌های رویشی غافث (*Agrimonia eupatoria* L.) در گیاه طبیعی و گیاه باززایی شده

پریسا صفاری[۱]، احمد مجد[۱]، پریسا جنوبی[۱*]، فرزانه نجفی[۱]

[۱] گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

*Email: jonoubi@khu.ac.ir

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۹

چکیده

بررسی ساختار اندام‌های رویشی گیاهان در گسترش علم زیست‌شناسی تکوین گیاهی موثر است و در زمینه آرایه‌شناسی گیاهان نیز کاربرد دارد. غافث (*Agrimonia eupatoria* L.) یک گیاه ارزشمند دارویی از تیره Rosaceae است. به دلیل جوانه‌زنی کند و رشد رویشی زمانبر در زیستگاه طبیعی، کشت بافت آزمایشگاهی راهکار مناسبی جهت تسریع در تکثیر این گیاه است. در پژوهش حاضر ساختار تشریحی اندام‌های رویشی در گیاه طبیعی و گیاه باززایی شده بررسی و مقایسه شد. از ریشه، ساقه، برگ و دمبرگ گیاه در هر دو گروه نمونه برداری انجام شد و پس از تثبیت در فیکساتور الکل- گلیسیرین برش‌برداری صورت گرفت. برش‌ها تحت رنگ‌آمیزی کارمن/ متیلن بلو قرارگرفتند و مطالعات میکروسکوپی بر روی آنها انجام شد. نتایج نشان‌داد ساختارهای کلی در هر دو نمونه شباهت بسیاری دارند. در گیاهان باززایی شده نسبت به گیاهان طبیعی، تراکم بافت‌های محافظ در ساقه، برگ و دمبرگ کمتر بود (تعداد لایه‌های بافت کلانشیم کمتر و اسکلرانشیم وجود نداشت). دسته‌های آوندی در ساقه، برگ و دمبرگ هر دو گروه، از نوع دو دسته پیوسته (بی‌کلاترال) دیده شد. تعداد لایه‌های بافت نردبانی و اسفنجی در برگ هر دو گروه مشابه بود. ساختار بلور شکل ماکل در پارانشیم ساقه و دمبرگ هر دو گروه مشاهده شد که تعداد آن در گیاهان باززایی شده کمتر بود. بر روی ساقه و برگ گیاه غافث، کرک‌های متعدد محافظ و غده‌ای وجوددارد که تعداد کرک‌ها در گیاهان باززایی شده نسبت به گیاهان طبیعی کمتر بود.

کلیدواژه‌ها: برگ، دمبرگ، ساقه، ریشه، کرک.

مقدمه

گیاه دارویی غافث (*Agrimonia eupatoria* L.) از تیره گلسرخیان (Rosaceae) در ایران در شمال کشور (مازندران، گیلان)، غرب (همدان، کرمانشاه)، مرکز (استان مرکزی)، شمال شرق (خراسان) و اطراف تهران پراکنش دارد [۱۹]. این گیاه در مراتع، حاشیه جنگل‌ها و کوهپایه دیده می‌شود و در شرایط دما، نور و رطوبت متوسط می‌روید [۱۲].

غافث گیاهی پایا، علفی، افراشته با ارتفاع حدود ۳۰-۶۰ سانتی‌متر، دارای بن منشعب و رونده است. برگ‌ها مرکب شانه‌ای و دارای برگچه‌هایی با حاشیه دندانه‌دار و کرک‌دار، با ابعاد ۳۰×۱۲ سانتی‌متر هستند. ساقه پوشیده از کرک و منتهی به گل آذین سنبله نسبتا طویل است [۱۱]. ساقه رویش یافته از بذر، معمولا در سال اول رشد رویشی دارد و در سال دوم وارد فاز زایشی می‌شود. گل‌ها به رنگ زرد، نر- ماده، متعدد، دارای دمگل کوتاه و ۲ براکته، روی ساقه آرایش یافته اند. هر گل دارای ۵ گلبرگ، ۵ کاسبرگ متناوب و ۵-۱۵ پرچم است. در زمان گرده‌افشانی پرچم‌ها به سمت داخل خم می‌شوند تا مرحله خودلقاحی انجام‌شود. میوه گیاه غافث مخروطی شکل، دارای زواید سخت قلاب مانند و به قطر حدود ۷-۹ میلی‌متر است. زمان گل‌دهی در این گیاه اردیبهشت ماه است [۱۵].

در طب سنتی تقریبا برای تمام قسمت‌های گیاه غافث، کاربرد دارویی گزارش شده‌است؛ از جمله درمان بیماری‌های کبدی، کلیوی، ریوی و عفونت‌های چشم [۲]. مطالعات تکمیلی و استخراج متابولیت‌های ثانویه نشان‌داده‌اند که این گیاه دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فراوان مانند کاتچین، آگریمونین، پروسیانیدین، کامفرول، تانن و انواع ویتامین‌ها می‌باشد [۲۴]. امروزه از گیاه غافث به واسطه داشتن ترکیبات ذکرشده، در درمان دیابت و پیشگیری از بیماری‌های قلبی- عروقی استفاده می‌شود و اثر ضدسرطانی، ضدمیکروبی و ضدویروسی آن، به اثبات رسیده است [۲، ۱۲].

این گیاه در طبیعت جوانه‌زنی زمانبر و رشد رویشی کند دارد و به تنش خشکی حساس است [۱۵]. بنابراین برای تسریع در رشد و تکثیر این گیاه دارویی ارزشمند، کشت آزمایشگاهی مطلوب است. با ریزازدیادی از طریق کشت بافت گیاهی تعداد زیادتری گیاه در مدت زمان کوتاهتر نسبت به زیستگاه طبیعی، در شرایط استریل و به دور از هر گونه آلودگی بدست می‌آید.

مطالعه ساختارهای اندام‌های رویشی گیاهان با شناخت دقیقتر گیاه، روند تکوین گیاه را مشخص می‌کند و می‌تواند در زمینه کشاورزی نیز کاربرد داشته باشد. با توجه به اینکه صفات تشریحی بسیار مطمئن‌تر از ویژگی‌های ریختی است، بسیاری از گیاهان با این مطالعات از یکدیگر متمایز می‌شوند. بر این اساس ساختار تشریحی اندام های برگ و ساقه در تاکسونومی تیره Rosaceae بسیار مورد استفاده قرارگرفته است. در مطالعه انجام شده در جنس *Amygdalus* از Rosaceae، وجود یا عدم وجود کرک در برگ، تعداد لایه های پارانشیم اسفنجی، پارانشیم نردبانی و شکل رگبرگ میانی، مبنای جداسازی گونه‌ها قرارگرفت [۲۵]. همچنین با بررسی ساختار تشریحی برگ در چندین گونه از جنس *Potentilla* از تیره Rosaceae اطلاعات ارزشمند تاکسونومی بدست آمده است [۷]. با مطالعه ساختار تشریحی ساقه، برگچه، دمبرگ و گوشوارک در جنس *Rubus* تفاوت در برخی زیرجنس‌ها مشخص شد [۱۴]. در پژوهشی دیگر، Gennadievna و همکاران ساختار ریشه را در *Agrimonia pilosa* مطالعه نمودند و ترکیبات پلی‌ساکاریدی را از این اندام استخراج کردند [۱۰].

طبق مطالعات مرجع‌شناسی در مورد ساختار تشریحی اندام‌های رویشی گیاه غافث (*Agrimonia eupatori* L.) اطلاعات کافی و دقیق در اختیار نیست. به همین دلیل با توجه به ارزش دارویی این گیاه، تحقیق حاضر با استفاده از روش‌های متداول سلول- بافت شناسی به بررسی و مقایسه ویژگی‌های ساختاری بخش‌های ریشه، ساقه، برگ، دمبرگ و نوع کرک در گیاهان طبیعی و گیاهان باززایی شده، پرداخته است.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه غافث از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد.

پس از کشت بذرها در خاک، از دانه رست‌های ۷ روزه برای بررسی مریستم راس ریشه و از گیاهان ۳۰ روزه برای بررسی ریشه، ساقه، برگ و دمبرگ نمونه برداری انجام شد. گیاهان باززایی شده از طریق تکنیک کشت بافت گیاهی تهیه شدند و ۳۰ روز پس از ریشه‌زایی از بخش‌های مختلف گیاه نمونه‌برداری انجام‌شد. مریستم راس ریشه در فیکساتور FAA (اتانول ۷۰%/ فرم آلدهید/ اسید استیک با نسبت ۱۷: ۲: ۱) تثبیت شد و با استفاده از روش‌هاي متداول سلول- بافت شناختي برش‌هاي ميكروتومي از آن تهيه شد. ريشه، ساقه، برگ و دمبرگ جهت تثبیت در فیکساتور الکل/ گیلیسرین به نسبت مساوی قرارداده شدند. گیاهان طبیعی، ۵ روز در این فیکساتور قرارداده شدند ولی گیاهان باززایی شده به دلیل سختی کمتر بافت‌ها، ۱ روز در این فیکساتور تثبیت شدند. پس از تهیه برش‌های نازک، به مدت ۱۰ الی ۱۵ دقیقه برش‌ها در آب ژاول ۱۰ درصد قرار داده شدند و شستشو با آب مقطر انجام‌گرفت. سپس برش‌ها در استیک‌اسید ۳ تا ۵ درصد به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه قرارگرفتند. رنگ‌آمیزی مضاعف متیلن‌بلو- کارمن‌زاجی انجام‌شد و نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری مدل Axiostar Plus ZEISS بررسی شدند و با دوربین دیجیتال مدل SONY DSC-S930 عکسبرداری انجام‌شد.

نتایج

۱- ریشه

مشاهدات میکروسکوپی از برش طولی بخشی از مریستم راس ریشه گیاه غافث، بخش‌های زیر را مشخص کرد: ناحیه کلاهک (R.C)، بخش کلاهک‌زا یا کالیپتروژن که دارای سلول‌های فعال با رنگ‌پذیری بیشتری هستند (Ca)، بخش مریستم آرام یا خفته با سلول‌های دارای فعالیت کم(QC)، مریستم زمینه (G.M) و در بالاترین قسمت، منطقه استوانه‌آوندی که در محور میانی ریشه مشخص است (تصویر۱، A-B). در برش عرضی ساختمان نخستین ریشه گیاه طبیعی غافث: خارجی‌ترین لایه اپیدرم، با سلول‌های فشرده و دارای دیواره نازک که برخی از آنها منشا تار کشنده هستند، دیده شد. زیر اپیدرم منطقه وسیع پوست دارای ۱۰-۱۲ ردیف سلول‌های پارانشیمی (P.C) است. آندودرم (En)، داخلی‌ترین لایه منطقه پوست و مرز بین پوست و استوانه‌آوندی است که با سلول‌های دارای دیواره شعاعی ضخیم مشخص است. دایره محیطیه (Pc) شامل یک ردیف سلول تقریبا منظم در خارج استوانه‌آوندی است. دسته‌های چوب و آبکش در استوانه‌آوندی به صورت متناوب دیده می‌شوند. سلول های پارانشیم مغز (Pi) در قسمت درونی‌تر واقع شده‌اند (تصویر۲، A-B). در ساختمان پسین ریشه گیاه طبیعی، مقطع عرضی ریشه مدور دیده شد. لایه پریدرم (Pe) در خارجی‌ترین قسمت ریشه جایگزین اپیدرم شده است. در زیر پریدرم منطقه پوست (P.C) متشکل از ۵-۶ لایه سلول وجود دارد. بافت آبکش‌پسین (Sph) بر روی بافت چوب‌پسین (Sxy) قراردارد، در این منطقه، قطب مولد چوب، خارجي است بنابراین، تشکیل گزیلم مرکزرو (Centripetal) است و چوب برون‌زا (Exarche) است (تصویر ۲، C-D). ریشه فرعی در ساختمان پسین از لایه ریشه‌زا منشاگرفته و مشخص است (تصویر۲، E).

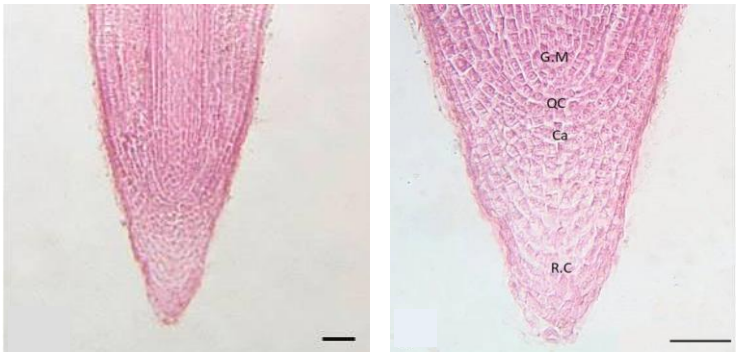
در گیاه باززایی شده مشابه گیاه طبیعی، مقطع عرضی ریشه به شکل مدور دیده شد. در این گروه در برش‌گیری از ریشه های نازک ساختمان نخستین مشاهده نشد و به نظر می‌رسد عبور از ساختمان نخستین به پسین بسیار سریع رخ داده است. در ساختمان پسین ریشه این گروه، پس از لایه پریدرم، منطقه پوست متشکل از ۶-۷ لایه سلول، وسیع‌تر از گیاه طبیعی بود. در این گروه نیز، دسته‌های آوندی چوب پسین و آبکش پسین در مرکز قرار داشتند (تصویر ۲، F-G).

۲- ساقه

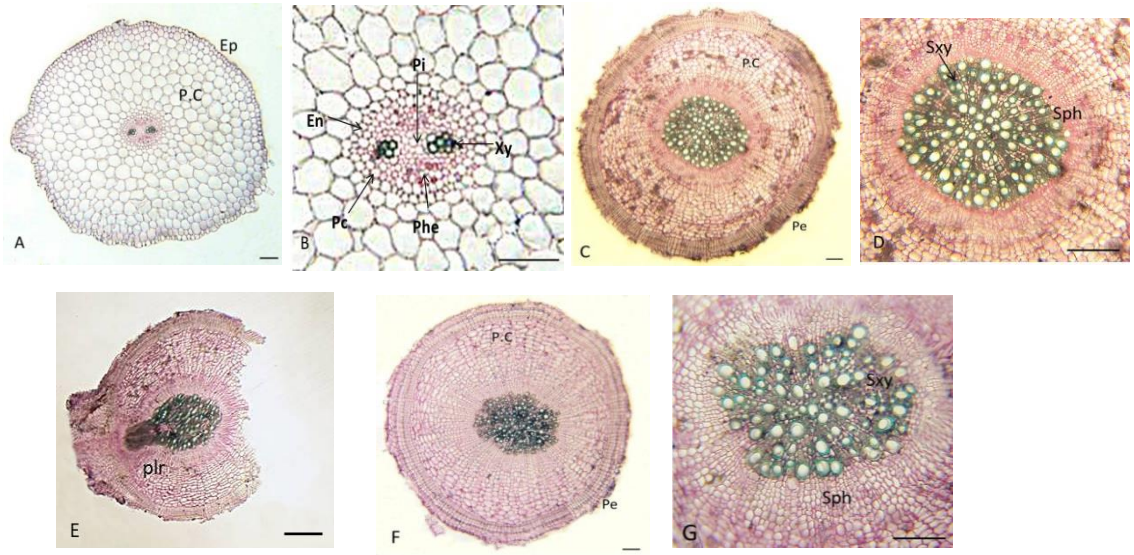
مقطع عرضی ساقه جوان غافث تقریبا مدور دیده شد و در آن به ترتیب از بیرون به درون اپیدرم، کلانشیم، پارانشیم پوستی، حلقه اسکلرانشیمی، بافت آبکش، چوب و بافت مغز ساقه قابل مشاهده هستند. اپیدرم از یک لایه سلول‌های متراکم با سطح کوتینی شده و دارای کرک‌های فراوان تشکیل شده‌است. در زیر اپیدرم ۳-۴ لایه سلول کلانشیمی از نوع گوشه دار با دیواره‌های به نسبت ضخیم که با کارمن زاجی

به خوبی رنگ گرفته‌اند وجوددارند. در زیر آنها ۴-۵ لایه بافت پارانشیم پوستی با سلول های فشرده به هم قراردارند. در استوانه مرکزی دسته‌های بافت آبکش - چوب از نوع دو دسته پیوسته (بی کلاترال) دیده می‌شود و بین چوب و آبکش بافت کامبیومی در یک دسته (fascicular cambium) و بین دو دسته آوندی(Inter fascicular cambium)، قرار دارد. در بخش مرکزی بافت پارانشیم مغز وجود دارد (تصویر۳، A-B).

مقطع عرضی ساقه جوان غافث تقریبا مدور دیده شد و در آن به ترتیب از بیرون به درون اپیدرم، کلانشیم، پارانشیم پوستی، حلقه اسکلرانشیمی، بافت آبکش، چوب و بافت مغز ساقه قابل مشاهده هستند. اپیدرم از یک لایه سلول‌های متراکم با سطح کوتینی شده و دارای کرک‌های فراوان تشکیل شده‌است. در زیر اپیدرم ۳-۴ لایه سلول کلانشیمی از نوع گوشه دار با دیواره‌های به نسبت ضخیم که با کارمن زاجی به خوبی رنگ گرفته‌اند وجوددارند. در زیر آنها ۴-۵



تصویر۱. برش طولی بخشی از انتهای ریشه. کلاهک ریشه (R.C)، کالیپتروژن (Ca)، مرکزآرام (QC)، مریستم زمینه (G.M)، منطقه آوندی (Vc)، خط نشانه: ۵۰ میکرومتر.



تصویر۲. برش عرضی ریشه غافث. A-B) ساختمان نخستین ریشه گیاه طبیعی، C-D) ساختمان پسین ریشه گیاه طبیعی، E) منشا گرفتن پریموردیوم ریشه فرعی از لایه ریشه زا و گسترش ریشه فرعی در گیاه طبیعی، F-G) ساختمان پسین گیاه باززایی شده. اپیدرم (Ep)، پارانشیم پوست (P.C)، آندودرم (En)، دایریه محیطیه (Pc)، فلوئم (Phe)، زایلم (Xy)، مغز (Pi)، پریدرم (Pe)، چوب ثانویه (Sxy)، آبکش ثانویه (Sph)، پریموردیوم ریشه فرعی (plr)، خط نشانه: ۳۰۰ میکرومتر.

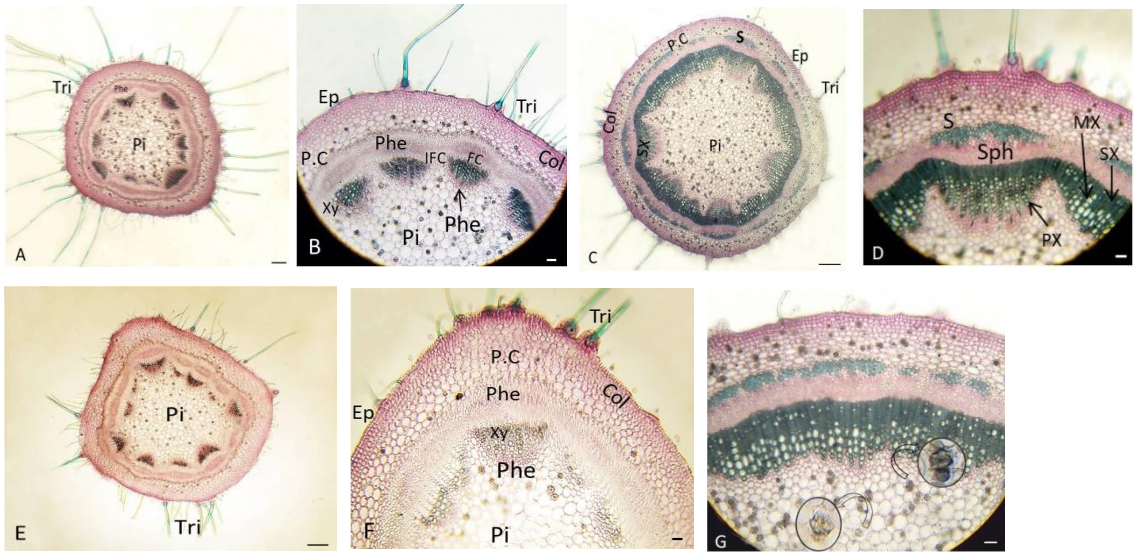
لایه بافت پارانشیم پوستی با سلول‌های فشرده به هم قراردارند. در استوانه مرکزی دسته‌های بافت آبکش - چوب از نوع دو دسته پیوسته (بی‌کلاترال) دیده می‌شود و بین چوب و آبکش بافت کامبیومی در یک دسته (fascicular cambium) و بین دو دسته آوندی (Inter fascicular cambium)، قرار دارد. در بخش مرکزی بافت پارانشیم مغز وجود دارد (تصویر۳، A-B).

در ساقه مسن‌تر، مقطع عرضی مدور و ساختمان پسین مشاهده شد. بافت اسکلرانشیمی هلالی شکل، منطقه پوست ساقه را از استوانه مرکزی مشخص می‌سازد. در منطقه آوندی، بافت‌های آبکش پسین و چوب پسین با تقسیم سلول‌های کامبیومی به حالت پیوسته درآمده‌اند. گسترش چوب پسین برروی دسته‌های چوب نخستین ضخامت قابل توجهی نسبت به آبکش پسین دارد. پروتوگزیلم به سمت مرکز و متاگزیلم به سمت پیرامون قرار گرفته‌اند، بنابراین تشکیل چوب درون‌زا (Endarche) است (تصویر۳،C-D).

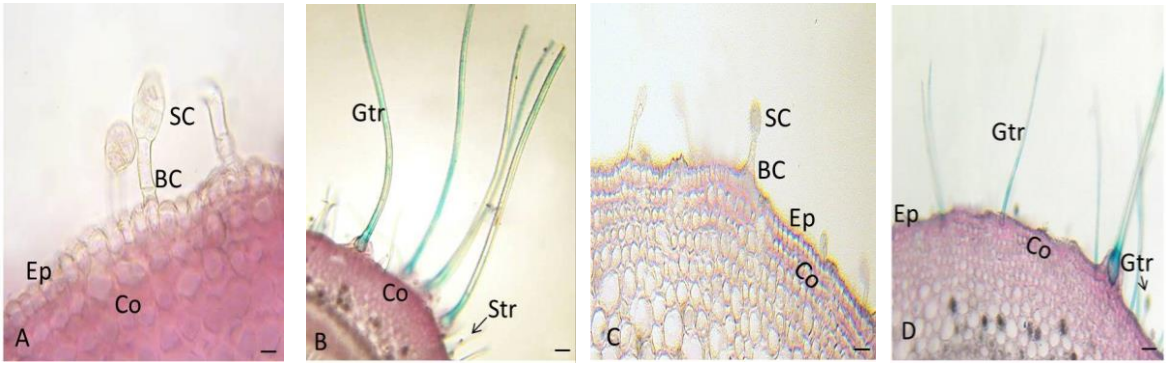
در ساقه گیاه طبیعی در بافت پارانشیم پوست و مغز، ساختار بلوری متعدد و پراکنده اگزالات کلسیم به شکل ماکل دیده شد. در گیاه باززایی شده نیز این بلورها دیده شد ولی تعداد آنها کمتر بود. تصویر۳، G نوع بلور را از نمای نزدیک نشان می دهد.

در گیاه باززایی شده مقطع عرضی ساقه مدور ولی ناهمگن دیده شد. در منطقه پوست سلول‌های کلانشیم دارای دیواره نازکتر بودند و اسکلرانشیم وجود نداشت. در منطقه آوندی دسته‌های آوندی در یک حلقه پیرامونی تشکیل شده‌اند و دسته‌های چوب و آبکش رشد کمتری در مقایسه با ساقه گیاه طبیعی داشتند (تصویر۳،E-F).

در مشاهدات میکروسکوپ نوری دو نوع کرک بر روی ساقه غافث مشاهده شد. کرک‌های ترشحی با پایه ۲-۳ سلولی و انتهای حجیم ۳-۴ سلولی، دارای مواد سلولی هستند و طولی در حدود ۰/۲-۰/۳ میلی متر در گیاه طبیعی و ۰/۱۵-۰/۰۵ میلی متر در گیاه باززایی شده، داشتند (تصویر۴، A,C). همچنین کرکهای تک سلولی و محافظ (نوک تیز و باریک) به طول تقریبی۰/۷ -۱ میلی‌متر در گیاه طبیعی و ۰/۴-۰/۶ میلی متر در گیاه باززایی شده، دیده شد (تصویر۴، B,D).



تصویر۳. برش عرضی ساقه. A-B) ساقه جوان گیاه طبیعی، C-D) ساختمان پسین ساقه گیاه طبیعی، E-F) ساقه گیاه باززایی شده، G) بلورهای ساقه غافث. اپیدرم (Ep)، کرک (Tri)، پارانشیم پوست (P.C)، کلانشیم (Col)، اسکلرانشیم (S)، زایلم (Xy)، فلوئم (Phe)، مغز (Pi)، کامبیوم بین چوب و آبکش (FC)، کامبیوم در فواصل دو دسته آوندی (IFC)، پروتوگزیلم (PX)، متاگزیلم (MX)، چوب ثانویه (SX) ، خط نشانه: ۵۰ میکرومتر.



تصویر۴. انواع کرک در ساقه گیاه غافث. A) کرک‌های ترشحی با پایه طویل در گیاه طبیعی، B) کرک‌های سلولی محافظ کشیده در گیاه طبیعی، C) کرک‌های ترشحی در گیاه باززایی شده، D) کرک‌های سلولی محافظ در گیاه باززایی شده. اپیدرم (Ep)، سلول پایه کرک (Bc)، کرک ترشحی (Str)، کرک محافظ (Gtr)، سلول ترشحی (Sc)، کلانشیم (Co)، خط نشانه: ۵۰ میکرومتر.

۳- برگ

از نظر بافت‌شناسی بافت‌های زیر در برگ غافث در گیاه طبیعی دیده شد: اپیدرم به صورت یک ردیف سلول‌های به هم فشرده و کوتیکولی است. در قسمت پهنک، پارانشیم مزوفیل بین دو اپیدرم فوقانی (دارای سلول‌های درشتتر) و تحتانی (دارای سلول‌های کوچک‌تر) قراردارد. این لایه در سطح فوقانی شامل ۱ ردیف از سلول‌های کشیده پارانشیم نردبانی و در سطح زیرین آن ۲ تا ۳ ردیف پارانشیم اسفنجی است. سلول‌های پارانشیم نردبانی در برش عرضی، میله‌ای و ردیفی قرارمی‌گیرند. یاخته‌های پارانشیم اسفنجی نامنظم و حفره‌دار هستند. بین سلول‌های پارانشیم حفره ای فضاهای بزرگی وجود دارد که باعث سست شدن اتصالات آنها با یکدیگر شده و در هر دو گروه گیاهان طبیعی و باززایی شده قابل مشاهده است. پارانشیم نردبانی در سطح تحتانی وجودندارد و فقط پارانشیم حفره‌ای در این سمت دیده‌می‌شود تصویر (۵، A). در اپیدرم زیرین کرک از نوع ترشحی و در سطح رگبرگ اصلی کرک سلولی مشاهده می‌شود تصویر (۵، A-B). در ناحیه رگبرگ‌ها زیر اپیدرم بافت کلانشیم قراردارد و دسته‌های آوندی چوب و آبکش از نوع دو دسته پیوسته (بی‌کلاترال) قرار گرفته‌اند. دسته آوندی میانی از دو دسته آوندی کناری بسیار گسترده‌تر است و در آن نیم حلقه اسکلرانشیمی، بافت آبکش، بافت چوب و بافت آبکش درونی تشخیص داده می‌شوند (تصویر۵، B).

بین گیاهان طبیعی و باززايي شده از نظر ریخت‌شناسی کرك‌ها تفاوتي مشاهده نشد. در رگبرگ اصلی هر دو گروه، تعداد و طول کرک‌ها تقریبا برابر بود.

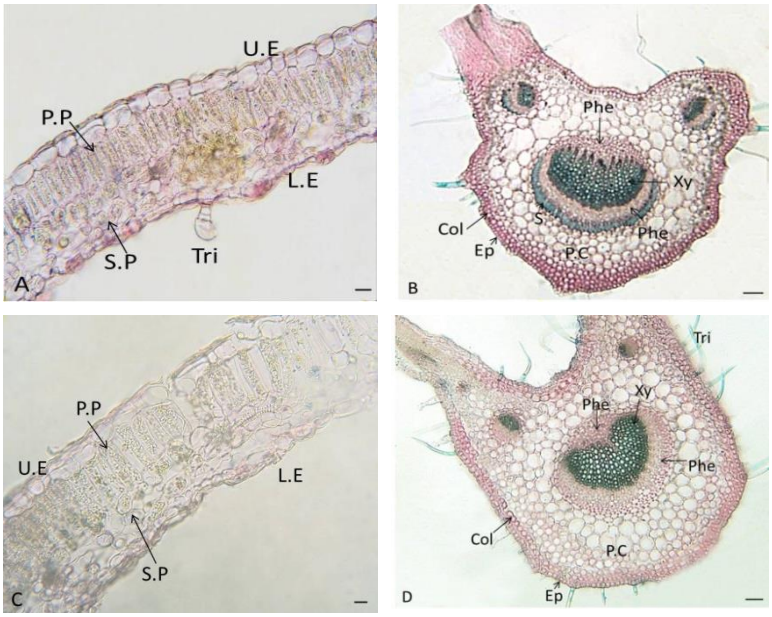
در گیاه باززایی شده ساختار بافتی پهنک برگ شباهت زیادی به گیاه طبیعی داشت اما اسکلرانشیم در این گروه تشکیل نشده است، تعداد لایه‌های کلانشیم کمتر و منطقه پوست وسیع‌تر است (تصویر ۵، C-D).

۴- دمبرگ

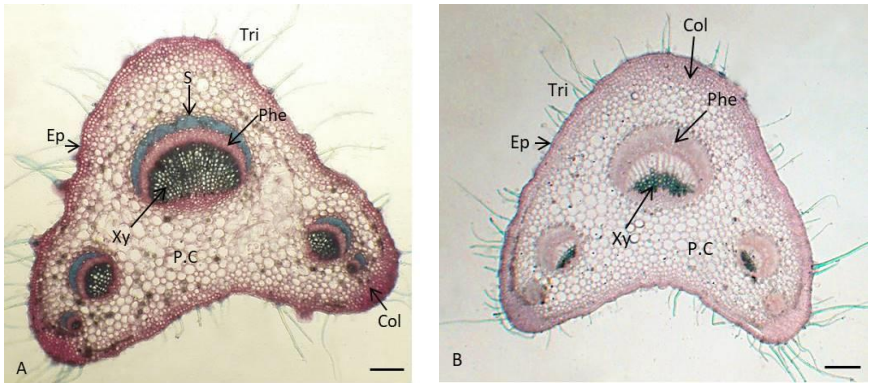
در دمبرگ هلالی شکل این گیاه در هر دو گروه گیاهان طبیعی و باززایی شده، اپیدرم به عنوان خارجی‌ترین لایه در برش عرضی مشاهده‌شد. اپیدرم در این قسمت، کرک‌های محافظ فراوان و کرک‌های ترشحی اندکی دارد. بافت مقاوم دمبرگ در گیاه طبیعی کلانشیم از نوع گوشه‌دار و فیبر اسکلرانشیم است. کلانشیم در زیر اپیدرم و اسکلرانشیم بر روی هر دسته بافت آبکش قراردارد. دسته های آوندی از نوع دو دسته پیوسته (بی‌کلاترال) هستند.

سلول‌های بافت آبکش در خارج و سلول‌های چوب به طرف داخل قراردارند. در دمبرگ گیاه طبیعی یک دسته حجیم آوندی میانی و چهار دسته آوندی کناری وجوددارد (تصویر۶، A). در دمبرگ گیاه باززایی شده ساختار بافتی و تعداد و نوع دسته‌های آوندی مشابه گیاه طبیعی بود با این تفاوت که اسکلرانشیم وجود نداشت و دسته‌های چوب با ضخامت کمتر (۱۳۴µm) نسبت به گیاه طبیعی(۴۶۰µm)

مشاهده شد (تصویر۶، B). در پارانشیم دمبرگ هم در هر دو گروه بلورهای ماکل شکل دیده شد.



تصویر۵. برش عرضی برگ غافث. A) پهنک برگ طبیعی، B) رگبرگ اصلی برگ طبیعی، C) پهنک برگ باززایی شده، D) رگبرگ اصلی برگ باززایی شده. اپیدرم تحتانی (L.E)، اپیدرم فوقانی (U.E)، پارنشیم نردبانی (P.P)، پارانشیم اسفنجی (S.P)، کرک (Tir)، اپیدرم (Ep)، کلانشیم (Col)، پارانشیم پوست (P.C)، اسکلرانشیم (S)، فلوئم (Phe)، زایلم (Xy)، A-C، خط نشانه: ۵۰ میکرومتر، B-D، خط نشانه: ۳۰۰ میکرومتر.



تصویر۶. برش عرضی دمبرگ. A) گیاه طبیعی، B) گیاه باززایی شده. اپیدرم (Ep)، کلانشیم (Col)، پارانشیم پوست (P.C)، اسکلرانشیم (S)، فلوئم (Phe)، زایلم (Xy)، کرک محافظ (GTr)، خط نشانه: ۳۰۰ میکرومتر.

بحث

با بررسی آناتومی گیاهان اطلاعات ارزشمندی از صفات کمی و کیفی اندام‌ها از قبیل: تعداد لایه‌های کلانشیم (در ساقه و دمبرگ)، تعداد دسته‌های آوندی، تعداد لایه‌های پارانشیم نردبانی و اسفنجی (برگ)، شکل سطح مقطع عرضی، نوع کرک پوششی و غده‌ای و میزان پراکنش بلور اگزالات کلسیم بدست می‌آید. صفات تشریحی در خانواده Rosaceae و جنس‌های مختلف آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است که تاکنون بررسی‌های معدودی در این زمینه انجام شده است [۳]. مطالعه حاضر با بررسی ریشه، ساقه، برگ و دمبرگ گیاه اطلاعات ارزشمندی از گونه *A.eupatoria* ارایه داد.

تقسیم سلولی در مناطق مریستمی گیاه سبب تشکیل مناطق سلولی مجزا می‌شود و پس از تمایز این بخش‌ها، بافت‌های اختصاصی گیاه منشا می‌گیرند [۴]. در مریستم راس ریشه گیاه غافث، در انتهایی‌ترین بخش کلاهک دیده شد

که حفظ‌کننده پرومریستم (پیش مریستم) است و سبب سهولت نفوذ ریشه به درون خاک می‌شود و رشد ریشه به طرف زمین را کنترل می‌کند. کلاهک از یاخته‌های پارانشیم مانند با عمر کوتاه تشکیل شده است که در مناطق خارجی‌تر آن، سلول‌ها در حال از بین‌رفتن هستند و سلول‌های جدید جایگزین می‌شوند، به همین دلیل کلاهک همیشه وضع ثابت دارد. در قسمت‌های بالاتر، منطقه کالیپتروژن، شامل سلول‌های بنیادی مخصوص کلاهک است و منطقه آرام (QC) با فعالیت میتوزی بسیار کم وجود دارد. این گروه سلولی ظاهری بشقابی و نیمکره مانند ایجاد می کنند. بالاتر از کالیپتروژن مریستم زمینه (G.M) یا منطقه فعال توسعه و تقسیم سلولی دیده شد. این مشاهدات نشان داد، ساختار راس ریشه غافث مطابق با راس ریشه سایر گیاهان دولپه است [۲۲]. در ساختمان نخستین ریشه غافث، خارجی‌ترین لایه اپیدرم است. منطقه پوست دارای سلول‌های چند وجهی پارانشیمی در چندین ردیف است. پوست ریشه معمولا وسیعتر از ساقه است و نقش بیشتری در ذخیره مواد دارد. سلول های این منطقه فاقد کلروفیل هستند [۸]. درونی‌ترین بخش منطقه پوست، سلول‌های آندورم هستند که به شکل متراکم با نوار کاسپاری در دیواره شعاعی کنار هم قراردارند و مرز مشخص پوست و استوانه‌آوندی هستند. وجود نوار کاسپاری سبب مقاومت ریشه در برابر پاتوژن‌ها، تنش خشکی، رطوبت بیش از حد و فلزات سنگین می‌شود [۱]. دایره محیطیه یا لایه ریشه‌زا در خارجی‌ترین لایه استوانه‌آوندی و در زیر آندودرم شکل گرفته که معمولا تک‌ردیفی و پارانشیمی است. در گیاهان باززایی شده غافث، ساختمان نخستین ریشه مشاهده نشد. تشکیل سریع ساختمان پسین در این گروه احتمالا به علت اثر هورمون‌ها خصوصا اکسین در مرحله القا ریشه زایی در کشت بافت این گیاهان است که سبب شده گذر از ساختمان نخستین به پسین در ریشه‌های جوان بسیار سریع رخ دهد. تاثیر اکسین بر سرعت تمایز ریشه در گیاهان تیره Rosaceae از جمله *Spiraea betulifolia* گزارش شده است [۲۰]. با گذر از ساختمان نخستین و ورود به ساختمان پسین در گیاهان طبیعی، پریدرم جایگزین اپیدرم می‌شود و آندودرم از بین می‌رود. لایه کامبیوم به سمت خارج آبکش پسین و به سمت داخل چوب پسین را می‌سازد. با نفوذ پارانشیم مغز بین دسته‌های آوندی اشعه‌مغزی ساخته می‌شود. ریشه‌فرعی از لایه دایریه محیطیه که خاصیت مریستمی دارد منشاگرفته و رشد کرده‌است. محل تشکیل این ساختار با موقعیت پروتوگزیلم در ریشه مرتبط است [۱]. نتایج حاصل از بررسی ساختار ریشه غافث (*Agrimonia eupatoria*) با *Agrimonia pilosa* [۱۰] و سایر گیاهان دولپه منطبق است [۱۸].

در ساقه گیاه غافث، سلول‌های مکعبی اپیدرم خارجی‌ترین بخش هستند که کوتینی شده و به تدریج تیره‌رنگ می‌شوند. کرک‌های فراوان محافظ و تعداد کمی کرک ترشحی در اپیدرم دیده می‌شود. در زیر اپیدرم سلول‌های پارانشیمی با دیواره نازک وجوددارند. در ساختمان پسین ساقه، کلانشیم از نوع گوشه‌دار و اسکلرانشیم در زیر اپیدرم قراردارند. وجود بافت اسکلرانشیمی در اندام‌ها به دلیل حفاظت، استحکام و مقاومت به شرایط متغیر محیط و تغییرات دما در فصول مختلف است [۸]. این بافت دارای مواد و ترکیباتی همچون بافت چوب است و به همین دلیل با آبی متیل به رنگ آوندهای چوب دیده می‌شود. وجود کرک‌های فراوان و بافت‌های محافظ جهت پاسخ به تنش‌های محیطی و تغییرات دمایی کارایی دارد. افزایش طول کرک نوعی سیستم دفاعی جهت کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی و ممانعت از آسیب به روزنه‌ها است [۲۱]. دسته‌های چوب - آبکش در لایه بعدی قراردارند که معمولا قطر دهانه آوندهای چوب به سمت آوندهای آبکش بیشتر و در سمت مغز ساقه کمتر است. به دلیل جایگاه قرارگیری پروتوگزیلم و متاگزیلم، چوب از نوع اندارش است و نمو آن به شکل گریز از مرکز است. یعنی قطب چوب برخلاف ریشه درونی است و این یکی از تفاوت های ساقه با ریشه است. دسته‌های آبکش در خارج چوب قراردارند و از نوع دو دسته پیوسته (بی‌کلاترال) بودند. این خصوصیت در دسته‌های آوندی گیاهان دیگر تیره Rosaceae مانند توت فرنگی و سیب هم گزارش شده است [۱۶]. قسمت مغز ابتدا با سلول‌های پارانشیمی پر شده‌است که به تدریج با ورود به ساختمان پسین از گستردگی منطقه مغز کاسته می‌شود. در ساقه لایه‌های آندودرم و ریشه زا به

خوبی مشخص نیستند به دلیل اینکه در این اندام نسبت به ریشه کارایی کمتری دارند و ناپایدارتر هستند [۱۳] ساختار ساقه غافث مشابه ساقه *Rosa hybrida* و دیگر گیاهان تیره Rosaceae است [۱۶، ۳].

صفات تشریحی برگ در خانواده Rosaceae و جنس‌های مختلف آن دارای اهمیت است که تاکنون مورد بررسی‌های متعدد در گونه‌های مختلف قرار گرفته است. اپیدرم فوقانی در برگ غافث دارای سلول‌های بزرگ‌تر نسبت به اپیدرم تحتانی است که از این نظر مشابه برگ جنس *Rubus* از تیره Rosaceae می‌باشد [۱۴]. در این گیاه برگ دارای ۱ ردیف پارانشیم نردبانی با سلول‌های کشیده در سطح فوقانی و ۲-۳ ردیف سلول‌های پارانشیم اسفنجی با سلول‌های کمابیش کروی در سطح تحتانی است. به این ترتیب برگ دارای تقارن پشتی شکمی و از نوع دوسطحی است. سلول‌های بافت پارانشیم نردبانی دارای کلروپلاست هستند و با دریافت نور فرایند فتوسنتز را انجام می‌دهند. این بافت، زیر اپیدرم فوقانی در برگ قراردارد تا حداکثر میزان نور را دریافت‌کند. طبق گزارشات این تعداد ردیف پارانشیم نردبانی و اسفنجی نشان دهنده سازگاری گیاه با شرایط اکولوژیک معتدل و آب و هوای مرطوب است [۶]. وجود پارانشیم نردبانی و اسفنجی و تعداد لایه‌های آنها صفتی مهم در تیره Rosaceae است. مثلا در رز و برخی گونه‌های اسپیره، پارانشیم اسفنجی وجود دارد اما در بادام و *Cotoneaster* با وجود تراکم لایه‌های پارانشیم نردبانی، پارانشیم اسفنجی وجود ندارد [۳, ۲۳, ۲۵]. در قسمت رگبرگ اصلی غافث، بافت آبکش خارج چوب است و در بین آنها بافت کامبیوم وجوددارد. دسته‌های آوندی از نوع دو دسته پیوسته (بی‌کلاترال) هستند که از این نظر با ساختار یکطرفه رگبرگ اصلی در رز از تیره Rosaceae متفاوت است. صفت مهم دیگر در برگ وجود کرک و نوع آن است. در غافث در هر دو سطح رگبرگ اصلی کرک‌های ساده وجودداشت که مشابه ساختار *Amelanchier* در تیره Rosaceae است [۹]. تعداد زیاد کرک در برگ، سبب حفظ آب در گیاه و محافظت در برابر اثرات زیانبار تشعشعات خورشید می‌شود و به عنوان یک سد مکانیکی و شیمیایی در مقابله با آفات برای گیاه، مهم است. در پهنک برگ غافث، کرک غده‌ای با پایه ۲ سلولی مشاهده می‌شود. تعداد سلول‌های پایه کرک دارای اهمیت آرایه‌شناسی است. در جنس *Geum* از تیره Rosaceae نیز این کرک با پایه ۲ سلولی و ۴ سلولی گزارش شده است [۶].

ساختار بافت‌های محافظ و آوندی دمبرگ در گیاه غافث مانند ساقه است. الگوی قرارگرفتن دسته‌های آوندی در دمبرگ از صفات تشریحی مهم در تشخیص گیاهان است. الگوی قرارگیری دسته‌های آوندی دمبرگ در تیره Rosaceae در مطالعات گذشته بررسی شده است [۶]. طبق این گزارشات دمبرگ غافث مشابه *Fragaria* و *Potentilla* در این تیره است، به این ترتیب که دسته‌های آوندی تنها به شکل قوس مرکزی در مقطع دمبرگ آرایش یافته‌اند. اما در مشاهدات ما علاوه بر دسته‌های آوندی مرکزی درشت، چند دسته آوندی کوچک در گوشه‌ها وجودداشت، بنابراین دمبرگ غافث مشابه *Geum kokanicum* در این تیره است.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر تعداد کرک در گیاه باززایی شده غافث کمتر از گیاه طبیعی بود که می‌تواند به دلیل ثبات شرایط رشد گیاه و تاثیرات هورمون های استفاده شده در شرایط کشت در شیشه باشد [۱۷].

بلورهای اگزالات کلسیم در پارانشیم ساقه و دمبرگ غافث به وفور دیده شد. وجود این بلورها در گیاهان جنس *Rosa* از تیره Rosaceae گزارش شده است [۵]. نقش بلورها در بافت‌های گیاهی معمولا ایجاد تعادل یونی، پشتیبانی از بافت‌ها، سمیت‌زدایی عناصر سنگین و اگزالیک اسید، دریافت نور و انعکاس آن است [۱۴].

بررسی ساختار تشریحی غافث در دو گروه گیاهان طبیعی و گیاهان باززایی شده نشان داد به طور کلی ساختار تشریحی اندام‌های ریشه، ساقه، برگ و دمبرگ این گیاه مشابه سایر گونه های تیره Rosaceae و گیاهان دولپه است. در این مطالعه مشخص شد ساختار بافتی این اندام‌ها در گیاهان طبیعی و گیاهان باززایی شده غافث کمابیش مشابه است. در گیاهان طبیعی ساختارهای محافظتی از جمله بافت‌های استحکامی و پشتیبان، کرک‌های متراکم و بلند و وجود بلورهای اگزالات در بافت پارانشیم، فراوانتر بودند که این تفاوت نوعی سازش با شرایط متغیر محیطی است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه خوارزمی به واسطه فراهم آوردن امکانات آزمایشگاهی تشکر می‌گردد.

منابع

[1] Abe J. 2019. Root anatomical structure of *Jatropha curcas* seedlings. American Journal of Plant Sciences, 10: 491-95.

[2] Al-Snafi AE. 2015. The Pharmacological and therapeutic importance of *Agrimonia eupatoria*–a review. Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology, 2: 2015-2112.

[3] Aminsalehi M., Jonoubi P., Razavi K., Zeynipour M. 2019. Micro propagation of (*Rosa hybrida* L. cv. Maurossia) and comparative anatomy of vegetative organs in vivo and *in vitro* plants. Journal of Developmental Biology, 11: 59-72.

[4] Burat R. 2008. Ontogeny cell differentiation and structure of vascular plant. Berlin: Springer Berlin Heidelberg

[5] Delinschi-Floria V., Aprotosoaie C. 2009. Morpho-anatomical considerations upon the shoot of some *Rosa* L. cultivars frome the botanic garden of Iasi. Journal of Plant Development, 16: 193-216.

[6] Faghir M., Ashori F., Mehrmanesh A. 2017. Comparative leaf and petiole anatomy and micro morphology of the genus *Geum* (Rosaceae) from Iran. Iranian Journal of Plant Biology, 31: 47-58.

[7] Faghir MB., Attar F., Ertter B. 2011. Foliar anatomy of the genus *Potentilla* L. (Rosaceae) in Iran and its taxonomic implication. Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science, 35: 243-56.

[8] Fahn A. 2007. Plant Anatomy Newyork: Oxford. Third Edit ed.

[9] Ganeva T., Uzunova K. 2010, Leaf epidermis structure in *Amelanchier Ovalis* (Rosaceae). Biotechnology & Biotechnological Equipment, 24: 36-38.

[10] Gennadievna L., Alexandrovich Kuznetsov A., Evgenievich Y., Avraamovich E. 2014. *Agrimonia pilosa* Ledeb. (Rosaceae) Chemical composition, biological effects and anatomy. Biosciences biotechnology research asia, 11: 65-68.

[11] Ghahreman A. 1993. Plant systemstic: cormophytes of Iran Tehran: Iran university press.

[12] Ivanova D., Tasinov O., Vankova D., Kiselova Y. 2011. Antioxidative potential of *Agrimonia eupatoria* L. Medicine, 1: 20-24.

[13] Jonoubi P., Majd A., Marouf A., Amini S. 2015. Investigation the structure of vegetative organs and development of reproductive organs of *Pimpinella anisum* L. Nova Biologica Reperta, 2: 151-65.

[14] Kasalkheh R., Jorjani E., Sabouri H., Habibi M., Sattarian A. 2016. Anatomical study of *Rubus* subgenus *Rubus* in Iran. Taxonomy and Biosystematics, 27: 19-38.

[15] Kline G.J., Sørensen P. D. 2008. A revision of *Agrimonia* (Rosaceae) in North and Central America. Brittonia, 60: 11-33.

[16] [Kumar N., Chaudhary A. 2017. Pharmacognostic and phytochemical evaluation of *Prunus persica* (L.). International Journal of Research and Development in Pharmacy & Life Sciences, 6: 2806-2812.

[17] Larraburu E., Apostolo N., Llorente B. 2010. Anatomy and morphology of *photinia* plants inoculated with rhizobacteria. Trees, 24: 635-642.

[18] Majd A., Saffari P., Jonoubi P., Mehrabian S. 2011. The Study of developmental stages of vegetative and reproductive sections in *Vitis vinifera* L.(Shahani grape). Journal of Developmental Biology, 3: 51-61.

[19] Mozaffarian V. 1996. A dictionary of Iranian plant names. Tehran: Farhang Moaser.

[20] Muraseva D., Kostikova V. 2020. *In vitro* and *ex vitro* rooting of *Spiraea betulifolia* subsp. aemiliana (Rosaceae), an ornamental shrub. International Conferences Plant Diversity, 24: 1-5.

[21] Pandey S.N., Chadha A. 1996. Plant anatomy and embryology New Delhi: Vikas Publishing House.

[22] Perilli S., Di Mambro R., Sabatini S. 2012. Growth and development of the root apical meristem. Current opinion in plant biology, 15: 17-21.

[23] Raei Niaki N., Attar F., Maroofi H. 2009. Anatomical studies on fourteen species of the genus *Cotoneaster* L. (Rosaceae) in Iran. Iranian Journal Botany, 15: 96-104.

[24] Tsirigotis-Maniecka M., Pawlaczyk I., Ziewiecki R., Balicki S., Matulová M., Capek P., Czechowski F., Gancarz R. 2019. The polyphenolic-polysaccharide complex of *Agrimonia eupatoria* L. as an indirect thrombin inhibitor – isolation and chemical characterization. International Journal of Biological Macromolecules, 125: 124-132.

[25] Vafadar M., Attar F., Maroofi H., Aghabeigi F. 2008. Leaf anatomical study of the genus *Amygdalus* L. (Rosaceae) in Iran and its taxonomical implication. Iranian Journal Botany, 14: 143-55.

Study of the vegetative structure of *Agrimonia eupatoria* L. in the *in vivo* and *in vitro* plants

Saffari P.[1], Majd A.[1], Jonoubi P.[1*], Najafi F[1].

[1] Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

*Email: jonoubi@khu.ac.ir

Received: December 2020 Accepted: January 2021

Abstract

The study of vegetative structures of plants is effective in the development of biology and is one of the research methods in the field of taxonomy. *Agrimonia eupatoria* L. is a valuable medicinal plant of the Rosaceae. Due to weak germination and time-consuming growth in the natural habitat, tissue culture is a good method to accelerate the propagation of this plant. In the present study, the anatomical structure of vegetative organs in the *in vivo* plants was compared with the *in vitro* plants. Roots, stems, leaves, and petioles of plants in both groups were sampled and fixed in alcohol-glycerine and manual cutting was performed. The samples were stained with Carmen/Methylene blue. The results showed that the general structures in both samples are similar but in the regenerated plants, the density of protective tissues was lower than the *in vivo* plants (number of layers of collenchyma tissue was less and there was no sclerenchyma). Vascular bundles in the stem, leaves, and petiole of both groups were seen as bicollateral. The number of palisade parenchyma layers and spongy parenchyma layers in the leaves of both groups was similar. The macle crystal structures were observed in the parenchyma of stem and petiole in both groups, but its number was lower in regenerated plants. On the stem and leaves of this plant, there were numerous trichomes that the numbers of trichomes in the regenerated plants were less than natural plants.

Keywords: Leave, Petiol, Root, Shoot, Trichom.