

مطالعه صفات تشریحی برگ و دمبرگ سرده *Alchemilla* از تیره گل سرخیان در ایران و کاربرد آنها در تاکسونومی عددی

مرضیه بیگم فقیر^۱، عاطفه مهرمنش^۱ و فریده عطار^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

^۲ هرباریوم مرکزی، بخش گیاه‌شناسی، دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

مطالعه حاضر به بررسی صفات تشریحی برگ و دمبرگ ۲۴ گونه *Alchemilla* از ایران اختصاص دارد. پس از جمع‌آوری و شناسایی نمونه‌های گیاهی، با روش دستی از برگ‌های قاعده‌ای و دمبرگ آنها برش عرضی تهیه و بهترین برش‌ها برای رنگ‌آمیزی و مطالعه با میکروسکوپ نوری انتخاب شد. در پژوهش حاضر، ۴۳ صفت تشریحی با دقت بررسی و اندازه‌گیری شد. برای تعیین روابط بین گونه‌ها، ۳۹ صفت کمی تشریحی برگ و دمبرگ با روش تحلیل مؤلفه اصلی (PCA) تحلیل شد. نتایج بررسی حاضر نشان داد که کرک غده‌ای برگ و دمبرگ، تعداد، الگوی آرایش سلول‌های اپیدرمی اطراف روزنه، صاف یا موج‌دار بودن جدار آنها، همچنین حضور یا عدم حضور فیبر خارج از چوب درون دسته آوند رگبرگ اصلی و دمبرگ از مهم‌ترین صفات برای تفکیک گونه‌های این سرده هستند. تحلیل داده‌ها با روش PCA به تفکیک کامل گونه‌های: *A. melancholica*, *A. hyrcana*, *A. hessii*, *A. erythropoda*, *A. caucasica*, *A. pseudocartalinica*, *A. persica*, *A. microscopica* و *A. rechingeri* تشکیل سه گروه اصلی و دو زیرگروه منجر شد. یافته‌های بررسی حاضر نشان داد که صفات تشریحی برگ و دمبرگ در این سرده دارای ارزش تاکسونومیک محدود است و آنالیز عددی این صفات، قادر نیست حد و مرز و روابط بین گونه‌ها را به روشنی آشکار سازد.

واژه‌های کلیدی: گونه *Alchemilla*، تشریح، برگ، دمبرگ، تاکسونومی عددی، ایران

مقدمه

(Gehrke et al., 2008). گونه‌های *Alchemilla* عمدتاً

در نواحی کوهستانی تا نیمه کوهستانی نیمکره شمالی انتشار دارند و مرکز تنوع آنها از غرب آسیا تا اروپا امتداد می‌یابد. اما برخی از این گیاهان در جنوب هندوستان، سریلانکا، جاوه، چین و ژاپن، مناطق کوهستانی آفریقا و ماداگاسکار نیز یافت می‌شوند

سرده *Alchemilla* L. با دارا بودن حدود ۱۰۰۰ گونه یکی از غنی‌ترین سرده‌های تیره Rosaceae، طایفه Potentilleae، زیرطایفه Alchemillinae است. این زیرطایفه، علاوه بر *Alchemilla* شامل سرده‌های *Lachemilla* Rydb. و *Aphanes* L. نیز است.

* faghirmb@guilan.ac.ir

ویژه صفات ریخت‌شناسی منجر شده است (Gehrke *et al.*, 2008). این مسأله از یک سو کار شناسایی گونه‌ها را دشوار می‌سازد و از سوی دیگر موجب معرفی ترکیبات گونه‌ای و میکروگونه‌های بی‌شمار می‌شود (Sepp *et al.*, 2000). از این رو، محققان پیوسته در پی یافتن صفات پایدار و مناسب، به بررسی صفاتی با ماهیت‌های مختلف پرداختند که از جمله می‌توان به مطالعات ریخت‌شناسی Buser (۱۸۹۴)، Hauman و Balle (۱۹۳۶)، Juzepczuk (۱۹۴۱)، Rothmaler (۱۹۴۴)، Pawlowski (۱۹۷۲)، Fröhner (۱۹۹۵)، چند شکلی ژنتیکی Sepp و همکاران (۲۰۰۰)، اکولوژی Ayaz و همکاران (۱۹۹۹)، Kaya و همکاران (۲۰۱۲)، Gavrilova و Vitkova (۲۰۱۰)؛ مطالعه مولکولی Gehrke و همکاران (۲۰۰۸) و نیز بررسی ریزریخت‌شناسی Faghir و همکاران (۲۰۱۴) اشاره نمود. با این وجود، تا به حال مطالعات مختصری بر مبنای صفات تشریحی (Boruz, 2010; 2011) انجام شده است. در تحقیق حاضر، برای نخستین بار به بررسی مجموعه صفات تشریحی برگ و دم‌برگ و کاربرد آنها در تاکسونومی عددی پرداخته شده است. شناخت کامل صفات تشریحی برگ و دم‌برگ این سرده، یافتن صفات افتراقی جدید، تعیین حد و مرز و روابط بین گونه‌های *Alchemilla* در ایران از مهم‌ترین اهداف پژوهش حاضر است.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، صفات تشریحی برگ قاعده‌ای و دم‌برگ ۲۴ گونه از سرده *Alchemilla* بررسی شد. نمونه‌ها به دو صورت تازه و هرباریومی گردآوری شد. نمونه‌های تازه از اوایل تا اواخر تابستان ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱

(Izmailow, 1981). Fröhner (۱۹۶۹) ۳۱ گونه از این سرده را در محدوده فلورا ایرانیکا و Khatamsaz (۱۹۹۳) ۲۴ گونه از این گیاهان را برای فلور ایران معرفی نمودند. گونه‌های این سرده عمدتاً در شمال، شمال‌غرب، مرکز و غرب ایران یافت می‌شوند و بیشترین تمرکز گونه‌ها در نواحی شمال‌غرب (۱۱ گونه) و شمال (۱۰ گونه) است. گونه *A. persica* Rothm. متداول‌ترین گونه در ایران است که در مناطق شمال، شمال‌غرب، غرب و مرکز انتشار دارد (Khatamsaz, 1993; Fröhner, 1969). *Alchemilla* از نظر سیستماتیک یکی از پیچیده‌ترین سرده‌های تیره گل سرخ گزارش شده است (Gehrke *et al.*, 2008). Hayirlioglu-Ayaz and Inceer, 2009). این سرده برای نخستین بار توسط Linnaeus در سال ۱۷۵۳ معرفی شد. از آن زمان تاکنون نظرات متفاوتی در مورد محدوده سیستماتیک این سرده و گونه‌های آن رایج شده است و مؤلفان مختلف آنها را در زیرطایفه‌ها، زیرسرده‌ها، بخش‌ها و سری‌های مختلفی قرار دادند (Hauman and Balle, 1936; Buser, 1894; Pawlowski; Rothmaler, 1944; Juzepczuk, 1941; and Walter, 1972). برخی، این گیاهان را به علت داشتن گل‌های کوچک بدون گلبرگ با طایفه *Sanguisorbinae* خویشاوند می‌دانند (Hutchinson, 1964). در حالی که ارتباط این سرده با طایفه *Potentilleae* توسط برخی از محققان مانند Schulz-Menz (۱۹۶۴) و به ویژه نتایج آنالیز مولکولی Eriksson و همکاران (۱۹۹۸، ۲۰۰۳) تأیید شده است. پلی‌پلوئیدی، آپومیکیسی اختیاری (آگامو اسپرمی) و دورگه‌گیری در بین گیاهان این سرده بسیار رایج است (Czapik, 1996) و به بروز صفات مشابه و حدواسط به

جمع آوری و در هر بار یوم دانشگاه گیلان نگهداری شد. نمونه‌های خشک شده از هر بار یوم دانشگاه‌های گیلان، تهران (TUH) و مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور (TARI) تهیه شدند. برای شناسایی نمونه‌ها به منابع: فلورا ایرانیکا (Fröhner, 1969)، فلور ایران (Khatamsaz, 1993) و فلور شوروی (Juzepczuk, 1941) مراجعه شد. برای اطمینان از میزان پایداری صفات، جمعیت‌های مختلفی از هر گونه بررسی شد که در پیوست ۱ ارایه شده است. برای بررسی صفات تشریحی، از برگ و دمبرگ قاعده‌ای استفاده شد. ابتدا، برای نرم شدن بافت‌ها، نمونه‌ها به مدت ۱ تا ۲ ماه در محلول الکل ۹۶ درصد و گلیسرین به نسبت ۱:۱ قرار داده شد. سپس، با استفاده از تیغ تجاری برش‌گیری آنها صورت گرفت. تمام نمونه‌های پهنک و دمبرگ به طور ثابت از ناحیه یک سوم میانی برش داده شد. برای رنگ‌آمیزی برش‌ها از رنگ‌های سبز متیل و قهوه‌ای بیسمارک استفاده شد. برای مطالعه روزنه‌های برگ، برگ‌ها در لاکتیک اسید قرار داده شدند تا لایه سطحی آنها جدا شود. سپس، به مدت ۱۰ دقیقه درون آب ژاول و پس از شستشو، در محلول آب اسید (استیک اسید ۵

درصد) قرار داده شدند. در ادامه، پس از شستشوی برش‌ها، به مدت ۵ ثانیه در سافرانین قرار داده شد و در آخر، پس از شستشوی مجدد زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند. در مطالعه حاضر، در مجموع ۴۳ صفت تشریحی برگ و دمبرگ (جدول‌های ۱ و ۲) اندازه‌گیری شد. برای بررسی روابط بین آرایه‌ها و تعیین حد و مرز و گروه‌بندی آنها، تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) با نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۶/۰ انجام شد. ابتدا، مقادیر صفات اندازه‌گیری شده در جدول ماتریس صفات وارد شد. صفات کیفی به صورت دو حالت (صفر و یک) کدگذاری و صفات کمی نیز استانداردسازی (میانگین = ۰ و انحراف معیار ۱) شد. در این تحقیق، ابتدا ۴ صفت کیفی و ۳۹ صفت کمی برای آنالیز عددی استفاده شد. اما بر اساس نتایج تحلیل تک متغیره، صفات کیفی (جدول ۲) که در بین گونه‌ها اختلاف معنی‌داری نشان ندادند حذف و مجدداً آنالیز عددی، با استفاده از ۳۹ صفت کمی (برای هر گونه ۱ تا ۳ تکرار جمعیتی) انجام شد. هر یک از مؤلفه‌های اصلی سهمی از ماتریس تشابهات متغیرها را بیان می‌کنند که مقدار آن بر اساس ضریب "مقدار ویژه" مشخص می‌شود.

جدول ۱- صفات کمی برگ، رگبرگ اصلی و دمبرگ گونه‌های *Alchemilla* در ایران

ردیف	صفات کمی برگ، رگبرگ اصلی و دمبرگ	علامه اختصاری	ردیف	صفات کمی برگ، رگبرگ اصلی و دمبرگ	علامه اختصاری
۱	ضخامت اپیدرم فوقانی برگ	UEB	۱۳	تعداد لایه کلانشیم تحتانی رگبرگ اصلی	NLLCo
۲	ضخامت اپیدرم تحتانی برگ	LEB	۱۴	تعداد لایه پارانشیم فوقانی رگبرگ اصلی	NLUP
۳	ضخامت کوتیکول فوقانی برگ	UC	۱۵	تعداد لایه پارانشیم تحتانی رگبرگ اصلی	NLLP
۴	ضخامت کوتیکول تحتانی برگ	LC	۱۶	ضخامت چوب رگبرگ اصلی	ThXy
۵	تعداد لایه پارانشیم نردبانی برگ	NPp	۱۷	ضخامت آبکش رگبرگ اصلی	ThPh
۶	ضخامت لایه‌های پارانشیم نردبانی برگ	ThPp	۱۸	ضخامت فیبر خارج از چوب در رگبرگ اصلی	EXyF
۷	ضخامت نخستین لایه پارانشیم نردبانی برگ	ThFPp	۱۹	طول روزنه برگ	LS
۸	تعداد لایه پارانشیم اسفنجی برگ	NPs	۲۰	عرض روزنه برگ	WS
۹	ضخامت لایه‌های پارانشیم اسفنجی برگ	ThPs	۲۱	میانگین تعداد روزنه در هر میلی‌متر مربع از سطح برگ	Den
۱۰	ضخامت اپیدرم فوقانی رگبرگ اصلی	UEM	۲۲	تعداد سلول‌های اطراف روزنه برگ	NCS
۱۱	ضخامت اپیدرم تحتانی رگبرگ اصلی	LEM	۲۳	ضخامت اپیدرم دمبرگ	ThE1
۱۲	تعداد لایه کلانشیم فوقانی رگبرگ اصلی	NLUCo	۲۴	ضخامت کوتیکول دمبرگ	ThC1
۲۵	تعداد لایه کلانشیم دمبرگ	Nco1	۳۳	ضخامت آبکش دسته آوند کوچک دمبرگ	ThPh2

ردیف	صفات کمی برگ، رگبرگ اصلی و دمبرگ	علامیم اختصاری	ردیف	صفات کمی برگ، رگبرگ اصلی و دمبرگ	علامیم اختصاری
۲۶	قطر دسته آوند بزرگ دمبرگ	DLS1	۳۴	ضخامت چوب دسته آوند کوچک دمبرگ	ThXy2
۲۷	ضخامت آبکش در دسته آوند بزرگ دمبرگ	ThPh1	۳۵	تعداد رگه‌های چوب دسته آوند کوچک دمبرگ	SXS1
۲۸	ضخامت چوب در دسته آوند بزرگ دمبرگ	ThXy1	۳۶	ضخامت مغز آوند کوچک دمبرگ	ThPh2
۲۹	تعداد رگه‌های چوب دسته آوند بزرگ دمبرگ	LXS1	۳۷	ضخامت فیبر خارج از چوب دسته آوند کوچک دمبرگ	EXyF2
۳۰	ضخامت مغز دسته آوند بزرگ دمبرگ	ThP1	۳۸	طول محور پستی-شکمی دمبرگ	Dors-Vent
۳۱	ضخامت فیبر خارج از چوب دسته آوند بزرگ دمبرگ	EXyF1	۳۹	طول محور پستی دمبرگ	Vent
۳۲	قطر دسته آوند کوچک دمبرگ	DSS2	-	-	-

جدول ۲- صفات کیفی تشریحی برگ، رگبرگ اصلی و دمبرگ گونه‌های *Alchemilla* در ایران

ردیف	صفات	حالات صفت	علامیم اختصاری
۱	نوع کرک برگ	بدون کرک ۰، داری کرک ۱	CM
۲	نوع کرک دمبرگ	بدون کرک ۰، کرک بدون پایه ۱، کرک پایه‌دار ۲	CP
۳	شکل دیواره سلول‌های اطراف روزنه برگ	صاف ۰، موج‌دار ۱	ShWS
۴	شکل سلول‌های بافت زمینه دمبرگ	کروی ۰، چندضلعی ۱	ShC

نتایج

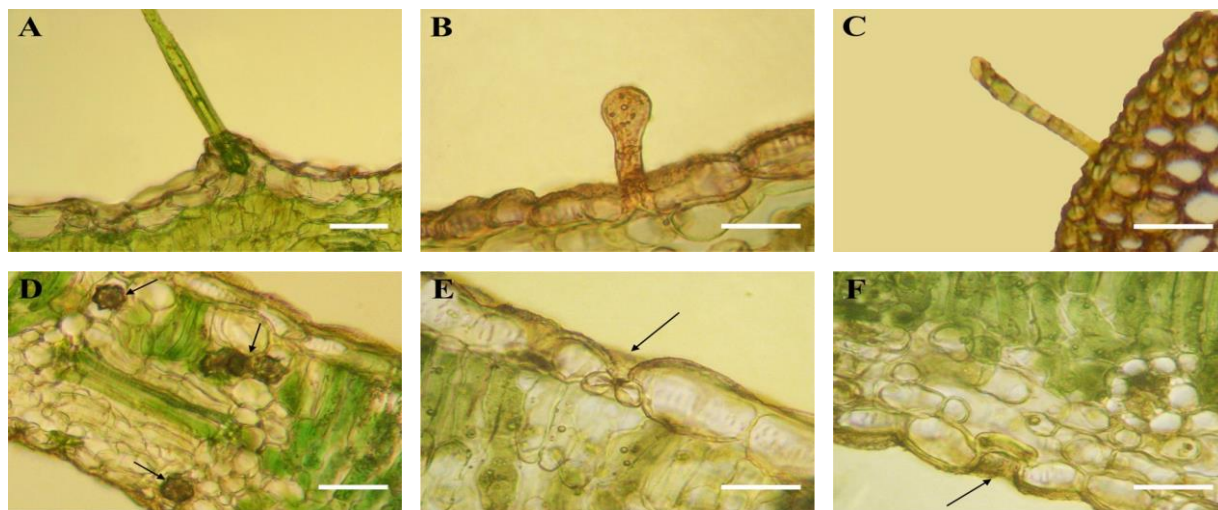
ساختار تشریحی برگ در ۲۴ گونه مورد مطالعه این سرده، متشکل از دو بخش پهنک و رگبرگ اصلی است. پهنک، دو بخش اپیدرم و قسمت میانی یا مزوفیل برگ را در بر می‌گیرد. اپیدرم در سطح فوقانی و تحتانی متشکل از سلول‌های مستطیل‌شکل، چندضلعی تا مدور است که توسط لایه کوتیکول پوشانده می‌شود. در این قسمت عناصری مانند کرک، کرک غده‌ای و روزنه دیده می‌شود. کرک پوششی، یک سلولی، پایه‌دار و متشکل از ۵ تا ۷ سلول قاعده‌ای (شکل A-۱) است. در این گیاهان، دو نوع کرک غده‌ای شامل: الف) کرک غده‌ای دارای پایه یک سلولی و سر کروی (شکل B-۱) و ب) کرک غده‌ای دارای پایه بلند و چند سلولی با سر استوانه‌ای (شکل C-۱) وجود دارد. در این گونه‌ها، روزنه‌ها فرورفته (شکل D-۱ و F)، در دو سطح برگ (آمفی استوماتیک) و پایین‌تر از اپیدرم سطوح فوقانی و تحتانی مشاهده می‌شوند. سلول‌های روزنه، دایره‌ای، تخم‌مرغی و بیضی‌شکل هستند. تعداد سلول‌های اطراف روزنه از ۴ تا ۷ (شکل ۲) متغیر است. آرایش سلول‌های اطراف روزنه بر اساس Carpenter

(۲۰۰۶) از نوع آنموسیتیک (دیواره‌هایی فاقد نظم)، دارای دیواره‌هایی شعاعی (شامل شعاعی نامنظم)، (شعاعی نامنظم تا منظم) و شعاعی منظم شناسایی شد (شکل ۲).

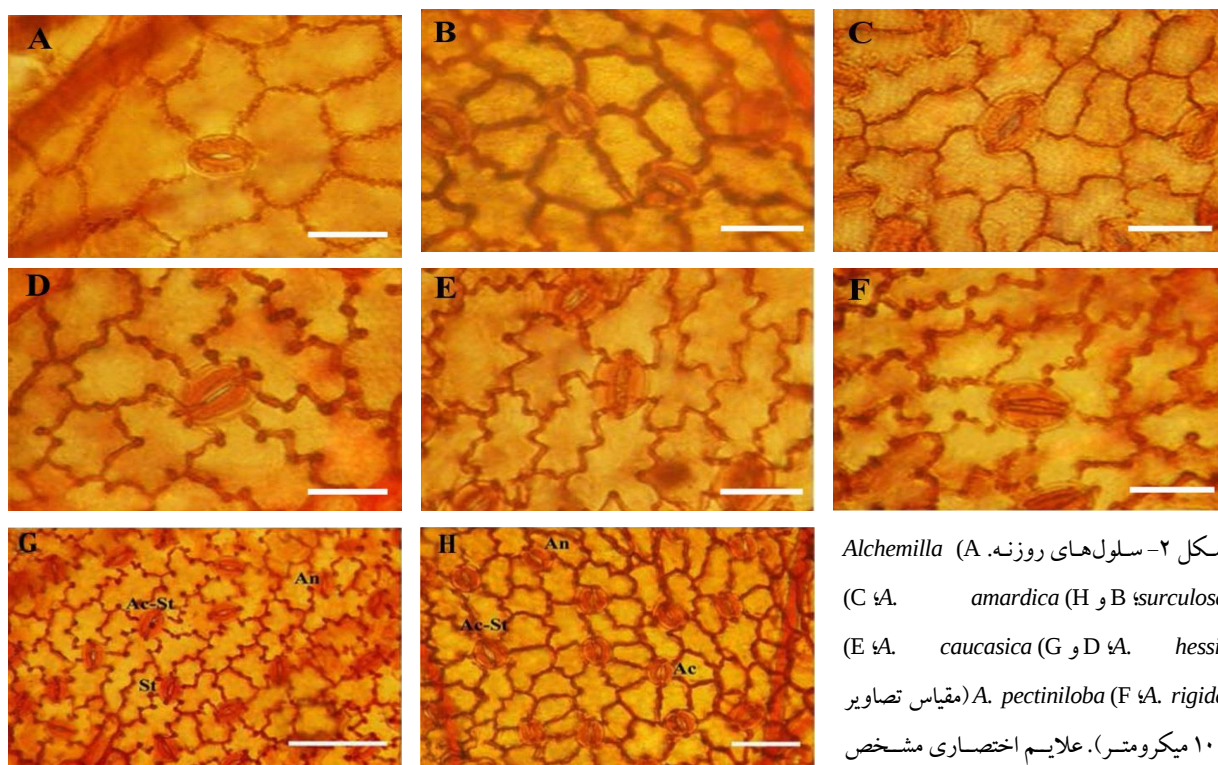
مزوفیل برگ، از زیر اپیدرم بالایی آغاز و روی اپیدرم پایینی خاتمه می‌یابد و به ترتیب شامل ۱ تا ۲ ردیف پارانشیم نردبانی و ۲ تا ۴ ردیف پارانشیم اسفنجی است. در تمام گونه‌های مورد مطالعه این سرده، مزوفیل برگ از نوع دو سویه یا پستی-شکمی است (شکل ۳). در این قسمت، سلول‌های حاوی بلورهای منفرد (شکل D-۱) مدور کوچک و چندوجهی هم مشاهده می‌شوند. رگبرگ اصلی متشکل از اپیدرم فوقانی و تحتانی است که توسط لایه کوتیکول پوشانده می‌شود. پس از آن، ۱ تا ۵ لایه کلانشیم، صفر تا ۲ لایه پارانشیم در قسمت فوقانی، ۱ تا ۵ لایه کلانشیم و صفر تا ۳ لایه پارانشیم در قسمت تحتانی و در وسط، حلقه‌ای از سلول‌های اندودرمی دیده می‌شود که دسته آوند برگ را احاطه می‌کند. آرایش دسته آوند برگ به صورت آمفی کریبرال است (شکل ۴). از میان گونه‌های مورد بررسی در رگبرگ اصلی دو گونه *A. persica* (شکل

کریستال هستند. شکل کلی مقطع عرضی رگبرگ اصلی در تمام گونه‌ها از سه گوش، نیم‌دایره تا U شکل متغیر است (شکل ۴).

۴- A و B) و *A. caucasica* Buser، فیبر خارج از چوب (روی آوند آبکش) مشاهده شد. در بیشتر گونه‌ها سلول‌های بافت زمینه رگبرگ اصلی دارای لعاب و

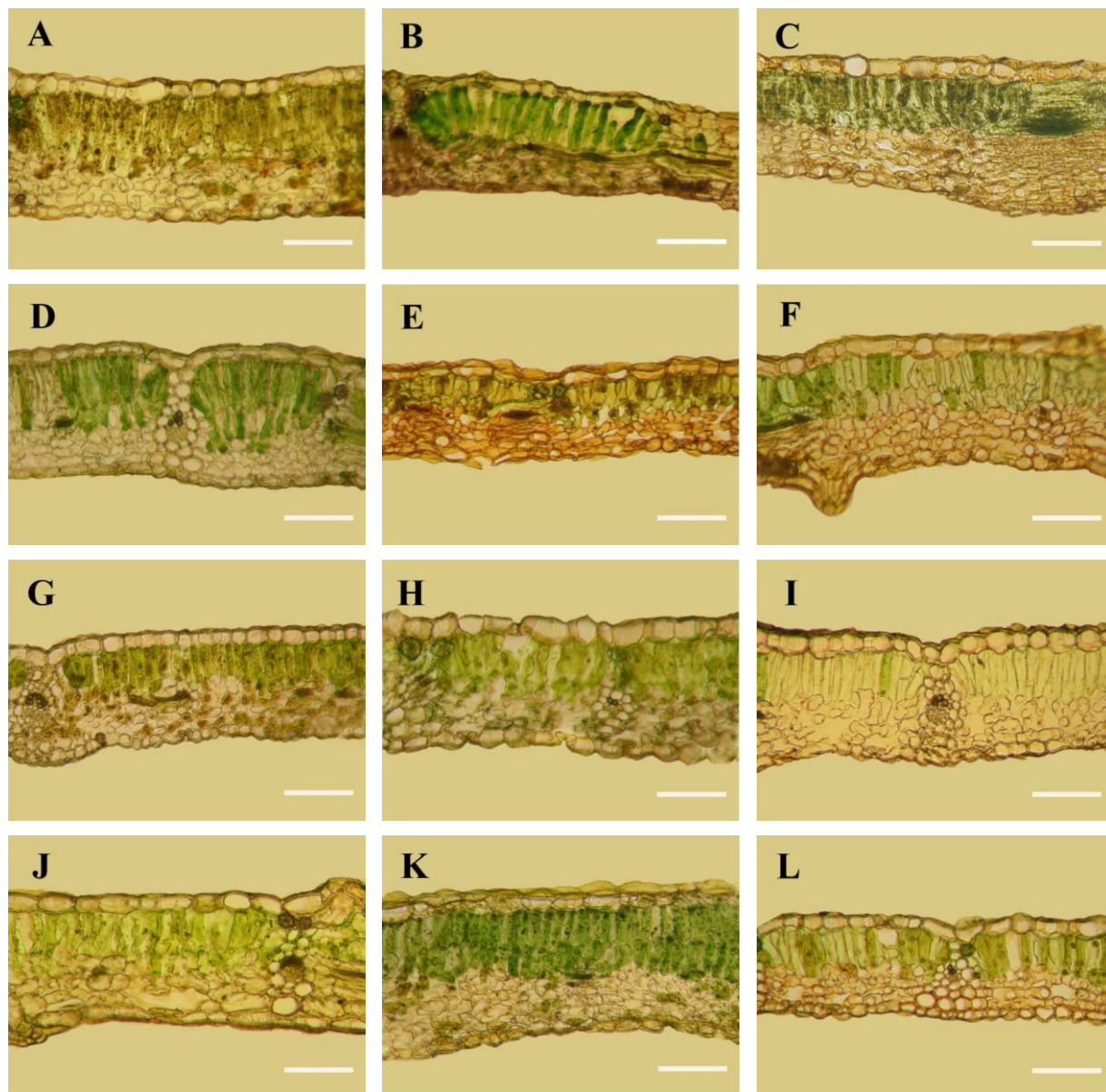


شکل ۱- عناصر اپیدرم برگ شامل کرک، غده، بلور و روزنه‌های برگ. A) *Alchemilla surculosa* (A)؛ B) *A. erythropoda* (B)؛ C) *A. fluminea* (C)؛ D) *A. rechingeri* (D)؛ E-F) *A. melancholica* (مقیاس تصاویر ۵۰ میکرومتر).

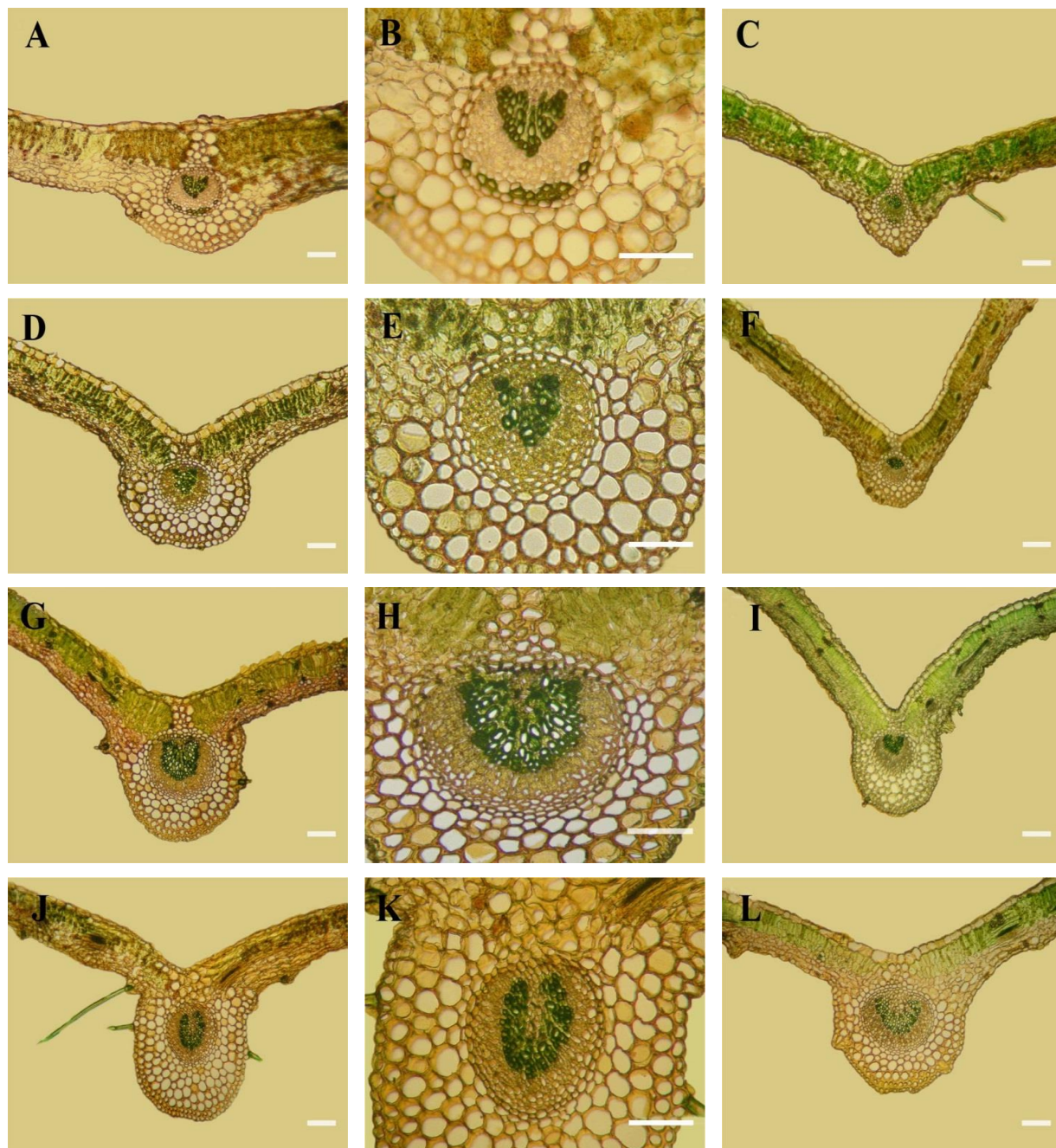


شکل ۲- سلول‌های روزنه. A) *Alchemilla* (A)؛ B) *A. surculosa* (B)؛ C) *A. amardica* (C)؛ D) *A. hessii* (D)؛ E) *A. caucasica* (E)؛ F) *A. rigida* (F)؛ G) *A. pectiniloba* (G)؛ H) *A. pectiniloba* (H) (مقیاس تصاویر ۱۰۰ میکرومتر). علائم اختصاری مشخص

شده در تصاویر E و F) آرایش سلول‌های اطراف روزنه: دیواره‌هایی فاقد نظم (An)؛ دیواره‌هایی شعاعی: شعاعی نامنظم (St)، شعاعی نامنظم-منظم (Ac-St) و شعاعی منظم (Ac) است.



شکل ۳- برش عرضی پهنک برگ. (A) *Alchemilla persica* (B) *A. hessii* (C) *A. pseudocartalinica* (D) *A. rechingeri* (E) *A. sedelmeyeriana* (F) *A. melancholica* (G) *A. microscopica* (H) *A. fluminea* (I) *A. pectiniloba* (J) *A. caucasica* (K) *A. farinosa* (L) *A. rigida* (مقیاس تصاویر ۱۰۰ میکرومتر).



شکل ۴- برش عرضی رگ‌برگ اصلی. A و B: *Alchemilla persica*; C: *A. hessii*; D و E: *A. psudocartalinica*; F: *A. rigida*; G و H: *A. rechingeri*; I: *A. gigantodus*; J و K: *A. sedelmeyeriana*; L: *A. melancholica* (مقیاس تصاویر ۱۰۰ میکرومتر).

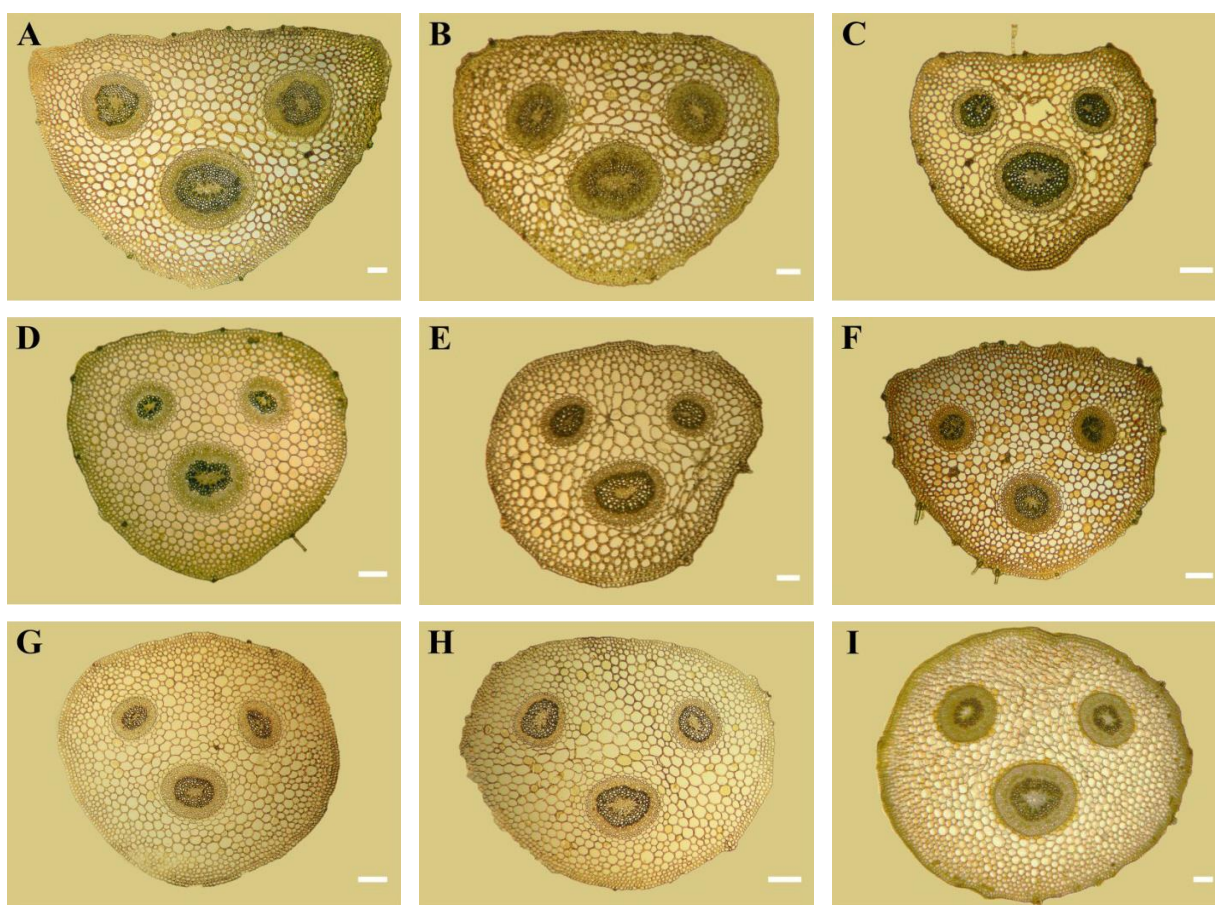
صفات تشریحی دمبرگ برگ قاعده ای در

گونه‌های مطالعه شده: برش عرضی دمبرگ به شکل های سه گوش، نیمه کروی و کروی است (شکل ۵) و از سه بخش اصلی شامل: اپیدرم، بافت زمینه و بافت هادی تشکیل می‌شود.

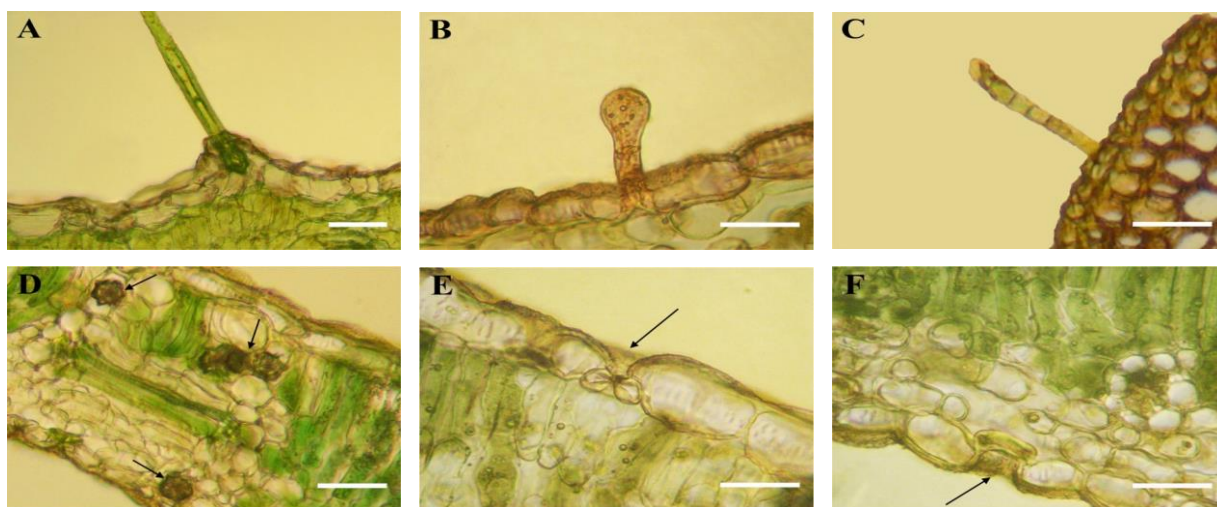
سلول‌های اپیدرم دمبرگ کوچک به شکل‌های مستطیل، مربع و مدور هستند و توسط لایه کوتیکول با ضخامت‌های متفاوت پوشانده می‌شود. **کرک‌های** سطح اپیدرم از نوع بدون پایه (شکل ۶-۱) یا پایه‌دار با ۵ تا ۷ سلول قاعده‌ای (شکل ۶-۲ و ۳) است. **کرک‌های** غده‌ای دمبرگ مشابه پهنک است (شکل ۶-۴ و ۵) و روزنه‌ها فروفته و پایین‌تر از سطح اپیدرم قرار می‌گیرند

(شکل ۶-۴).

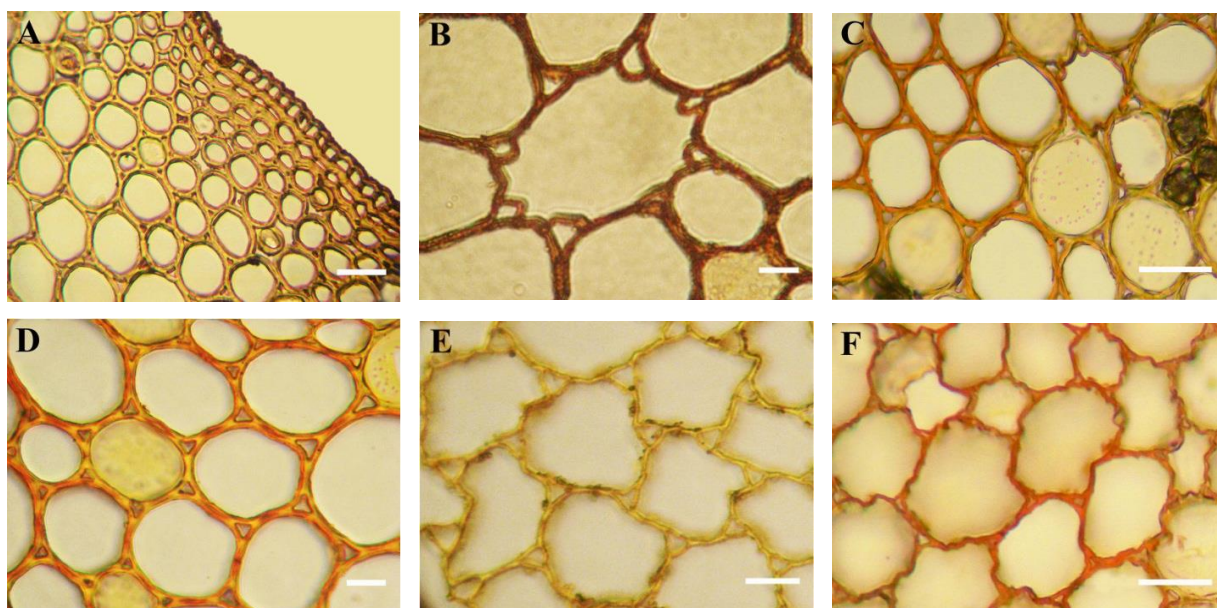
بافت زمینه به صورت چند لایه، متشکل از لایه‌های کلانشیم ورقه‌ای و سلول‌های مدور و چندضلعی پارانشیمی است (شکل ۷-۱ تا ۴). ضخامت لایه کلانشیم در گوشه‌ها بیشتر و به سمت مرکز کاهش می‌یابد، به طوری که در مرکز توسط سلول‌هایی با دیواره نازک پارانشیمی جایگزین می‌شود. سلول‌های بافت زمینه‌ای ممکن است، منظم یا نامنظم باشند، در مواردی، لعاب در این سلول‌ها مشاهده می‌شود (شکل ۷)؛ بلورهای انزالات کلسیم به شکل‌های چندوجهی و به صورت منفرد یا دسته‌ای یافت می‌شوند (شکل ۷-۳ و ۴).



شکل ۵- برش عرضی دمبرگ. (A) *Alchemilla farinosa* (B) *A. amardica* (C) *A. sericata* (D) *A. gigantodus* (E) *A. citrina* (F) *A. plicatissima* (G) *A. kurdica* (H) *A. sedelmeyeriana* (I) *A. pseudocartalinica* (مقیاس تصاویر ۱۰۰ میکرومتر).



شکل ۶- عناصر اپیدرم دمبرگ. (A) کُرک بدون پایه *Alchemilla pectiniloba* (B و C) کُرک پایه دار *A. caucasica* (D) کُرک غده ای دارای پایه تک سلولی *A. erythropoda* (E) کُرک دارای پایه چند سلولی *A. plicatissima* (F) روزنه فرورفته *A. amardica* (مقیاس تصاویر ۵۰ میکرومتر).



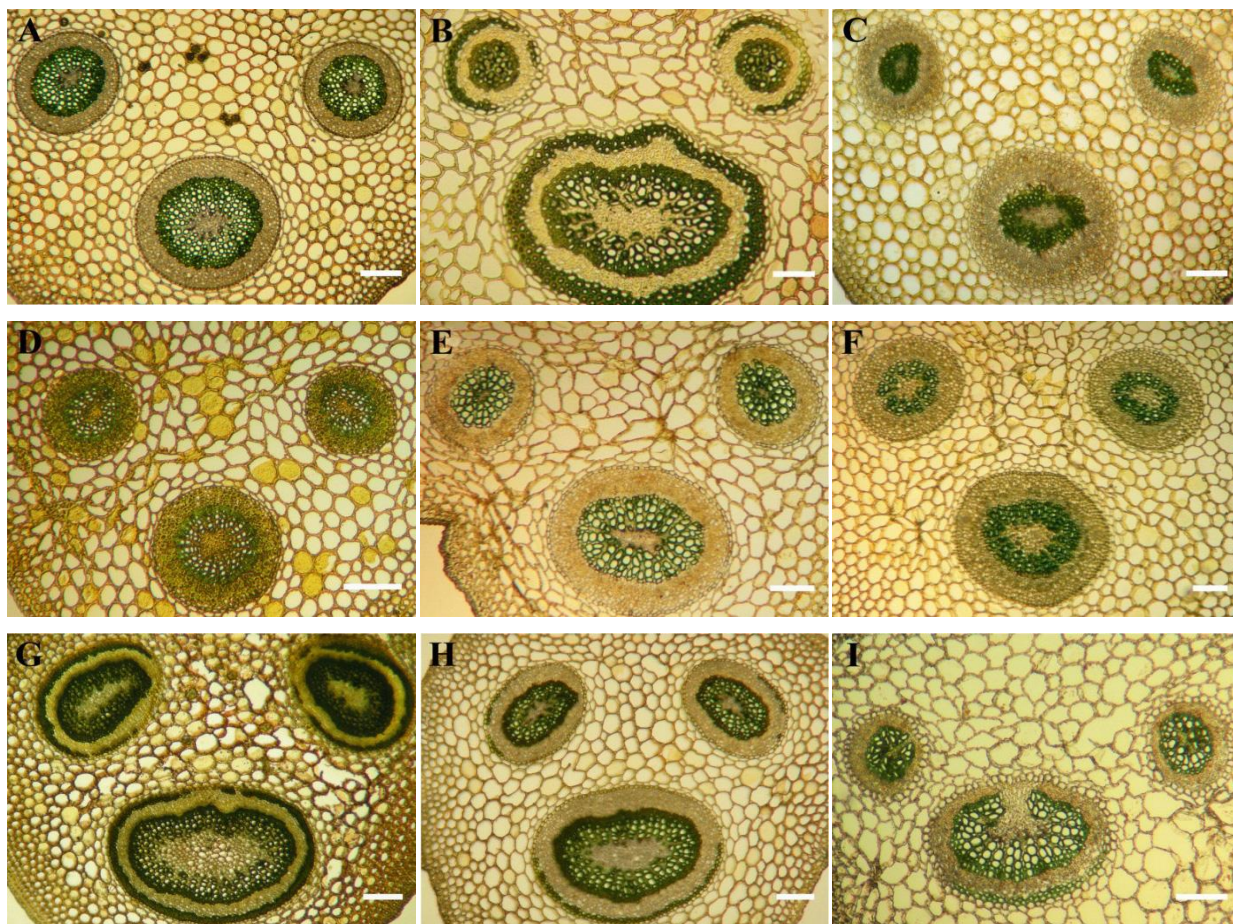
شکل ۷- بافت زمینه (A) *Alchemilla persica* (B) *A. pseudocartalinica* (C) *A. melancholica* (D) *A. amardica* (E) *A. hessii* (F) *A. surculosa* (مقیاس تصاویر ۲۵ میکرومتر).

متشکل از سلول های مستطیلی شکل که اغلب هم اندازه و منظم هستند، احاطه می شود و در مرکز، بافت مغز را محصور می سازد. علاوه بر این، در گونه های *A. persica*, *A. hessii* Rothm., *A. caucasica*

بافت هادی شامل سه دسته آوندی است: دو دسته آوند کوچک در قسمت فوقانی و یک دسته آوند بزرگ در قسمت تحتانی دمبرگ واقع هستند (شکل ۸- A تا I). هر دسته آوند توسط یک لایه اندودرمی

دسته‌آوندها در گونه‌های مختلف به شکل‌های بیضی، تخم‌مرغی و مدور دیده می‌شود.

A. surculosa Fröhner روی حلقه آبکش، فیبر خارج از چوب مشاهده می‌شود (شکل ۸-B و G تا I).



شکل ۸- برش عرضی دمبرگ، دسته‌های آوندی استل‌های بزرگ و کوچک دمبرگ. A. *caucasica* (B)؛ *Alchemilla melancholica* (A)؛ *A. erythropoda* (C)؛ *A. sericata* (D)؛ *A. rechingeri* (E)؛ *A. pseudocartalinica* (F)؛ *A. persica* (G)؛ *A. hessii* (H)؛ *A. surculosa* (I) (مقیاس تصاویر ۱۰۰ میکرومتر).

تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA): در تحلیل

مؤلفه‌های اصلی، مقادیر ویژه محاسبه شده روی محور نخست (PC_1) ۸۲ درصد و روی محور دوم (PC_2) ۵۲/۲ درصد از کل تغییرات صفات تشریحی را توجیه می‌کند (شکل ۹). روی محور نخست، صفات: ضخامت اپیدرم فوقانی و کوتیکول، ضخامت فیبر خارج از چوب رگبرگ اصلی و دسته آوند بزرگ، ضخامت کوتیکول دمبرگ و

روی محور دوم صفات: طول محورهای پشتی و پشتی-شکمی، قطر دسته آوند کوچک، ضخامت آبکش و چوب چوب دسته آوند کوچک، ضخامت آبکش و چوب دسته آوند بزرگ، تعداد لایه پارانشیم و کلانشیم رگبرگ اصلی، میانگین تعداد سلول‌های روزنه در واحد سطح بیشترین بارگذاری را نشان دادند. تفکیک صفات بارگذاری شده به تشکیل سه گروه A، B و C منجر شد.

شکل ۹- نمودار رسته بندی دو مؤلفه اصلی (PCA: A) بارگذاری صفات، (B) بارگذاری ۲۴ گونه *Alchemilla* (دو جمعیت از هر گونه) را نشان می دهد. اسامی گونه ها در نمودار شامل: a1 و a2: *A. persica*، b1 و b2: *A. hessii*، c1 و c2: *A. retinervis*، d1 و d2: *A. pseudocartalinica*، e1 و e2: *A. rechingeri*، f1 و f2: *A. hyrcana*، g1 و g2: *A. sedelmeyeriana*، h1 و h2: *A. melancholica*، i1 و i2: *A. kurdica*، j1 و j2: *A. fluminea*، k1 و k2: *A. valdehirsuta*، l1 و l2: *A. microscopica*، m1 و m2: *A. pectiniloba*، n1 و n2: *A. surculosa*، o1 و o2: *A. erythropoda*، p1 و p2: *A. caucasica*، q1 و q2: *A. gigantodus*، r1 و r2: *A. farinosa*، s1 و s2: *A. rigida*، t1 و t2: *A. citrina*، u1 و u2: *A. plicatissima*، v1 و v2: *A. condensata*، w1 و w2: *A. amardica*، x1 و x2: *A. sericata* است.

بحث

به طور کلی، صفات تشریحی برگ و دم برگ در تیره های مختلف گیاهی (Ennos et al., 2000؛ Maria Mehrabian؛ Saquaro, 2005؛ and Rodriigo, 2003 et al., 2007) به ویژه در تیره گل سرخیان از نظر تاکسونومیک بسیار اهمیت دارند (Metcalf and Singh, 2010؛ Chalk, 1957). تاکنون، بررسی های معدودی (Boruz, 2010؛ Toma and Rugină, 1998) در مورد صفات تشریحی برگ و دم برگ این گیاهان انجام شده است. صفات تشریحی این سرده، ابتدا توسط Metcalfe و Chalk (۱۹۵۷) در چارچوب مطالعه تشریحی تیره گل سرخیان ارایه شد. Boruz (۲۰۱۰، ۲۰۱۱) صفات تشریحی دو گونه *A. flabellata* Buser و *A. vulgaris* L. را بررسی کرد. بر اساس یافته های تحقیق وی، در برگ این گیاهان یک نوع کُرک و در دم برگ آنها دو نوع کُرک غده ای شناسایی شد. اهمیت تاکسونومیک صفات تشریحی کُرک پوششی و ترشعی در سایر سرده های طایفه Potentilleae گزارش شده است (Faghir et al., 2011). نقش این عناصر در مطالعات ریخت شناسی سرده *Alchemilla* به ویژه برای تفکیک در سطوح زیر سرده، بخش، سری (Juzepczuk, 1941) و گونه (Khatamsaz, 1993؛ Fröhner, 1969) قابل توجه است. در گذشته، Metcalfe و Chalk (۱۹۵۷) یک

نوع کُرک غده ای، دارای پایه تک سلولی و سر کروی را در این سرده گزارش کردند. بر اساس نتایج بررسی حاضر، برگ و دم برگ برخی از گونه های این سرده مانند *A. hyrcana* و *A. erythropoda* دارای کُرک غده ای با پایه تک سلولی و سر کروی و برخی دیگر مانند: *A. caucasica*، *A. fluminea*، *A. gigantodus* و *A. plicatissima* دارای کُرک های غده ای پایه دار چند سلولی و سر استوانه ای هستند. مشخص شد که کُرک پوششی برگ و دم برگ در گونه های مورد مطالعه فاقد تنوع و کاربرد تشخیصی است. در حالی که نوع کُرک های غده ای برای شناسایی برخی از گونه ها مفید است.

بررسی برگ گونه ها و جمعیت های مختلف آنها نشان داد که میزان ضخامت اپیدرم و کوتیکول به شدت تابع شرایط محیطی (رطوبت و خشکی) است. همچنین، با توجه به این که گونه های *Alchemilla* در نواحی نیمه کوهستانی-کوهستانی و در ارتفاع ۱۲۰۰ تا ۳۶۸۵ متری پراکنده اند (Fröhner, 1969؛ Khatamsaz, 1993)، ضخامت اپیدرم و کوتیکول دو سوی برگ با افزایش ارتفاع بیشتر می شود. برای مثال، جمعیت های جمع آوری شده گونه *A. erythropoda* از ارتفاعات اردبیل (۲۹۰۰، ۳۳۸۰ و ۳۴۵۹ متر) در مقایسه با جمعیت مازندران (۲۰۰۰ متر) و گیلان (۱۹۰۰ متر) دارای اپیدرم و کوتیکول ضخیم تر هستند. به این ترتیب، ناپایداری

این صفات مانع از کاربرد تاکسونومیک آنها می‌شود. نتایج حاصل نشان داد که روزنه در این گیاهان دارای سه شکل اصلی است. اغلب گونه‌های مطالعه شده (۲۰ گونه) دارای ۴ تا ۶ سلول اپیدرمی در اطراف روزنه هستند. در حالی که این تعداد در گونه‌های: *A. pseudocartalinica*, *A. sedelmeyeriana*, *A. surculosa* ۴ تا ۵ و در *A. hessii* ۴ تا ۷ است. ارزش تاکسونومیک این صفات محدود است و تنها برای تفکیک برخی از گونه‌ها کاربرد دارد. بر اساس تحقیقات Metcalfe و Chalk (۱۹۵۷)، همچنین Jeelani (۱۹۹۹) در این سرده، روزنه از تیپ آنموستیک است و سلول‌های اطراف آن به صورت نامنظم (An) قرار دارد. مطالعه حاضر، الگوهای متفاوتی از آرایش سلول‌های اطراف روزنه را آشکار ساخت که بر اساس بررسی Carpenter (۲۰۰۶) شامل دیواره‌های شعاعی نامنظم (St)، شعاعی نامنظم-منظم (Ac-St) در ۱۴ گونه و شعاعی منظم (Ac) در ۱۵ گونه است. همچنین، در برخی از گونه‌ها مانند: *A. kurdica* Rothm. in Bornm., *A. persica*, *A. rechingeri* و *A. retinervis* صرفاً یک الگوی St، در بعضی گونه‌ها مانند: *A. fluminea*, *A. kurdica*, *A. plicatissima*, *A. sedelmeyeriana*, *A. sericata* و *A. surculosa* دو الگوی ST و AC، یا در *A. pectiniloba* الگوی St و A و در گونه‌های: *A. gigantodus*, *A. erythropoda*, *A. condensa*, *A. hessii*, *A. microscopica*, *A. rigida* و *A. valdehirsuta* الگوی Ac-st و Ac، همچنین در گونه‌های: *A. citrina* الگوی A، *A. melancholica* الگوی AC-ST و *A. pseudocartalinica* الگوی ST و AC-ST مشاهده شد. در مواردی هم سه الگوی متفاوت از طرز قرار گرفتن سلول‌های اطراف روزنه

یافت شد؛ برای مثال، A، AC-ST و ST در گونه *A. hyrcana* و *A. caucasica*، A، AC-ST و AC در گونه‌های *A. farinosa*، *A. amardica* دیده می‌شود. همچنین، در بررسی حاضر مشخص شد که دیواره سلول‌های اطراف روزنه در نیمی از گونه‌های مطالعه شده صاف و در نیمی دیگر موج‌دار است. به طور کلی، الگوی آرایش سلول‌های اطراف روزنه و صاف یا موج‌دار بودن آنها، به صورت صفتی پایدار، در گونه‌های مختلف و جمعیت‌های آنها مشاهده شد. این صفت از نظر تاکسونومیک اهمیت دارد و می‌تواند برای شناسایی گونه‌ها استفاده شود.

در تمام گونه‌های مطالعه شده، پهنک دارای تقارن پشتی-شکمی، مزوفیل کاملاً دو سویه و بلورهای مجتمع یا منفرد اگزالات کلسیم است. تعداد لایه‌های اسفنجی و نردبانی مزوفیل، پیوسته تحت تأثیر شرایط محیطی قرار دارند (Ivanova and P'yankov, 2002; Faghir et al., P'yankov and Kondrachuk, 2003; 2011). بنابر این، معیار مناسبی برای شناسایی گونه‌ها به شمار نمی‌رود.

در تمام گونه‌های مطالعه شده، رگبرگ اصلی دارای دسته‌آوند از نوع آمفی کریبرال است. از میان گونه‌ها و جمعیت‌های بررسی شده، تنها در رگبرگ اصلی گونه‌های *A. caucasica* و *A. persica* فیبر خارج از چوب (Evert, 2006) دیده شد. این نوع فیبر درون دستجات آوندی بزرگ و کوچک دم‌برگ برخی از گونه‌ها مانند: *A. caucasica*، *A. hessii*، *A. persica* و *A. surculosa* هم مشاهده می‌شود. بر اساس نظر Esau (۱۹۶۵) این نوع فیبر در برش عرضی دم‌برگ و در بالای بافت آبکش برخی از گیاهان عمومیت دارد. عناصر ساختار آوندی به صورت

حلقه‌های متحدالمرکز قرار دارند. حلقه آبکش، حلقه چوب و پارانشیم مغز را احاطه می‌کند (Metcalf and Chalk, 1957؛ Boruz, 2011). وجود فیبر خارج از چوب درون دستجات آوندی دمبرگ و رگبرگ اصلی می‌تواند برای شناسایی گونه‌های مطالعه شده، مفید باشد. شکل دمبرگ گونه‌های این سرده از سه گوش تا تقریباً دایره‌ای و گرد متغیر است. این صفت در جمعیت‌های مشابه از یک گونه پایداری نشان نداد. بنابراین، فاقد کاربرد تشخیصی است. اما شکل سلول‌های بافت زمینه در ۱۵ گونه مدور و در ۹ گونه چندضلعی است. از میان صفات تشریحی ارزیابی شده، دمبرگ، ضخامت اپیدرم و کوتیکول، ضخامت کلانشیم و تعداد لایه‌های آن در بافت زمینه، قطر دسته آوند و عناصر آن، به شدت تحت نفوذ شرایط محیطی و بر حسب سن گیاه قرار دارند. برعکس، صفاتی مانند: نوع *گرک* غده‌ای، شکل سلول‌های بافت زمینه دمبرگ، شکل روزنه‌ها، تعداد، الگوی قرار گرفتن و دیواره سلول‌های اطراف روزنه، حضور یا عدم حضور فیبر خارج از چوب که در بین جمعیت‌های مورد بررسی نوسان نشان ندادند، دارای ارزش تشخیصی هستند و می‌توانند برای جداسازی گونه‌ها استفاده شوند. در تحلیل مؤلفه اصلی، دو گونه *A. caucasica* و *A. persica* (گروه A) به واسطه صفات تشریحی مشابه شامل فیبر خارج از چوب در دستجات آوندی دمبرگ و رگبرگ اصلی، ضخامت کوتیکول کنار هم واقع شدند. اما این دو گیاه از نظر صفات ریخت‌شناسی (شامل ارتفاع ساقه گل‌دهنده، نوع پوشش *گرک* برگ و دمبرگ، نسبت بلندی کاسبرگ به هیپانتیوم، ابعاد گل و برگ، تعداد گل‌های گل‌آذین و شکل کاسبرگ)، انتشار جغرافیایی (*A. persica* از عناصر خزری و

ایرانی-تورانی است، در حالی که پراکنش *A. caucasica* محدود به بخش کوهستانی منطقه خزری است (Fröhner, 1969؛ Khatamsaz, 1993) و صفات گرده‌شناسی (*A. persica* دارای گرده‌های تقریباً استوانه‌ای شکل، سه شیار-منفذی و انگزین نازک است. در حالی که *A. caucasica* دارای گرده‌های استوانه‌ای کروی شکل، ۳ تا ۴ شیار منفذی، و انگزین ضخیم (Faghir et al., 2015)، دارای تفاوت‌های چشمگیری هستند.

بر اساس مطالعات ریخت‌شناسی *A. persica* به واسطه ارتفاع گیاه، برگ‌های اندک روی قسمت‌های بالایی ساقه، ساقه و گل‌آذین بدون *گرک* و نوع *گرک* روی دو سطح برگ کنار *A. oxysepala* Juz. (Fröhner, 1969) برای ساقه افراشته، کاسبرگ‌های بلندتر از هیپانتیوم، *گرک*‌های پراکنده-افراشته ساقه و دمبرگ در مجاورت گونه‌های *A. hessii* و *A. pseudocartalinica* (Khatamsaz, 1993)، همچنین، *A. caucasica* به واسطه صفات ریخت‌شناسی مشابه مانند ارتفاع گیاه، شکل برگ‌ها، برگ‌های ساقه‌ای کوچک، تعداد لب برگ‌ها، دمگل‌های *گرک* دار، گل‌آذین کم گل نزدیک به گونه *A. erythropoda* قرار داده شد (Fröhner, 1969؛ Khatamsaz, 1993). اما مطالعه صفات گرده‌شناسی سرده *Alchemilla* (Faghir et al., 2015)، تفاوت‌های صفات گرده *A. persica* (مانند وجود گرده‌های عقیم بسیار متداول، اندازه، شکل و ضخامت انگزین) با دو گونه *A. hessii* و *A. pseudocartalinica* و نیز *A. caucasica* (تعداد شیار و منفذ، شکل و تزیینات انگزین) با *A. erythropoda* را آشکار ساخت و رده‌بندی‌های رایج را مورد تردید قرار داد. بنابراین،

ریخت‌شناسی مشترک کنار هم و گاه در کنار گونه‌های غیر مرتبط قرار گرفتند. برای نمونه، گونه‌های *A. kurdica* و *A. fluminea* که دارای هیپانتیوم بدون کُرک، ساقه تقریباً بدون کُرک یا فاقد کُرک، برگ‌های کوچک ۷ لبه، دارای ۱۱ تا ۱۷ دندانه مشابه هستند، کنار هم واقع شدند (Fröhner, 1969; Khatamsaz, 1993). همچنین، شش گونه: *A. amardica*، *A. condensata*، *A. farinosa*، *A. rigida*، *A. surculosa* و *A. valdehirsuta* و شش گونه: *A. citrina*، *A. gigantodus*، *A. pectiniloba*، *A. plicatissima*، *A. retinervis* و *A. sericata* کنار هم دو زیرگروه ایجاد کردند.

در زیرگروه نخست، چهار گونه: *A. farinosa*، *A. rigida*، *A. condensata* و *A. amardica* برای هیپانتیوم کُرک دار انبوه و دو گونه آخر برای برخی از دمگل‌های بدون کُرک بیشتر قرابت دارند. همچنین، دو گونه *A. valdehirsuta* و *A. surculosa* برای کُرک‌های پراکنده، ۱۱ تا ۱۷ دندانه در هر لب برگ، ارتفاع (۱۰ تا ۴۰ سانتی‌متر) گیاه، ساقه ضخیم، پهنک بیش از ۲ تا ۷ سانتی‌متر نزدیک به هم تشخیص داده شد (Fröhner, 1969; Khatamsaz, 1993). در زیرگروه دوم، سه گونه *A. plicatissima*، *A. citrina* و *A. gigantodus* به لحاظ کُرک دمگل‌ها و گل‌های مجتمع و دو گونه آخر به واسطه دندانه‌های درشت و نوک تیز برگ (Fröhner, 1969)، کُرک‌های موهای افراشته پراکنده (Khatamsaz, 1993) جزو گونه‌های مرتبط شناخته شدند. اما بر اساس شواهد ارایه شده در فلورهای ایرانیکا و ایران (Fröhner, 1969) *A. retinervis*، (Khatamsaz, 1993) به واسطه کاسبرگ‌های بلندتر از هیپانتیوم، ساقه و دمبرگ بدون

صفات تشریحی که موجب تفرق دو گونه گروه A شدند، قادر به تبیین روابط بین این دو آرایه نیستند. در گروه B، چهار گونه: *A. hessii*، *A. pseudocartalinica*، *A. melancholica* و *A. rechingeri* با داشتن صفات تشریحی مشابه، شامل طول محورهای پستی و پشتی-شکمی دمبرگ، قطر و ضخامت چوب و آبکش و مغز دستجات آوندی، ضخامت لایه پارانشیم نردبانی از دیگر گونه‌ها تفکیک شدند. این گونه‌ها دارای صفات ریخت‌شناسی مشترک، به ویژه هیپانتیوم بدون کُرک یا دارای کُرک‌های اندک قاعده‌ای و طول پهنک ۴ تا ۷ سانتی‌متر نیز هستند (Fröhner, 1969; Khatamsaz, 1993).

خویشاوندی تشریحی بین این گونه‌ها ناشی از صفات مشترک تشریحی است که به شدت تحت تأثیر شرایط محیطی و اکولوژیک قرار دارند. این صفات غیرقابل اطمینان و فاقد ارزش سیستماتیک هستند. برای تفکیک گونه‌ها صفات پایدار ریخت‌شناسی کارآیی بیشتری نشان دادند. در این میان، *A. hessii* با داشتن کاسبرگ‌های بلندتر از هیپانتیوم از سه گونه آخر متمایز می‌شود. همچنین، *A. pseudocartalinica* (ساقه دارای کُرک خوابیده) و *A. rechingeri* (ساقه دارای کُرک برگشته) با داشتن ساقه و دمبرگ ضخیم از *A. melancholica* با ساقه و دمبرگ تقریباً ضخیم و هیپانتیوم با کُرک‌های اندک جدا می‌شوند (Fröhner, 1969; Khatamsaz, 1993).

در گروه بزرگ C که ۱۵ گونه را در بر می‌گیرد، سه گونه *A. hyrcana*، *A. erythropoda* و *A. microscopica* تفکیک شدند، اما بقیه کنار هم تجمع یافتند و زیرگروه‌های کوچکی تشکیل دادند. در این زیرگروه‌ها، گاهی گونه‌های دارای صفات

کُرک یا کُرک کم و پراکنده به گونه‌های *A. persica*، *A. hessii* و *A. sedelmeyeriana* با کُرک‌های انبوه سطح کُرک برگ و هیپانتیوم کم کُرک به *A. melancholica* و *A. pectinoloba* و نیز با داشتن هیپانتیوم پر کُرک و دمگل‌های بدون کُرک به *A. microscopica* قرابت دارد. Juzepczuk (۱۹۴۱) گونه‌های *A. sericata* و *A. caucasica* را به علت داشتن کُرک خوابیده در بخش *Pubescentes* Buser و سری *Saricatae* Juz. قرار داد. در بررسی حاضر، با مطالعه فلورهای ایرانیکا و ایران، این گونه‌ها به گونه‌های: *A. citrina*، *A. condensa*، *A. rigida* و *A. amardica* (که همگی دارای کُرک دم‌برگ خوابیده هستند) نزدیکتر شمرده می‌شود (Fröhner, 1969؛ Khatamsaz, 1993).

نتایج تحلیل داده‌های PCA دارای ابهام زیادی در مورد ارتباط گونه‌ها است. یافته‌های حاضر ضمن تأیید نتایج تحقیقات صفات ریخت‌شناسی Sepp و Paal (۱۹۹۸) و Sepp و همکاران (۲۰۰۰) نشان می‌دهد که نزدیکی و تداخل دامنه تغییر صفات در میان گونه‌ها و جمعیت‌های آنها باعث همپوشانی گونه‌ها روی نمودار مؤلفه اصلی، تفکیک تعداد اندکی از گونه‌ها، ایجاد زیر گروه‌های چند گونه‌ای و زوج گونه‌های غیر مرتبط شد.

منابع

تحقیقات نشان داد که پلی‌پلوئیدی، آپومیکسی (آگامو اسپرمی) و دورگ‌گیری بسیار رایج (Asker and Jerling, 1992) در میان گونه‌های این سرده مهم‌ترین علل بروز صفاتی با دامنه تغییر مشابه و حدواسط و تشکیل کمپلکس‌های گونه‌ای آگامیک و ریز گونه‌های بی‌شمار شده است (Sepp et al., 2000؛ Gehrke et al., 2008). بر اساس نتایج پژوهش حاضر، صفات تشریحی برگ و دم‌برگ در سرده *Alchemilla* دارای ارزش سیستماتیک محدود هستند و کاربرد این صفات در تحلیل مؤلفه اصلی به تفکیک کامل ۹ گونه (*A. persica*، *A. pseudocartalinica*، *A. hessii*، *A. caucasica*، *A. hyrcana*، *A. melancholica*، *A. rechingeri*، *A. microscopica* و *A. erythropoda*) و تشکیل سه گروه اصلی و دو زیر گروه متراکم گونه‌ای منجر شد. بر این اساس، تحلیل مؤلفه برای بیان شفاف روابط بین گونه‌ها تا حد زیادی ناکارآمد است.

سپاسگزاری

نگارندگان از مسؤولان محترم هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور (TARI) و هرباریوم مرکزی دانشگاه تهران (TUH) بابت در اختیار قرار دادن نمونه‌های گیاهی، کمال تشکر را دارند.

Asker, S. E. and Jerling, L. (1992) Apomixis in plants. CRC Press, Boca Raton.

Ayaz, F. A., Hayirlioglu-Ayaz, S. and Beyazoglu, O. (1999) Fatty acid composition of leaf lipids of some *Alchemilla* L. (Rosaceae) species from Northeast Anatolia (Turkey). *Grasas y Aceites* 50(5): 341-344.

Boruz, V. (2010) The stem histo-anatomy of the *Alchemilla glaucescens* species. *Annual University of Craiova* 15: 82-85.

Boruz, V. (2011) Morpho-anatomical consideration on the leaf from *Alchemilla glaucescens* species. *Analele Universității din Craiova, seria Agricultură - Montanologie - Cadastu* 41(2): 42-46.

- Buser, R. (1894) Zur kenntnis der schweizerischen Alchimillen. Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft 4: 41-80.
- Carpenter, K. J. (2006) Specialized structures in the leaf epidermis of basal angiosperms: morphology, distribution, and homology. American Journal of Botany 93(5): 665-681.
- Czapik, R. (1996) Problems of apomictic reproduction in the families Compositae and Rosaceae. Folia Geobotanica and Phytotaxonomica 31: 381-387.
- Ennos, A. I., Spatz, H. Ch. and Speck, T. T. (2000) The functional morphology of the petiole of the banana, *Musa textilis*. Journal of Experimental Botany 51(353): 2085-2093.
- Eriksson, T., Donoghue, M. J. and Hibbs, M. S. (1998) Phylogenetic analysis of *Potentilla* using DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS), and its implications for the classification of *Rosoideae* (Rosaceae). Plant Systematics and Evolution 211: 155-179.
- Eriksson, T., Hibbs, M. S., Yoder, A. D., Delwiche, C. F. and Donoghue, M. J. (2003) Phylogenetic of *Rosoideae* (Rosaceae) based on sequences of the internal transcribed spacer (ITS) of nuclear ribosomal and the *trnL-F* region of chloroplast DNA. International Journal of Plant Science 164(2):197-211.
- Esau, K. (1965) Plant anatomy. John Wiley & Sons, New York.
- Evert, R. F. (2006) Esau's plant anatomy. Meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development. 3rd edition, John Wiley & Sons Inc., New Jersey.
- Faghir, M. B., Attar, F. and Ertter, B. (2011) Foliar anatomy of the genus *Potentilla* in Iran and its taxonomic implication. Iranian Journal of Science and Technology A3: 243-256.
- Faghir, M. B., Attar, F., Shahi Shavvon, R. and Mehrmanesh, A. (2015) Pollen morphology of the genus *Alchemilla* L. (Rosaceae) in Iran. Turkish Journal of Botany 39: 267-279
- Faghir, M. B., Chaichi Khairkhah, K. and Shahi Shavvon, R. (2014) Petiole indumentum types of the genus *Alchemilla* (Rosaceae) from Iran. Taxonomy and Biosystematics 6(21): 21-30.
- Fröhner, S. E. (1969) *Alchemilla*. In: Flora Iranica (Ed. Rechinger, K. H.) 66: 124-147. Akademische Druck-und, Verlagsanstalt, Graz.
- Fröhner, S. E. (1995) *Alchemilla*. In: Hegi: Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Verlag Paul Parey (Eds. Scholz, H., Conert, H. J., Jäger, E. J., Kadereit, J. W., Schultze-Motel, W., Wagenitz, G., Weber, H. E.) 4: 13-242. Berlin, Germany.
- Gavrilova, A. and Vitkova, A. (2010) Distribution and ecology of *Alchemilla* species in Osogovo Mt. and West Balkan Mt. in Bulgaria. Hacquetia 9(1): 77-90.
- Gehrke, B., Bräuchler, C., Romoleroux, K., Lundberg, M., Heubl, G. and Eriksson, T. (2008) Molecular phylogenetics of *Alchemilla*, *Aphanes* and *Lachemilla* (Rosaceae) inferred from plastid and nuclear intron and spacer DNA sequences, with comments on generic classification. Molecular Phylogenetic and Evolution 47(3): 1030-1044.
- Hauman, L. and Balle, S. (1936) Les *Alchemilla* de l'Abyssinie et de Madagascar. Bulletin du Jardin Botanique de l'État à Bruxelles 14: 1-55.
- Hayirlioglu-Ayaz, S. and Inceer, H. (2009) Three new *Alchemilla* L. (Rosaceae) records from Turkey. Pakistan Journal of Botany 41(5): 2093-2096.
- Hutchinson, J. (1964) The genera of flowering plants (Angiospermae). Oxford University Press, London.
- Ivanova, L. A. and P'yankov, V. I. (2002) Structural adaptation of the leaf mesophyll to shading. Russian Journal of Plant Physiology 49(3): 419-431.

- Izmailow, R. (1981) Karyological studies in species of *Alchemilla* L. from the Calycinae Bus. (Section *Brevicaulon* Rothm.). Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 23: 117-180.
- Jeelani, A. (1999) Cryptomorphology. vol. 2. Mittal Publications, New Delhi.
- Juzepczuk, S. W. (1941) *Alchemilla*. In: Flora of USSR (Ed. Komarov, V. L.) 13: 289-410. Izd Akad Nauk SSSR, Moskva-Leningrad.
- Kaya, B., Menemen, Y. and Saltan, F. Z. (2012) Flavonoids in the endemic species of *Alchemilla* L. (Section *Alchemilla* Subsection *Calycanthum* Rothm. Ser. *Elatae* Rothm.) from North-east black sea region in Turkey. Pakistan Journal of Botany 44(2): 595-597.
- Khatamsaz, M. (1993) Rosaceae. In: Flora of Iran (Eds. Assadi, M., Khatamsaz, M., Maassoumi, A. A. and Mozaffarian, V.) 6: 88-140.. Research Institute of Forests and Rangeland Press, Tehran.
- Linnaeus, C. (1753) *Aphanes arvensis*. Sp. Pl. Stockholm 2. 123. Acad. Handl 51: 15-18.
- Maria, B. G. and Rodriigo, O. (2003) Leaf anatomy of rubber tree clones. Science Agriculture 60(4): 709-713.
- Mehrabian, A. R., Zarre, Sh. and Podlech, D. (2007) Petiole anatomy in *Astragalus* sect. *Incarni* DC. (Facaceae) in Iran (a phylogentical approach). Iranian Journal of Botany 13(2): 138-145.
- Metcalfe, C. R. and Chalk, L. (1957) Anatomy of the Dicotyledons. vol. 1. Oxford at the Clarendon Press, Oxford.
- Pawlowski, B. (1972) De *Alchemillis* Turcicis subsectionibus *Chirophyllum* Rothm. et *Calycanthum* Rothm. sectionis *Alchemilla*. - Przywrotniki tureckie z sekcji *Alchemilla*, podsekcji *Chirophyllum* i *Calycanthum*. Fragmenta Floristica et Geobotanica 18: 3-44.
- Pawlowski, B. and Walters, S. M. (1972). *Alchemilla*. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Ed. Davis, P. H.) 4: 80-104. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- P'yankov, V. I. and Kondrachuk, A. V. (2003) Basic types of structural changes in the leaf mesophyll during adaptation of Eastern Pamir plants to mountain conditions. Russian Journal of Plant 50(1): 28-35.
- Rothmaler, W. (1944) Zur nomenklatur der Europaischen Alchemilla-Arten. Svenska Botaniska Tidskrift 38: 102-112.
- Saquaro, A. (2005) Leaf morphology and anatomy of the *Ficus* plant. African Journal of Biotechnology 5(10): 331-346.
- Schulz-Menz, G. K. (1964) Rosales. In: A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien (Ed. Melchior, H.) 2: 193-242. Gebrüder Borntraeger, Berlin-Nikolassee.
- Sepp, S. and Paal, J. (1998) Taxonomic continuum of *Alchemilla* L. (Rosaceae) in Estonia. Nordic Jounal of Botany 18(5): 519-535.
- Sepp, S., Bobrova, V. K., Troitsky, A. K. and Glazunova, K. P. (2000) Genetic polymorphism detected with RAPD analysis and morphological variability in some microspecies of apomictic *Alchemilla*. Annales Botanici Fennici 37(2): 105-123.
- Singh, G. (2010) Plant systematics: an integrated approach. 3rd edition. Science Publishers Inc., Enfiels, NH, USA. Printed in India.
- Toma, C. and Rugină, R. (1998) Anatomia plantelor medicinale-Atlas. Academiei Române, București.

پیوست ۱- گونه‌های جمع‌آوری شده و هرباریومی در مطالعه تشریحی برگ و دمبرگ گونه‌های *Alchemilla* هرباریوم دانشگاه گیلان (GUH) هرباریوم مرکزی دانشگاه تهران (TUH)، هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع (TARI).

شماره هرباریومی	گونه	مکان جمع‌آوری، جمع‌آوری کننده، تاریخ جمع‌آوری
4872 (GUH) 4880(GUH)	<i>A. amardica.</i>	گیلان: دیلمان، شاه شهیدان؛ چایچی، فقیر و شاهی؛ ۱۳۹۱/۳/۲۰ گیلان: گردنه الماس؛ چایچی، فقیر و شاهی؛ ۱۳۹۱/۶/۲۰
20598 (TUH) 33155 (TUH)	<i>A. caucasica</i>	مازندران: کجور، روستای فیروزآباد، ۱۷۰۰ متر؛ قهرمان و عطار؛ ۱۳۷۸/۶/۱۹ مازندران: جاده کرج-چالوس، پل زنگوله، ۳۰۰۰ متر؛ نظریان؛ ۱۳۷۸/۶/۱۲
4876 (GUH)	<i>A. citrina</i>	گیلان: دیلمان، شاه شهیدان؛ چایچی، فقیر و شاهی؛ ۱۳۹۱/۳/۲۰
751847(TARI) 13843(TARI) 18232(TARI) 13930(TARI) 8177(TARI)	<i>A. erythropoda</i>	مازندران: کجور، کوه کیکوه، مرتع زینودشت، ۲۰۰۰ تا ۲۳۰۰ متر، خاتم‌ساز و قلی‌زاده اردبیل: کوه بیل، کوه سبلان، ۲۹۰۰ متر، فروغی و اسدی گیلان: داماش شرق رودبار ۱۹۰۰ متر واندلیو و ان آلا اردبیل: کوه سبلان، ۳۴۵۰ متر، فروغی و اسدی اردبیل: کوه سبلان، ۳۳۰۰ متر، فروغی و اسدی
4871 (GUH) 18845 (TUH)	<i>A. condensa</i>	گیلان: ماسال، بیلاق، خردول، بالاتر از هتل کوهسار؛ چایچی؛ ۱۳۹۱/۲/۲۰ گیلان: دیلمان، لاریخانی، ۱۵۰۰ متر؛ سعیدی؛ ۱۳۷۲/۲/۲
4870 (GUH) 55186/a (TARI)	<i>A. farinosa</i>	گیلان: گردنه الماس؛ چایچی، فقیر و شاهی؛ ۱۳۹۱/۶/۲۰ مازندران: رامسر، بین لپاسر و پیشگاه، ۲۶۰۰ تا ۳۲۰۰ متر؛ معصومی
18844 (TUH) 4881(GUH)	<i>A. fluminea</i>	گیلان: دیلمان، لاریخانی، ۱۵۰۰ متر؛ سعیدی؛ ۱۳۷۲/۲/۲ گیلان: دیلمان، شاه شهیدان؛ چایچی، فقیر و شاهی؛ ۱۳۹۱/۳/۲۰
57149 (TARI) 4877(GUH) 57157(TARI) 57169(TARI)	<i>A. gigantodus</i>	مازندران: کجور، کیاکوه، ۲۰۰۰ تا ۲۳۰۰ متر؛ خاتم‌ساز و قلی‌زاده اردبیل: خلخال؛ چایچی، فقیر، شاهی؛ ۱۳۹۱/۶/۲۰ مازندران: کجور، کوه کیکوه، مرتع زینودشت ۲۳۰۰ متر، خاتم‌ساز و قلی‌زاده مازندران: کجور، روستای فیروزآباد، ۲۲۰۰ متر؛ خاتم‌ساز و قلی‌زاده
20600/1 (TUH) 19418 (TUH)	<i>A. hessii</i>	مازندران: کجور، روستای فیروز آباد، ۱۷۰۰ متر؛ قهرمان و عطار؛ ۱۳۷۸/۶/۱۹ مازندران: کندوان؛ قهرمان آگوستین و شیخ الاسلامی؛ ۱۳۴۲/۲/۲
4873 (GUH) 20597 (TUH)	<i>A. hyrcana</i>	گیلان: دیلمان، شاه شهیدان؛ چایچی، فقیر و شاهی؛ ۱۳۹۱/۳/۲۰ مازندران: کجور، روستای فیروز آباد، ۱۷۰۰ متر؛ قهرمان و عطار؛ ۱۳۷۸/۶/۱۹
4875 (GUH) 4882(GUH)	<i>A. kurdica</i> Rothm. in Bornm.	گیلان: ماسال، بیلاق خشخانی؛ چایچی؛ ۱۳۹۱/۴/۲۰ گیلان: سیاهکل، آبشار لونک؛ چایچی، فقیر و شاهی؛ ۱۳۹۱/۳/۲۰
18841 (TUH) 4880(GUH)	<i>A. melancholica</i>	گیلان: اسپیلی، لاریخانی، ۱۵۳۰ متر؛ سعیدی؛ ۱۳۷۲ گیلان: گردنه الماس؛ احمدی، آقایی؛ فقیر؛ ۱۳۹۲/۵/۱۵
56694 (TARI) 4888(GUH)	<i>A. microscopica</i>	اردبیل: جاده الماس، ۲۲۰۰ متر؛ خاتم‌ساز و صالح‌نیا؛ ۱۳۶۳/۶/۱۹ گیلان: سالم به خلخال احمدی؛ آقایی؛ فقیر؛ ۱۳۹۲/۵/۱۵
20595 (TUH) 25576(TUH)	<i>A. persica.</i>	مازندران: کجور، روستای فیروزآباد، ۱۷۰۰ متر؛ قهرمان و عطار؛ ۱۳۷۸/۶/۱۹ تهران: کوه دماوند، عطار و مهدیقلی؛ ۱۳۷۶/۲/۲۲

شماره هرباریومی	گونه	مکان جمع‌آوری، جمع‌آوری کننده، تاریخ جمع‌آوری
18837 (TUH) 4883(GUH)	<i>A. pectiniloba</i>	گیلان: دیلمان، لاریخانی، ۱۵۳۰ متر؛ سعیدی؛ ۱۳۷۲/۵ گیلان: جاده اسالم به خلخال؛ چایچی، فقیر و شاهی؛ ۱۳۹۱/۶/۲۰
4869 (GUH) 4884(GUH)	<i>A. plicatissima</i>	گیلان: جاده اسالم به خلخال؛ چایچی، فقیر و شاهی؛ ۱۳۹۱/۶/۲۰ گیلان: گردنه الماس؛ احمدی، آقایی، فقیر؛ ۱۳۹۲/۵/۱۵
20602 (TUH) 4885(GUH)	<i>A. pseudocartalinica</i>	مازندران: کجور، روستای فیروزآباد، ۱۷۰۰ متر؛ قهرمان و عطار؛ ۱۳۷۶/۶/۱۹ گیلان: جاده اسالم به خلخال؛ احمدی، آقایی، فقیر؛ ۱۳۹۲/۵/۱۵
20601 (TUH) 4886(GUH)	<i>A. rechingeri</i>	مازندران: کجور، روستای فیروزآباد، ۱۷۰۰ متر؛ قهرمان و عطار؛ ۱۳۷۶/۶/۱۹ تهران: توچال؛ پارسا پناه؛ ۱۳۹۱/۵/۱۹
20599 (TUH) 30 336(TARI)	<i>A. retinervis</i>	مازندران: کجور، روستای فیروزآباد، ۱۷۰۰ متر؛ قهرمان و عطار؛ ۱۳۷۶/۶/۱۹ آذربایجان غربی: ماکو، کوه‌های جنوب غربی کلیسای کندی ۲۶۵۰ تا ۲۴۰۰ متر، اسدی مظفریان؛ ۸۸/۶/۲۰
20593 (TUH) 57165(TARI)	<i>A. sedelmeyeriana</i>	مازندران: کجور: روستای فیروزآباد، ۱۷۰۰ متر؛ قهرمان و عطار؛ ۱۳۷۶/۶/۱۹ مازندران: کوه فیروزآباد، ۲۲۰۰ متر؛ خاتم‌ساز و قلی‌زاده
17540 (TUH) 4887(GUH)	<i>A. sericata</i>	آذربایجان: کلبر به ماکید، ۱۵۱۰ متر؛ قهرمان، مظفریان و شیخ الاسلامی؛ ۱۳۷/۵ گیلان: دیلمان، شاه شهیدان؛ چایچی، فقیر و شاهی؛ ۱۳۹۱/۳/۲۰
4874 (GUH) 20811(TARI)	<i>A. surculosa</i>	گیلان: ماسال، بالاتر از هتل کوهسار؛ چایچی؛ ۱۳۹۱/۲/۲۰ مازندران: جنوب رامسر، شرق جواهر ده، ۱۸۰۰ متر، رونه مارک، معصومی
18842(GUH) 20596 (TUH)	<i>A. rigida</i>	گیلان: اسپیلی، لاریخانی، ۱۵۱۰ متر؛ سعیدی؛ ۱۳۷۲/۵ مازندران: کجور، روستای فیروزآباد، ۱۷۰۰ متر؛ قهرمان و عطار؛ ۱۳۷۵/۶/۱۹
57160 (TARI) 57152(TARI) 6443(TARI)	<i>A. valdehiruta</i>	مازندران: کجور، روستای فیروزآباد، ۲۲۰۰ متر؛ خاتم‌ساز و قلی‌زاده؛ ۱۳۸۵/۷/۳ مازندران: کجور، کوه کیکوه، مرتع زینودشت، ۲۰۰۰ تا ۲۳۰۰ متر، خاتم‌ساز و قلی‌زاده گیلان: نارورد، اسالم، ۱۲۰۰ متر، اسفندیاری

Leaf and petiole anatomical characters of the genus *Alchemilla* (Rosaceae) in Iran and their use in Numerical analysis

Marzieh Beygom Faghir ^{1*}, Atefeh Mehrmanesh ¹ and Farideh Attar ²

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

² Central Herbarium of Tehran University and School of Biology, College of Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

Abstract

The current study deals with leaf and petiole anatomical survey of 24 species of the genus *Alchemilla* from Iran. After collecting and identifying the specimens, leaf and petiole cross sections were prepared by hand and best sections were taken for staining and light microscope studies. In this survey, 43 anatomical traits were carefully examined. The result showed that glandular trichome, number and arrangement of adjacent epidermal cells and their wavy or smooth walls, presence and absence of the extraxylary fibers are the most outstanding anatomical evidences. In order to determine the species relationship, 39 quantitative characters were undertaken in principal component analysis (PCA). PCA analysis led to complete separation of some species including *A. persica*, *A. caucasica*, *A. hessii*, *A. pseudocartalinica*, *A. rechingeri*, *A. melancholica*, *A. hyrcana*, *A. microscopica* and *A. erythropoda*, formation of 3 main groups and two subgroups. Our findings revealed that leaf and petiole anatomical characters are limited taxonomic value. The numerical analysis of these traits has disability in revealing the species relationship.

Key words: *Alchemilla* L. (Rosaceae), Leaf, Petiole, Anatomy, Numerical analysis, Iran

* faghirmb@guilan.ac.ir