

Research Paper

Investigation of the Leaf and Pollen Micromorphology of Maples (*Acer L.*) of Iran

Davoud Kartoolinejad¹, Fatemeh Shayanmehr² and Alireza Moshki³

1- Assistant Professor of Aridland Forestry, Faculty of Desert Studies, Semnan University, Semnan, Iran,
(Corresponding author: Kartooli58@gmail.com)

2- Ph.D. of Forestry, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3- Assistant Professor of Aridland Forestry, Faculty of Desert Studies, Semnan University, Semnan, Iran

Received: 08 October, 2023

Accepted: 24 February, 2024

Revised: 23 February, 2024

Available Online: 13 March, 2024

Extended Abstract

Background: The genus *Acer L.* (maples) from the Aceraceae are mostly deciduous trees, almost all of which are distributed in the temperate regions of the Northern Hemisphere. This genus contains 148-150 species around the world, and the presence of 8-10 native species of this genus has been mentioned in different floras of Iran. Some species of maples in Hyrcanian forests have great commercial value, and the height of these trees reaches 40-45 m. Maples are the major vegetation elements in most forest ecosystems of Iran. Hyrcanian forests in the north of Iran contain the highest diversity of this genus. Despite the molecular and morphological studies on the taxa of the genus in the world, no comprehensive studies have been conducted on its micromorphological characteristics. Therefore, the present research describes the taxonomic value of the anatomical features of the leaf epidermis and pollen morphology of the members of this genus in Iran.

Methods: Eleven maple taxa available in Iran (nine native and two introduced taxa), mainly from Hyrcanian and Zagros ecosystems, were collected and analyzed in the current study. The investigated taxa were *A. hyrcanum*, *A. velutinum*, *A. platanoides*, *A. mazandaranicum*, *A. campestre*, *A. cappadocicum*, *A. negundo*, *A. palmatum*, *A. monspessulanum* subsp. *cinerascens*, *A. monspessulanum* subsp. *turcomanicum*, and *A. monspessulanum* subsp. *ibericum*. The leaf samples of each individual were prepared from the branches grown in the sun and dried with the herbarium sample method to prevent mold. Dried leaf samples were placed in boiling water for 3 min to prepare dissections. Then, thin slices were prepared from the dorsal and ventral epidermis from the middle of the leaf and in the vicinity of the midrib using a surgical blade. To remove the color of chlorophyll and make the samples transparent, they were placed in a sodium hypochlorite solution for 5 min. After washing with distilled water, they were photographed and studied under a light microscope. For electron microscopy, the dorsal and ventral epidermises and the pollen samples of the taxa were stabled on aluminum stubs. Then, a very thin gold layer was sprinkled on the surface of all pollen and leaf samples using a gold sputter coater and then photographed using a Philips Scanning Electron Microscope. The voltage intensity was 20 kV, and the image magnification was set to 2500-5100 x. Epicuticular waxes, trichomes, epidermal cell wall shape, stomatal type, pollen type, pollen morphological characteristics, and the stomatal density and index were classified and studied from the prepared microphotographs.

Results: The morphology of epicuticular wax was absolutely unique in such taxa as *A. velutinum*, *A. mazandaranicum*, *A. hyrcanum*, *A. platanoides*, and even some subspecies of *A. monspessulanum*. The most structured type of epicuticular waxes was observed in *A. velutinum*, showing circular rosette-like structures formed around some stomata, which could not be seen in the other taxa. The dorsal leaf surface in *A. platanoides* was also uniquely covered with a completely smooth and uniform layer of wax. Certain wax structures were observed on the surfaces of *A. monspessulanum* subsp. *cinerasens* and *A. mazandaranicum*, making the surface of the epidermal cells appear prominent in the former and indented in the latter taxa. The highest stomatal index and the number of stomata per unit area belonged to two non-native species, namely *A. palmatum* and *A. negundo*, and these parameters were lowermost in *A. mazandaranicum*, *A. monspessulanum* subsp. *turcomanicum*, *A. velutinum* var. *velutinum*, and *A.*



monspessulanum subsp. *cinerascens*. Many of the stomata are covered and buried under the thick layers of the epicuticular wax, and there are trichomes and wax crystalloids around other stomata to reduce the rate of evaporation and transpiration. Therefore, it can be acknowledged that the mentioned native taxa have higher drought resistance than others. The epidermal cell wall pattern of the taxa was classified into three different types, the most distinctive of which was seen in *A. platanoides*, having a completely wavy and puzzle-like wall. Relatively wavy wall was seen only in the epidermis cells of *A. negundo*. The other taxa showed smooth and straight cell walls. The arrange of subsidiary cells of the stomata was anomocytic in all taxa while the paracytic type was completely distinctive and dominant in *A. mazandaranicum*. Trichomes in all the owning taxa were simple and branchless, divided into two short- and long-size groups. None of the morphological characteristics of the pollen, such as pollen shape (isopolar prolate to spheroidal), exine ornamentation (striate), the form of pollen colpi, and even the number of pollen pores (Tricolporate), revealed a specific differentiation exclusive to a certain taxon.

Conclusion: The results of the current research reveal that the micro-morphological traits of leaves can help remove the taxonomical obstacles of the genus *Acer* while the pollen type and morphology do not provide such a capability for the genus. In general, the differentiation of epidermal characteristics among the studied maple taxa shows that the leaf dorsal has useful micromorphological characteristics, especially in terms of epicuticular waxes, which can play an important role in classifying, describing, and determining the boundaries of the taxa to be used as a useful tool in plant biosystematics.

Keywords: Epicuticular wax, Maple tree, SEM, Stomatal index, Trichomes

How to Cite This Article: Kartoolinejad, D., Shayanmehr, F., & Moshki, A. (2024). Investigation of the Leaf and Pollen Micromorphology of Maples (*Acer* L.) of Iran. *Ecol Iran For*, 12(1), 124-137. DOI: 10.61186/ifej.12.1.124



مقاله پژوهشی

بررسی صفات ریزریختی برگ و گرده در جنس افرای (*Acer L.*) ایران

داود کرتولی‌نژاد^۱ ID، فاطمه شایان‌مهر^۲ و علیرضا مشکی^۳

۱- استادیار گروه جنگلداری مناطق خشک، دانشکده کوپرشناسی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران، (نویسنده مسوول: kartooli58@semnan.ac.ir)

۲- دانش‌آموخته دکتری، رشته جنگلداری، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۳- استادیار گروه جنگلداری مناطق خشک، دانشکده کوپرشناسی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۵ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۲/۰۴ تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۲/۱۲/۲۳
صفحه: ۱۲۴ تا ۱۳۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: جنس افرا (*Acer L.*) از خانواده Aceraceae اغلب درختانی خزان‌کننده‌اند که تقریباً پراکنش همه آنها در مناطق معتدله نیم کره شمالی است. این جنس دارای ۱۴۸ تا ۱۵۰ گونه سراسر جهان است و در فلورهای مختلف ایران به حضور ۸ تا ۱۰ گونه بومی از این جنس اشاره شده است. برخی از گونه‌های افرا در جنگل‌های هیرکانی دارای ارزش تجاری فراوانی هستند و ارتفاع این درختان به ۴۰ تا ۴۵ متر می‌رسد. جنس افرا از مهم‌ترین عناصر رویشی درختی در اغلب رویشگاه‌های جنگلی ایران است و جنگل‌های هیرکانی بیشترین تنوع آرایه‌های این جنس در ایران را در خود جای داده است. علی‌رغم مطالعات مولکولی و ریختی بر روی اعضای این جنس در دنیا، بررسی‌های کاملی در زمینه صفات ریزریختی آنها صورت نگرفته است. بنابراین، تحقیق حاضر به تشریح ارزش رده‌بندی صفات ریزریختی اپیدرم برگ و گرده اعضای این جنس در ایران می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ۱۱ آرایه افرای موجود در ایران (۹ آرایه بومی و ۲ آرایه وارداتی) از رویشگاه‌های هیرکانی و زاگرس جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفت. آرایه‌های مورد بررسی عبارت بودند از: *A. hyrcanicum*, *A. velutinum*, *A. platanoides*, *A. mazandaranicum*, *A. campestre*, *A. cappadocicum*, *A. negundo*, *A. palmatum*, *A. monspessulanum* subsp. *cinerascens*, *A. monspessulanum* subsp. *turcomanicum*, *A. monspessulanum* subsp. *ibericum* نمونه‌های هر پارایمومی خشک شدند. نمونه‌های خشک شده برگ جهت تهیه برش به‌مدت ۳ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند. سپس با استفاده از تیغ جراحی برش‌های نازکی از اپیدرم فوقانی و تحتانی وسط برگ و از مجاورت رگبرگ مرکزی تهیه شد. جهت رنگبری و شفاف شدن نمونه‌ها، به‌مدت ۵ دقیقه در محلول آب ژاول قرار داده شدند. پس از شستشوی با آب مقطر در زیر میکروسکوپ نوری عبوردراری و مطالعه شدند. برای مطالعه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، اپیدرم سطح پشتی و رویی برگ و نمونه‌های گرده گل‌های هیریک از آرایه‌ها بر روی پایه‌های آلومینیومی چسبانده شد. سپس با استفاده از دستگاه لایه نشان طلا بر سطح کلیه نمونه‌های گرده و برگ، ورقه‌های نازک طلا پاشیده شد و با استفاده از Scanning Electron Microscope فلپیس عکس‌برداری شدند. شدت ولتاژ ۲۰ کیلو ولت و بزرگنمایی تصاویر از ۲۵۰۰ تا ۵۱۰۰ برابر بوده است. نوع گرده، صفات ریخت‌شناسی گرده‌ها، موم‌های اپی کوتیکولی، کرک‌ها، شکل دیواره سلول‌های اپیدرم، تیپ روزنه، تراکم و شاخص روزنه از میکروفوتوگراف‌های تهیه شده، طبقه‌بندی و مطالعه شد.

یافته‌ها: ریخت‌شناسی موم‌های اپی کوتیکولی در آرایه‌هایی همچون *A. hyrcanicum*, *A. mazandaranicum*, *A. velutinum* و *A. platanoides* و حتی برخی از زیرگونه‌های *A. monspessulanum* کاملاً منحصر به فرد بوده است. ساختارمندترین نوع موم‌های اپی کوتیکولی در *A. velutinum* مشاهده شد. به‌طوری‌که اطراف برخی از روزنه‌ها ساختارهای روزنه مانند مدوری را تشکیل می‌دهند که در هیچ آرایه دیگری قابل مشاهده نبود. سطح تحتانی برگ در *A. platanoides* نیز به‌طور منحصر به فردی با یک لایه کاملاً صاف و یکدست از موم پوشیده شده بود. ساختارهای خاصی از موم بر سطح *A. monspessulanum* subsp. *cinerascens* و *A. mazandaranicum* مشاهده می‌شود که باعث می‌شود سطح سلول‌های اپیدرمی آرایه اولی برجسته و در دومی فرورفته به‌نظر برسد. بیشترین شاخص روزنه و تعداد روزنه در واحد سطح مربوط به دو گونه غیربومی یعنی *A. palmatum* و *A. negundo* و کمترین آن مربوط به آرایه‌های *A. monspessulanum* subsp. *cinerascens*, *A. velutinum* var. *velutinum*, *A. monspessulanum* subsp. *turcomanicum*، *A. mazandaranicum* بود که بسیاری از روزنه‌ها در زیر لایه‌های موم اپی کوتیکولی پوشیده و مدفون می‌شوند و در اطراف سایر روزنه‌ها نیز کرک‌ها و کریستال‌های موم جهت کاهش میزان تبخیر و تعرق حضور می‌یابند. بنابراین می‌توان ادعان نمود آرایه‌های بومی نام برده مقاومت به خشکی بالاتری نسبت به سایرین دارند. الگوی دیواره سلول‌های اپیدرم آرایه‌ها، در سه نوع مختلف طبقه‌بندی شد؛ متمایزترین آنها در *A. platanoides* دیده شد که دیواره کاملاً مواج داشت. دیواره نسبتاً مواج فقط در *A. negundo* دیده شد و در سایر آرایه‌ها دیواره سلولی صاف و مستقیم مشاهده شد. تیپ سلول‌های همراه روزنه در همه آرایه‌ها آموسیتیک بود درحالی‌که در *A. mazandaranicum* تیپ پاراسیتیک کاملاً متمایز و غالب بوده است. کرک‌ها در همه آرایه‌های واجد کرک، ساده و بدون انشعاب بودند که از نظر اندازه به دو گروه دارای کرک‌های کوتاه و دارای کرک‌هایی بلند قابل تفکیک هستند. در هیچ‌یک از صفات ریختی گرده نظیر شکل گرده (Isopolar) کشیده یا Prolate تا کروی یا spheroidal)، تزئینات اگزینی (شیاردار یا Striate)، فرم شکاف‌های گرده (Colpi) و حتی تعداد شکاف‌های گرده (سه شکاف-حرفه‌ای Tricolporate) تمایز اختصاصی منحصر به آرایه خاصی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری کلی: نتایج تحقیق حاضر نشان داد، صفات ریزریختی برگ می‌تواند به حل مشکلات رده‌بندی جنس افرا کمک کند. اما ریخت‌شناسی و نوع گرده برای این جنس چنین قابلیت را ارائه نمی‌دهد. در کل تمایز صفات اپیدرم میان آرایه‌های جنس افرای مورد مطالعه نشان داد که سطح زیرین برگ، دارای مشخصه‌های اپیدرمی مفیدی به‌خصوص از نظر موم‌های اپی کوتیکولی است که می‌تواند نقش مهمی در طبقه‌بندی، توصیف و تعیین حدود آرایه‌ها ایفا نموده و به‌عنوان ابزاری مفید در سیستماتیک گیاهی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: افرا، شاخص روزنه، کرک، موم‌های اپی کوتیکولی، میکروسکوپ الکترونی

مقدمه

هستند (نظیر *A. oblongum*، *A. sempervirens* و *A. coriaceifolium* و ...). قاره آسیا و به‌ویژه چین و ژاپن اکثر گونه‌های این جنس را در خود جای داده است. به‌نظر می‌رسد منشأ این گونه کشور چین باشد؛ چراکه امروزه بیشترین تعداد گونه و سکنش افراها در این کشور وجود دارد (van Gelderen et al., 1994; Suh et al., 2000; Kim and Kim, 2023; Novotná et al., 2023). بنا به نظر برخی از محققین نه‌تنها

جنس افرا (*Acer L.*) از خانواده Aceraceae اغلب درختانی خزان‌کننده‌اند که پراکنش همه آنها به‌استثنای گونه *A. laurinum* در مناطق معتدله نیم کره شمالی است (Suh et al., 2000; Hakim and Miyakawa, 2013). اما تعداد کمی نیز همیشه سبزند که بومی مناطق مدیترانه و جنوب آسیا

حدود نیمی از گونه‌های افرا در کشور چین وجود دارد بلکه نزدیک‌ترین خویشاوند این جنس (*Dipteronia*) که تنها دارای دو گونه است نیز اندمیک چین است (Kim and Kim, 2023; Wang et al., 2023). جنس افرا دارای ۱۴۸ تا ۱۵۰ گونه است (Suh et al., 2000) که بر اساس گزارش

The Plant List (2010) از ۶۰۱ نام علمی ثبت شده برای این جنس، تعداد ۱۶۰ گونه افرا در دنیا پذیرفته شده است. بیشتر این گونه‌ها در اوراسیا و به‌ویژه شرق آسیا وجود دارند و سهم آمریکای شمالی تنها ۹ گونه است (van Gelderen et al., 2023; Wang et al., 2023; Kim and Kim, 1994). در ایران، ثابتی (Sābitī, 1976) به حضور ۸ گونه بومی در قالب ۱۳ آرایه اشاره نموده است؛ از این تعداد *A. velutinum* دارای ۵ زیرگونه و *Acer monspessulanum* دارای دو وارسته است. در فلورا ایرانیکا نیز به حضور ۱۰ گونه افرا در ایران اشاره شده است (Murray and Rechinger, 1969). در کروموفیت‌های ایران (Ghahreman, 1992) نیز به حضور ۱۰ گونه افرا در ایران اشاره نموده است که غالباً عناصر اصلی رویشگاه‌های جنگلی ایران را تشکیل می‌دهند. این در حالی است که در فلور کشورهای مجاور نیز حدوداً همین تعداد ذکر شده است. مثلاً Davis (1965) نیز در فلور ترکیه از ۱۱ گونه افرا نام برده است. گونه‌های افرای موجود در ایران، از درختان بزرگ (مانند *A. velutinum* Boiss. و *A. mazandaranicum* Amini, Zare & Assadi, sp. nov. با ارتفاع تا ۴۵-۴۰ متر و قطر برابر سینه بیش از ۱۵۰ سانتیمتر تا درختچه‌هایی با ارتفاع کمتر از ۲ متر را شامل می‌شوند. بزرگ‌ترین گونه‌های جنس افرا در ایران، در جنگل‌های با تنوع زیستی زیاد هیرکانی واقع در شمال ایران (دامنه‌های شمالی البرز) مشاهده می‌شوند (*A. velutinum*, *A. mazandaranicum*, *A. cappadocicum* Gled., *A. hyrcanum* Fisch. & C. A. Mey.؛ جایی که برخی از این گونه‌ها (*A. platanoides* L., *A. campestre* L. و *A. hyrcanum*) تا ارتفاع ۲۶۰۰ متری از سطح دریا و برخی دیگر (نظیر *A. velutinum*) تا پایین‌ترین حد ارتفاعی رویش یعنی ۵- متر از سطح دریا به چشم می‌خورند. بیشترین تنوع گونه‌ای جنس افرا در ایران نیز مربوط به ناحیه هیرکانی است و سایر گونه‌های این جنس در دامنه‌های خشک و نیمه‌خشک جنوبی رشته کوه البرز و همچنین در دامنه‌های زاگرس واقع در غرب و حتی جنوب ایران می‌رویند (Sābitī, 1976; Amini et al., 2008).

گرچه در بررسی‌های فیلوژنتیک با استفاده از مارکرهای مولکولی و ژنوم کلروپلاستی تا حدودی موقعیت قرارگرفتن گونه‌های نزدیک و مشابه این جنس معین شده است، اما روابط فیلوژنتیک میان سکشن‌ها و گونه‌های مورد بررسی کاملاً درک نشده و هنوز صفات ریختی ماکرو، از ارکان اساسی شناسایی برخی از گونه‌های این جنس محسوب می‌گردند (Suh et al., 2023; Novotná et al., 2023; Kim and Kim, 2023). شکل برگ‌ها و میوه‌ها، تعداد و شکل لوب‌ها و نیز زاویه بین سامارهای میوه شیزوکاریبی این جنس اهمیت زیادی در شناسایی برخی از گونه‌های آن دارد (Suh et al., 2000).

زیاد از گونه‌های افرای موجود در سراسر دنیا کافی نبوده و همواره متخصصین رده‌بندی با گرایش‌های مختلف، به‌دنبال پیدا کردن صفاتی کلیدی برای تعیین حدود این گونه‌ها هستند (Gao et al., 2020; Chang and Kim, 2003). اسکاتلند و همکاران (Scotland et al., 2003) معتقدند که مطالعات دقیق صفات ریزریختی در کنار مطالعات ویژگی‌های ریختی و فیلوژنی مولکولی جهت کامل کردن رده‌بندی جنس‌ها می‌تواند مفید باشد. از آنجاکه بررسی اپیدرم برگ در مطالعات فیلوژنی و رده‌بندی مهم تلقی می‌شود (Soheili et al., 2023) توجه متخصصین رده‌بندی به‌سمت صفات ریزریختی اپیدرم برگ جهت حل مشکلات رده‌بندی جلب شده است (Hardin, 1979). سیستم روزنه از دو سلول محافظ که منفذی را احاطه می‌کنند و غالباً با سلول‌های مجاور (Subsidiary cells) همراه می‌شوند تشکیل شده است. سلول‌های محافظ روزنه ساختار بسیار خاصی داشته و با سایر سلول‌های اپیدرم متفاوت هستند (Abid et al., 2007). تعداد و نظم سلول‌های همراه مدت‌های طولانی است که به‌عنوان ویژگی‌های سیستماتیک استفاده شده است. ویژگی‌های ریزریختی اپیدرم داری ارزش ویژه‌ای هستند؛ چراکه محققان با داشتن تکه‌ای از مواد گیاه قادر به بررسی دقیق آن هستند. Radford (1974) ویژگی‌های کوتیکول، اپیدرم، روزنه، سلول‌های همراه و کرک‌ها را صفات ریزریختی دارای اهمیت سیستماتیک بالا می‌داند.

روزنه اولین بار توسط Stresburger (1866) و به‌دنبال او Vesque (1889) مطالعه شد که ۴ طبقه عمده از روزنه براساس حضور و نظم سلول‌های همراه تشخیص داده شد. تاکنون اشخاص زیادی روزنه‌ها را بر اساس ساختار و شکل سلول‌های همراه طبقه‌بندی نموده‌اند که مهمترین آنها (Rasmussen (1981), Payne (1979), Cotthem (1970) و Metcalf و Chalk (1950) می‌باشند. همچنین Stace (1980) ۳۱ نوع مختلف از تیپ روزنه را در دولپه‌ای‌ها گزارش نمود.

یاسمین و همکاران (Yasmin et al., 2009) اپیدرم برگ ۶ گونه متعلق به ۲ جنس از خانواده Polygonaceae را با استفاده از میکروسکوپ نوری مطالعه کردند. ویژگی‌های سطح برگ شامل شکل سلول‌های اپیدرم، الگوی روزنه، توزیع آن در دو طرف سطح برگ و انواع کرک دارای اهمیت رده‌بندی فراوانی بوده است. حیات و همکاران (Hayat et al., 2010) نیز، اهمیت رده‌بندی خصوصیات اپیدرمی برگ را با بررسی میکروسکوپی روزنه در ۲۴ گونه *Artemisia* مورد بحث قرار دادند. نتایج مطالعات ایشان نشان داد که خصوصیات آناتومیکی اپیدرم برگ در این جنس به اندازه‌ای حائز اهمیت هستند که می‌توان برای طبقه‌بندی نژادها در داخل این جنس از آن‌ها بهره برد. در ایران نیز در سال‌های اخیر استفاده از صفات ریزریختی برای حل مشکلات رده‌بندی جنس‌هایی از درختان جنگلی همچون *Fagus* توسط سعیدی و همکاران (Saeedi et al., 2015)، *Carpinus* توسط چابولاق پریداری و همکاران (Chapolagh Paridari et al., 2012)، جنس *Alnus* توسط شایان‌مهر و همکاران (Shayanmehr et al.,)

در ایران پیردازد. بنابراین یکی از اهداف اصلی تحقیق حاضر تشریح ارزش رده‌بندی صفات ریزریختی اپیدرم برگ در میان گونه‌های مختلف افرای ایران بوده است. در این تحقیق تیپ روزنه و سلول‌های همراه، شکل موم و نوع کرک ۹ آرایه بومی و ۲ آرایه وارداتی (که در فضای سبز اکثر شهرهای ایران کاشته شده است) با استفاده از میکروسکوپ SEM و نوری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۱۱ آرایه افرای موجود در ایران مورد بررسی قرار گرفت: ۹ آرایه بومی و ۲ آرایه وارداتی.

A. velutinum Boiss.; *A. cappadocicum* Gled.; *A. platanoides* L.; *A. hyrcanum* Fisch & C. A. Mey; *A. mazandaranicum* Amini, Zare & Assadi sp. nov.; *A. campestre* L.; *A. monspessulanum* L. subsp. *Ibericum* (M.Bieb.) Yalt.; *A. monspessulanum* F. & M. subsp. *cinerascens* (Boiss.) Yaltrik; *A. monspessulanum* L. subsp. *Turcomanicum* (Pojark) Rech. F.; *A. negundo* L.; *A. palmatum* var. *atropurpureum* Van Hoote.

جدول ۱ نمونه‌های تهیه شده مربوط به آرایه‌های افرا که در تحقیق حاضر مورد استفاده قرار گرفت را نشان می‌دهد.

2018)، جنس *Betula* توسط کردالی‌وند و ستاریان (Kordalivand and Sattarian, 2015)، جنس *Castanea* توسط اکبری‌نیا و همکاران (Akbarinia et al., 2011) و حتی فرم‌های ریختی به‌وجود آمده از گونه *Pinus eldarica* توسط شایان‌مهر و همکاران (Shayanmehr et al., 2009) به‌خوبی مورد استفاده قرار گرفته است.

به‌رغم کاربرد و اهمیت اکولوژیکی درختان جنس افرا، هنوز از نظر رده‌بندی ابهامات زیادی در مورد جایگاه آنها وجود دارد. زیرا به‌دلیل استفاده از صفات محدود (کمتر از ۱۵ صفت) در رده‌بندی این سرده، نبود سیستم شناسایی دقیق گونه‌های این جنس (به‌علت همپوشانی پراکنش گونه‌ها که در ایجاد افراد هیبرید و واریته‌های متعدد نقش مهمی دارد)، وجود نام‌های مترادف متعدد، تأثیر تغییرات اقلیمی و آب و هوایی بر گونه‌زایی و همچنین وجود پلی‌مورفیسم برگ، وضعیت رده‌بندی برخی از گونه‌های آن همچنان با ابهام روبرو است (Gao et al., 2020). از آنجایی‌که این جنس یکی از عناصر اصلی اغلب رویشگاه‌های جنگلی ایران را تشکیل می‌دهد و نیز به‌دلیل ارزش اکولوژیک، حفاظت خاک و مصارف اقتصادی زیاد آن و وضعیت نامشخص رده‌بندی آن، در این پژوهش، سعی شده به مطالعه صفات ریزریختی برگ و گرده گونه‌های مهم این جنس

جدول ۱- مشخصات آرایه‌های افرای نمونه‌برداری شده در تحقیق حاضر

Table 1. Characteristics of maple taxa sampled in this research

Maple taxa and Persian name	پراکنش Distribution	محل جمع‌آوری Sampling location	ارتفاع از سطح دریا Altitude (m)
<i>A. cappadocicum</i> Gled. شیردار	بومی Native	سیاهکل، سنگده، ویسر، لاهیجان Siahkal, Sangdeh, Veysar, Lahijan	1200-1600
<i>A. platanoides</i> L. افرای چناری	بومی Native	رامسر، نوشهر، چالوس Ramsar, Noshahr, Chalous	500-1000
<i>A. campestre</i> L. کرب	بومی Native	کجور، اسالم، چالوس، رامسر Kojour, Asalem, Chalous, Ramsar	1500-2000
<i>A. velutinum</i> Boiss. افرا پلت	بومی Native	مینودشت، انزلی، پارک ملی گلستان، نور Minoudasht, Anzali, Golestan national park, Nour	800-1500
<i>A. hyrcanum</i> Fisch. & C.A.Mey. افرای هیرکانی یا سفید کرک	بومی Native	کجور، چالوس، رامیان Kojour, Chalous, Ramian	1700-2100
<i>A. monspessulanum</i> subsp. <i>cinerascens</i> (Boiss.) Yalt. کیکم شیرازی	بومی Native	نمونه هرباریومی-فیروزآباد، سنجند، خرم‌آباد Herbarium sample-Firouz Abad, Sanandaj, Khoram Abad	2000-2200
<i>A. monspessulanum</i> subsp. <i>ibericum</i> (Willd.) Yalt. کیکم قفقازی	بومی Native	نمونه هرباریومی-کجور، پل سفید Herbarium sample-Kojour, Pol Sefid	1300-2000
<i>A. monspessulanum</i> subsp. <i>turcomanicum</i> (Pojark.) Rech.f. کیکم ترکمنی	بومی Native	نمونه هرباریومی-بجنورد، قوچان Herbarium sample-Bojnord, Ghouchan	1100-1500
<i>A. mazandaranicum</i> Amini, Zare & Assadi, sp. nov.	بومی Native	نمونه هرباریومی-دودانگه ساری، سنگده Herbarium sample-Dodandeh Sari, Sangdeh	1500-1900
<i>A. negundo</i> L. افرای سیاه یا ابلغ	وارداتی Introduced	نور، ساری، نوشهر Nour, Sari, Noshahr	10-50
<i>A. palmatum</i> Thunb. افرای ژاپنی	وارداتی Introduced	نور، ساری، لاهیجان Nour, Sari, Lahijan	10-50

کلروفیل به‌مدت ۵ دقیقه در محلول آب ژاول قرار داده شد (Shayanmehr et al., 2009). پس از شستشوی با آب مقطر دو بار تقطیر بر روی لام قرار گرفت و با میکروسکوپ نوری MICROS AUSTRIA مدل N-180 عکسبرداری و مطالعه شد (بزرگنمایی ۴۰۰ و ۱۰۰۰). مطالعات میکروسکوپ نوری در آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. در نهایت، شناسایی، توصیف و طبقه‌بندی کرک و سلول‌های روزنه از روی میکروفوتوگراف‌های تهیه شده براساس روش Metcalf و Chalk (1950) و طبقه‌بندی موم‌های اپیکوتیکولی بر اساس روش Barthlott و همکاران (1998) انجام شد. جهت تعیین مقیاس و ابعاد سلول‌های

روش بررسی با میکروسکوپ نوری

نمونه‌های برگ از شاخه‌های رشد کرده در آفتاب، مربوط به هریک از آرایه‌ها جهت جلوگیری از کپک زدن ابتدا خشک شدند (به‌روش نمونه‌های هرباریومی لابه‌لای صفحات روزنامه و تحت فشار). نمونه‌های خشک شده برگ در زمان مطالعه ریزریختی و جهت تهیه برش به‌مدت ۳ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند تا در اثر تورژسانس، دیواره سلول‌ها ترد شده و برش‌گیری آسان شود. سپس به‌روش دستی و با استفاده از تیغ‌های جراحی برش‌های نازکی از اپیدرم فوقانی و تحتانی آن‌ها از قسمت وسط برگ و از مجاورت رگبرگ مرکزی تهیه شد. برش‌های میکروسکوپی، جهت رنگبری سلول‌ها از رنگیزه

سطح زیرین اپیدرم برگ شیردار یا *Acer cappadocicum* با لایه‌ای از موم که سطحی ناصاف و چروکیده داشته پوشیده شده است و اغلب در محل تلاقی دیواره‌های سلولی، کمی بیرون‌زدگی دارد. در کل کوتیکول در این گونه نیز همچنان فاقد کریستالوئیدهای خاصی است. کرک‌ها بسیار اندک و پراکنده هستند و تنها بر روی رگبرگ‌ها و محل انشعاب رگبرگ‌ها مشاهده می‌شوند. سطح کرک‌ها دارای ظاهری پرزدار می‌باشد. روزنه‌ها همسطح بوده و در اغلب موارد کاملاً در زیر لایه موم مخفی می‌باشند. تیپ روزنه‌ها Anomocytic است (شکل ۱ E و F).

سطح زیرین برگ کرب یا *Acer campestre* پوشیده از یک لایه موم صاف و یکدست است که در برخی موارد دارای بیرون‌زدگی‌های بی‌شکل و فاقد کریستال می‌باشد. اپیدرم فاقد کرک و روزنه‌ها همسطح با سلول‌های اپیدرم هستند (شکل ۱ G و H). تیپ روزنه Anomocytic است.

اپیدرم تحتانی افرای خزری (سفید کرکو) یا *Acer hyrcanum* پوشیده از یک لایه موم ناصاف است که در روی سلول‌های اپیدرم برجسته به حالت بی‌شکل بیرون‌زدگی‌های لبه‌دار و اغلب رشته مانند ایجاد نموده است. رگبرگ‌ها در زیر لایه موم به‌سختی دیده می‌شوند. کرک‌ها ساده و بلند هستند که در اطراف رگبرگ‌ها و انشعابات آن حضور دارند. روزنه‌ها با انبوه موم‌های بی‌شکل محصور و اغلب در زیر لایه موم پوشیده شده‌اند (شکل ۲ A و B). تیپ روزنه Anomocytic است و سلول‌های اپیدرم دارای دیوار صاف و مستقیم‌اند (شکل ۴ D). سطح زیرین برگ سیاه کرکو یا کیکم قفقازی *A. monspessulanum* subsp. *ibericum* پوشیده از یک لایه موم ناصاف است که اغلب در روی نیمی از مرز سلول‌های اپیدرم کمی بیرون زده است. کرک‌های ساده و بلند در اطراف رگبرگ‌ها مشاهده می‌شوند. روزنه‌ها کاملاً همسطح و تیپ روزنه Anomocytic است (شکل ۲ C و D). سلول‌های اپیدرم دارای دیوار صاف و مستقیم هستند.

سلول‌های اپیدرم تحتانی کیکم ایرانی یا کیکم شیرازی با نام علمی *A. monspessulanum* subsp. *cinerascens* به‌واسطه کپه‌های موم بر سطح هر سلول برجسته شده و مرز سلول‌ها را به‌طور بارزی مشخص نموده است؛ به‌طوری‌که در بسیاری موارد سلول‌های اپیدرم به‌راحتی قابل شمارش‌اند. موم‌ها به‌شکل رشته‌های ظریف و کوچکی روی یک لایه ضخیمی پاشیده شده‌اند. کرک‌ها بسیار فراوان، کوچک و یک اندازه در تمام سطوح اپیدرم مشاهده می‌شوند. روزنه‌ها هم سطح و اغلب توسط موم‌ها محصور شده‌اند (شکل ۲ E و F). تیپ روزنه Anomocytic و دیواره سلول‌های اپیدرم نیز صاف و مستقیم است.

سطح زیرین کیکم ترکمنی با نام علمی *A. monspessulanum* subsp. *turcomanicum* از یک لایه موم ناصاف و ضخیم پوشیده شده است. کرک‌ها در اطراف رگبرگ‌ها تجمع دارند. روزنه‌ها همسطح اما اغلب به‌سختی از زیر لایه ضخیم موم پیدا هستند (شکل ۲ E و F). تیپ روزنه Anomocytic و سلول‌های اپیدرم دارای دیواره صاف و مستقیم است.

محافظ و شکاف روزنه، از لام مدرج در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی‌های ۴۰۰x و ۱۰۰۰x عکسبرداری شد. سپس از نمونه‌های اپیدرم با این بزرگنمایی‌ها در زیر میکروسکوپ عکسبرداری گردید. از هر نمونه ۱۰ تصویر و در هر تصویر ۵ عدد روزنه مورد اندازه‌گیری ابعاد سلول‌های محافظ روزنه و شکاف روزنه قرار گرفت. از روی میکروفوتوگراف‌های تهیه شده، در محیط نرم‌افزارهای ZeissAxioVision4.8 و ImageTools 3.0 ابعاد سلول‌ها و ویژگی‌های اپیدرم با دقت $0.02 \mu\text{m}$ اندازه‌گیری گردید (Shayanmehr et al., 2007, 2009).

روش بررسی با میکروسکوپ الکترونی SEM

جهت مطالعه ویژگی‌های موم‌ها و اپیدرم سطح پشتی و رویی برگ آرایه‌های مختلف افرا، نمونه‌های برگ بالغ به‌صورت کاملاً خشک شده در ابعاد ۶-۵ میلی‌متر مربع برش خورد و بر روی پایه‌های آلومینیومی (stub) ثابت شدند. گل‌های دارای کیسه‌های گرده بالغ در داخل کیسه‌های پلاستیکی جمع‌آوری شد و نمونه‌های گرده آنها نیز بدون هرگونه شستشو با اسید به‌طور مستقیم بر روی پایه‌های آلومینیومی با چسب تثبیت شد. سپس با استفاده از دستگاه لایه نشان طلا (Sputter coater) BAL-TEC مدل SCDOOS (ساخت کشور سوئیس) بر سطح کلیه نمونه‌های گرده و برگ، ورقه‌های نازک طلا پاشیده شد و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (Scanning Electron Microscope) فلیپس مدل XL30 (ساخت کشور هلند) عکس‌برداری شد (Shayanmehr et al., 2009, 2015, 2018). شدت ولتاژ ۲۰ کیلو ولت و بزرگنمایی تصاویر از ۲۵۰۰ تا ۵۱۰۰ برابر بوده است. مطالعات میکروسکوپ الکترونی در دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. در انتها، شاخص روزنه بر اساس تصاویر میکروسکوپ نوری اندازه‌گیری با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Shayanmehr et al., 2008, 2009):

$$\text{تراکم سلولهای روزنه} = \frac{\text{تراکم سلولهای اپیدرم} + \text{تراکم سلولهای روزنه}}{\text{تراکم سلولهای روزنه}} \times 100 \quad (ST) \text{ شاخص روزنه}$$

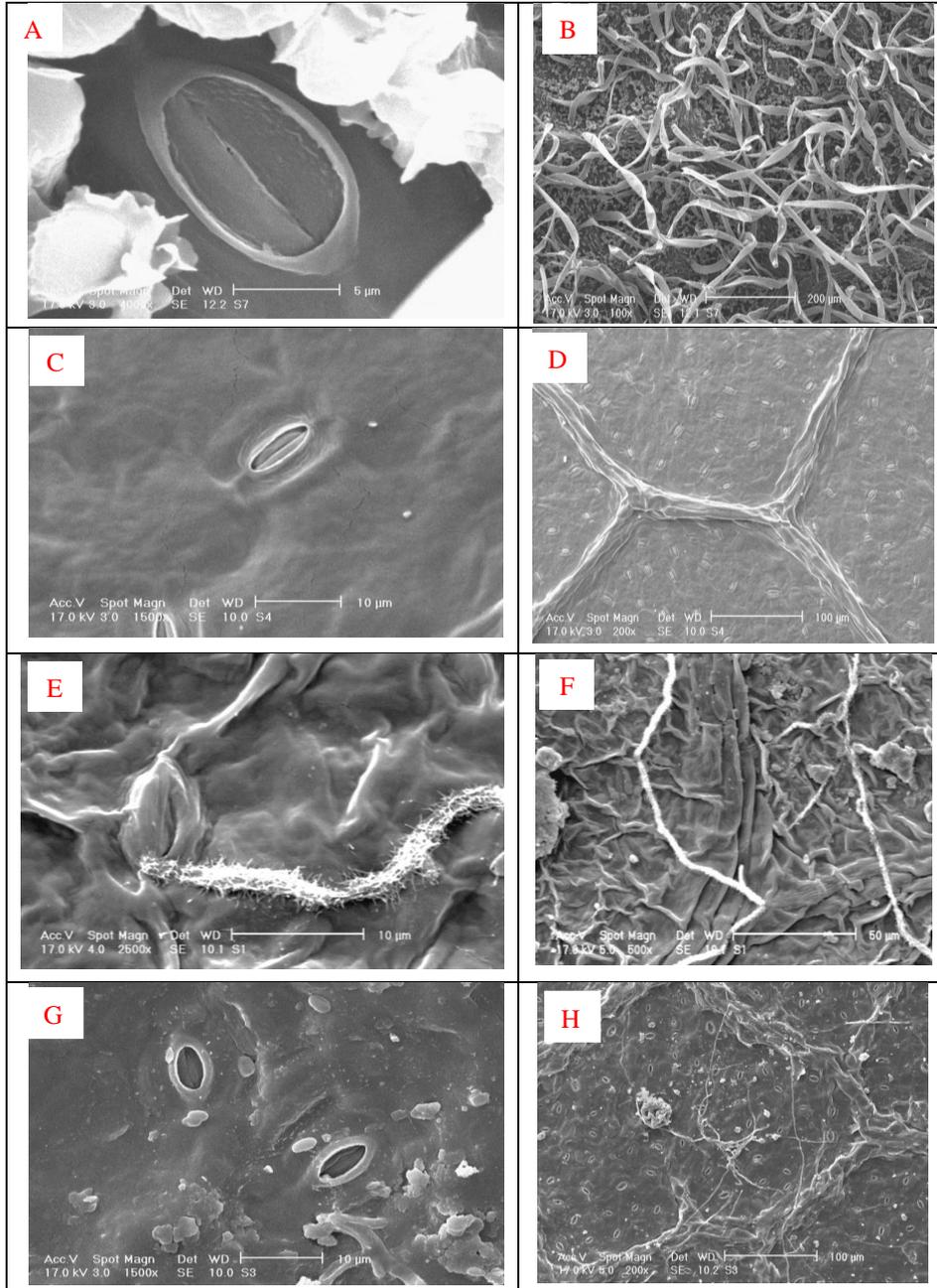
نتایج و بحث

سطح زیرین (Abaxial) برگ گونه افرا پلت یا *Acer velutinum* پوشیده از موم‌های گرانولی به ابعاد غالباً کمتر از ۱۰ میکرومتر است. علاوه بر این، بر خلاف کلیه آرایه‌های مورد مطالعه، ساختارهای کریستالی روزنه مانند به ابعاد ۵ تا ۱۰ میکرومتر در اطراف بسیاری از روزنه‌ها تجمع یافته‌اند. این روزنه‌ها عمدتاً به تعداد ۷ تا ۱۰ عدد در گرداگرد هر روزنه مشاهده می‌شوند. کرک‌ها بلند، ساده، بسیار انبوه و کشیده‌اند. روزنه‌ها همسطح با اپیدرم هستند و تیپ سلول‌های اطراف روزنه‌ها Anomocytic می‌باشد (شکل ۱ A و B).

سطح زیرین برگ افرای چناری یا *Acer platanoides* از یک لایه موم بسیار صاف و یکدست بدون هر نوع بیرون‌زدگی و نیز بدون تشکیل هر نوع ساختار کریستال خاصی از موم‌ها پوشیده شده است. کوتیکول فاقد کرک و روزنه‌ها نیز همسطح با اپیدرم هستند (شکل ۱ C و D). تیپ روزنه در این گونه از افرا Anomocytic می‌باشد. بر خلاف سایر آرایه‌ها، سلول‌های اپیدرم دارای دیواره بسیار موجدار و مواج می‌باشند (شکل ۴ B).

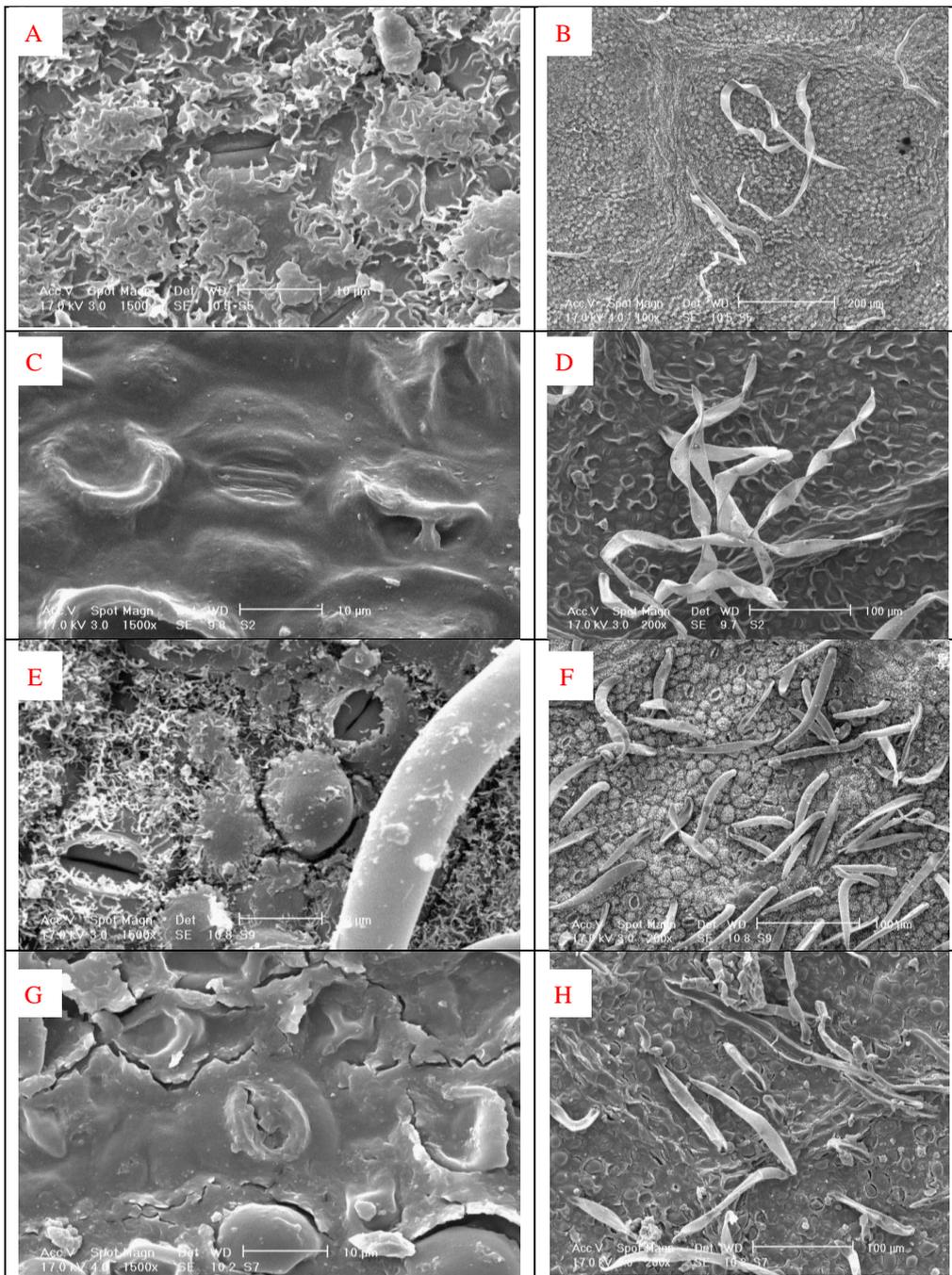
سلول‌های اپیدرم نیز با کریستال‌های رشته‌ای کوچک پوشیده شده است. اپیدرم فاقد کرک و روزنه‌ها هم‌سطح اما در زیر موم‌ها فرورفته‌اند و به‌سختی دیده می‌شوند (شکل ۳ A و B). تیپ روزنه بر خلاف تمامی گونه‌های تشریح شده، Paracytic است و سلول‌های اپیدرم مانند اکثر آرایه‌های این جنس دارای دیوار صاف و مستقیم هستند (شکل ۴ A).

سطح زیرین در گونه جدیداً معرفی شده از استان مازندران یعنی *Acer mazandaranicum* (Amini et al., 2008) پوشیده از یک لایه ضخیم موم ناصاف است و رگبرگ‌ها از زیر لایه موم به‌سختی دیده می‌شوند. موم‌ها در مرز بین سلول‌ها (دیواره سلول‌ها) برجسته شده به‌طوری‌که بر روی مرکز سلول‌های اپیدرم به حالت فرورفتگی دیده می‌شود. سطح



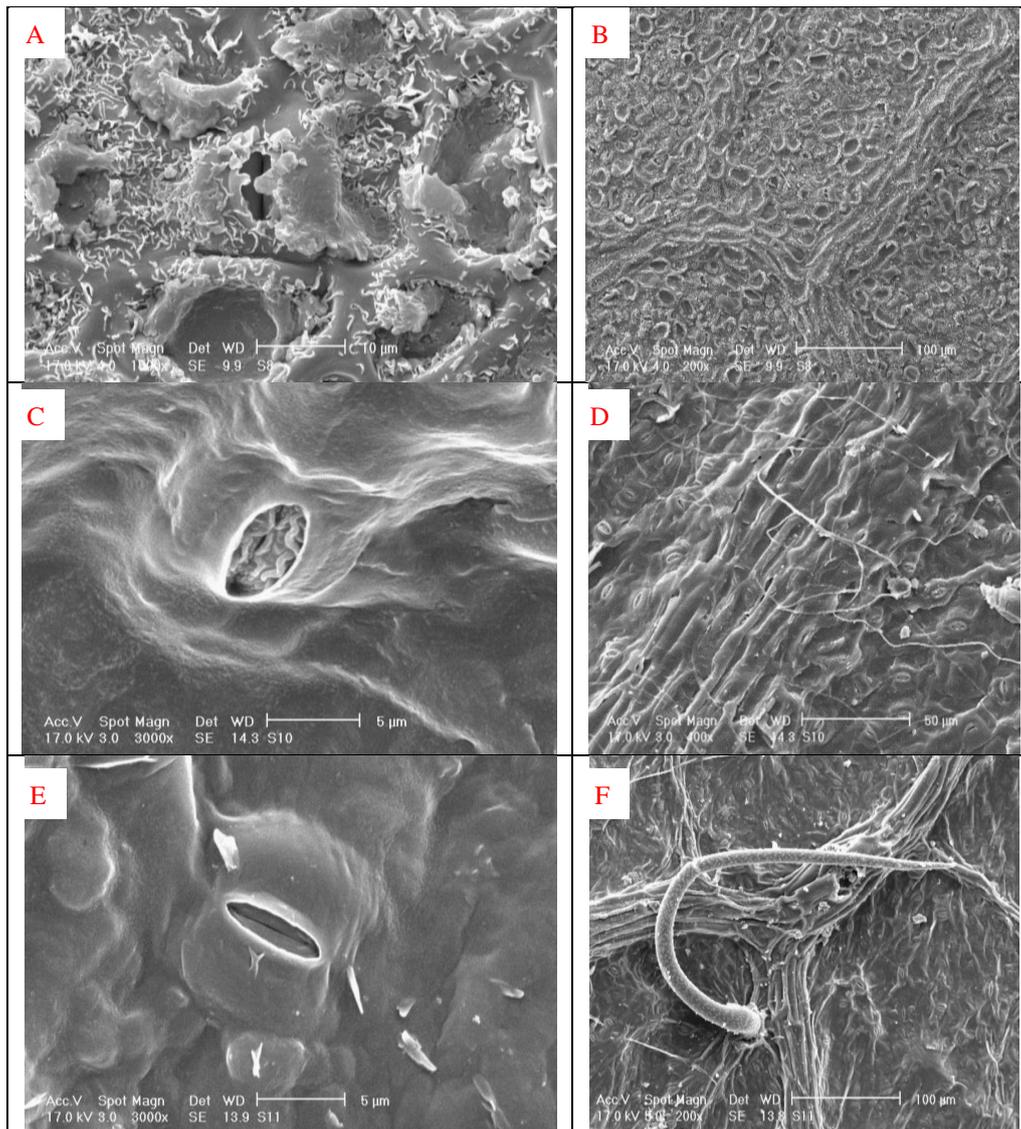
شکل ۱- سطح زیرین برگ آرایه‌های افرا: (A و B) *A. velutinum*; (C و D) *A. platanoides*; (E و F) *A. cappadocicum*; (G و H) *A. campestre*

Figure 1. Leaf abaxial surface of maple taxa: A. *velutinum* (A and B); A. *platanoides* (C and D); A. *cappadocicum* (E and F); A. *campestre* (G and H).



شکل ۲- سطح زیرین برگ آرایه‌های افرا: (A و B) *A. hyrcanum*; (C و D) *A. monspessulanum* subsp. *ibericum*; (E و F) *A. monspessulanum* subsp. *cinerasens*; (G و H) *A. monspessulanum* subsp. *turcomanicum*.

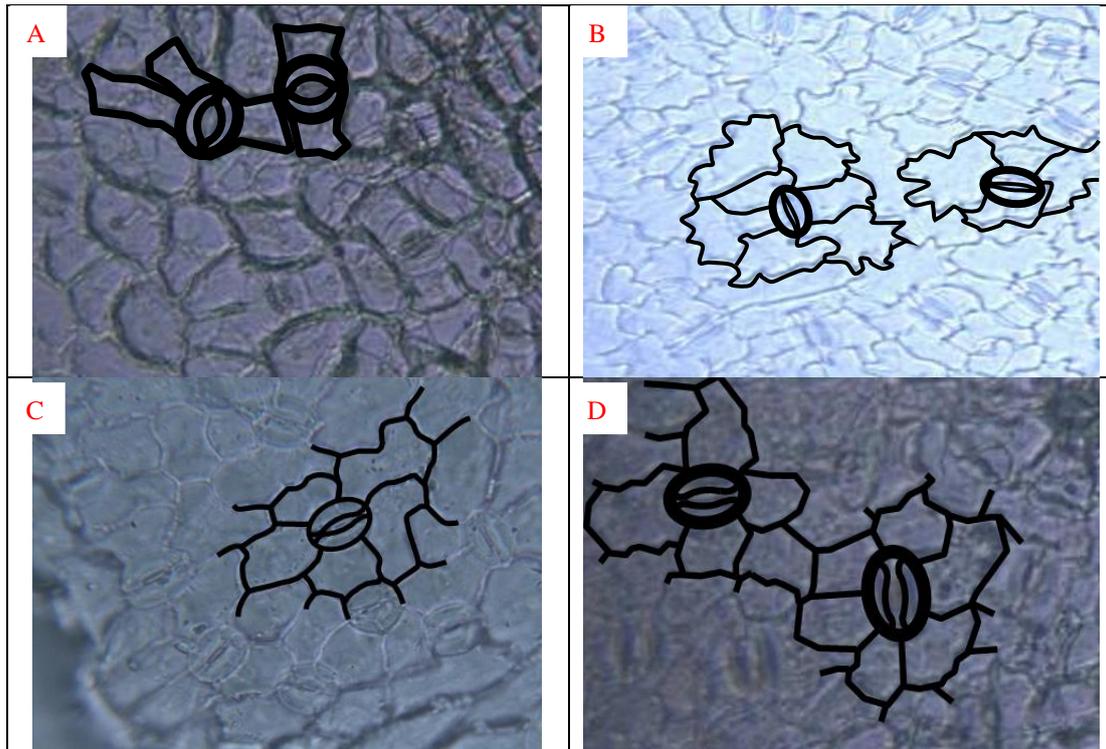
Figure 2. Leaf abaxial surface of maple taxa: *A. hyrcanum* (A and B); *A. monspessulanum* subsp. *ibericum* (C and D); *A. monspessulanum* subsp. *cinerasens* (E and F); *A. monspessulanum* subsp. *turcomanicum* (G and H).



شکل ۳- سطح زیرین برگ آرایه‌های افرا: (*Acer mazandaranicum* (A و B)؛ *A. palmatum* (C و D)؛ *A. negundo* (E و F).
 Figure 3. The leaf abaxial surface of maple taxa: *Acer mazandaranicum* (A and B); *A. palmatum* (C and D); *A. negundo* (E and F).

سطح زیرین اپیدرم برگ گونه وارداتی سیاه یا ابلغ با نام علمی *Acer negundo* پوشیده از یک لایه موم ناهموار و بدون شکستگی و بیرون‌زدگی خاصی می‌باشد. کرک‌های ساده و بلند در اطراف و روی رگیبرگ‌ها مشاهده می‌شوند. روزنه‌ها هم‌سطح و مشخص‌اند (شکل ۳ E و F). تیپ روزنه Anomocytic و سلول‌های اپیدرم دارای دیواره کمی مواج‌اند (شکل ۴ C).

سطح زیرین اپیدرم برگ گونه غیربومی وارداتی و رایج در فضاهای سبز ایران یعنی افرا ژاپنی با نام علمی *Acer palmatum* پوشیده از یک لایه موم ناصاف بدون شکستگی و بیرون‌زدگی کریستالی است. اپیدرم فاقد کرک و سلول‌های لوبیایی روزنه نسبت به سطح اپیدرم برجسته است. روزنه‌ها کاملاً آشکار و مشخص‌اند و دارای موم‌های رشته‌ای بر روی اتاقک روزنه هستند (شکل ۳ C و D). تیپ روزنه در این گونه Anomocytic است. سلول‌های اپیدرم دارای دیواره مواج‌اند.

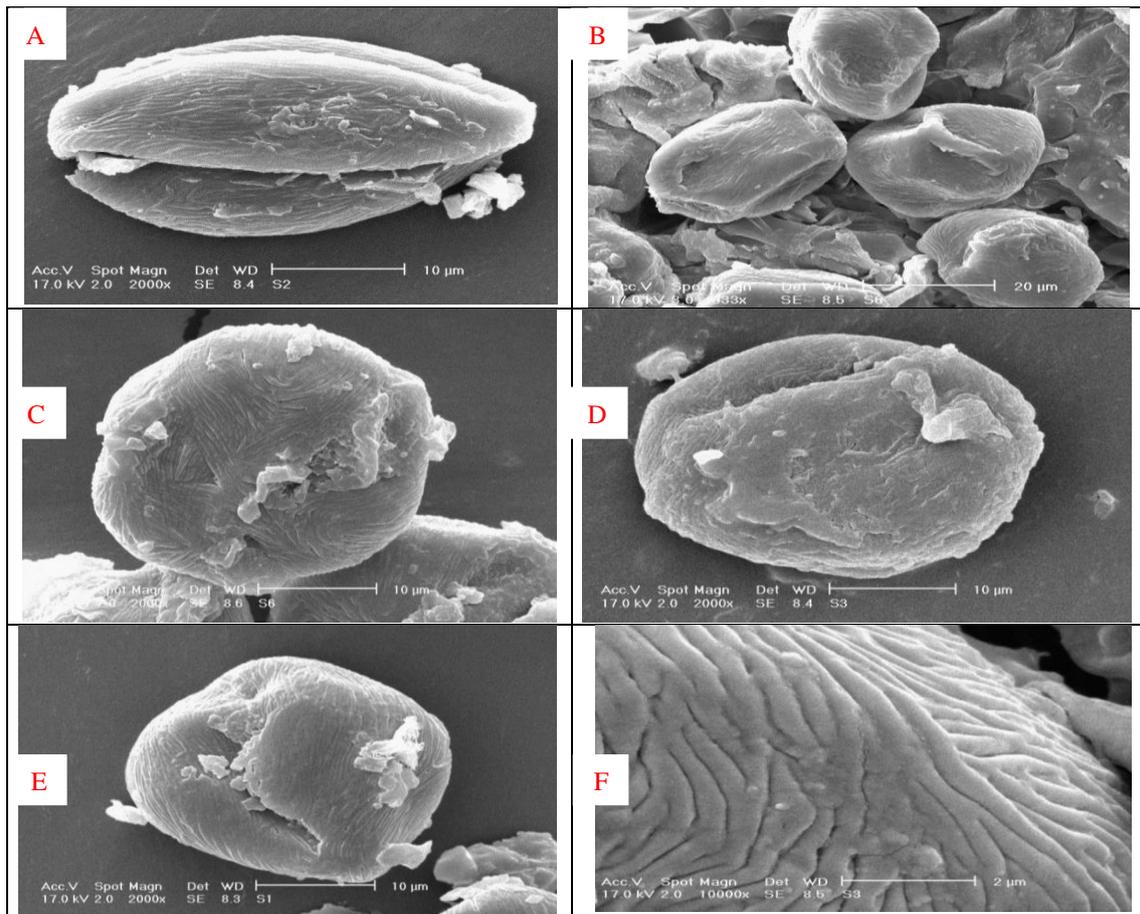


شکل ۴- تصاویر میکروسکوپ نوری (بزرگنمایی $400\times$) از اپیدرم تحتانی برگ *A. mazandaranicum* (A)، *A. platanoides* (B)، *A. negundo* (C)، *A. hyrcanum* (D).

Figure 4. Light microscope images (200x magnification) of leaf abaxial epidermis of *A. mazandaranicum* (A), *A. platanoides* (B), *A. negundo* (C), *A. hyrcanum* (D).

دانه‌های گرده تمامی افراهای ایران سه شکاف-حفره‌ای (Tricolporate) است که از نظر شعاعی متقارن یا نسبتاً متقارن‌اند. شکاف‌های Colpi تقریباً تا نزدیکی قطب‌ها گسترش داشته و پهن هستند. قطر گرده‌ها ۲۲-۳۵ میکرومتر و قطر Apocolpi ۲-۹ میکرومتر است. سطح گرده در همه آرایه‌های مورد بررسی، دارای تزیینات اگزینی شیاردار یا Striate است که دارای چین‌های ظریف (Rugulose) و غالباً موازی است.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی از گرده ۱۱ آرایه جنس افرا در شکل ۵ نشان داده شده است. چنانچه مشاهده می‌شود شکل گرده در این جنس Isopolar، کشیده یا Prolate تا کروی یا spheroidal است. هیچ‌گونه تنوعی در بین آرایه‌ها از نظر نوع و ساختار گرده قابل تفکیک نیست؛ به‌گونه‌ای که تمامی انواع این گرده‌ها تقریباً در همه این آرایه‌ها قابل مشاهده بوده و هیچ‌یک از آرایه‌ها نوع گرده منحصر به خود را نشان ندادند.



شکل ۵- تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM از گرده آرایه‌های جنس افرا. شکل گرده در این جنس Isopolar، کشیده یا Prolate تا کروی یا spheroidal است.

Figure 5. SEM electron microscope images of the pollen of maple taxa. The shape of pollen in this genus is isopolar, prolate to spheroidal.

تیب روزنه، شاخص روزنه (%)، تراکم روزنه در واحد سطح (تعداد روزنه در میلی‌متر مربع)، ابعاد روزنه و سلول‌های محافظ اندازه‌گیری و در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲- مشخصه‌های اندازه‌گیری شده از روزنه‌ها در اپیدرم تحتانی برگ ۱۱ آرایه افرا (میانگین \pm انحراف معیار)

Table 2. Measured characteristics of stomata in leaf abaxial epidermis of the 11 maple taxa (Mean \pm Standard error)

حفره روزنه (µm) Stomatal aperture		سلول محافظ Guard cell		تراکم روزنه Stomata density (n/mm ²)	شاخص روزنه (%) Stomatal index (%)	کرک Trichome (µm)	تیب روزنه Type of stomata	آرایه‌ها Taxa
عرض Width	طول Length	عرض Width	طول Length					
4.64 \pm 1.63	9.82 \pm 2.52	6.90 \pm 0.96	19.08 \pm 1.46	465.6	15.1	-	Anomocytic	<i>A. campestre</i>
3.34 \pm 1.22	9.54 \pm 2.32	6.78 \pm 1.24	21.97 \pm 1.92	535.5	18.1	-	Anomocytic	<i>A. cappadocicum</i>
7.07 \pm 1.84	16.06 \pm 3.02	8.33 \pm 1.45	27.59 \pm 3.23	308.3	14.3	103 \pm 15.6 Very dense	Anomocytic	<i>A. monspessulanum</i> subsp. <i>cinerascens</i>
6.44 \pm 1.35	14.12 \pm 1.81	7.27 \pm 1.02	25.01 \pm 2.92	422.8	12.5	111 \pm 17.2 Frequent	Anomocytic	<i>A. monspessulanum</i> subsp. <i>turcomanicum</i>
7.82 \pm 1.15	14.47 \pm 1.80	7.33 \pm 0.98	24.05 \pm 2.46	438.8	18.8	273 \pm 27.7 Sparse	Anomocytic	<i>A. monspessulanum</i> subsp. <i>ibericum</i>
6.42 \pm 0.97	10.47 \pm 1.00	6.71 \pm 0.60	19.66 \pm 1.81	293.9	11.4	-	Paracytic	<i>A. mazandaranicum</i>
2.56 \pm 0.61	7.46 \pm 1.25	6.39 \pm 1.04	20.42 \pm 2.49	525.9	16.3	-	Anomocytic	<i>A. platanoides</i>
4.71 \pm 1.47	10.37 \pm 1.93	6.67 \pm 1.54	20.97 \pm 2.58	527.6	14.5	376 \pm 35.2 Sparse	Anomocytic	<i>A. hyrcanum</i>
6.90 \pm 1.61	16.78 \pm 1.79	8.31 \pm 1.45	26.20 \pm 4.15	413.3	14.2	357 \pm 42.6 Very dense	Anomocytic	<i>A. velutinum</i> var. <i>velutinum</i>
3.11 \pm 0.59	8.92 \pm 1.10	5.41 \pm 1.04	17.23 \pm 1.60	632.7	27.5	437 \pm 52.1 Very sparse	Anomocytic	<i>A. negundo</i>
1.99 \pm 0.60	7.17 \pm 1.24	5.81 \pm 1.40	16.10 \pm 1.23	859.7	19.2	-	Anomocytic	<i>A. palmatum</i>

Bassi and Monet, 2008; Oguchi *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2020) Stace (1980) اظهار داشت که برگ بیشتر از تمامی اندام‌های زایشی و رویشی در مطالعه رده‌بندی

اهمیت رده‌بندی ویژگی‌های اپیدرمی توسط بسیاری از گیاه‌شناسان برجسته گزارش شده است (Metcalf and Chalk, 1950; Payne, 1979; Rasmussen, 1981;

تنها وابسته به نوع رویشگاه می‌بود، نمی‌بایست شکل‌های مشابهی از آنها در آرایه‌های یکسان مشاهده می‌گردید. از صفات کیفی مورد مطالعه در تحقیق حاضر، تیپ سلول‌های همراه روزنه می‌تواند گونه‌ها را به دو دسته دارای تیپ آنموسیتیک و پاراسیتیک تقسیم نماید. فقط در *A. mazandaranicum* به‌طور انحصاری تیپ روزنه پاراسیتیک مشاهده شد (شکل ۴ A) و در سایر آرایه‌ها تیپ آنموسیتیک ثبت شد. تیپ آنموسیتیک تیپ رایج روزنه است که تاکنون در اغلب جنس‌های درختی جنگل‌های هیرکانی به ثبت رسیده است نظیر جنس راش (Saeedi et al., 2015)، ممرز (Chapolagh Paridari et al., 2012)، توس (Kordalivand and Sattarian, 2015)، شاه‌بلوط (Akbarinia et al., 2011) و نتایج تحقیق چپولاق پاریداری و همکاران (Chapolagh Paridari et al., 2012) بر روی سه گونه رایج از جنس *Carpinus* در جنگل‌های هیرکانی نشان داد که نمی‌توان تیپ روزنه خاص و منحصر به یک گونه از این جنس را یافت نمود و تقریباً اکثر تیپ‌ها در هر سه گونه مشاهده می‌شود.

نتایج تحقیق Kordalivand & Sattarian (2015) با استفاده از صفات ریزریختی برگ به‌خصوص تیپ روزنه نیز نشان داد که با اینکه در مورد حضور گونه‌هایی غیر از *Betula pendula* در جنگل‌های ایران بین محققین علم رده‌بندی مختلف اختلاف‌نظر وجود دارد، اما تنوعی در بین پایه‌های گونه توس در سه رویشگاه اصلی آن مشاهده نمی‌شود. الگوی دیواره سلولی اپیدرم، نیز که در اکثر مطالعات سیستماتیک-ریزریختی استفاده می‌شود و در زمره صفاتی محسوب می‌گردد که بیانگر تنوع ژنتیکی است (Santos et al., 2020)، ویژگی دیگری بود که به سه نوع مختلف در آرایه‌ها مشاهده شد: دیواره کاملاً موج و پازل مانند که تنها در *A. platanoides* دیده شد، دیواره نسبتاً موج فقط در *A. negundo* و دیواره سلولی صاف و مستقیم که شکل رایج در سایر آرایه‌ها بوده است.

چنانچه ملاحظه می‌گردد بیشترین تعداد روزنه در واحد سطح و شاخص روزنه مربوط به دو گونه وارداتی افرا یعنی *A. palmatum* و *A. negundo* است و کمترین آن مربوط به آرایه‌های *A. mazandaranicum*، *A. monspessulanum*، *A. velutinum* var. *velutinum* subsp. *turcomanicum*، *A. monspessulanum* subsp. *cinerascens* است. با توجه به این دو مشخصه می‌توان ادعان نمود آرایه‌های بومی نام برده مقاومت به خشکی بالاتری نسبت به سایرین دارند. قابل ذکر است در این آرایه‌ها، بسیاری از روزنه‌ها در زیر لایه‌های موم اپی‌کوتیکولی پوشیده و مدفون می‌شوند و در اطراف سایر روزنه‌ها نیز کرک‌ها و کریستال‌های موم جهت کاهش میزان تبخیر و تعرق حضور می‌یابد (شکل‌های ۱ A، ۲ A، C، E، F). استفاده از صفات ظاهری و ریزریختی کرده نیز تاکنون در طبقه‌بندی و حل مشکلات رده‌بندی بسیاری از گونه‌های گیاهی در سراسر جهان مؤثر واقع شده است (Garg et al., 2023; Hao et al., 2023; Shayanmehr et al., 2015). اما برای جنس افرا، مطالعه کرده، ارزش رده‌بندی چندانی برای

مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین مطالعه‌ای که توسط سهیلی و همکاران (Soheili et al., 2023) بر روی ۱۰ گونه از ۱۰ جنس درختی و درختچه‌ای مختلف در ایلام انجام شد بیانگر تمایز زیاد صفات ریزریختی در بین جنس‌های مورد بررسی بوده است.

در مطالعه حاضر، چنانچه از تصاویر میکروسکوپ الکترونی مشخص است آرایه‌های افرا به دو گروه دارای کرک و فاقد آن تقسیم می‌گردند. کرک‌ها در افراها ساده و بدون انشعاب که از نظر اندازه به دو گروه کرک‌های کوتاه و بلند قابل مجزا شدن هستند. آرایه‌های دارای کرک‌های کوتاه شامل *A. monspessulanum* subsp. *cinerasens*، *A. monspessulanum* subsp. *turcomanicum* و دارای کرک‌های بلند شامل *A. negundo*، *A. monspessulanum*، *A. hyrcanum* subsp. *ibericum* و *A. velutinum* بودند. سایر آرایه‌ها یا فاقد کرک در سطح اپیدرم تحتانی بودند و یا دارای کرک‌های بسیار پراکنده در نواحی خاصی همچون انتهای برگ، روی دم‌برگ و یا محل انشعاب رگبرگ‌ها (جدول ۲).

موم‌ها نیز در کنار سایر صفات ریزریختی جهت تفکیک گونه‌ها می‌توانند بسیار مفید واقع شوند (Shayanmehr et al., 2007, 2018). چنانچه مشاهده شد موم‌ها دارای تفاوت‌هایی در الگوی پراکنش بر سطح کوتیکول و در برخی موارد دارای نوع خاصی از ساختار کریستالی (مانند *A. velutinum*، *A. mazandaranicum* و *A. hyrcanum*) بودند. ساختارمندترین نوع موم‌های اپی‌کوتیکولی در *A. velutinum* مشاهده شد. به‌طوری‌که اطراف روزنه‌ها ساختارهای روزت مانند و مدوری را تشکیل می‌دهند که در هیچ آرایه دیگری قابل مشاهده نیست. سطح تحتانی برگ در *A. platanoides* نیز به‌طور منحصر‌به‌فردی با یک لایه کاملاً صاف و یکدست از موم پوشیده شده است. ساختارهای جذاب موم بر سطح *A. monspessulanum* subsp. *cinerasens* و *A. mazandaranicum* مشاهده می‌شود که بر سطح سلول‌های اپیدرمی آرایه اول برجسته و در دومی فرورفته به‌نظر می‌رسد. *A. monspessulanum* subsp. *turcomanicum* و *A. monspessulanum* subsp. *ibericum* نیز ساختار کمابیش مشابهی از موم را بر سطح اپیدرم تحتانی برگ نشان دادند که با سایر آرایه‌ها تفاوت دارد. در مابقی آرایه‌ها نیز عموماً موم‌های یکدست و ناصاف مشاهده می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط Karimi (2021) با استفاده از روش‌های خوشه‌بندی و رسته‌بندی ۵۲ صفت ریختی و ریزریختی برگ و میوه ۱۰ گونه افرا انجام شد نتیجه‌گیری شد که تفاوت و یا شباهت‌های بین گونه‌های افرا به محیط اکولوژیکی و شرایط رویشگاهی آن‌ها بستگی دارد. اما بر اساس نتایج تحقیق حاضر و مقایسه تصاویر موم‌های اپی‌کوتیکولی ارائه شده در تحقیق Karimi شباهت‌های بسیار زیاد ساختارها و کریستال‌های موم مشابهی را میان آرایه‌های یکسان با این تحقیق نشان می‌دهد. این موضوع، به‌دلیل اینکه نمونه‌های برگ افرا از رویشگاه‌های متفاوتی تهیه شده است، به‌نوعی ارزش ژنتیکی صفات موم در جنس افرا را اثبات می‌نماید. چراکه اگر تشکیل ساختارهای موم

کشاورزی نوشهر به خاطر در اختیار قراردادن تعدادی نمونه هرباریومی تشکر و قدردانی به عمل آورند.

ضمائم (اصطلاحات تخصصی):

موم‌های اپی کوتیکولی: سطح کوتیکول برگ اکثر گیاهان توسط لایه‌های غیر قابل نفوذی از ترکیبات لیپیدی پیچیده پوشیده شده است که در بسیار موارد به شکل ساختارها و تشکیلات مشخصی ظهور پیدا می‌کنند که شکل آنها می‌تواند به شناسایی برخی از گونه‌ها کمک نماید.

ساختارهای کریستالی روزت (Roset): نوعی از تشکیلات موم است که به شکل یک گل رز در نقاط مختلف کوتیکول ظاهر می‌شود.

تیپ روزنه Anomocytic: در این تیپ، سلول‌های اپیدرم به صورت نامنظم اطراف دو سلول محافظ روزنه آرایش می‌یابند.

تیپ روزنه Paracytic: عموماً محور طولی سلول‌های لوبیایی محافظ روزنه توسط دو (یا بیشتر) سلول اپیدرمی (یک سلول همراه در هر طرف سلول محافظ روزنه) احاطه می‌شود.

تزیینات اگزینی: سطح خارج گرده گیاهان را Exine گویند که به واسطه داشتن شکل‌ها و تزیینات خاصی قابل دسته بندی و طبقه بندی است و به شناسایی انواع گرده‌ها کمک می‌کند. تزیینات اگزینی شیاردار تحت عنوان Striate و در صورتی که دارای چین خوردگی‌های ظریف و غالباً موازی نیز باشد Rugulose نامیده می‌شود.

Isopolar: شکلی از انواع گرده در گیاهان است که دانه گرده دارای دو قطب برابر است و صفحه استوایی گرده، آن را به دو قسمت مساوی تقسیم می‌کند.

Prolate یا کشیده: دانه‌های گرده که محور قطبی آنها بزرگ‌تر از قطر استوایی است. نسبت این دو قطر تقریباً ۱ به ۰.۷۵-۰.۵ است یعنی قطر استوایی ۰.۵٪ تا ۰.۷۵٪ محور قطبی است.

Spheroidal یا کروی: گرده‌هایی که شکل آنها کروی یا بسیار نزدیک به کروی و بدون داشتن قطبین مشخص هستند. نسبت تقارن جهت قطبی و استوایی آنها نزدیک به عدد ۱ است.

Colpi یا شکاف: سطح روزنه جهت انجام عمل لقاح دارای سوراخ‌هایی است که سلول‌های گرده از آن خارج می‌گردند. نوع Colpi زمانی است که این روزنها کشیده و شیارمانند باشند نه مدور.

Tricolporate یا سه شکاف-حفره‌ای: نوعی از طبقه بندی شکاف گرده است که در آن دانه‌های گرده دارای سه روزنه یا شکاف با فاصله مساوی و موازی با محور قطبی دانه باشد. یعنی شکاف‌ها از هر قطب با زاویه یکسان از یکدیگر جدا شده و تا نزدیکی قطب مقابل امتداد داشته باشند.

تمایز بین آرایه‌ها نشان نداده است. نتایج تحقیق حاضر برای گرده جنس افرا نیز نشان داد که نه شکل گرده (Isopolar) کشیده یا Prolate تا کروی یا Spheroidal)، نه تزیینات اگزینی (شیاردار یا Striate)، نه فرم شکاف‌های گرده (Colpi) و نه حتی تعداد شکاف‌های گرده (سه شکاف-حفره‌ای Tricolporate) هیچ‌گونه تمایزی که در انحصار آرایه خاصی باشد ارائه نمی‌نماید و همه آرایه‌ها می‌توانند به نوعی این صفات را در گرده‌های خود ارائه نمایند. با توجه به نتایج به دست آمده می‌بایست ادعان داشت که از نظر صفات ظاهری گرده، تمایزی میان اعضای این جنس در ایران مشاهده نمی‌شود و صفات ریختی گرده نسبتاً در تمامی اعضای این جنس تغییرات سیستماتیک بارزی را ارائه نمی‌دهد؛ چراکه تمامی صفات ریختی گرده تقریباً در همه آرایه‌ها به چشم می‌خورد. نتایج مشابهی توسط سیاه کولائی و همکاران (Siahkolae et al., 2017) به دست آمده است.

در کل تمایز صفات اپیدرم میان آرایه‌های جنس افراى مورد مطالعه نشان داد که سطح زیرین برگ دارای مشخصه‌های اپیدرمی مفیدی است که می‌تواند نقش مهمی در طبقه بندی، توصیف و تعیین حدود آرایه‌ها ایفا نموده و بنابراین به عنوان ابزاری مفید در سیستماتیک گیاهی استفاده شود.

نتیجه گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد، صفات ریزریختی برگ می‌تواند به حل مشکلات رده بندی جنس افرا کمک کند. اما ریخت‌شناسی و نوع گرده برای این جنس چنین قابلیت را ارائه نمی‌دهد. طبقه بندی موم‌های اپی کوتیکولی در برخی از آرایه‌ها مانند *A. mazandaranicum*، *A. velutinum*، *A. platanoides*، *A. hyrcanum* و حتی برخی از زیرگونه‌های *A. monspessulanum* منحصربه فرد بوده است. الگوی دیواره سلول‌های اپیدرم، به سه نوع مختلف در آرایه‌ها دیده شد. منحصربه فردترین آنها در *A. platanoides* دیده شد که دیواره کاملاً مواج و پازل مانند داشت. دیواره نسبتاً مواج فقط در *A. negundo* و دیواره سلولی صاف و مستقیم در سایر آرایه‌ها مشاهده شد. تیپ سلول‌های همراه روزنه در همه آرایه‌ها آنموسیتیک بود در حالی که در *A. mazandaranicum* تیپ پاراسیتیک غالب بوده است. از نظر کرک‌ها در آرایه‌های واجد کرک، ساده و بدون انشعاب بودند که آرایه‌ها از نظر اندازه به دو گروه دارای کرک‌های کوتاه و بلند قابل مجزا شدن هستند. صفات ریخت‌شناسی گرده، هیچ‌گونه تمایزی را در بین آرایه‌ها نشان نداد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از جناب آقای دکتر حبیب زارع عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و

References

- Akbarinia, M., Zarafshar, M., Sattarian, A., Babaie Sustani, F., Ghanbari, E., & Chaplugh Paridari, I. (2011). Morphological variations in stomata, epidermal cells and trichome of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in Caspian ecosystem. *Taxonomy and Biosystematics*, 3(7), 23-32. DOI: 20.1001.1.20088906.1390.3.7.4.0
- Amini, T., Zare, H., & Asadi, M. (2008). *Acer mazandaranicum* (Aceraceae), a new species from northern Iran. *Iranian Journal of Botany*, 14, 81-86.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Theisen, I., & Wilhelmi, H. (1998). Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Botanical journal of the Linnean society*, 126(3), 237-260. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1998.tb02529.x>

- Bassi, D., & Monet, R. (2008). Botany and taxonomy. In *The peach: botany, production and uses*, Wallingford UK: Cabi. 1-36.
- Chang, C. S., & Kim, H. (2003). Analysis of morphological variation of the *Acer tschonoskii* complex in eastern Asia: implications of inflorescence size and number of flowers within sect. *Macrantha*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 143(1), 29-42. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2003.00191.x>
- Chapolagh Paridari, I., Jalali, S. G., Sonboli, A., & Zarafshar, M. (2012). Leaf, Stomata and Trichome morphology of the species in *Carpinus* Genus. *Taxonomy and Biosystematics*, 4(10), 11-26. DOI: 20.1001.1.20088906.1391.4.10.3.2
- Davis, J.C. (1965). Flora of Turkey (Aceraceae): Edinburgh at the University, No: 2, 655 pp.
- Gao, J., Liao, P. C., Huang, B. H., Yu, T., Zhang, Y. Y., & Li, J. Q. (2020). Historical biogeography of *Acer* L. (Sapindaceae): genetic evidence for Out-of-Asia hypothesis with multiple dispersals to North America and Europe. *Scientific reports*, 10(1), 21178.
- Garg, A., Singh, P., & Quamar, M. F. (2023). Pollen morphology of family Thymelaeaceae Juss. in India and its taxonomic implications. *Flora*, 303, 152291. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2023.152291>
- Ghahreman, A. (1992). Iranian Chormophytes (Plant Systematic). Centre of University Press, Vol. 2. 842 pp.
- Hakim, L., & Miyakawa, H. (2013). Plant trees species for restoration program in Ranupani, Bromo Tengger Semeru National Park Indonesia. *Biodiversity Journal*, 4(3), 387-394.
- Hao, L., Fan, Y., da Silva, J. A. T., & Yu, X. (2023). Pollen morphology of 16 species of *Fritillaria* L. and its taxonomic implications. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 17(2), 123-137.
- Karimi, Z. (2021). Leaf anatomical and morphological characters of some species of *Acer*. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 34(3), 616-631. DOI: 20.1001.1.23832592.1400.34.3.4.5
- Kim, H. T., & Kim, J. S. (2023). The complete chloroplast genome sequence of the Korean maple tree (*Acer pseudosieboldianum* (Pax) Kom.). *Mitochondrial DNA Part B*, 8(6), 691-694. <https://doi.org/10.1080/23802359.2023.2224623>
- Kordalivand, A., & Sattarian, A. (2015). Different types of leaf stomata Birch (*Betula* spp.) In the northern forests of Iran. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 22(2), 55-74. DOI: 20.1001.1.23222077.1394.22.2.4.8
- Metcalf, C. R., & Chalk, L. (1950). Anatomy of the Dicotyledons, vol I. Clarendon Press, Oxford.
- Murray, E., & Rechingner, K.H. (1969). Flora Iranica –Aceraceae. Vol 30 (4). Akademische Druck - u. Verlagsanstalt.
- Novotná, T., Jahn, P., Šamonilová, E., Kabešová, M., Pospíšilová, S., & Maršálek, P. (2023). Hypoglycin A in *Acer* genus plants. *Toxicicon*, 234, 107271. DOI: 10.1016/j.toxicicon.2023.107271
- Oguchi, R., Onoda, Y., Terashima, I., & Tholen, D. (2018). Leaf anatomy and function. *The leaf: a platform for performing photosynthesis*, 97-139.
- Payne, W. W. (1979). Stomatal patterns in embryophytes: their evolution, ontogeny and interpretation. *Taxon*, 28(1-3), 117-132.
- Rasmussen, H. (1981). Terminology and classification of stomata and stomatal development—a critical survey. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 83(3), 199-212.
- Sābiī, H. A. (1976). Forests, trees, and shrubs of Iran. – Ministry of Agriculture and Natural Resources.
- Saeedi, Z. D. Azadfar and Kh. Saghebalebi (2015). Leaf stomata characteristics Diversity of Oriental beech in Hyrcanian forests. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 22(1), 167-184. DOI: 20.1001.1.23222077.1394.22.1.11.3
- Santos, J. V. D. C., Oliveira, M. D. F. V. D., Santos Filho, F. S., Silva, L. N. N. D. S., & Araújo, J. S. (2020). The taxonomic value of leaf anatomy for species *Byrsonima*: a difficult genus of Malpighiaceae Juss. *Acta Botanica Brasilica*, 34, 570-579.
- Shayanmehr, F., Jalali, G. A., Ghanati, F., & Kartoolinejad, D. (2009). The study of Conical and Ball-shaped pines, two probable mutant forms of *Pinus eldarica*: comparison of needle anatomy structure. *Iranian Journal of Forest*, 1(2), 151-161.
- Shayanmehr, F., Jalali, S. G., Colagar, A. H., Zare, H., Kartoolinejad, D., & Yousefzadeh, H. (2018). Leaf cuticle and wax ultrastructure of genus *Alnus* Mill. in Hyrcanian forests of Iran. *International Journal of Environmental Studies*, 75(6), 877-890. <https://doi.org/10.1080/00207233.2018.1464278>
- Shayanmehr, F., Jalali, S. G., Ghanati, F., & Kartoolinejad, D. (2008). Discrimination of *Pinus eldarica* MEDW. and its two new species by epicuticular wax, lignin content, electrophoretic isozyme and activity of peroxidase. *Feddes Repertorium*, 119(7-8), 644-654. <https://doi.org/10.1002/fedr.200811188>
- Shayanmehr, F., Jalali, S. G., Ghanati, F., Kartoolinejad, D., & Apple, M. (2009). Two new morphotypes of *Pinus eldarica*: Discrimination by macromorphological and anatomical traits. *Dendrobiology*, 61, 27-36.
- Shayanmehr, F., Jalali, S., Hosseinzadeh Colagar, A., Yousefzadeh, H., & Zare, H. (2015). Pollen morphology of the genus *Alnus* mill. in Hyrcanian forests, north of Iran. *Applied Ecology and Environmental Research*, 13(3), 833-847.
- Shayanmehr, F., Kartoolinejad, D., Jalali, S. G., & Ghanati, F. (2007). Comparison of epicuticular wax on needles and stems of *Pinus eldarica* with its two naturally generated forms. *Rostaniha*, 8(2), 150-159.
- Siahkolae, S. N., Sheidai, M., Assadi, M., & Noormohammadi, Z. (2017). Pollen morphological diversity in the genus *Acer* L. (Sapindaceae) in Iran. *Acta Biologica Szegediensis*, 61(1), 95-104.
- Soheili, F., Panahi, P., Hatamnia, A. A., Woodward, S., Abdul-Hamid, H., & Naji, H. R. (2023). Leaf microstructure and adaptation relationships in ten woody species from the semi-arid forests. *Iranian Journal of Forest*, 15(1), 53-72. DOI:10.22034/IJF.2022.330879.1853
- Stace, C. A. (1980). Plant Taxonomy and Biosystematics Edward Arnold (Publishers) Limited. *London WCIB 3DQ*.
- Suh, Y., Heo, K., & Park, C. W. (2000). Phylogenetic relationships of maples (*Acer* L.; Aceraceae) implied by nuclear ribosomal ITS sequences. *Journal of Plant Research*, 113, 193-202.
- The Plant List. (2010). Version 1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/>(accessed 1st January).
- van Gelderen, D. M., De Jong, P. C., & Oterdoom, H. J. (1994). *Maples of the world*. Timber Press Inc., Portland, Oregon, USA.
- Wang, Z. E., Cao, R., Ding, H., Huang, Y. T., Song, Z. H., Ding, S. T., & Wu, J. Y. (2023). Fossil samaras of *Acer* L. (Sapindaceae) from the Upper Pliocene of western Yunnan, southwestern China. *Palaeobiodiversity and Palaeoenvironments*, 1-16. DOI:10.1007/s12549-023-00575-1