

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. *cinerascens* 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 arrangement 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 (striae), 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

دادو کرتولی نژاد^۱, فاطمه شایان‌مهر^۲ و علیرضا مشکی^۳

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

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

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۴

تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۲/۱۲/۲۳

صفحه: ۱۲۷ تا ۱۳۴

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: جنس افرا (Acer L.) از خانواده Aceraceae اغلب درختانی خزان‌کننده‌اند که تقریباً پراکنش همه آنها در مناطق معتدل‌هیم کره شمالی است. این جنس دارای ۱۴۸ تا ۱۵۰ گونه سراسر جهان است و در فلورهای مختلف ایران به حضور 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 ۴۰-۴۵ متر می‌رسد. جنس افرا از مهم‌ترین عناصر رویشی 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 تشرییح 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. hyrcanum, A. velutinum, A. platanoides, A. mazandaranicum, A. cappadocicum, A. negundo, A. palmatum, A. monspessulanum subsp. *cinerascens*, A. monspessulanum subsp. *turcomanicum*, A. monspessulanum subsp. *ibericum* نمونه‌های هریاریومی خشک شدند. نمونه‌های خشک شده برگ جهت تهیه برش به مدت ۳ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند. سپس با استفاده از تیغ جراحی برش‌های نازکی از اپیدرم فوقانی و تحتانی وسط برگ و از مجاورات ریگرگ مرکزی تهیه شد. جهت رنگبری و شفاف شدن نمونه‌ها، به مدت ۵ دقیقه در محلول آب ژاول قرار داده شدند. پس از شستشوی با آب مقطر در زیر میکروسکوب نوی عکسبرداری و مطالعه شدند. برای مطالعه با استفاده از میکروسکوب الکترونی، اپیدرم سطح پشتی و رویی برگ و نمونه‌های گرده گل‌های هیریک از آرایه‌ها بر روی پایه‌های الومینیومی 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 شدت ولتاژ ۲۰ کیلو ولت و بزرگنمایی تصاویر از ۵۱۰۰ تا ۲۵۰۰ برابر بوده است. نوع گرده، صفات ریخت‌شناسی گرده‌ها، موم‌های اپی‌کوتیکولی، کرک‌ها، شکل دیواره سلول‌های اپیدرم، تیغ روزنه، تراکم و شاخص روزنه از میکروفوتograf‌های تهیه شده، طبقه‌بندی و مطالعه شد.

یافته‌ها: ریخت‌شناسی موم‌های اپی‌کوتیکولی در آرایه‌های همچون A. platanoides A. hyrcanum A. mazandaranicum A. velutinum A. monspessulanum A. mazandaranicum var. *velutinum* A. monspessulanum subsp. *turcomanicum* و حتی برخی از زیر‌گونه‌های A. monspessulanum کاملاً منحصر به فرد بوده است. ساختارهای مانند مدوری را تشکیل می‌دهند که در هیچ آرایه‌ای دیگر قابل مشاهده نبود. سطح تحتانی برگ در A. platanoides نیز به طور 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 شد که باعث می‌شود سطح سلول‌های اپیدرم آرایه اولی بر جسته و در دومی فرو رفته به نظر برسد. بیشترین شاخص روزنه و تعداد روزنه در واحد سطح مربوط به دو گونه غیربرومی یعنی A. negundo و A. palmatum یا A. monspessulanum subsp. *cinerascens* A. velutinum var. *velutinum* A. monspessulanum subsp. *turcomanicum* بود که 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 تعریق حضور می‌یابند. بنابراین می‌توان اذعان 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 موچ داشت. دیواره سبکاً موچ فقط در A. negundo دیده شد و در سایر آرایه‌ها دیواره سلولی صاف و مستقیم مشاهده شد. تیپ سلول‌های همراه روزنه در همه آرایه‌ها آنومیستیک بود در حالی که 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 هیچ یک از صفات ریختی گرده نظیر شکل گرده (Isopolar Prolate تا کروی یا spheroidal)، تریبیتان اکرینی (Striata دار یا Colpi)، فرم شکاف‌های گرده (Colpi) و حتی تعداد شکاف‌های گرده (سه شکاف-حفره‌ای Tricorporate) تمایز اخصاصی منحصر به آرایه خاص مشاهده شد.

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 قابلیتی را ارائه نمی‌دهد. در کل تمايز صفات اپیدرم میان آرایه‌های جنس افرا موردمطالعه نشان داد که سطح زیرین برگ، دارای مشخصه‌های اپیدرمی مفیدی به خصوص از نظر موم‌های اپی‌کوتیکولی است که می‌توانند نقش مهمی در طبقه‌بندی، توصیف و تبیین حدود آرایه‌ها ایفا نموده و به عنوان ابزاری مفید در سیستماتیک گیاهی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: افرا، شاخص روزنه، کرک، موم‌های اپی‌کوتیکولی، میکروسکوب الکترونی

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

مقدمه

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

(Wang *et al.*, 2023). اما این صفات نیز برای تمایز این تعداد زیاد از گونه‌های افرای موجود در سراسر دنیا کافی نبوده و همواره متخصصین رده‌بندی با گرایش‌های مختلف، به‌دلیل 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 ریزیختی در کنار مطالعات ویژگی‌های ریختی و فیلوزنی مولکولی جهت کامل کردن رده‌بندی جنس‌ها می‌تواند مفید باشد. از آنجاکه بررسی اپیدرم برگ در مطالعات فیلوزنی و رده‌بندی مهم تلقی می‌شود (Soheili *et al.*, 2023) توجه متخصصین رده‌بندی به‌سمت صفات ریزیختی 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 پسیوار خاصی داشته و با سایر سلول‌های اپیدرم متفاوت هستند (Abid *et al.*, 2007). تعداد و نظم سلول‌های همراه مدت‌های طولانی است که به عنوان ویژگی‌های سیستماتیک استفاده شده است. ویژگی‌های ریزیختی 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 ریزیختی دارای اهمیت سیستماتیک بالا می‌داند.

روزنہ اولین بار توسط Stresburger (1866) و به‌دلیل او Vesque (1889) مطالعه شد که ۴ طبقه عمدۀ 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 (Cotham Payne (1979), Rasmussen (1981) (1970) و Chalk (1950) می‌باشند. همچنین و Metcalf (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 نزدیک‌ترها در داخل این جنس از آن‌ها بهره بردارد. در ایران نیز در سال‌های اخیر استفاده از صفات ریزیختی برای حل مشکلات رده‌بندی جنس‌هایی از درختان جنگلی همچون *Fagus* توسط سعیدی و همکاران (Saeedi *et al.*, 2015) و *Carpinus* (Chapolagh Paridari *et al.*, 2012)، جنس *Shayanmehr et al.* (Alnus توسط شایان‌مهر و همکاران

حدود نیمی از گونه‌های افرا در کشور چین وجود دارد بلکه نزدیک‌ترین خوبشاوند این جنس (*Dipteronia*) که تنها دارای Kim and Kim, 2023؛ (Wang *et al.*, 2023) 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 بهویله شرق آسیا وجود دارند و سهم van Gelderen *et al.*, (1994; Kim and Kim, 2023; Wang *et al.*, 2023

در ایران، ثابتی (Sabitā, 1976) به حضور ۸ گونه بومی در قالب ۱۳ آرایه اشاره نموده است؛ از این تعداد *A. velutinum* دارای دو واریته است. در فلور 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. (*mazandaranicum* Amini, Zare & Assadi, sp. nov.) با ارتفاع تا ۴۰-۴۵ 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 جنگل‌هایی با تنواع زیستی زیاد هیرکانی واقع در شمال ایران (دامنه‌های شمالی البرز) مشاهده می‌شوند (A. *mazandaranicum*, A. *cappadocicum* Gled., A. *hyrcanum* Fisch. & C. A. Mey. گونه‌ها) (A. *platanoides* L. A. *campestre* L.) (A. *hyrcanum* دیگر (نظیر *A. velutinum*) تا پایین‌ترین حد ارتفاعی رویش یعنی ۵-۶ 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 (Sabitā, 1976; Amini *et al.*, 2008).

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

در ایران پردازد. 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 سیز 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.

Table 1. Characteristics of maple taxa sampled in this research

ارایه‌ای افرای و نام فارسی Maple taxa and Persian name	پراکنش Distribution	محل جمع اوری Sampling location	ارتفاع از سطح دریا Altitude (m)
<i>A. cappadocium</i> Gled. شیردار	بومی Native	سیاهکل، سنگده، ویسر، لاهیجان Siahkal, Sangdeh, Veysar, Lahijan	1200-1600
<i>A. platanoides</i> L. افرا چناری	بومی Native	رامسر، نوشahr، چالوس Ramsar, Noshahr, Chalus	500-1000
<i>A. campestre</i> L. کرب	بومی Native	کحو، اسلام، چالوس، رامسر Kojour, Asalem, Chalus, Ramsar	1500-2000
<i>A. velutinum</i> Boiss. افرا پلت	بومی Native	منودشت، ازنا، بارک ملی گلستان، نور Minoudasht, Anzali, Golestan national park, Nour	800-1500
<i>A. hyrcanum</i> Fisch. & C.A.Mey. افرا کیرکانی یا سفید کرکو	بومی Native	کجور، چالوس، امیان Kojour, Chalus, Ramian	1700-2100
<i>A. monspessulanum</i> subsp. <i>cinerascens</i> (Boiss.) Yalt. کیکم شیرازی	بومی Native	نمونه هریاریومی-فیروزاند سنتچ، خرم آباد Herbarium sample-Firouz Abad, Sanandaj, Khorram Abad	2000-2200
<i>A. monspessulanum</i> subsp. <i>ibericum</i> (Willd.) Yalt. کیکم قفقازی	بومی Native	نمونه هریاریومی-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 هریاریومی-بجنورد، قوچان Herbarium sample-Bojnord, Ghouchan	1100-1500
<i>A. mazandaranicum</i> Amini, Zare & Assadi, sp. nov. افرا سیاه یا بلخ	بومی Native	نمونه هریاریومی-دودانگه ساری، سنگده Herbarium sample-Dodaneghe Sari, Sangdeh	1500-1900
<i>A. negundo</i> L. افرا ژاپنی	وارداتی Introduced	نور، ساری، نوشahr Nour, Sari, Noshahr	10-50
<i>A. palmatum</i> Thunb. افرا 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 دو مدل MICROS AUSTRIA N-180 و 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 میکروفتوگراف‌های 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 بعد سلول‌های

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

به رغم کاربرد و اهمیت اکولوژیکی درختان جنس افرا، هنوز از نظر رده بندی ابهامات زیادی در مورد جایگاه آنها وجود دارد. زیرا به دلیل استفاده از صفات محدود (کمتر از ۱۵ صفت) در رده‌بندی این سرده، نبود سیستم شناسایی دقیق گونه‌های این جنس (به علت 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، وضیعت رده‌بندی برخی از گونه‌های آن همچنان با ابهام رو布ro است (Gao et al., 2020).

از آنجایی که این جنس یکی از عناصر اصلی اغلب رویشگاه‌های جنگلی ایران را تشکیل می‌دهد و نیز به دلیل 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

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 (به روش نمونه‌های هریاریومی 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 برش گیری آسان شود. سپس به روش دستی و با استفاده از تیغه‌ای جراحی برش‌های نازکی از اپیدرم فوچانی 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 *Acer cappadocicum* با لایه‌ای از موم که سطحی ناصاف و چروکیه 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 F و E).

سطح زیرین برگ کرب *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 کرک) *Acer hyrcanum* پوشیده از یک لایه موم ناصاف است که در روی سلول‌های اپیدرم برجسته به حالت بی‌شکل بیرون‌زدگی‌های لبه‌دار و اغلب رشتہ 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 ۲ C و D). سلول‌های Anomocytic 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؛ به‌طوری که در بسیاری موارد سلول‌های اپیدرم به‌راحتی قابل شمارش‌اند. موم‌ها به‌شکل رشتلهای ظرفی 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* 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 ۴۰۰× و ۱۰۰۰× 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 میکروفوگرافی‌های تهیه شده، در محیط نرم‌افزارهای ImageTools 3.0 ابعاد سلول‌ها و ویژگی‌های اپیدرم با دقت μm 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 ۵–۶ میلیمتر مربع برش خورد و برروی 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) (SCDOOS BAL-TEC) (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, 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 انتهای، شاخص روزنه بر اساس تصاویر میکروسکوپ نوری اندازه‌گیری با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Shayanmehr et al., 2008, 2009):

$$\frac{\text{تراکم سلولهای روزنه}}{\text{تراکم سلولهای اپیدرم} + \text{تراکم سلولهای روزنه}} \times 100 = \text{SI} \text{ شاخص روزنه}$$

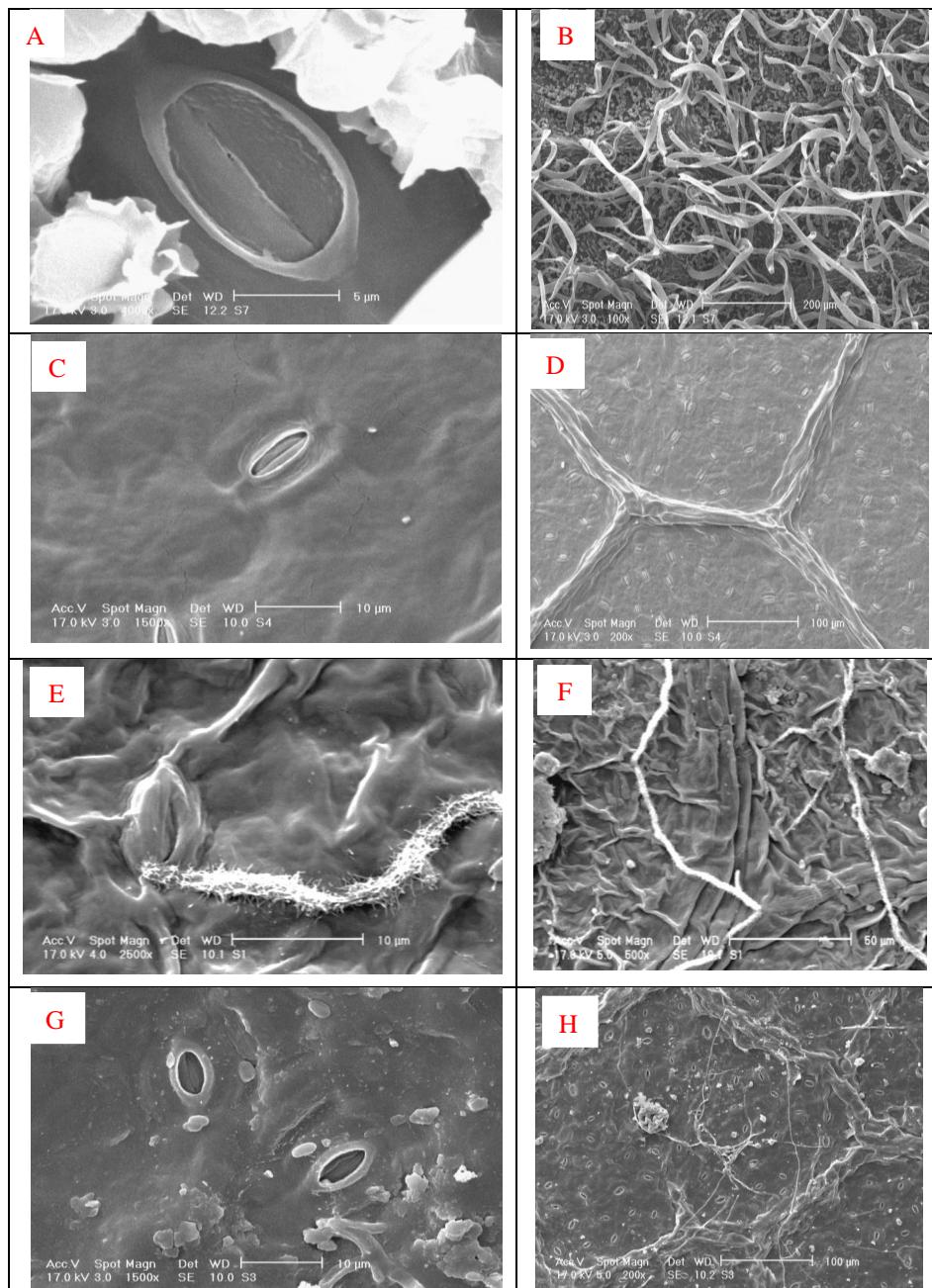
نتایج و بحث

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، برخلاف کلیه آرایه‌های موردنظر، ساختارهای کریستالی روزت مانندی به ابعاد ۵ تا ۱۰ میکرومتر در اطراف بسیاری از روزنه‌ها تجمع یافته‌اند. این روزت‌ها عمدها به تعداد ۷ تا ۱۰ عدد در گردآگرد 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 افرای Anomocytic می‌باشد. برخلاف سایر آرایه‌ها، سلول‌های اپیدرم دارای دیواره بسیار موجدار و مواج می‌باشند (شکل ۱ B).

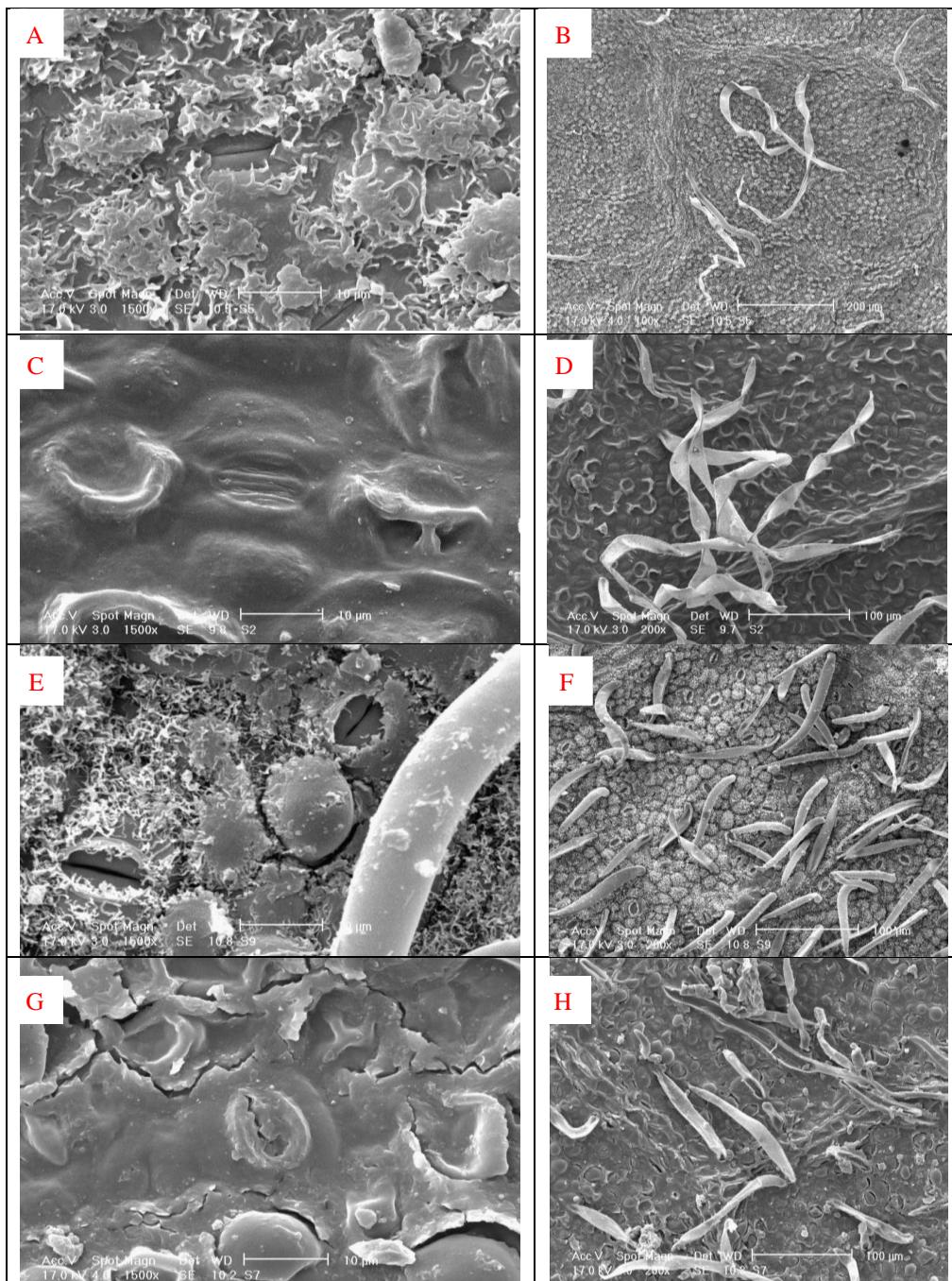
سلول‌های اپیدرم نیز با کریستال‌های رشتہ‌ای کوچک پوشیده شده است. اپیدرم فاقد کرک و روزنها هم‌سطح اما در زیر موم‌ها فرورفه‌اند و بدستخواب دیده می‌شوند (شکل ۳، B). تیپ روزنه برخلاف تمامی گونه‌های تشریح شده، Paracytic است و سلول‌های اپیدرم مانند اکثر آرایه‌های این جنس دارای دیوار صاف و مستقیم هستند (شکل ۴).

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



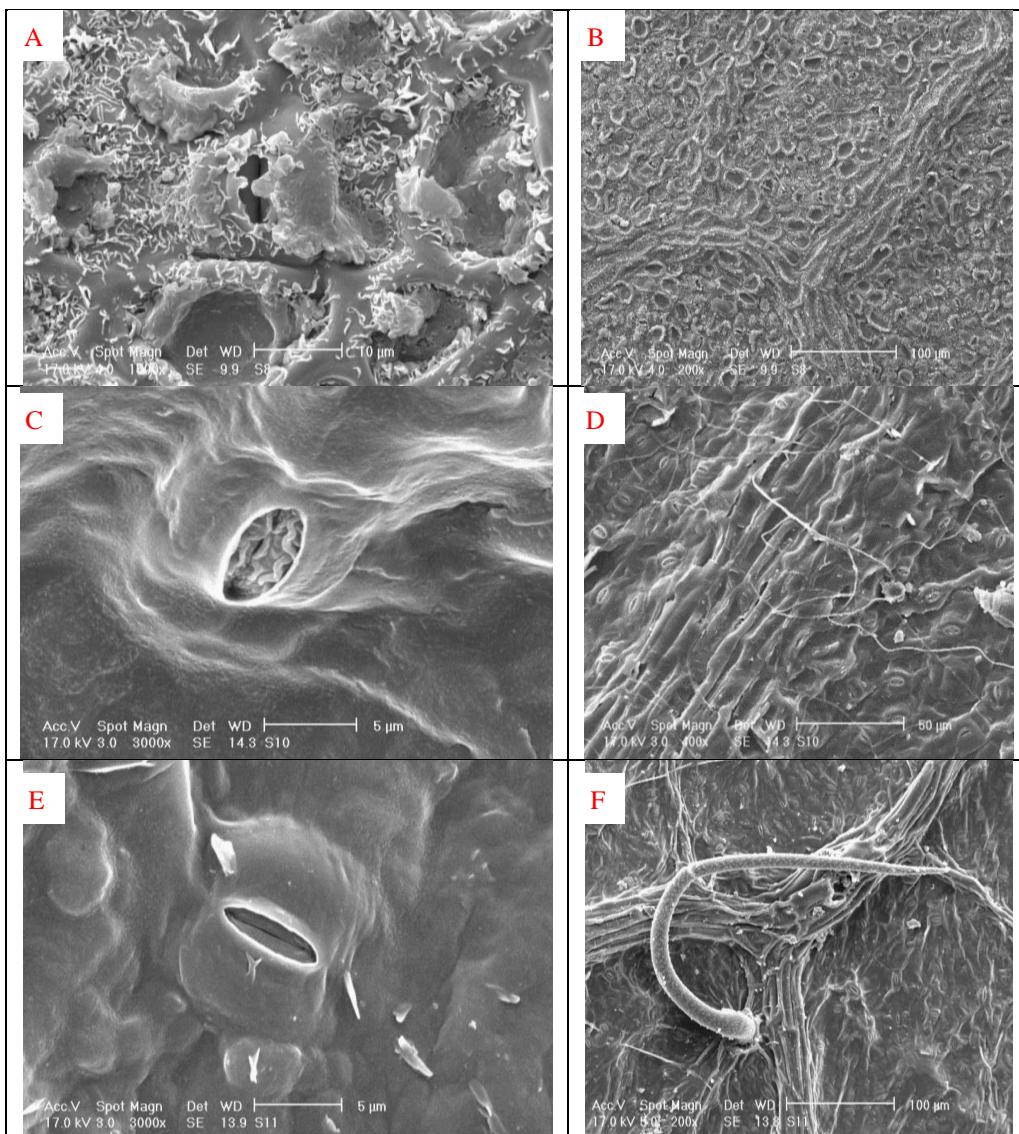
شکل ۱- سطح زیرین برگ آرایه‌های افرای: (F و E) *A. cappadocicum*; (D و C) *A. platanoides*; (B و A) *A. velutinum*; (H و G) *A. campestre*

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 افراد: (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

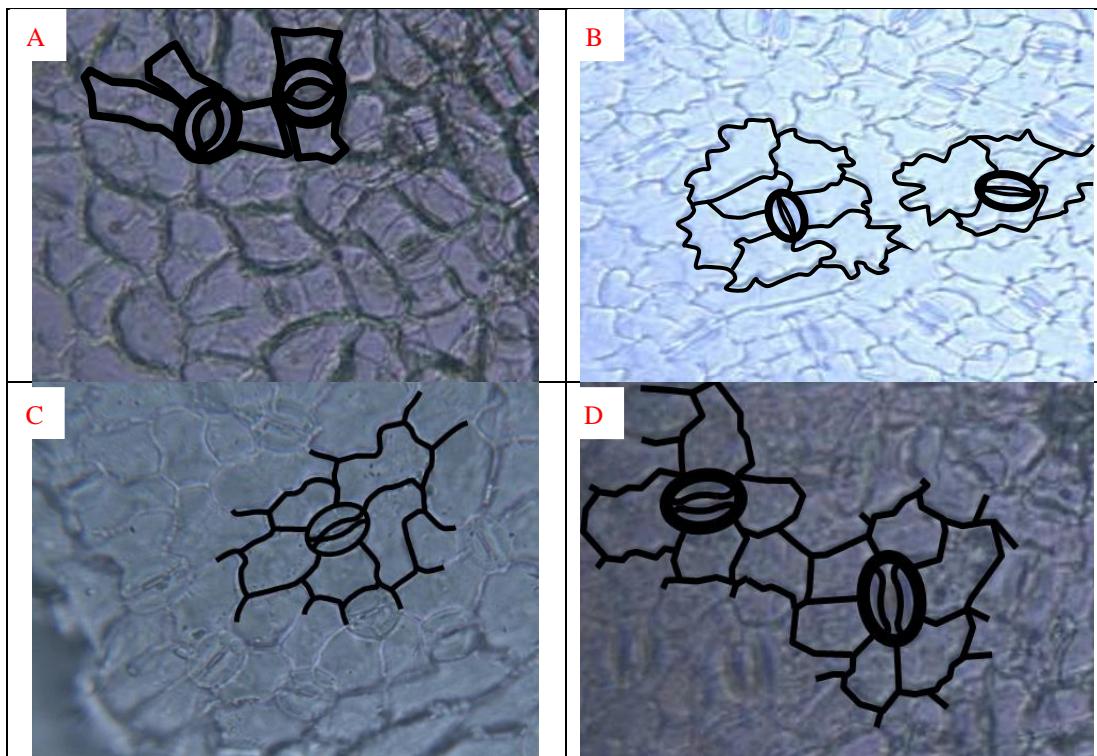
Figure 2. Leaf abaxial surface of maple taxa: A. *hyrcanum* (A and B); A. *monspessulanum* subsp. *ibericum* (C and D); A. *monspessulanum* subsp. *cinerasens* (E and F); A. *monspessulanum* subsp. *turcomanicum* (G and H).



شکل ۳- سطح زیرین برگ ارایه‌های افر: (A و B) *Acer mazandaranicum*; (C و D) *A. palmatum*; (E و F) *A. negundo*: (B و A) *Acer mazandaranicum*; (D و C) *A. palmatum*; (A و B) *Acer mazandaranicum* (A and B); *A. palmatum* (C and D); *A. negundo* (E and F).

سطح زیرین اپیدرم برگ گونه وارداتی افرای 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 رگبرگها مشاهده می‌شوند. روزنها هم‌سطح و مشخص‌اند (شکل ۳ E و F). تیپ روزنه Anomocytic و سلول‌های اپیدرم دارای دیواره کمی مواجه‌اند (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 قادر کرک و سلول‌های لوبيایی روزنها نسبت به سطح اپیدرم برجسته است. روزنها کاملاً آشکار و مشخص‌اند و دارای مومهای رشتهدی بر روی اتفاق روزنها هستند (شکل ۳ C و D). تیپ روزنه در این گونه Anomocytic است. سلول‌های اپیدرم دارای دیواره کمی مواجه‌اند.

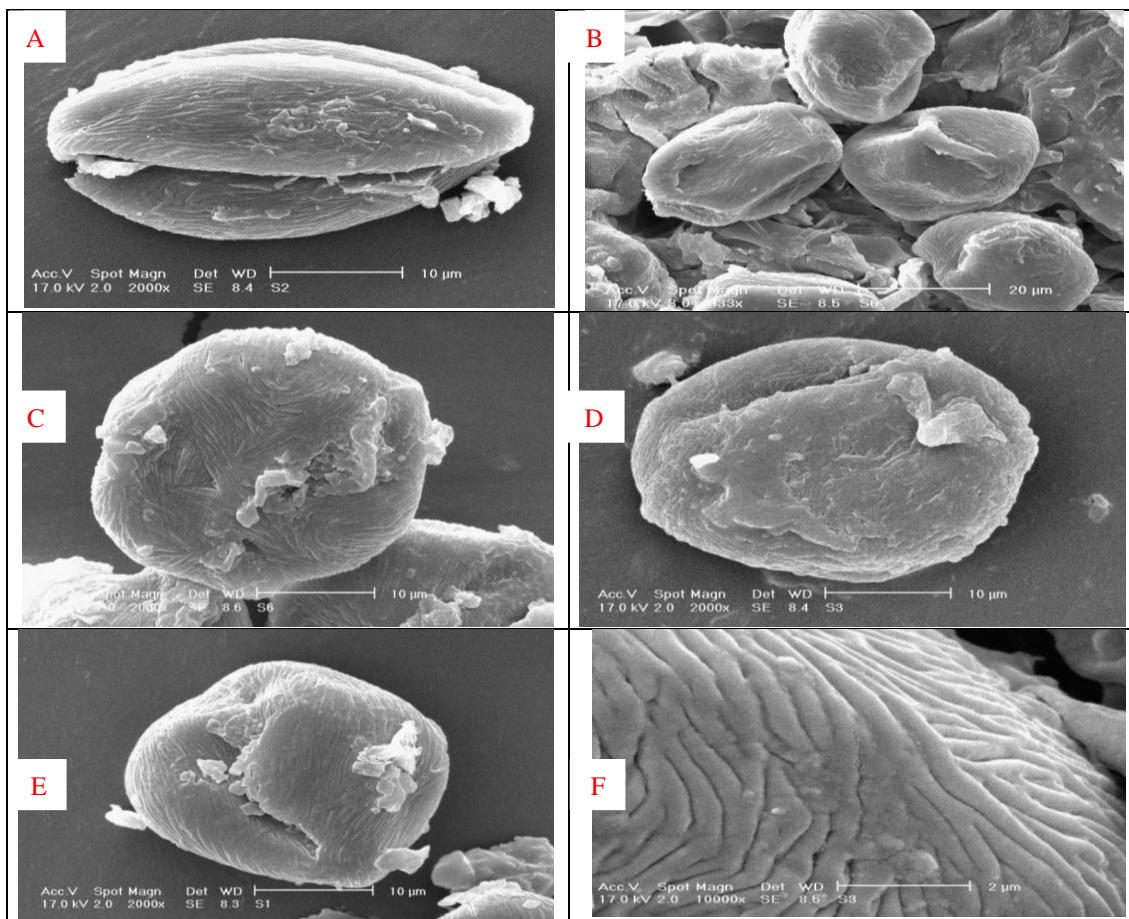


شکل ۴- تصاویر میکروسکوپ نوری (بزرگنمایی $\times 400$) از پیدرمه تختانی برگ
(B) *A. platanoides*, (A) *A. mazandaranicum*,
(D) *A. hyrcanum*, (C) *A. negundo*

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 ۲–۶ میکرومتر است. سطح گرده در همه آرایه‌های مورد بررسی، دارای ترتیبات اگزینی شیاردار یا استریت (Striate) است که دارای چین‌های ظرفی (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* یا 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.

تیپ 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 ایدرم تحتانی برگ ۱۱ آرایه افرا (میانگین ± انحراف معیار)

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

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

Bassi and Monet, 2008; Oguchi *et al.*, 2018;
گیاه‌شناسان بر جسته گزارش شده است (Metcalfe and Chalk, 1950; Payne, 1979; Rasmussen, 1981;

اهمیت ردیبدنی ویژگی‌های اپیدرمی توسط بسیاری از
بیشتر از تمامی اندام‌های زایشی و رویشی در مطالعه ردیبدنی

تنها وابسته به نوع رویشگاه می‌بود، نمی‌باشد شکل‌های مشابهی از آنها در آرایه‌های یکسان مشاهده می‌گردید. از صفات کیفی مورد مطالعه در تحقیق حاضر، تیپ سلول‌های همراه روزنہ می‌تواند گونه‌ها را به دو دسته دارای تیپ آنموسیتیک و پاراسیتیک تقسیم نماید. فقط در *A. mazandaranicum* پاراسیتیک مشاهده شد (شکل ۴) و در سایر آرایه‌ها تیپ آنموسیتیک ثبت شد. تیپ آنموسیتیک تیپ رایج روزنہ است که تاکنون در اغلب جنس‌های درختی جنگل‌های هیرکانی به ثبت رسیده است نظریه جنس راش (Saeedi et al., 2015)، توسر (Chapolagh Paridari et al., 2012)، توسر (Kordalivand and Sattarian, 2015) و نتایج تحقیق چاپولاق پاریداری (Akbarinia et al., 2011) و همکاران (Chapolagh Paridari et al., 2012) بر روی سه گونه رایج از جنس *Carpinus* در جنگل‌های هیرکانی نشان داد که نمی‌توان تیپ روزنہ 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 ریزرسیختی برگ به خصوص تیپ روزنہ 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 تنویری در بین پایه‌های گونه توسر در سه رویشگاه اصلی آن مشاهده نمی‌شود. الگوی دیواره سلولی اپیدرم، نیز که در اکثر مطالعات سیستماتیک-ریزرسیختی استفاده می‌شود و در زمرة 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 مواج و پازل مانند که تنها در *A. platanoides* دیده شد، دیواره نسبتاً مواج فقط در *A. negundo* و دیواره سلولی صاف و مستقیم که شکل رایج در سایر آرایه‌ها بوده است.

چنانچه ملاحظه می‌گردد بیشترین تعداد روزنہ در واحد سطح و شاخص روزنہ مربوط به دو گونه وارداتی افرا یعنی *A. negundo* و *A. palmatum* است و کمترین آن مربوط به آرایه‌های *A. monspessulanum* *A. mazandaranicum* *A. velutinum* var. *velutinum* subsp. *turcomanicum* است. با توجه به این دو مشخصه می‌توان اذغان نمود آرایه‌های بومی نام برده مقاومت به خشکی بالاتری نسبت به سایرین دارند. قابل ذکر است در این آرایه‌ها، بسیاری از روزنہ‌ها در زیر لایه‌های موم اپی‌کوتیکولی پوشیده و مدفون می‌شوند و در اطراف سایر روزنہ‌ها نیز کرک‌ها و کریستال‌های موم جهت کاهش میزان تبخیر و تعرق حضور می‌یابد (شکل‌های ۱، ۲، A۲، F، E، C). استفاده از صفات ظاهری و ریزرسیختی گردد 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 گردد، 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 ریزرسیختی 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 افراداً 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* و *A. monspessulanum* subsp. *turcomanicum* کرک‌های بلند شامل *A. monspessulanum* subsp. *negundo* (*A. velutinum* و *A. hyrcanum* subsp. *ibericum*) 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 رگ‌ها (جدول ۲).

موم‌ها نیز در کنار سایر صفات ریزرسیختی 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. *hyrcanum* و *A. mazandaranicum* ساختارمندترین نوع موم‌های اپی‌کوتیکولی در *A. velutinum* مشاهده شد. بهطوری که اطراف روزنہ‌ها ساختارهای روزت مانند و مدوری را تشکیل می‌دهند که در هیچ آرایه دیگری قبل مشاهده نیست. سطح تحتانی برگ در نیز بهطور منحصر به‌فردی 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 فرو رفته 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 خوشبندی و رسته‌بندی ۵۲ صفت ریختی و ریزرسیختی برگ و میوه ۱۰ گونه افرا انجام شد نتیجه‌گیری شد که تفاوت و یا شباهت‌های بین گونه‌های افرا به محیط اکلولیزیکی 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.

ضمائی (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 می‌باشد.

تیپ روزنه Paracytic: عموماً محور طولی سلول‌های لوپیابی 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 گردها کمک می‌کند. تزیینات اگزینی شیاردار تحت عنوان Striate و در صورتی که دارای چن خودگی‌های 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 قسم مساوی تقسیم می‌کند.

Prolate یا کشیده: دانه‌های گرده که محور قطبی آنها بزرگ‌تر از قطر استوایی است. نسبت این دو قطر تقریباً ۱ به ۰.۵ - ۰.۷۵ است یعنی قطر استوایی ۷۵٪ تا ۵۰٪ 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 باشند. 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 فرم شکاف‌های گرده (Colpi) اگزینی (شیاردار یا Striate)، نه شکاف-حفره‌ای و نه حتی تعدادشکاف‌های گرده (سه شکاف-حفره‌ای Tricorporate) هیچ‌گونه تمایزی که در انحصار آرایه خاصی باشد ارائه نماید و همه آرایه‌ها می‌توانند بهنوعی این صفات را در گرده‌های خود ارائه نمایند. با توجه به نتایج بدست آمده می‌باشد اذعان داشت که از نظر صفات ظاهری گرده، تمایزی میان اعضای این جنس در ایران مشاهده نمی‌شود و صفات ریختنی گرده نسبتاً در تمامی اعضای این جنس تغییرات سیستماتیک بازی را ارائه نمی‌دهد؛ چراکه تمامی صفات مشابهی توسط سیاه‌کولایی و همکاران (Siahkolae et al., 2017) به دست آمده است.

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

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 قابلیتی را ارائه نمی‌دهد. طبقه‌بندی مومهای اپی کوتیکولی در برخی از آرایه‌ها مانند *A. mazandaranicum*, *A. velutinum*, *A. platanoides*, *A. hyrcanum*, *A. monspessulanum* زیرگونه‌های اپیدرم، به سه نوع مختلف در آرایه‌ها الگوی دیواره سلول‌های اپیدرم، به سه نوع مختلف در آرایه‌ها دیده شد. منحصر به فردترین آنها در *A. platanoides* که دیواره کاملاً موج و پازل مانند داشت. دیواره نسبتاً موج فقط در *A. negundo* و دیواره سلولی صاف و مستقیم در سایر آرایه‌ها مشاهده شد. تیپ سلول‌های همراه روزنه در همه آرایه‌ها آنوسیتیک بود در حالی که در *A. mazandaranicum* تیپ پاراسیتیک غالب بوده است. از نظر کرک‌ها در آرایه‌های واحد 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

نویسنده‌گان بر خود لازم می‌دانند که از جناب آقای دکتر حبیب زارع عضو هیئت‌علمی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و

References

- Akbarinia, M., Zarafshar, M., Sattarian, A., Babaie Sustani, F., Ghanbari, E., & Chaplagh 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., & Rechinger, K.H. (1969). Flora Iranica –Aceraceae. Vol 30 (4). Akademische Druck - u. Verlagsanstalt.
- Novotná, T., Jahn, P., Šamonilová, E., Kabešová, M., Pospíšilová, S., & Maršílek, P. (2023). Hypoglycin A in Acer genus plants. *Toxicon*, 234, 107271. DOI: 10.1016/j.toxicon.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.
- Sābiti, H. A. (1976). Forests, trees, and shrubs of Iran. – Ministry of Agriculture and Natural Resources.
- Saeedi, Z. D. Azadfar and Kh. Saghebtalebi (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.20081188>
- 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.
- Siahkolaei, S. N., Sheidaei, 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 WC1B 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