

## تشریح و ریخت‌شناسی زیرطایفه آگریمونینه از تیره گل‌سرخیان در ایران

مرضیه بیگم فقیر، زهرا قندهاری زاده و گلنوش شمشیری

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

مسئول مکاتبات: مرضیه بیگم فقیر، faghirmb@guilan.ac.ir

چکیده. مطالعه حاضر به بررسی ساختار تشریحی برگ، صفات ریخت‌شناسی گل، میوه و دانه زیرطایفه آگریمونینه از تیره گل‌سرخیان، شامل دو سرده (*Agrimonia* و *Aremonia*)، دو گونه (*Agrimonia eupatoria* و *Aremonia agrimonioides*) و سه زیر گونه (*A. eupatoria* subsp. *eupatoria*، *A. eupatoria* subsp. *grandis* و *A. eupatoria* subsp. *asiatica*) در ایران اختصاص دارد. ابتدا نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری و سپس شناسایی شدند. برای مطالعه ساختار تشریحی، از برگ‌های قاعده‌ای برش‌های عرضی تهیه و از آن‌ها توسط میکروسکوپ نوری عکسبرداری شد. سپس صفات تشریحی برگ مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای مطالعه صفات ریخت‌شناسی گل، میوه و دانه‌های رسیده به دقت مطالعه و توسط میکروسکوپ دیجیتالی عکسبرداری شدند. برای تعیین روابط بین گونه‌ها، ۵۷ صفات از کل صفات مورد مطالعه از طریق آنالیز عددی به روش مولفه‌های اصلی (PCA) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آنالیز حاضر ضمن حمایت از رده‌بندی فلورا ایرانیکا، بیانگر اهمیت صفات تشریحی برگ، ریخت‌شناسی گل، میوه و دانه در تفکیک سطوح سرده، گونه و فرگونه‌ای زیرطایفه آگریمونینه در ایران است.

واژه‌های کلیدی. برگ، دانه، آرایه شناسی، گونه، میوه

## Comparative anatomical and morphological investigations of the subtribe Agrimoniinae (Rosaceae) in Iran

Marzieh Beygom Faghir, Zahra Ghandharizadeh &amp; Golnoush Shamshiri

Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran

Correspondent author: Marzieh Beygom Faghir, faghirmb@guilan.ac.ir

**Abstract.** The present study was aimed to investigate foliar anatomy and flower, fruit and seed morphology of three subspecies of *Agrimonia eupatoria* (i.e. *A. eupatoria* subsp. *eupatoria*, *A. eupatoria* subsp. *grandis* and *A. eupatoria* subsp. *asiatica*) and the species of *Aremonia agrimonioides*, belonging to the subtribe Agrimoniinae (Rosaceae) in Iran. Firstly, plant specimens were collected and then identified on the basis of relevant references. For anatomical analysis, the cross sections of basal leaves of each taxon were prepared, studied by light microscopy and then photographed by means of a digital camera. For morphological analysis, the flower, achene and seed characters were carefully examined using digital microscopy. To determine the relationships among the taxa, 57 characters were included in the Principal Component Analysis (PCA). The results supported the classification proposed by Flora Iranica and showed the importance of leaf anatomical, flower, achene and seed morphological characters in separating inter-generic, intraspecific and interspecific relationships among the representatives of subtribe Agrimoniinae in Iran.

**Keywords.** achene, leaf, seed, species, taxonomy

## مقدمه

(et al., 2011)؛ گرده‌شناسی (Parveen & Qaiser; 2014)؛ چند شکلی در جمعیت‌های *Agrimonia* (Kaliyera et al., 2014)؛ تزئینات پوسته دانه زیرطایفه *Agrimoniinae* (Chung et al., 2012) و ریزریخت‌شناسی طایفه *Agrimoniinae* (Faghir et al., 2017) اشاره کرد. در این تحقیق برای اولین بار ساختار تشریحی برگ گیاهان زیرطایفه *Agrimoniinae* در ایران مورد بررسی قرار گرفت. تشخیص صفات تشریحی با ارزش آرایه‌شناختی برگ و قابلیت آن‌ها در تعیین حد و مرز دو سرده و نیز زیرگونه‌های *A. eupatoria* اهداف برجسته این بررسی هستند. ارزیابی دقیق صفات ریخت‌شناسی گل، میوه و دانه از دیگر اهداف مهم این تحقیق هستند. علاوه بر این، در این بررسی نقش صفات مورد مطالعه در تعیین روابط گیاهان زیرطایفه *Agrimoniinae* در ایران از طریق آنالیز مولفه‌های اصلی (PCA) مورد ارزیابی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق ابتدا نمونه‌های گیاهی (۱۳۹۳-۱۳۹۲) از رویشگاه‌های طبیعی آنها در نقاط مختلف ایران جمع‌آوری و کار شناسایی آن‌ها با استفاده از منابع معتبر (Juzepczuk, 1941; Schönbeck-Temesy, 1969; Khatamsaz, 1993) انجام شد. این نمونه‌ها در هرباریوم دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان نگهداری می‌شوند. در این تحقیق از نمونه‌های خشک‌شده هم استفاده شد. این نمونه‌ها از هرباریوم‌های مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور (TARI)، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران (THE) و هرباریوم مرکزی دانشگاه تهران (TUH) تهیه شد. نمونه‌های مورد مطالعه در این بررسی در جدول ۱ آرایه شده است.

## مطالعات ساختار تشریحی

برای انجام این تحقیق برگ‌های قاعده‌ای سالم انتخاب و به مدت ۴۵ روز در محلول الکل ۹۶ درصد و گلیسرول به نسبت ۱:۱ تثبیت شدند. سپس برش‌گیری به صورت دستی، توسط تیغ‌های تجاری انجام شد. بعد از تهیه برش‌های نازک و مناسب رنگ‌آمیزی مضاعف و با استفاده از رنگ‌های سبز متیل و قهوه‌ای بیسمارک انجام شد. در این مرحله، برش‌های رنگ‌آمیزی شده توسط میکروسکوپ نوری Olympus BX-50 مشاهده و از آن‌ها با استفاده از دوربین Canon SX230HS عکس‌برداری شدند. سپس صفات تشریحی برگ با استفاده از نرم‌افزار Microstructure Measurement نسخه 1.0 اندازه‌گیری شد.

زیرطایفه *Agrimoniinae* شامل گیاهان گلبرگ‌دار طایفه *Agrimoniinae* است (Zhang et al., 2017) که در گذشته همراه با سرده‌های *Aphanes* L.، *Alchemilla* L.، *Poterium* L.، *Sanguisorba* L.، *Schulze-Menz*, 1964; *Takhtajan*, 1997; *Kalkman*, 2004) و *Poterieae* (Hutchinson, 1964) رده‌بندی می‌شدند. زیرطایفه *Agrimoniinae* متشکل از ۵ سرده نسبتاً کوچک شامل *Aremonia*، *Agrimonia* L.، *Hagenia*، *Spenceria* Trimen، *Necker* ex *Nestler* و *J.F.Gmel.* است (Schulze-Menz, 1964; *Potter* et al., 2007; *Zhang* et al., 2017). در این بین، *Agrimonia* در مناطق معتدله شمالی؛ *Aremonia* در جنوب اروپا؛ *Spenceria* در غرب چین؛ *Hagenia* در مناطق نیمه کوهستانی شرق آفریقا و *Leucosidea* در جنوب شرقی آفریقا و زیمبابوه انتشار دارد (Kerr, 2004). از میان سرده‌های نام برده شده، *Agrimonia eupatoria* L. شامل *A. repens* L.، *A. aitchisonii* Schönbeck-Temesy. و سه زیرگونه شامل *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* L.، *A. eupatoria* subsp. *asiatica* (Juz.) Skalický و *A. eupatoria* subsp. *grandis* (Andrz. ex C.A.Mey.) Schönbeck- Bornm. در محدوده فلورا ایرانیکا است (Schönbeck-Temesy, 1969). از این زیرطایفه در فلور ایران دو سرده شامل *Agrimonia* (با یک گونه *A. eupatoria*) و *Aremonia* (با یک گونه به نام *A. agrimonioides* (L.) DC. معرفی شده است (Khatamsaz, 1993) که به ترتیب در شمال و شمال غربی ایران انتشار دارند (Khatamsaz, 1993; Schönbeck-Temesy, 1969). *Agrimonia eupatoria* در برخی از منابع به صورت زیرگونه‌های *A. eupatoria* معرفی شدند (Romero Martin, 1998). در حالی که در سایر منابع مانند فلور ایران از پذیرش زیرگونه‌های *A. eupatoria* امتناع شده است (Khatamsaz, 1993). گیاهان زیرطایفه *Agrimoniinae* پیوسته موضوع تحقیقات مختلفی قرار داشتند. معهدا بیشتر این تحقیقات به طور کلی در محدوده تیره گل‌سرخیان (Rosaceae) (Metcalf & Chalk, 1957; Reitsma, 1966; Hebda et al., 1988; Hebda & Chinnappa, 1990; Tantawy & Naseri, 2011; Lee et al., 2003) است. از میان معدود تحقیقاتی که در مورد گیاهان زیرطایفه *Agrimoniinae* انجام شده‌است، می‌توان به مطالعه تنوع ریخت‌شناسی و سیتولوژیکی (Kumar

جدول ۱- اطلاعات مربوط به گونه‌های مورد استفاده در این تحقیق.

Table 1. Information of the studied species.

Tribe Agrimonieae	Collection data
<b>I. Subtribe Agrimoniinae</b>	
1. <i>Agrimonia eupatoria</i> L.	Gilan prov.: Lahijan, Faghir 5753 (GUH) West Azarbayegan prov.: 14 km to Ashgholor, Arasvali 55289 (THE) Mazandaran prov.: South west Chaloos, 400 m, Attar & Zamani 8595 (TUH) Tehran prov.: Damavand, 1900m, Mozafarian 32384 (TARI)
1.1 <i>Agrimonia eupatoria</i> subsp. <i>eupatoria</i>	
1.2. <i>A. eupatoria</i> subsp. <i>grandis</i> . (Andrz. ex Ascherson & Graebner) Bormm.	Mazandaran prov.: Noshahr, Darzi Kola, Sabeti 2277 (TARI) Mazandaran prov.: Kelachai, Ghahreman 26281 (THE)
1.3 <i>A. eupatoria</i> subsp. <i>asiatica</i> (Juz) Schönbeck - Temesy)	Mazandaran prov.: Ramsar, 1962 m, Mobaiien 401 (THE) Markazi prov.: Arak, 1900 m, Julliet 402 (THE)
2. <i>Aremonia</i> Necker ex Nestle	Gilan prov.: Asalem to Khalkhal road, 1200 m, Faghir 5754 (GUH)
2.1 <i>A. agrimonioides</i> (L.) DC.	Mazandaran prov.: Ramsar, Janat Roodbar, 1150 m, Roneh & Maassoumi 21625 (TARI)

به غیر از گونه *A. eupatoria* subsp. *asiatica* که دارای کرک موج‌دار است. کرک غده‌ای به دو صورت سر گرد و استوانه‌ای (شکل ۱ H) رویت شد. روزنه‌ها روی سطوح فوقانی و تحتانی، به صورت فرورفته و هم سطح (شکل ۱ B-C) در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* و *A. agrimonioides* برجسته (شکل ۱ F) در دو زیرگونه *A. eupatoria* subsp. *grandis* و *A. eupatoria* subsp. *asiatica* مزوفیل برگ دو سویه، دارای ۱ تا ۵ ردیف پارانشیم نردبانی و ۱ تا ۴ ردیف پارانشیم اسفنجی است (شکل ۱ A, D, F, G). در مزوفیل برگ بلورهای چند وجهی حضور دارند (شکل ۱ K). سلول‌های اپیدرم پهنک (دو سطح فوقانی و تحتانی) به شکل مستطیلی، چندضلعی تا مدور هستند و توسط لایه کوتیکول پوشانده می‌شوند. درشت‌ترین سلول‌های اپیدرم فوقانی و تحتانی (۱۲/۲۰-۱۲/۶۷×۱۷/۳۱ و ۱۵/۱۷-۱۹/۶۲×۱۷/۳۱-۰۶/۲۶) میکرون) در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* و کوچک‌ترین آن در *A. agrimonioides* (۱۳/۹۳×۲۰/۰۳ و ۸/۶۵×۸/۷۳ میکرون) اندازه‌گیری شد. ضخامت سلول‌های اپیدرم فوقانی و تحتانی در سه زیر گونه تقریباً مشابه است. از این رو کم‌ترین ضخامت کوتیکول سطح اپیدرم فوقانی/تحتانی در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* (۱/۱-۰۲/۴۶) و بیش‌ترین آن در *A. eupatoria* subsp. *asiatica* (۱/۱-۴۵/۶۰) میکرون) بافت مزوفیل در برخی از جمعیت‌های زیر گونه‌های *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* دارای ۴ یا ۵ ردیف سلول‌های نردبانی (شکل ۱ G) است. در حالی که مزوفیل پهنک در *A. agrimonioides* دارای پارانشیم نردبانی ۱ ردیفی به ضخامت ۲۲/۹۴ میکرون و ۳ تا ۴ ردیف پارانشیم اسفنجی به ضخامت ۳۱/۵۵ میکرون (شکل ۱ J) است. رگبرگ اصلی در آرایه‌های سرده *Agrimonia* "U" شکل (شکل ۱ I) اما در *Aremonia* تقریباً

### مطالعه ریخت‌شناسی گل، میوه و دانه

در مطالعه حاضر گل‌ها را در آب جوشانده و بعد از جداسازی قطعات مختلف از آن‌ها عکسبرداری شد. همچنین میوه و دانه‌های کاملاً رسیده نمونه‌ها جداسازی و شستشو داده شدند. عکسبرداری گل، میوه و دانه توسط میکروسکپ دیجیتالی (Dinolite) مدل ۴۳۵ و میکروسکپ الکترونی (SEM) مدل VEGA/TESCAN انجام شد.

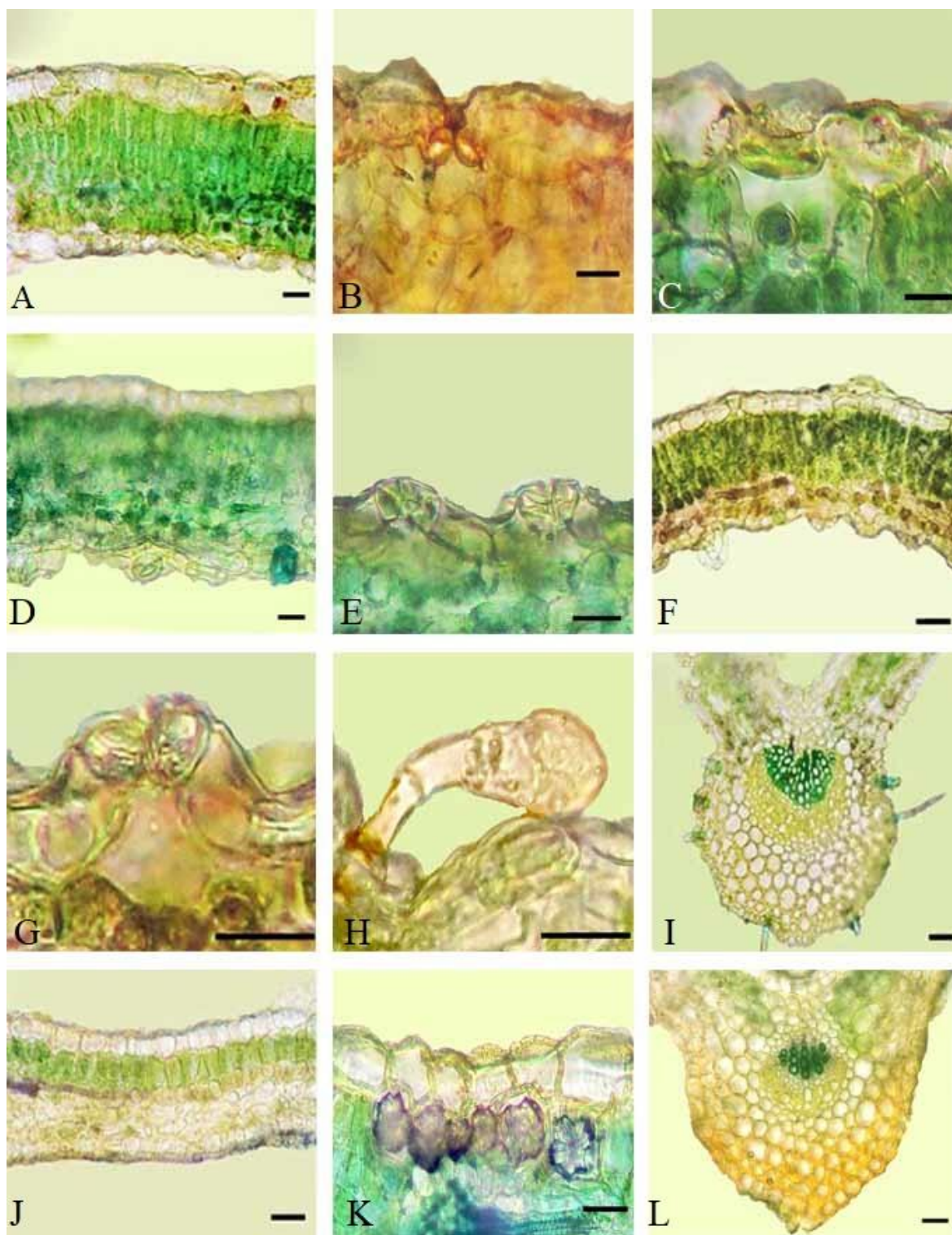
### تجزیه داده‌ها به روش مؤلفه‌های اصلی

رسته‌بندی کلیه اطلاعات برای جداسازی داده‌های سودمند حاصل از مطالعات تشریحی و ریخت‌شناسی، برای یافتن الگوی روابط بین گونه‌ها انجام شد. نرمال بودن توزیع داده‌های کمی، با استفاده از آزمون Kolmogorov-smimov بررسی شد. داده‌ها با توزیع نرمال، توسط آزمون تجزیه واریانس یک طرفه one way ANOVA پردازش شدند. همچنین داده‌هایی که از توزیع نرمال برخوردار نبودند، با استفاده از آزمون Kruskal Wallis مورد بررسی قرار گرفتند (سطح  $\alpha=0/05$  پذیرفته شده است). به این ترتیب صفات نامناسب و دارای کم‌ترین ارزش برای جداسازی گونه‌ها، حذف شدند و ۵۷ صفت (جدول ۶) توسط آنالیز مؤلفه‌های اصلی (Principal Component Analysis) یا PCA مورد بررسی قرار گرفتند. برای انجام کلیه آنالیزهای آماری و پردازش داده‌ها از نرم‌افزار MINITAB نسخه ۱۶ و SPSS نسخه ۱۹ استفاده شد.

### نتایج

#### ساختار تشریحی برگ زیرطایفه Agrimoniinae

به طور کلی در مطالعه ساختار تشریحی برگ (پهنک و رگبرگ اصلی) (شکل ۱ A-L) جمعیت‌های دو گونه و سه زیر گونه از این زیرطایفه مورد ارزیابی قرار گرفتند. اپیدرم پهنک برگ این آرایه‌ها دارای کرک پوششی و غده ای است. در همه گیاهان تحت مطالعه، کرک پوششی از نوع راست و افراشته مشاهده شد،



شکل ۱- برش عرضی برگ شامل پهنک و رگبرگ اصلی در زیرطایفه Agrimoniinae. A-C. *Agrimonia eupatoria* subsp. *eupatoria*. D-E. *A. eupatoria* subsp. *grandis*. F-I. *A. eupatoria* subsp. *asiatica*. J-L. *Aremonia agrimonioides*. مقیاس: ۴ میلی‌متر.

**Fig. 1.** Leaf cross-section including blade and midrib in subtribe Agrimoniinae. A-C. *Agrimonia eupatoria* subsp. *eupatoria*. D-E. *A. eupatoria* subsp. *grandis*. F-I. *A. eupatoria* subsp. *asiatica*. J-L. *Aremonia agrimonioides*. Scale: 4 mm.

جدول ۲- صفات تشریخی پهنک درگونه‌های مورد استفاده این تحقیق

Table 2. Leaf anatomical characters in the species studied

Characters	Species			
	<i>A. eupatoria</i> subsp. <i>eupatoria</i>	<i>A. eupatoria</i> subsp. <i>grandis</i>	<i>A. eupatoria</i> subsp. <i>asiatica</i>	<i>A. agrimonoides</i>
UCT	0.62(1.02±0.48)1.75	0.77(1.44±0.42)1.82	0.6(1.47±0.56)1.92	1.22(1.62±0.37)1.97
	0.82(1.46±0.44)1.87	0.66(1.37±0.32)1.67	0.60(1.62±0.59)2.17	1.37(1.52±0.26)1.63
LCT	0.60(1.25±0.55)1.92	0.6(1.47±0.69)2.17	0.85(1.45±0.55)1.92	1.17(1.58±0.49)2.12
	0.85(1.09±0.37)1.7	0.4(1.35±0.23)1.93	1.22(1.60±0.35)1.97	1.23(1.18±0.32)2.26
LUE	15.4(17.62±3.31)23.22	9.52(11.57±1.47)3.05	10.1(14.03±2.75)16.82	10.47(13.93±2.28)16.35
	12.72(15.19±1.43)16.45	9.36(10.36±1.25)12.36	11.25(12.45±1.26)14.52	9.26(11.34±1.21)15.38
WUE	27.65(31.26±2.50)34.37	18.1(19.03±0.71)19.87	20(21.30±1.14)22.42	18.57(20.03±0.87)20.85
	16.10(17.06±1.16)19	17.29(18.34±1.89)18.47	17.77(18.65±0.61)19.50	17.33(18.27±0.63)19.38
LuE	10.72(12.67±1.5)13.92	7.8(10.91±2.50)14.52	7.9(9.34±1.06)10.37	7.42(8.65±1.28)10.70
	9.27(12.2±1.65)16	8.23(9.29±2.33)12.67	7.32(8.66±1.35)10.65	7.32(7.87±1.39)9.94
LET	23.05(25.63±1.69)27.52	17.92(18.79±0.89)20.25	17.92(18.95±0.79)19.82	8.12(8.73±0.57)9.5
	16.07(17.31±0.88)18.55	16.87(16.77±0.36)18.32	12.55(13.31±0.64)14	7.36(7.45±0.89)8.43
St	Depressed	Raised	Raised	Oblate
	Raised	Raised	Raised	Oblate
PalT	84.6(122.92±4.93)149.35	32.52(34.64±1.79)37.12	28.27(29.97±1.48)32.32	20.85(22.94±1.57)24.45
	24.27(29.43±5.39)37.37	28.47(31.39±1.36)35.39	24.4(30.29±3.55)33.75	22.37(21.36±1.36)23.36
NPal	4-5	1-2	1-2	1
	4-5	1-2	1-2	1
SP	-	27.5(29.04±1.83)32.02	30.12(31.92±2.9)36.37	27.62(31.55±2.57)34.12
	28.07(37.17±5.58)42.75	26.7(27.36±1.45)30.27	31.50(34.92±2.54)38.12	26.67(33.42±1.78)35.47
NSP	-	2-3	2-3	3-4
	2-3	2-3	2-3	3-4
T	-	+	+	+
	+	+	+	+
G	-	-	cylindrical - circular head	cylindrical - circular head
	2-3	-	cylindrical - circular head	cylindrical - circular head
C	Polygonal	Polygonal - cubic	Polygonal	Polygonal
	-	Polygonal - cubic	Polygonal	Polygonal
MSh	U shape	U shape	U shape	Triangular
	-	Polygonal - cubic	Polygonal	Polygonal
LUEE	20.82(25.36±3.26)28.2	12.7(14.30±0.96)15	12.85(15.87±2.26)19.07	18.8(20.51±1.55)22.97
	13.52(16.21±2.04)18.27	11.1(13.79±0.37)16.32	13.17(14.61±1.31)16.10	17.3(21.63±1.28)21.39
WUEE	17.90(19.10±1.47)21.65	8.35(9.37±1.00)11.05	5.87(8.44±2.05)11.12	14.62(15.60±1.28)17.05
	15.82(18.07±1.44)19.5	7.73(8.41±1.29)10.65	5.47(6.4±0.76)7.22	13.79(14.76±1.25)16.39
LEL	9.92(11.80±1.06)12.55	8.35(9.37±1.00)11.05	5.87(8.44±2.05)11.12	14.62(15.60±1.28)17.05
	10.1(11.59±1.06)12.65	7.73(8.41±1.29)10.65	5.47(6.4±0.76)7.22	13.79(14.76±1.25)16.39
LEW	15.70(16.83±1.06)18.20	8.45(9.04±0.55)9.9	7.27(7.63±0.30)8.12	12.5(13.13±0.63)13.87
	6.72(7.52±0.67)8.47	7.39(8.70±0.49)8.93	4.37(5.12±0.63)6.02	13.78(12.43±0.79)14.97
UCoIT	34.32(35.75±1.50)38.2	19.35(20.51±0.81)21.62	20(20.91±0.85)22.32	27.5(28.18±0.66)29.27
	15.82(16.44±1.05)18.32	17.82(19.39±0.93)22.37	15.5(17.18±1.05)18.42	24.72(27.37±0.69)29.69
LCoIT	40.72(41.47±0.63)42.15	35(36.27±0.8)36.85	38.12(38.99±1.21)41.1	43.07(44.02±0.87)45.1
	28.75(30.79±1.29)31.9	34.38(35.79±0.65)37.73	33.07(33.68±0.56)34.32	40.82(43.29±0.91)43.74
UPT	28.75(30.79±1.29)31.9	18.8(19.88±0.86)21.02	25.15(25.94±0.75)27.12	30.30(31.41±0.77)32.42
	19.62(20.26±0.55)20.92	17.6(18.67±0.36)22.72	25.67(27.33±1.34)28.95	31.28(30.37±0.46)30.38
LPT	41.12(41.97±0.87)43.45	36.27(37.57±0.83)38.42	38.55(40.48±1.35)41.9	49.95(52.88±1.79)54.89
	28.05(28.87±0.61)29.77	34.73(36.49±0.79)39.38	45.97(49.18±2.2)51.70	48.87(49.83±1.63)52.73
NUCoIL	1-3	1-2	1-4	1-4
	1-2	1-2	1-2	1-2
NLCoIL	1-4	1-4	1-3	1-3
	1-3	1-4	1-2	1-3
NUPL	1-3	1-3	1-2	1-3
	1-4	1-3	1-3	1-3
NLPL	1-3	1-4	1-3	1-3
	1-4	1-4	1-3	1-3
NXV	6	7	11	5
	7	7	10	5
MidW	210.32(210.55±0.35)211.17	173(176.06±1.91)177.8	260.02(263.2±2.77)266.17	291.05(293.45±1.54)294.92
	138.95(141.24±1.45)142.85	165(171.93±1.83)179.27	212.57(214.95±2.09)217.32	283.49(291.93±1.82)293.432
MidL	284.07(286.01±1.69)287.85	227.52(229.78±2.08)232	277.77(278.35±0.51)279	252.9(253.88±0.80)254.52
	184.40(185.93±1.37)187.57	223.73(226.91±2.26)227.31	250.67(252.47±1.55)254.8	247.39(249.73±0.86)251.79

Abbreviations: UCT Upper cuticle thickness; LCT Lower cuticle thickness; LUE Upper epidermis cell length; WUE Upper epidermis cell width; LUE Lower epidermis cell length; LET Lower epidermis cell width; St Stomata; PalT Palisade parenchyma thickness; NPa Number of palisade parenchyma layers; SP Spongy parenchyma thickness; NSP Number of spongy parenchyma Layers; T Trichrome; G Gland; C Crystal; LUEE Upper epidermis cell length; WUEE Upper epidermis cell width; LEL Upper epidermis cell Length, LEW Upper epidermis cell Width; UCoIT Upper collenchyma thickness; LCoIT, Lower collenchyma thickness; UPT Upper collenchyma Thickness; LPT Lower collenchyma thickness; NUCoIL Number of upper collenchyma Layers; NLCoIL Number of Lower collenchyma layers; NUPL, Number of upper parenchyma Layers; NLPL Number of lower parenchyma layers; NXV Number of xylem vein; MidW Width of midrib; MidL Length of midrib; Mi Midrib.

در سرده *Agrimonia* میوه فندقه و درون هیپانتیوم خاردار قرار دارد (شکل ۳ A-L). شکل هیپانتیوم در سه زیرگونه واژ مخروطی تا واژ مخروطی-استکانی و سطح آن ناهموار، دارای شیار و پشته است. الگوی پراکنش کرک روی پشته و شیارها در سه زیرگونه متغیر است. در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* (شکل ۳ A) پشته‌ها تقریباً بدون کرک یا دارای کرک اندک و درون شیارها کرک‌دار است. در *A. eupatoria* subsp. *grandis* (شکل ۳ D) روی پشته‌ها و درون شیارها کرک انبوه مشاهده می‌شود. در حالی که در *A. eupatoria* subsp. *asiatica* کرک‌ها بیشتر روی حاشیه و درون شیارها (شکل ۳ G) قرار دارند. در بالای هیپانتیوم و زیر کاسبرگ‌ها، ۳ الی ۴ ردیف خار دیده می‌شود. جهت خارها در سه زیرگونه متفاوت است. در زیرگونه *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* خارهای ردیف‌های پایین، افقی-پراکنده و ردیف‌های بالا بلند و افراشته؛ در *A. eupatoria* subsp. *grandis* خارهای ردیف‌های پایین، پراکنده و ردیف‌های بالا بلند و افراشته و در زیرگونه *A. eupatoria* subsp. *asiatica* خارهای ردیف‌های پایین کوتاه، به سمت برگشته-پراکنده و خارهای ردیف‌های بالا بلند و افراشته‌اند. هیپانتیوم حاوی تخمدان و دو تخمک است که در نهایت یکی از آن‌ها می‌رسد؛ بنابراین میوه رسیده دارای یک دانه است. میوه در سرده *Aremonia* و گونه *Aremonia grimonioides* هم فندقه است که به ترتیب از بیرون به درون، داخل گریبان قیفی‌شکل (سبزنگ، دارای ۸ الی ۱۲ لب نابرابر و کرک‌دار) (شکل ۳ I) و سپس درون هیپانتیوم کرک-دار (دارای ۴ لب بیضی شکل به ارتفاع ۸/۸-۴/۸ میلی‌متر) و در پایین مخروطی‌شکل است. روی قسمت مخروطی‌شکل پشته به ارتفاع ۱۱/۳-۹/۲ و شیار به عرض ۴/۶-۲/۸ میلی‌متر وجود دارد. هیپانتیوم تقریباً تخم‌مرغی‌شکل و دارای کرک انبوه است (شکل ۳ I).

#### مطالعه ریخت‌شناسی دانه

دانه در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* (شکل ۳ B-C) و *A. eupatoria* subsp. *grandis* (شکل ۳ E-F) کروی زاویه‌دار و در *A. eupatoria* subsp. *asiatica* (شکل ۳ H) تخم‌مرغی‌شکل، دارای قسمت قاعده ای مسطح و قسمت فوقانی مخروطی-نوک‌تیز، هیلوم حاشیه‌دار و سطح آن صاف و بدون کرک است. بیش‌ترین طول و ضخامت هیلوم در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* و کم‌ترین در *A. eupatoria* subsp. *grandis* مشاهده شد (جدول ۴). ابعاد دانه در بین زیر گونه‌های *A. eupatoria* از ۱۳/۰۶×۲۷/۷۵ میلی‌متر در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* تا ۱۲/۰۸×۱۳/۰۴ میلی‌متر در *A. eupatoria* subsp. *asiatica* و متغیر است. دانه در سرده *Aremonia* و *Aremonia grimonioides*

مثلثی (شکل ۱ L)؛ قسمت فوقانی و تحتانی آن دارای ۱ تا ۴ ردیف کلانشیم، ۱ تا ۴ لایه پارانشیم و الگوی دسته آوند برگ از نوع آمفی‌کریبرال است. کلانشیم فوقانی و تحتانی رگبرگ اصلی در زیر گونه *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* (۴۴/۷۵-۱۶/۳۵ و ۷۹/۴۷-۳۰/۴۱) بیش‌ترین وسعت و در زیرگونه *A. eupatoria* subsp. *asiatica* (۲۰/۹۱-۱۷/۱۸ و ۳۸/۹۹-۳۳/۶۸ میکرون) را دارد. در این بین ضخامت کلانشیم فوقانی و تحتانی رگبرگ اصلی در *A. agrimonoides* وسیع‌تر و به ترتیب ۲۸/۱۸ و ۴۴/۰۲ میکرون است. ضخیم‌ترین پارانشیم فوقانی در زیرگونه *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* (۲۶/۱۸-۲۰/۴۱ میکرون) و ضخیم‌ترین پارانشیم تحتانی در *A. agrimonoides* (۵۲/۸۸ میکرون) اندازه‌گیری شد. کم‌ترین تعداد رگه آوندی چوب در *A. agrimonoides* (۵ رگه) و بیش‌ترین در *A. eupatoria* subsp. *asiatica* (۱۰-۱۱ رگه) مشاهده شد (جدول ۲).

#### مطالعه ریخت‌شناسی گل

صفات ریخت‌شناسی مورد مطالعه گل در جدول ۳ (شکل ۲ A-L) ارایه شده است. به طور کلی گل‌آذین در *A. eupatoria* پرگل سنبله-خوشه، گل‌ها دمگل‌دار (به طول ۱ تا ۳ میلی‌متر) و دارای دو برگه (بیرونی و درونی) (شکل ۲ B-C و G-H) هستند. ابعاد برگه بیرونی از ۲/۸×۲/۴ میلی‌متر در *A. eupatoria* subsp. *asiatica* الی ۵/۱۲×۶/۴ میلی‌متر در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* و ابعاد برگه درونی از ۳/۳×۴/۴ میلی‌متر در *A. eupatoria* subsp. *asiatica* تا ۱۲/۴×۶/۴ میلی‌متر در *A. eupatoria* subsp. *grandis* متغیر است. کاسبرگ‌ها تخم‌مرغی یا نیزه‌ای، به ابعاد ۱۱/۹×۶/۸ میلی‌متر در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* و دارای نوک باریک، سطح فوقانی بدون کرک، سطح تحتانی اندکی کرک‌دار و غده دار؛ گلبرگ‌ها واژتخم‌مرغی تا بیضی شکل و در هر سه زیرگونه زرد رنگ است (شکل ۲، D، J، L). بزرگ‌ترین گلبرگ (به ابعاد ۲۱/۲×۲۳/۶ میلی‌متر) در زیر گونه *A. eupatoria* subsp. *asiatica* و کوچک‌ترین (به ابعاد ۹/۲×۱۵/۶ میلی‌متر) در زیرگونه *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* اندازه‌گیری شد. گیاهان این گونه دارای ۵ الی ۲۰ پرچم، ۲ برچه، خامه انتهایی و کلاله سرسان هستند. گونه *A. agrimonoides* دارای گل‌آذین دیهیم، کم‌گل، گل‌هایی با دمگل کوتاه، دو برگه دارای ۸ تا ۱۲ لبه یا گریبان قیفی شکل؛ ۵ کاسبرگ اصلی (به ابعاد ۲۵/۳×۶/۲ میلی‌متر) سر نیزه ای؛ کاسبرگ‌های فرعی لب‌دار (به ابعاد ۱۰/۵×۲۰ میلی‌متر)؛ گلبرگ زرد (به ابعاد ۱۶/۴×۲۹/۶ میلی‌متر)، ۵ تا ۱۰ پرچم و ۲ برچه هستند.

#### مطالعه ریخت‌شناسی میوه

جدول ۳- صفات ریخت‌شناسی گل در گونه‌های مورد مطالعه تحقیق

Table 3. Flower morphological characters in the species studied

Species/Subspecies	PD mm	NBL	Ob mm	Ib mm	CD	Epi mm	CS h	PSh	NSt
1. <i>Agrimonia eupatoria</i>									
1.1. <i>A. eupatoria</i> subsp. <i>eupatoria</i>	9.2*15.6	3	5.6*6.4	7.2*8.4	11.9*6.8	-	Ob	Ob-EI	5-20
<i>A. eupatoria</i> subsp. <i>grandis</i>	22.8*18.4	3	5.1*6.4	12.4*6.4	11.6*6.4	-	E	Ob-EI	5-20
<i>A. eupatoria</i> subsp. <i>asiatica</i>	23.6*21.2	3	2.8*2.4	3.3*4.4	9.6*6.9	-	Ob	Ob-EI	5-20
2. <i>Aremonia</i>	29.6*16.4	8-12	-	-	25.3*6.2	20/*10.5	L	obco	5-10
2.1 <i>Aremonia agrimonioides</i>									
<b>Abbreviations: PD</b> Petal dimension; <b>NBL</b> Number of bract Lobe; <b>In</b> Involucre; <b>Ob</b> Outer bract; <b>Ib</b> Inner bract; <b>CD</b> Calyx dimension; <b>Epi</b> Epicalyx; <b>CS</b> Calyx shape; <b>Ob</b> Obovate; <b>E</b> Elliptical; <b>L</b> Lanceolate; <b>Psh</b> Petal shape; <b>Obco</b> Ob cordate; <b>NSt</b> Number of stamen									

ضخامت کوتیکول تحتانی (LCT)، طول سلول اپیدرم تحتانی (LuE)، عرض قسمت مسطح قاعده ایی دانه (P)، طول اپیدرم فوقانی رگبرگ اصلی (LUUEE)، و عرض اپیدرم تحتانی رگبرگ اصلی (WUEE) (سمت راست و بالا)، عرض دانه (RL)، عرض اپیدرم فوقانی پهنک (WUE)، ضخامت پارانشیم فوقانی (PaLT)، عرض اپیدرم فوقانی رگبرگ اصلی (WUEE)، طول اپیدرم تحتانی پهنک (LuE)، طول دانه (SD)، عرض برگه داخلی (Ibw) و عرض برگه بیرونی (Obw) (سمت راست و پایین)، عرض گلبرگ (PDW)، شکل دانه (SSh)، ضخامت کوتیکول فوقانی (UCT) نسبت طول پشته/شیار (R/FD)، طول گلبرگ (PD)، غده (G)، موقعیت روزنه (St)، تعداد ردیف خار (NSR) (سمت چپ و بالا) و تعداد رگه‌های چوب (NXV)، طول و عرض خار (SL و SLW) و عرض هیلوم (ML) (سمت چپ و پایین) بارگذاری شدند.

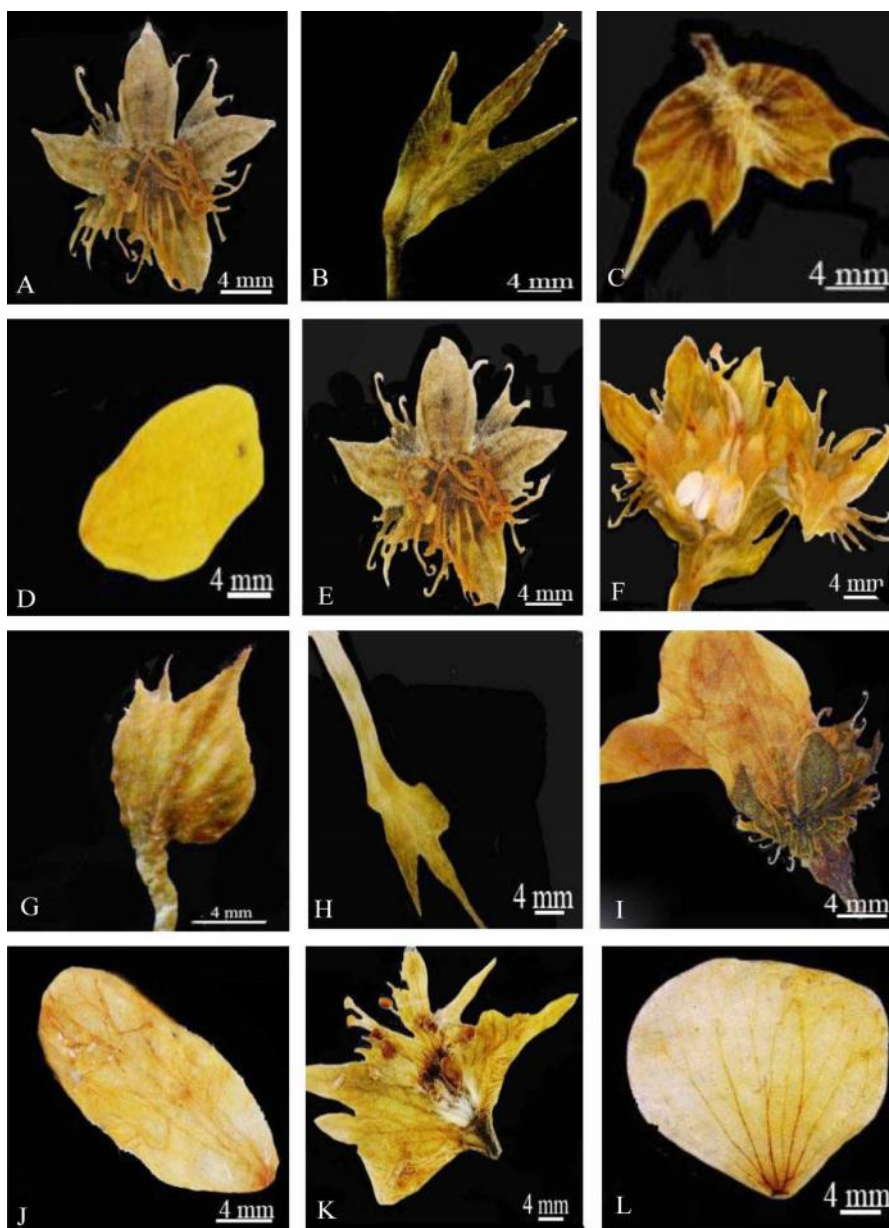
### بحث

مطالعه ساختار تشریحی برگ در گیاهان تیره گل‌سرخیان و سرده‌های مختلف آن پیوسته مورد توجه محققان قرار داشته است (Metcalf & Chalk, 1957; Singh, 2010). بر اساس نتایج این تحقیق نوع کرک پوششی، موقعیت قرار گرفتن روزنه نسبت به سلول‌های اپیدرمی، ابعاد سلول‌های اپیدرمی و ضخامت اپیدرم، کوتیکول، تعداد و ضخامت لایه نردبانی در پهنک و شکل رگبرگ اصلی، ضخامت کلانشیم و پارانشیم تحتانی، فوقانی و تعداد رگه آوند چوب در رگبرگ اصلی از مهم‌ترین صفات تشریحی متغیر در گیاهان مورد مطالعه تشخیص داده شدند. کرک‌های پوششی گیاهان زیرطایفه *Agrimoniinae* دارای صفات شاخص تیره گل‌سرخیان (تک سلولی، نوک باریک و بدنه استوانه‌ای) است (Metcalf & Chalk, 1957). این کرک‌ها در دو سرده *Aremonia* و *Agrimonia* مشابه، اما در زیرگونه‌ها متفاوت

کروی زاویه‌دار، به ابعاد ۱۱/۱۵-۱۲/۵۵ میلی‌متر، دارای قاعده مسطح به پهنای ۹/۸ ± میلی‌متر، رأس مخروطی‌شکل و به ارتفاع ۱/۱۵ ± میلی‌متر است. رنگ دانه، سبز زیتونی تیره و سطح آن ناهموار و کرک‌دار؛ طول رافه ۷/۴۴ ± میلی‌متر؛ طول هیلوم ۲/۳۵ میلی‌متر و شکل آن بیضی است (شکل ۳ K-L).

### آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA)

در تجزیه مؤلفه‌های اصلی، محور اول با مقدار ویژه ۲۶/۳۹۲ درصد و محور دوم با مقدار ویژه ۱۳/۲۸۸ درصد منجر به تفرق کامل آرایه‌ها در دو گروه اصلی a و b شدند. برجسته‌ترین صفاتی که روی محور اول PCA بارگذاری شدند عبارتند از کرک (T)، ضخامت پارانشیم اسفنجی (SP)، ضخامت کوتیکول تحتانی و فوقانی (LCT و UCT)، نسبت طول پشته/شیار (R/FD)، طول گلبرگ (PD)، غده (G)، موقعیت روزنه (St)، شکل هیلوم (HsH)، طول کاسه گل (CD)، تعداد ردیف خار (NSR) (سمت راست بالا)، طول و عرض کاسبرگ اضافی (Epic و Epiew)، شکل رگبرگ اصلی (MSh)، ضخامت کلانشیم تحتانی (LCoIT)، طول سلول اپیدرم تحتانی (LEL)، طول اپیدرم فوقانی رگبرگ اصلی (LUUEE)، و عرض اپیدرم تحتانی رگبرگ اصلی (LEW)، عرض دانه (RL) (سمت راست پایین)، عرض گلبرگ (PDW)، شکل دانه (SSh)، تعداد رگه‌های چوب (NXV)، طول و عرض خار (SL و SLW)، عرض حاشیه (هیلوم) (ML) (سمت چپ بالا)، ضخامت هیلوم (HT)، طول و عرض برگه بیرونی (Ob و Obw)، طول دانه (SD)، ضخامت پارانشیم فوقانی (UPT)، عرض اپیدرم فوقانی رگبرگ اصلی (WUEE)، طول اپیدرم تحتانی پهنک (LuE)، عرض اپیدرم فوقانی پهنک (WUE)، عرض دانه (RL) (سمت چپ پایین) هستند. همچنین مهم‌ترین صفات بارگذاری شده روی محور دوم PCA شامل شکل رگبرگ اصلی (MSh)، ضخامت کلانشیم تحتانی (LCoIT)، طول کاسه گل (CD)،



شکل ۲- ریخت‌شناسی گل در زیرطایفه *Agrimoniinae*. **A-C.** *Agrimonia eupatoria* subsp. *eupatoria*. **D-G.** *A. eupatoria* subsp. *grandis*. **H-I.** *A. eupatoria* subsp. *asiatica*. **J-L.** *Aremonia agrimonioides*

**Fig. 2.** Flower morphology in subtribe Agrimoniinae. **A-C.** *Agrimonia eupatoria* subsp. *eupatoria*. **D-G.** *A. eupatoria* subsp. *grandis*. **H-I.** *A. eupatoria* subsp. *asiatica*. **J, K.** *Aremonia agrimonioides*.

جدول ۴- صفات ریخت‌شناسی میوه در گونه‌های مورد مطالعه

**Table 4.** Fruit morphological characters in the species studied

Species/Subspecies	Characters					
	Hsh	Hd mm	NSR	Sd Lr/Ur	SL Lr/Ur	R/FD mm
<b>I. Subtribe Agrimoniinae</b>	Ca	14.4*17.6	3-4	Ho-EP/E	4.8-5.2/8-10.8	1.8-3.2/*12.8-8.8
1. <i>Agrimonia eupatoria</i> subsp. <i>eupatoria</i>						
1.1. <i>A. eupatoria</i> subsp. <i>grandis</i>	Co-Ca	18.8*20.8	3-4	P/E	4.4-4.9/11.4-13.8	2.6-2.4*16.4
1.2 <i>A. eupatoria</i> subsp. <i>asiatica</i>	Ca	12.4*14.6	3	R-EP/E	4.4-4.2/11.16	1.87-3.81*14.3-10.8
1.3 <i>Aremonia</i>	Cy-Ob	17.2*25.4	-	-	-	2.8-4.6*9.2-11.3
<i>A. agrimonioides</i> (L.) DC.		Cl: 4.8-8.8				

Abbreviations: Hsh Hypanthium shape; HD Hypanthium dimension; Cl Crown length; NSR Number of spine row; Sd Spine direction; Lr Lower row; Ur Upper row; Ho Horizontal; EP Erecto-Patent ; SL Spine length; R Ridged; FD Farrow direction.



جدول ۵- صفات ریخت‌شناسی دانه در گونه‌های مورد مطالعه.

Table 5. Seed morphological characters in the species studied

Characters	Species			
	<i>A. eupatoria</i> subsp. <i>eupatoria</i>	<i>A. eupatoria</i> subsp. <i>grandis</i>	<i>A. eupatoria</i> subsp. <i>asiatica</i>	<i>A. agrimonoides</i>
SSh	S-FB	S-FB	O-FB	S-FB
HT	3.84	2.37	2.83	0.78
HL	5.12	±4.32	±5.5	2.35
ML	11.81	8.68	9.98	-
HS	L-Sm	L-Sm	L-Wm	R-E/-Sm
RL	±9.79	±7.02	-	±7.44
HL	±6.12	±5.02	±1.23	±9.8
A	±1.65	±1.62	±0.7	±1.15
SD	27.75*13.06	12.14*17.38	13.04*12.08	11.15.*12.55
SC	LB-DB	Y-LB	B	G

Abbreviations: SSh Seed shape; O-FB ovate- with flat basal part; S-FB spherical-angular with flat basal part; HT Thickness and length of hilum; HL Hilum length; ML Margin length; HS Hilum shape; L-Sm linear with broad veined margin; L-Wm Linear with broad margin; R-E/-Sm Round-elliptical/margin without vein; RI Raphe length; HL width of the flat basal part; A, Height of conical end; SD Seed dimension; SC Seed color; B-DB Light brown-dark brown; Y-LB Yellow-Light brown; G green;

(P'yankov & Kondrachuk, 2003). بیش‌ترین وسعت لایه نردبانی (کم‌ترین وسعت لایه اسفنجی) (شکل ۱ G) مربوط به زیرگونه *Eupatoria* subsp. *Eupatoria*، متعلق به جمعیتی در استان آذربایجان غربی و کم‌ترین لایه نردبانی (بیش‌ترین وسعت لایه اسفنجی) (شکل ۱ I) در *A. agrimonoides* از استان گیلان مشاهده شد.

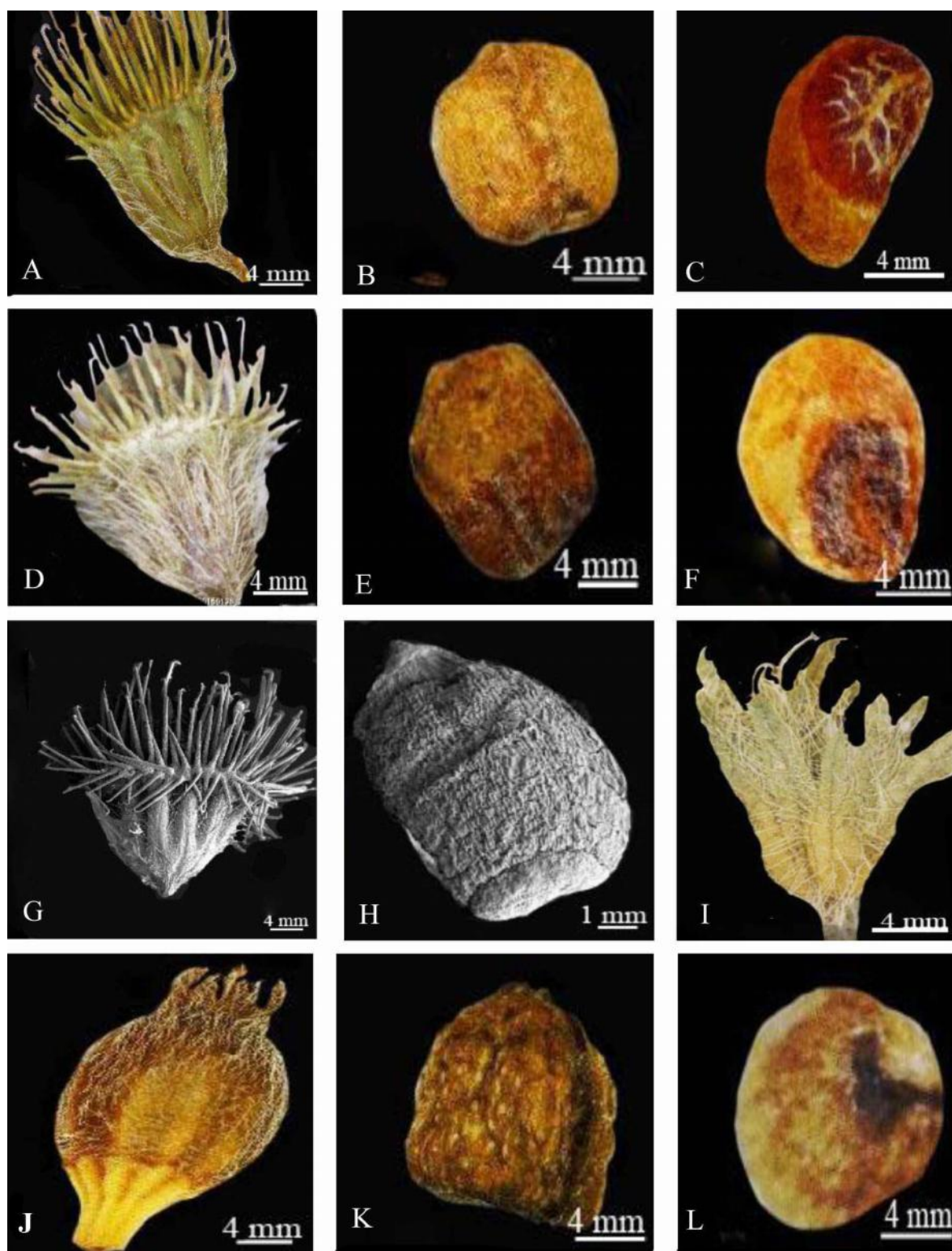
در بررسی ساختار تشریحی رگبرگ اصلی، شکل رگبرگ اصلی (مثلثی در *Aremonia* و U شکل *Agrimonia*) نیز تفاوت مشاهده شد. این صفت می‌تواند در جداسازی دو سرده مفید واقع شود. علاوه بر این، ضخامت کلانشیم، پارانشیم (تحتانی و فوقانی) و تعداد رگه‌های چوب هم در بین آرایه‌های تحت بررسی متغیر بودند. اما مطابق تحقیقات انجام شده گذشته (Raven et al., 2005; Metcalfe & Chalk, 1957) این صفات تحت تاثیر سن گیاه و شرایط محیطی قرار دارند و برای رده بندی کارآمد نیستند.

بر اساس نتایج این تحقیق، صفات ریخت‌شناسی گل، شکل گلبرگ (واژ تخم‌مرغی تا بیضی‌شکل در *Agrimonia* و واژ قلبی‌شکل در *Aremonia*)؛ برگه‌ها یا گریبان (دو برگه بیرونی درونی در *Agrimonia* و گریبان قیف‌مانند، دارای لب‌های نابرابر در *Aremonia*)؛ حضور و فقدان کاسبرگ فرعی (کاسبرگ فرعی فقط در سرده *Aremonia* یافت می‌شود) و تعداد پرچم (۵ الی ۲۰ در *Agrimonia* و ۵ الی ۱۰ در *Aremonia*)، مانند دیگر سرده‌های تیره گل‌سرخیان (Faghir et al. 2017) دارای ارزش تشخیصی و برای تفکیک دو سرده کارآمد هستند. در مطالعات انجام شده قبلی، از میان صفات ریخت‌شناسی گل، بیشتر بر نقش کلیدی صفاتی مانند تعداد پرچم و فقدان کاسبرگ فرعی برای تفکیک دو سرده تکیه شد است (Tutin et al., 1969; Schönebek-Temesy, 1969).

نتایج مطالعه صفات مختلف ریخت‌شناسی میوه نشان داد که صفاتی مانند شکل میوه (واژ مخروطی-استکانی در *Agrimonia* و

در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria*؛ در *A. eupatoria* subsp. *asiatica* راست و موج‌دار ظاهر شدند. این صفت دارای اهمیت تشخیصی (Faghir et al., 2010, 2015) و برای تفکیک در سطح زیرگونه مناسب است. موقعیت قرار گرفتن روزنه نسبت به سلول‌های اپیدرمی سطوح تحتانی/فوقانی در بین دو سرده *Aremonia* (همسطح/همسطح) و *Agrimonia* (برجسته/فرورفته) و نیز بین زیر گونه‌ها (برجسته/فرورفته) در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* و *Agrimonia* (برجسته/برجسته) متغیر است. این صفت در مطالعات، به لحاظ آرایه-شناسی با ارزش تشخیصی داده شد (Metcalf & Chalk, 1957; Faghir et al., 2011) و می‌تواند برای تفکیک در سطح جنس و فروگونه‌ای استفاده شود. یافته‌های مطالعه تشریحی بیانگر تنوع ابعاد سلول‌های اپیدرمی، ضخامت اپیدرم و کوتیکول در بین آرایه‌های تحت بررسی است. طبق مطالعات انجام شده قبلی این صفات تحت تاثیر شرایط محیطی و بوم‌شناختی قرار دارند (Metcalf & Chalk, 1957). از بین گیاهان مورد بررسی جمعیتی از زیرگونه *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* که در استان گیلان و در شرایط مرطوب رشد می‌کند، کم‌ترین ضخامت کوتیکول را دارد. در حالی که ضخیم‌ترین کوتیکول مربوط به گونه *A. agrimonoides* است که در منطقه اسالم به خلخال و در ارتفاع ۱۵۰۰ تا ۲۷۰۰ یافت می‌شود (جدول ۱). بر اساس تحقیقات انجام شده قبلی (Delucia & Graemp, 1984) ارتفاع از جمله عوامل مؤثر بر افزایش ضخامت کوتیکول است.

وسعت و تعداد لایه‌های پارانشیم نردبانی (۱ الی ۵ لایه) و اسفنجی (۱ تا ۴ لایه) در مزوفیل پهنک گیاهان زیرطایفه *Agrimoniinae* تغییراتی مشاهده شد. بر اساس گزارش‌های قبلی این صفات تابع عواملی نظیر دما، خشکی، نور و ارتفاع هستند



شکل ۳ - میوه و دانه در زیرطایفه *Agrimoniinae*. **A-C** *Agrimonia eupatoria* subsp. *eupatoria*. **D-F** *Agrimonia eupatoria* subsp. *eupatoria*. **A-C** *Agrimoniinae*. **D-F** *Agrimonia eupatoria* subsp. *eupatoria*. **D-F** *A. eupatoria* subsp. *grandis*. **G-H** *A. eupatoria* subsp. *asiatica*. **I-I** *Aremonia agrimonioides*. **J-H** *grandis*. **J-H** *grandis*. **I-I** *Aremonia agrimonioides*. **J-H** *grandis*.

**Fig. 3.** Fruits and seed in subtribe Agrimoniinae. **A-C**. *Agrimonia eupatoria* subsp. *eupatoria*. **D-F**. *A. eupatoria* subsp. *grandis*. **G-H**. *A. eupatoria* subsp. *asiatica*. **I-I**. *Aremonia agrimonioides*.

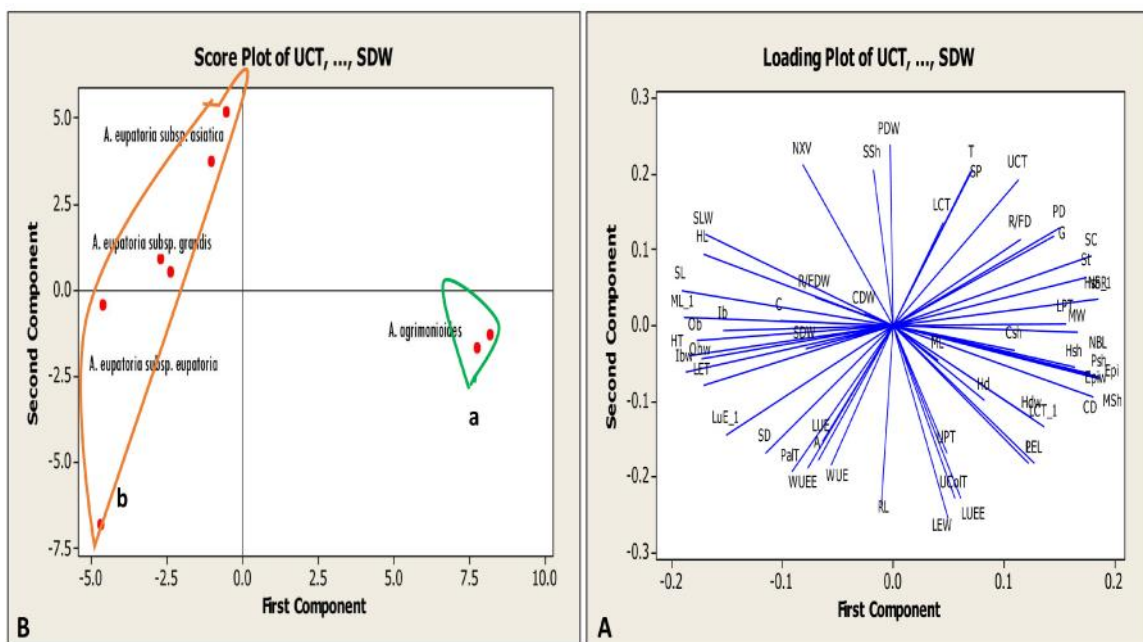
## جدول ۶- صفات مورد استفاده در آنالیز PCA.

Table 6. Character used in PCA analysis.

Abbreviation	Character	Abbreviation	Character
1. UCT.	Upper cuticle thickness of blade	30. NB L	Number of bract
2. LCT	Lower cuticle thickness of blade	31. Ob	Outer bract length
3. LUE	Length of upper epidermis of blade	32. Ob w	Outer bract width
4. WU E	Width of the upper epidermis of blade	33. Ib	Inner bract length
5. LuE	Length of the lower epidermis of blade	34. Ibw	Inner bract width
6. LET	Width of the lower epidermis of blade	35. CD	Calyx length
7. PalT	Palisade parenchymal thickness	36. CD W	Calyx width
8. SP	Spongy parenchyma	37. Epi L	Epicalyx length
9. LEL	Length of the lower epidermis of midrib	38. Epi w	Epicalyx width
10. LEW	Width of the lower epidermis of midrib	39. Csh	Calyx shape, ovate:0, elliptical:1
11. LUE E	Length of the upper epidermis of midrib	40. Psh	Petal shape: Oval -elliptical :0, obcordate:1
12. WU EE	Width of the upper epidermis of midrib	41. Hsh	Hypanthium shape: cup shape: 0, cup shape- rounded:1, obovate-cylindrical:2
13. UCol T	Upper collenchyma thickness	42. Hd	Hypanthium length
14. LCol T	Lower collenchyma thickness	43. Hd w	Hypanthium width
15. UPT	Upper parenchymal thickness	44. NS R	Number of spine rows: 3-4:0, 3:1, spine absent:2,
16. LPT	Lower parenchymal thickness	45. R/F D	Farrow / ridged Length ratio
17. Mid W	Width of midrib	46. R/F DW	Farrow / ridged width ratio
18. Mid L	Length of midrib	47. SSh	Seed shape: angular-spherical:0, ovate:1
19. ST	Stomata shape: sunken:0, raised:1, oblate:2	48. SL	Spine length
20. G	Glandular trichrome: absent:0, cylindrical- circular head:1	49. SL W	Spine width
21. C	Crystal type: polygonal:0, cubic- polygonal:1without crystal:2	50. A	Height of the pyramid shape part of the apex
22. MSh	The shape of the midrib, U shape:0, almost triangular:1	51. P	Width of the flat basal part
23. NXV	Number of xylem strain	52. SC	Seed color: light brown-dark, brown: 0, yellow - light brown:1, light brown: 2, green:3
24. T	The presence of absence of hairs: absent:0, present:1	53. RL	Seed width
25. PD	Petal length	54. HL	Seed length
26. Pdw	Petal width	55. Hsh	Hilum shape
27. SD	Seed dimension	56. HT	Hilum thickness
28. Sd	Spine direction	57. ML	Width of hilum margin
29. StN	Number of stamen 5-10: 0, 10-20:1		

افراشته پراکنده در *A. eupatoria* subsp. *asiatica*؛ الگوی پراکنش کرک روی میوه (در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* پشت‌ها تقریباً بدون کرک و شیارها کرک‌دار؛ در *A. eupatoria* subsp. *grandis* پشت‌ها تقریباً بدون کرک و شیارها دارای کرک انبوه؛ در *A. eupatoria* subsp. *asiatica* کرک بیشتر روی حاشیه و درون شیارها)، همچنین نوع کرک میوه می‌تواند برای تفکیک زیرگونه‌های *A. eupatoria* (به ویژه *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* دارای کرک‌های خاکستری بلند و *A. eupatoria* subsp. *asiatica* دارای

و تقریباً تخم‌مرغی در *Aremonia*)؛ حضور یا فقدان خار (خاردار در *Agrimonia* و فاقد خار در *Aremonia*)؛ شیاردار بودن یا شیاردار نبودن (فقدان شیار در سرده *Aremonia* است)، در جداسازی دو سرده مؤثرند. در حالی که ابعاد شیار، تعداد ردیف‌ها (۳-۴ ردیف) در *A. eupatoria* subsp. *grandis* و *A. eupatoria* subsp. *asiatica* در جهت خار (افقی-افراشته پراکنده در *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* و پراکنده و افراشته در *A. eupatoria* subsp. *grandis* و برگشته-



شکل ۴- نمودار رسته بندی مولفه‌های اصلی صفات تشریحی، ریخت‌شناسی گل، میوه و دانه آرایه‌های تحت مطالعه. **A.** PCA. بارگذاری صفات. **B.** بارگذاری آرایه‌ها

**Fig. 4.** Ordination diagram of principal component analysis of flower, fruit and seed anatomical and morphological characters of the species studied **A.** characters loading. **B.** Species loading.

غذایی بسیار فعال است و در اطراف آن تعداد زیادی رگه آوندی مشاهده می‌شود (Thorn, 1981). دانه در سرده *Agrimonia* دارای محل اتصال طویل، خطی و با حاشیه پهن و رگه، در حالی که در *Aremonia* کوتاه، تقریباً بیضی شکل، دارای حاشیه باریک و فاقد رگه‌های شاخص است. این صفات دارای ارزش تشخیصی و آرایه‌شناختی هستند و به عنوان ابزار تشخیصی در کلیدهای شناسایی مختلف مورد استفاده قرار گرفتند (Brouwer & Stahlin, 1980). طول رافه دانه در دو سرده *Agrimonia* و *Aremonia* تقریباً مشابه و در هر دو سرده تقریباً ۸۰ الی ۹۰ درصد طول دانه است. این صفت در بین آرایه‌های مورد ارزیابی فاقد اهمیت آرایه‌شناختی است.

آنالیز عددی گیاهان تحت بررسی منجر به تفکیک کامل دو سرده و زیرگونه‌های *A. eupatoria* شد. سرده *Aremonia* با صفات شاخصی از جمله شکل هیلوم (Hsh)، موقعیت روزنه (St)، تعداد ردیف خار (NSR)، طول و عرض کاسبرگ اضافی (Epicw) و شکل رگبرگ اصلی (MSh)، ضخامت کلانشیم تحتانی (LCT)، طول سلول اپیدرم تحتانی (LEL)، طول اپیدرم فوقانی رگبرگ اصلی (LUEE)، و عرض اپیدرم تحتانی رگبرگ اصلی (LEW)، از سرده *Agrimonia* تفکیک شد. از میان جمعیت‌های

کرک انبوه و تومنوز) مورد استفاده قرار گیرد. یافته‌های این تحقیق از نتایج مطالعات انجام شده گذشته مبنی بر تفکیک زیرگونه‌های *A. eupatoria* حمایت می‌کند (Romero Martin 1998; Attar et al., 2007; Johnson et al., 2004). Schönebek-Temesy 1969). صفات ریخت‌شناسی دانه (Esau, 1977; Barthlott, 1981, 1998) و زیرتیره Rosoideae (Dowidar 2003; Tantawy & Naseri; 2003) کاربرد داشته است. نتایج صفات ریخت‌شناسی دانه زیرطایفه *Agrimoniinae* نشان داد که شکل دانه در همه آرایه‌های تحت بررسی کروی-زاویه‌دار با قاعده مسطح است. به غیر از *A. eupatoria* subsp. *asiatica* که دارای دانه تخم‌مرغی شکل است. بدین ترتیب، ارزش آرایه‌شناختی این صفت به سطح زیر گونه محدود می‌شود. پهنای قاعده‌های دانه *Aremonia* بیشتر از *Agrimonia* و سطح دانه آن ناهموار و کرک‌دار است، درحالی‌که سطح دانه در سرده *Agrimonia* صاف و بدون کرک است. بر اساس نتایج این تحقیق، این صفات در شناسایی دو سرده کارآمد هستند. اطلاعات سطح دانه این بررسی با تحقیقات قبلی (Chung et al., 2012) هم‌خوانی دارد.

در مطالعه حاضر صفات مرتبط به هیلوم یا محل اتصال دانه به تخمدان مورد ارزیابی قرار گرفت. این ناحیه در هدایت آب و مواد

## REFERENCES

- Abdel Khalik, K.N.** 2006. Seed morphology of *Cuscuta* L. (Convolvulaceae) in Egypt and its systematic significance. Feddes Repert. 117: 217-224.
- Attar, F., Keshvari, A., Ghahreman, A., Zarre, S. & Aghabeigi, F.** 2007. Micromorphological studies on *Verbascum* (Scrophulariaceae) Iran with emphasis on seed surface, capsule ornamentation and trichomes. Flora 202: 169-175.
- Barthlott, W.** 1981. Epidermal and seed surface characters of plants: systematic applicability and some evolutionary aspects. Nord. J. Bot. 1: 345-354.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Theisen, I. & Wilhelmi, H.** 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. Bot. J. Linn. Soc. 126: 237-260.
- Brouwen, W. & Stahlin, A.** 1980. Seeds hand book for agriculture, horticulture and forestry with a key for identification identification of the important agricultural seeds; translated for the U.S. Department of Agriculture and the National Science Foundation, Washington D.C, by the Al-Ahram Center for Scientific Translations. pp: 116
- Cronquist, A.** 1968. The evolution and classification of flowering plants. Nelson, London. pp: 235
- Delucia, E. & Berlyni, G.B.** 1984. The effect of increasing elevation on leaf cuticle thickness and cuticular transpiration in balsam fir. Can. J. Bot. 62: 2423-2431.
- Chung, K.S., Hoang, N.G., Elisens, W.A. & Uneh, B.Y.** 2012. Phylogenetic implication of seed coat sculpturing in subtribe Agrimoniinae (Rosaceae). Korean J. Pl. Taxon. 42: 247-252.
- Esau, K.** 1977. Anatomy of seed plants, second ed. Wiley, New York. pp: 767
- Faghir, M.B., Attar, F., Farazmand, A., Ertter, B. & Eriksen, B.** 2010. Leaf trichome types in *Potentilla* L. (Rosaceae) and related genera in Iran. Acta Soc. Bot. Pol. 79: 139-145.
- Faghir, M.B., Khairkhan, Chaichi, K. & Shahi Shavvon, R.** 2015. Petiole indumentum types of the genus *Alchemilla* L. (Rosaceae) from Iran. Taxon. Biosys. 2: 23-31.
- Faghir, M.B., Ahmadi Gorji, A. & Heydari, M.** 2017. Diversity in floral morphological characters of the genus *Alchemilla* L. (Rosaceae) from Iran and its taxonomic significance. Nova Biol. Reperta 4: 116-127.
- Fock, W.O.** 1894. Rosaceae. Pp. 1-60 in Die Natürlichen Pflanzenfamilien, ed. A. Engler. Vol. 3, Abteilung 3. Leipzig: Ilhelm Engelmann.
- Hebda, R.J., Chinnappa, C.C. & Smith, B.M.** 1988. Pollen morphology of the Rosaceae of Western Canada. Grana 27: 95-113.
- Hebda, R.J. & Chinnappa, C.C.** 1990. Studies on the pollen morphology of Rosaceae in Canada. Rev. Palaeobot. Palynol. 64: 103-108.
- Hutchinson, J.** 1964. The genera of flowering plants, Vol. 1, Dicotyledons. Clarendon Press, Oxford.
- Johnson, L.A., Huish, K.H. & Porter, J.M.** 2004. Seed surface sculpturing and its systematic significance in *Gilia* (Polemoniaceae) and segregated genera. Int. J. Plant Sci. 165: 153-172.
- سه زیرگونه *A. eupatoria* subsp. *A. eupatoria*، دو زیرگونه *A. eupatoria* subsp. *asiatica* و *grandis* از *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* به واسطه دارابودن صفاتی مانند عرض گلبرگ (PDW)، شکل دانه (SSh)، تعداد رگه‌های چوب (NXV)، طول خار (SLW)، نسبت پشته/اشیار (R/FD) و عرض هیلوم (HL)، عرض حاشیه هیلوم (ML)، ضخامت هیلوم (HT)، طول برگه بیرونی (Ob) از *A. eupatoria* subsp. *eupatoria* جدا شدند. از طرفی این دو زیرگونه هم از طریق صفاتی مانند عرض گلبرگ (PDW)، شکل دانه (SSh)، تعداد رگه‌های چوب (NXV)، نسبت پشته/اشیار (R/FD) از یکدیگر جدا می‌شوند. یافته‌های این بررسی نشان داد علاوه بر صفات ریخت‌شناسی متداولی (به ویژه حضور و فقدان کاسبرگ فرعی و تعداد پرچم، تعداد و جهت خارهای روی میوه) که در رده بندی‌های رایج مورد استفاده قرار می‌گیرند (1969 Romero Martin, 1998; Schönebek-Temesy, 1998)، صفات تشریحی برگ و سایر صفات ریخت‌شناسی گل (شکل گلبرگ‌ها، برگه‌ها و گریبان)، میوه و دانه هم در شناسایی و تعیین حد و مرز بین دو سرده، دو گونه و زیرگونه‌ها گیاهان زیرطایفه Agrimoniinae مؤثرند.

## نتیجه گیری

یافته‌های این تحقیق نشان داد که صفات تشریحی و ریخت‌شناسی گل، میوه و دانه در زیرطایفه Agrimoniinae، دارای اهمیت آرایه‌شناختی هستند. آنالیز مؤلفه اصلی این صفات در تعیین روابط دو سرده، گونه و زیرگونه کارآمد هستند. همچنین نتایج این تحقیق از رده‌بندی رایج در فلورا ایرانیکا پشتیبانی می‌نماید. از این رو انجام مطالعات مولکولی جهت تعیین حد و مرز گونه‌ها و زیر گونه‌های این زیرطایفه ضرورت دارد.

## سپاسگزاری

بدینوسیله از خانم دکتر فریده عطار مدیر هرباریوم مرکزی دانشگاه تهران (TUH)، آقای دکتر علی اصغر معصومی از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور (TARI) و دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران (THE)، برای همکاری و در اختیار قرار دادن نمونه‌های گیاهی قدردانی می‌نماییم.

- Juzepczuk, S.W.** 1941. Rosaceae-Rosoideae, Prunoideae. In: Flora U.S.S.R., Vol. X.: Komarov, V.L. (ed.). Izd. Akad. Nauk. S.S.S.R., Moskva, Leningrad.
- Kaliyeva, A.N., Dyuskaliev, G.U., Newsome, A., Zhexembiyev, R.K. & Kurmanbayeva, M.S.** 2014. Studying the polymorphism of different *Agrimonia* L. populations growing in the south-eastern Kazakhstan. Life Sci. J. 11: 690-692.
- Kerr M.S.** 2004. A phylogenetic and biogeographic analysis of Sanguisorbeae (Rosaceae), with emphasis on the Pleistocene radiation of the high Andean genus *Polylepis*. Ph.D. dissertation, University of Maryland, College Park.
- Kalkman, C.** 2004. Rosaceae. In: Kubitzki, K. (ed.). The families and genera of vascular plants, flowering plants dicotyledons: Celastrales, Oxalidales, Rosales, Cornales, Ericales. Springer, Berlin. 6: 343-386.
- Khatamsaz, M.** 1992. Rosaceae. In: Assadi, M. et al. (eds.): Flora of Iran, No. 6: 88-140. RIFR, Tehran.
- Kumar, S., Jeelani, S.M., Rani, S., Kumari, S. & Gupta, R. C.** 2011. RC Exploration of intraspecific cytomorphological diversity in *Agrimonia eupatoria* L. (Rosaceae) from Western Himalayas, India. Cytologia 76: 81-88.
- Lee, S., K. Heo, J., Cho, C., Lee, W., Chen & S.C. Kim.** 2011. New insights into pollen morphology and its implications in the phylogeny of *Sanguisorba* L. (Rosaceae; Sanguisorbeae). Plant Syst. Evol. 291: 227-242.
- Metcalfe, C.R. & Chalk, L.** 1957. Anatomy dicotyledons II. Clarendon press, Oxford.
- Parveen, A. and Qaiser, M.** 2014. Pollen flora of Pakistan Lxxi. (Rosaceae). Pak. J. Bot. 46: 1027-1037.
- Potter, D., Eriksson, T., Evans, R.C., Oh, S., Smedmark, JEE. Morgan, DR., Kerr, M., Robertson, KR., Arsenault, M. & Dickinson, TA.** 2007. Phylogeny and classification of Rosaceae. Plant Syst. Evol. 266: 5-43.
- P'yankov, V.I. & Kondrachuk, A.V.** 2003. Basic types of structural changes in the leaf mesophyll during adaptation of Eastern Pamir plants to mountain conditions. Russ. J. Plant Physiol. 50: 28-35.
- Raven, P.H., Evert, R.F. & Eichorn, S.E.** 2005. Biology of plants. W.H. Freeman, New York, USA.
- Reitsma, T.J.** 1966. Pollen morphology of some European Rosaceae. Acta Bot. Neerl. 15: 290-307.
- Robertson, K.R.** 1974. The genera of Rosaceae in the southeastern United States. J. Arnold Arbor. 55: 303-662.
- Romero Martin, T.** 1998. *Agrimonia* L. In: Castroviejos S., Lainz M., Lopez Gonzales, G., Montserrat, P., Munz Garmendia, F., Paiva, J., Villar, L. (Eds.), Flora Iberica, Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid. 6: 369-374.
- Schonbech-Temesy, H.** 1969. Rosaceae. In: Rechinger, K.H. (ed.): Flora Iranica, vol. 66, pp. 78-114.
- Schulze-Menz G.K.** 1964. Rosaceae. In: Melchior, H. (ed.) Engler's syllabus der pflanzenfamilien II. 12<sup>th</sup> ed. Gebru' der Borntraeger, Berlin, pp. 209-218.
- Singh, G.** 2010. Plant systematics. Science Publishers Enfield, New Hampshire. 702 pp.
- Takhtajan, A.** 1997. Diversity and classification of flowering plants. Columbia University Press, New York. Pp. 319-320.
- Tantawy, M. & Naseri, M.N.** 2003. A contribution to the achene knowledge of Rosoideae (Rosaceae) LM and SEM. Int. J. Agric. Biol. 5: 105-112.
- Thorn, J.** 1981. Morphology and ultrastructure of maternal seed tissues of soybean in relation to the import of photosynthate. Plant Physiol. 67: 1016-1025.
- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. & Webb, D.A. (Eds).** 1969. Flora Europaea. Vol. 2. Cambridge University Press. pp. 125-153.
- Xiang, Y., Huang, CH., Hu, Y., Wen, J., Li, S., Yi, T., Chen, H., Xiang, J. & Hong Ma H.,** 2017. Evolution of Rosaceae fruit types based on nuclear phylogeny in the context of geological times and genome duplication. Mol. Biol. Evol. 34: 262-281.
- Zhang, S.D., Jin, J.J., Chen, Si.Y., Chase, M.W., Soltis, D.E., Li, H.T., Yang, J.B., Li, D.Z. & Yi, T.S.** 2017. Diversification of Rosaceae since the late cretaceous based on plastid retaceous based on plastid phylogenomics. New Phytol. 214: 1355-1367.

\*\*\*\*\*

**How to cite this article:**

**Faghir, M.B., Ghandharizadeh, Z. & Shamshiri, G.** 2020. Comparative anatomical and morphological investigations of the subtribe Agrimoniinae (Rosaceae) in Iran. Nova Biologica Reperta 7: 242-255. (In Persian).

مرضیه بیگم فقیر، م.ب.، قندهاری زاده، ز. و شمشیری، گ. ۱۳۹۹. مقایسه مطالعات تشریحی و ریخت‌شناسی زیرطایفه آگریمونینه از تیره گل‌سرخیان در ایران یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۲۴۲-۲۵۵.