

## بررسی ساختار تشریحی ساقه و برگ گونه‌های جنس *Carex* L. (Cyperaceae) در استان‌های خراسان شمالی، رضوی و جنوبی

ژینوس حجازی<sup>۱</sup>، جمیل واعظی<sup>۲\*</sup>، دریه امیری مقدم<sup>۱</sup> و فرشید معماربانی<sup>۳</sup>  
<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران  
<sup>۲</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران  
<sup>۳</sup> پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

### چکیده

جنس *Carex* L. از تیره Cyperaceae با داشتن حدود ۲۰۰۰ گونه یکی از بزرگترین جنس‌های گیاهان گل‌دار محسوب می‌شود. این جنس در فلات ایران دارای ۸۵ گونه است که تقریباً نیمی از آنها در ایران حضور دارند. در پژوهش حاضر، ساختار تشریحی ساقه و برگ ۱۲ گونه و زیرگونه در شمال شرق ایران متعلق به دو زیرجنس *Vigna* و *Carex* به صورت برش‌گیری دستی و رنگ‌آمیزی با آبی تولوئیدین بررسی شد. نتایج گویای این بود که برخی از صفات تشریحی ساقه و برگ نظیر: نحوه قرارگیری دستجات آوندی، اندازه حفره‌های هوایی، نوع سه‌وجهی بودن ساقه، تعداد لایه‌های اسکله‌رانشیمی، میزان اسکله‌ریشی شدن زوایای ساقه و ضخامت کوتیکول در تفکیک گونه‌های مزبور مؤثر هستند. مطالعه حاضر تأیید کننده طبقه‌بندی‌های کلاسیک بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی نبود و نتایج حاکی از ارتباط مستقیم شرایط آبی گیاه با صفات تشریحی بود.

**واژه‌های کلیدی:** *Cyperaceae*, *Carex*، ساختار تشریحی برگ و ساقه، رنگ‌آمیزی آبی تولوئیدین، استان‌های خراسان

### مقدمه

شده‌اند. زیستگاه گونه‌های *Carex* از ساوان‌های خشک باز تا جنگل‌های بارانی، علفزارهای مرطوب و حتی توندراهای قطبی متغیر است (Starr et al., 1999). بر اساس فلورا ایرانیکا (Kükkenen, 1998) برای تیره Cyperaceae دو زیرتیره و چهار قبیله ذکر شده است که جنس *Carex* بر این اساس متعلق به زیرتیره Caricoideae و تبار Cariceae است. حدود ۸۵ گونه

جنس *Carex* متعلق به تیره Cyperaceae با داشتن حدود ۲۰۰۰ گونه از حیث غنای گونه‌ای از بزرگترین جنس‌های گیاهی محسوب می‌شود (Reznicek, 1990). اگرچه جنسی جهان شمول است اما بیشتر گونه‌های این جنس در مناطق معتدله شمالی با مرکز تنوع در آمریکای شمالی و آسیای شرقی پراکنده

از نظر خصوصیات تشریحی برگ و ساقه و سطح اپیدرمی شکمی (تحتانی) بررسی شدند. به منظور تعیین کارآمدی این خصوصیات در جدایی گونه های این جنس در ناحیه مورد مطالعه، تحلیل مؤلفه های اصلی و خوشه انجام شد. در پایان، سعی شد تا با این مطالعه، اهمیت تاکسونومیک خصوصیات تشریحی در جداسازی تاکسون های مورد بررسی ارزیابی شود.

### مواد و روش ها

برای مطالعه ساختار تشریحی مقاطع برگ و ساقه ۱۲ گونه و زیرگونه جنس *Carex*، از روش برش دستی و رنگ آمیزی با آبی تولوئیدین (O'Brien *et al.*, 1964) استفاده شد. فهرست تاکسون های مطالعه شده در جدول ۱ درج شده است. فرآیند رنگ آمیزی سریع و ساده با استفاده از آبی تولوئیدین نتایجی را ایجاد می کند که در آن بافت ها از تمایز خوبی برخوردار هستند. از این نظر، این روش یک روش نوین در مطالعات تشریحی بافت های گیاهی محسوب می شود (Peterson *et al.*, 2008).

ابتدا برگ ها و ساقه های تازه کاملاً بالغ و تمایز یافته، در محلول تثبیت کننده فرم آلدهید-استیک اسید-الکل (FAA) قرار داده شدند. مقاطع برش گیری شده از ساقه و برگ در سری های اتانول آبیگری شدند، اما قبل از این، بافت ها برای بی رنگ شدن و پاک سازی کلروفیل ها، به مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپو کلریت سدیم ۲۰ درصد قرار داده شدند. سپس، برش ها برای رنگ آمیزی به محلول رنگ آبی تولوئیدین (۰/۵ درصد) در اتانول ۱۰۰ درصد منتقل شدند و برای نتیجه بهتر، به مدت ۳/۵ دقیقه حرارت داده شدند. مقاطع رنگ شده پس از شستشو با آب مقطر برای مطالعه روی لام برده و با چسب انتلان

از این جنس در فلات ایران وجود دارد که نیمی از این تعداد از کشور ایران گزارش شده است. استان های خراسان (شمالی، رضوی و جنوبی) به دلیل داشتن وسعت زیاد و آب و هوای متغیر و مرزهای مشترک، غنای گونه ای قابل ملاحظه ای از این جنس را دارا هستند.

جنس *Carex* از بهترین جنس های مطالعه شده در تیره Cyperaceae محسوب می شود. Metcalfe (۱۹۷۱) اطلاعات تشریحی از ۴۰۴ گونه *Carex* را پیش از سال ۱۹۷۰ منتشر کرد و تعداد بی شماری از گونه ها را متعاقباً مورد بررسی قرار داد. این جنس به طور کلی از نظر ویژگی های ریخت شناسی ناهمگن است؛ برای مثال Spinner (۱۹۰۲) ۹ تغییر شکلی در برگ، ۵ نوع خار، ۸ فنوتیپ روزنه ای، ۳ نوع سلول مفصلی و چندین نوع از ساختار جسم سیلیسی را در سلول های اپیدرمی رگبری شناسایی کرد.

Szczepanik-Janyszek و Klimko (۱۹۹۹) اهمیت مطالعه تشریحی برگ و ساقه را در بخش *Muehlenbergianae* (L.H. Bailey) Kük نمودند. نتایج حاصل از مطالعات آنها نتوانست معیار تشخیصی خوبی برای اعضای این بخش فراهم کند. با وجود این، در پژوهش حاضر خصوصیات تشریحی خوبی برای مطالعات بعدی معرفی شدند.

Ford و Starr (۲۰۰۱) کاربرد فیلوژنتیک و تاکسونومی ساختارهای تشریحی برگ و ساقه را در بخش *Phyllostachys* بررسی کردند. نتایج گویای این بود که داده های تشریحی به خوبی می توانند ۸ گونه موجود در این بخش را از هم تفکیک کنند.

در پژوهش حاضر، ۱۲ گونه و زیرگونه جنس *Carex* در استان های خراسان شمالی، رضوی و جنوبی

تثبیت شدند و در نهایت با میکروسکوپ نوری Olympus مدل BX-50 مطالعه شدند. برای مطالعه سطح اپیدرم شکمی برگ، ابتدا قطعات ۲ تا ۵ سانتی متری از برگ جدا شدند. در مرحله بعد، با استفاده از یک تیغ تیز به صورت کاملاً مورب روی سطح پشتی برگ عمل خراشیدن به آرامی انجام شد. برای اطمینان از زدوده شدن کامل کلروفیل‌ها، سطوح نازک اپیدرمی برای ۲ تا ۳ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد قرار داده شدند. پس از شستشو مقاطع با رنگ کارمن زاجی رنگ آمیزی شدند. سطوح آماده شده با میکروسکوپ نوری Olympus مدل BX-50 با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ مطالعه شدند.

جدول ۱- فهرست اسامی گونه‌های مطالعه شده، جمع‌آوری کننده‌ها، تاریخ و محل جمع‌آوری آنها. (\*: نمونه‌های هرباریومی موجود در هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد هستند، بقیه متعلق به هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد است).

کد هرباریومی	زیر جنس	نام گونه	جمع‌آوری کننده	محل جمع‌آوری	تاریخ جمع‌آوری
70111*	Carex	<i>C. sylvatica</i> Huds.	حجازی، بصیری	جنوب غرب بجنورد، رثین، دره ساری گیو	۱۳۹۰/۰۳/۰۵
44370	Carex	<i>C. diluta</i> M.B.	معماریانی، ارجمندی	غرب بجنورد منطقه حفاظت شده قورخود، کاستان-زوی جنان	۱۳۹۰/۰۳/۱۹
39834	Carex	<i>C. distans</i> L.	جوهرچی، زنگویی	شرق اسفراین-پارک ملی ساری گل-دره دهنه اجاق	۱۳۸۷/۰۲/۱۷
13011*	Carex	<i>C. songorica</i> Kar. & Kir.	حجازی، بصیری	جنوب غربی بجنورد-رثین-زوی رثین به سمت گرمگ	۱۳۹۰/۰۳/۲۳
38016	Carex	<i>C. melanostachya</i> M. Bieb. ex Willd	معماریانی، زنگویی و ارجمندی	جنوب غربی بجنورد-رثین-برزانلو تا ابتدای مرتع مرجان	۱۳۸۵/۰۳/۱۸
44500	Carex	<i>C. halleriana</i> Asso.	معماریانی، ارجمندی	غرب بجنورد-منطقه حفاظت شده قورخود-ارتفاعات بالای کانی سالان-شیب شمالی کوه قورخود	۱۳۹۰/۰۳/۲۹
44250	Carex	<i>C. orbicularis</i> subsp. <i>kotschyana</i> (Boiss.& Hohen.) Hukkonen	بصیری	شمال شیروان-منطقه حفاظت شده گلول و سرانی	۱۳۹۰/۰۳/۱۸
35811	Vignea	<i>C. pachystylis</i> J.Gay.	معماریانی و زنگویی	غرب بجنورد-درکش-حاشیه رودخانه کنگرزو	۱۳۸۴/۰۴/۱۰
28263	Vignea	<i>C. physodes</i> subsp. <i>physodes</i> M.B.	رافعی، زنگویی	جنوب شرق بیرجند-سربیشه به ماخونیک	۱۳۸۰/۰۲/۲۰
34369	Vignea	<i>C. cuprina</i> (Sándor ex Heuff.) Nendtv.ex A.Kern.	معماریانی و ارجمندی	غرب بجنورد-منطقه حفاظت شده قورخود-کاستان-زوی جنان	۱۳۸۹/۰۳/۰۴
90113*	Vignea	<i>C. divisa</i> Huds.	حجازی، بصیری	سرخس، مزداوند	۱۳۹۰/۰۲/۲۸
12011*	Vignea	<i>C. divulsa</i> subsp. <i>divulsa</i> Stocks	حجازی، بصیری	طرقه، دهبار	۱۳۹۰/۰۲/۲۰

### مطالعه خصوصیات تشریحی برگ، ساقه و سطح

اپیدرم شکمی: پس از آماده‌سازی لام‌ها از مقاطع برگ، ساقه و سطح اپیدرم شکمی، تصاویر آنها برای بررسی‌های دقیق تشریحی توسط نرم‌افزار Dino Capture نسخه ۲/۰ (AnMo Electronics Corporation) و ابزار Dino Capture Eye تهیه شد.

صفات تشریحی متمایز کننده با مطالعه منابع مختلف (نظیر مطالعات Metcalfe (۱۹۷۱)، Standley (۱۹۸۹)، Starr و Ford (۲۰۰۱) انتخاب شد. همچنین، برخی صفات تشریحی برای نخستین بار در این مطالعه معرفی شدند. صفات ارزیابی شده به صورت ماتریسی از داده‌ها در نرم‌افزار Excel وارد شدند (جدول ۲).

جدول ۲- فهرست صفات کمی و کیفی تشریحی ارزیابی شده در گونه‌های مطالعه شده جنس *Carex* در استان‌های خراسان

شماره	صفت	حالت صفت/مقیاس
۱	ضخامت برگ Thickness of leaf (LETH)	میکرومتر
۲	تعداد دستجات آوندی Number of vascular bundles (NVBU)	شمارش
۳	طول سلول اپیدرمی پستی Length of cell (adaxial epidermis) (CLLN)	میکرومتر
۴	عرض سلول اپیدرمی پستی Cell width (adaxial epidermis) (CLWD)	میکرومتر
۵	ارتفاع زواید پستانکی اپیدرمی پستی Papilla height (adaxial epidermis) (PAHG)	میکرومتر
۶	ضخامت کوتیکول پستی Cuticle thickness (adaxial epidermis) (CUTH)	میکرومتر
۷	طول سلول اپیدرمی شکمی Cell length (abaxial epidermis) (CLLG)	میکرومتر
۸	عرض سلول اپیدرمی شکمی Cell width (abaxial epidermis) (CLWI)	میکرومتر
۹	ارتفاع زواید پستانکی اپیدرمی شکمی Papilla height (abaxial epidermis) (PPHG)	میکرومتر
۱۰	ارتفاع روزنه Stomata height (abaxial epidermis) (STLN)	میکرومتر
۱۱	ضخامت کوتیکول شکمی Cuticle thickness (abaxial epidermis) (CUTN)	میکرومتر
۱۲	نسبت طول به عرض سلول‌های اپیدرمی پستی Ratio of length to width of cells (abaxial) (RLWC)	بدون مقیاس
۱۳	نسبت طول به عرض سلول‌های اپیدرمی شکمی Ratio of length to width of cells (adaxial) (RLWA)	بدون مقیاس
۱۴	متوسط طول ستون اسکلرانشیمی در ساقه Average length of peripheral sclerenchyma girders of stem (ALPS)	میکرومتر
۱۵	تعداد دستجات آوندی بزرگ در ساقه Number of large vascular bundle in stem (NLVB)	شمارش
۱۶	عرض ستون اسکلرانشیمی در ساقه Width of sclerenchyma girders in stem (WSGS)	میکرومتر
۱۷	متوسط طول حفره‌های هوایی در برگ Average length of air cavities in leaf (LACL)	میکرومتر

شماره	صفت	حالت صفت/مقیاس
۱۸	متوسط عرض حفره‌های هوایی در ساقه Average width of air cavities in stem (WACS)	میکرومتر
۱۹	متوسط طول حفره‌های هوایی در ساقه Average length of air cavities in stem (LACS)	میکرومتر
۲۰	متوسط عرض حفره‌های هوایی در برگ Average width of air cavities in leaf (WACL)	میکرومتر
۲۱	متوسط طول غلاف‌های آوندی در برگ Average length of bundle sheaths in leaf (ALBL)	میکرومتر
۲۲	متوسط عرض غلاف‌های آوندی در برگ Average width of bundle sheaths in leaf (AWBL)	میکرومتر
۲۳	متوسط طول غلاف‌های آوندی در ساقه Average length of bundle sheaths in stem (ALBS)	میکرومتر
۲۴	متوسط عرض غلاف‌های آوندی در ساقه Average width of bundle sheaths in stem (AWBS)	میکرومتر
۲۵	طول اسکلرانشیم حاشیه‌ای در برگ Length of marginal sclerenchyma in leaf (LGMS)	میکرومتر
۲۶	عرض اسکلرانشیم حاشیه‌ای در برگ Width of marginal sclerenchyma in leaf (WDMS)	میکرومتر
۲۷	ضخامت کوتیکول در ساقه Cuticle thickness of the stem (THCS)	میکرومتر
۲۸	تعداد سلول‌های مفصلی Number of bulliform cells (NBUL)	شمارش
۲۹	متوسط طول سلول‌های مفصلی Average length of bulliform cell (LGBU)	میکرومتر
۳۰	متوسط عرض سلول‌های مفصلی Average width of bulliform cell (WDBU)	میکرومتر
۳۱	متوسط طول ستون اسکلرانشیمی بالایی در برگ Average length of upper girder in leaf (LUGI)	میکرومتر
۳۲	متوسط طول ستون اسکلرانشیمی پایینی در برگ Average length of lower girder in leaf (LLGI)	میکرومتر
۳۳	متوسط عرض ستون اسکلرانشیمی بالایی در برگ Average width of upper girder in leaf (WUGI)	میکرومتر
۳۴	متوسط عرض ستون اسکلرانشیمی پایینی در برگ Average width of lower girder in leaf (WLGI)	میکرومتر
۳۵	ارتفاع روزنه در ساقه Height of stomata in stem (LGCS)	میکرومتر
۳۶	فاصله آوندهای بدون ستون تا اپیدرم Distance of girderless vesseles from epidermis (DGLE)	میکرومتر
۳۷	فاصله غلاف‌های آوندی کوچک تا اپیدرم پستی Distance of minor bundle sheaths from adaxial epidermis (DMDE)	میکرومتر
۳۸	فاصله غلاف‌های آوندی کوچک تا اپیدرم شکمی Distance of minor bundle sheaths from abaxial epidermis (DMBE)	میکرومتر
۳۹	تعداد لایه‌های سلول‌های کلرانشیمی زیر حفره‌های هوایی Number of chlorenchyma cell layers under air cavities (NPLB)	شمارش

شماره	صفت	حالت صفت/مقیاس
۴۰	تعداد لایه‌های اپیدرمی Number of epidermis layers (NELY)	شمارش
۴۱	تعداد لایه‌های سلول‌های کلرانشیمی بالای حفره‌های هوایی Number of chlorenchyma cell layers above air cavities (NPLU)	شمارش
۴۲	ضخامت اسکلرانشیم در ناحیه ناو Sclerenchyma thickness in keel (THSK)	میکرومتر
۴۳	ضخامت طولی ناو Longitudinal thickness of keel (TLKE)	میکرومتر
۴۴	ضخامت عرضی ناو Latitudinal thickness of keel (WKEL)	میکرومتر
۴۵	عمق گودی ناو Depth of keel groove (COKE)	میکرومتر
۴۶	ضخامت عرضی اسکلرانشیم ناو Latitudinal thickness of Sclerenchyma of keel (WSKE)	میکرومتر
۴۷	شاخص روزنه‌ای Stomatal index (STIN)	میکرومتر
۴۸	تراکم روزنه‌ای Density of stomata (STDE)	تعداد در میلی‌متر مربع
۴۹	طول سلول نگهبان روزنه Length of stomatal guard cell (LGST)	میکرومتر
۵۰	طول سلول همراه روزنه Length of subsidiary cell (LGGC)	میکرومتر
۵۱	عرض سلول نگهبان روزنه Width of stomatal guard cell (WDST)	میکرومتر
۵۲	عرض کلی روزنه Total width of stomata (TWST)	میکرومتر
۵۳	جایگاه زواید پستانکی Papilla location (PALO)	۰. فاقد زواید پستانکی ۱. پشتی ۲. شکمی ۳. حاشیه برگ ۴. بسیار متراکم در سطح پشتی و کمتر در سطح شکمی
۵۴	شکل حفره‌های هوایی در برگ Shape of air cavities in leaf (SHAV)	۱. لوبیایی-کلیوی ۲. نعل اسبی ۳. مستطیلی کشیده ۴. بیضوی ۵. مربعی ۶. دایره‌ای ۷. دمبلی شکل ۸. نامنظم
۵۵	نوع سه وجهی شدن ساقه Type of triangular stem (TTAS)	۱. نرم سه وجهی شده ۲. تقریباً استوانه‌ای ۳. تیز سه وجهی
۵۶	نوع دستجات آوندی Type of vascular bundle (peripheral or central) (TVBU)	۱. پیرامونی و نیمه پیرامونی ۲. پیرامونی و کاملاً یکی در میان با آوندهای کوچک ۳. پیرامونی با تعداد کمی آوند نیمه پیرامونی ۴. تماماً پیرامونی ۵. پیرامونی و نیمه پیرامونی (یکی در میان با آوندهای کوچک) و بزرگ در حواشی
۵۷	نوع ناو Type of keel (TPKE)	۱. کج و تیز همراه با زواید پستانکی ۲. کاملاً گرد ۳. تیز ۴. کج و گرد ۵. کج و نیمه تیز ۶. گرد ۷. نوک تیز با اسکلرانشیم کج ۸. گرد با اسکلرانشیم کج
۵۸	شکل حفره‌های هوایی در ساقه Shape of air cavities in stem (SPAC)	۰. فاقد حفره هوایی ۱. بیضوی ۲. دایره‌ای-بیضوی ۳. مستطیلی ۴. نعل اسبی شکل ۵. بیضوی کشیده ۶. دایره‌ای کوچک
۵۹	حضور اسکلرانشیم حاشیه‌ای در برگ Presence of marginal Sclerenchyma in leaf (PMSL)	۰. عدم حضور ۱. حضور

شماره	صفت	حالت صفت/مقیاس
۶۰	جایگاه دستجات آوندی کوچک (بالای حفره‌های هوایی یا بین آنها) Position of minor vascular bundle (overtop of air cavity or between air cavity) (PMVB)	۰. فاقد آوندهای کوچک ۱. پایین‌تر از حفره‌های هوایی ۲. مابین حفره‌های هوایی
۶۱	نوع ستون اسکلرانشیمی پستی (منقطع شده با سلول‌های پارانشیمی یا کاملاً اسکله شده) Type of adaxial girders (interrupted by parenchymatous cells vs completely sclerified) (TADG)	۱. کاملاً اسکلرانشیمی شده ۲. گسیخته شده با سلول‌های پارانشیمی ۳. تعداد کمی از آوندها اسکلرانشیمی شده، بقیه بدون ستون ۴. تمام غلاف‌ها بدون ستون
۶۲	اسکلرانشیمی شدن ساقه Sclerification of stem angles (AGSS)	۰. اسکلرانشیمی نشده ۱. اسکلرانشیمی شده
۶۳	حضور زواید پستانکی اپیدرمی در ساقه Presence of epidermal papillae (PEPS)	۰. فقدان زواید پستانکی ۱. تنها در زوایای ساقه ۲. در تمام سطوح ساقه
۶۴	حضور حفره‌های روزنه‌ای در ساقه Presence of epistomatal cavities in stem (PECS)	۰. عدم حضور ۱. حضور
۶۵	حضور حفره‌های روزنه‌ای در برگ Presence of epistomatal cavities in leaf (PECL)	۰. عدم حضور ۱. حضور
۶۶	حضور زواید پستانکی روی اپیدرم پستی Presence of papillae on adaxial surface (PPAD)	۰. عدم حضور ۱. حضور
۶۷	حضور زواید پستانکی روی اپیدرم شکمی Presence of papillae on abaxial surface (PPAB)	۰. عدم حضور ۱. حضور
۶۸	حضور روزنه در ساقه Presence of stomata in stem (PSTS)	۰. عدم حضور ۱. حضور
۶۹	شکل کلی برگ Outline shape of leaf (OTSH)	۱. شکل M ۲. شکل

### تحلیل داده‌های حاصل از مطالعه تشریحی: در

مجموع، ۵۲ صفت کمی و ۱۷ صفت کیفی حاصل از مطالعه تشریحی ساقه، برگ و سطح اپیدرمی شکمی ارزیابی شدند. صفات کیفی با شاخص بصری در تصاویر تشخیص داده شدند و صفات کمی با ابزار خط‌کش و توسط نرم‌افزار Adobe Photoshop CS5 اندازه‌گیری شدند. مقادیر اندازه‌گیری شده صفات کمی و کیفی برای افراد گونه‌های مطالعه شده در ماتریسی در نرم‌افزار Excel گردآوری شدند. برای تعیین تطابق توزیع نرمال مقادیر صفات کمی از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. مقادیری از صفات کمی که از توزیع نرمال پیروی نمی‌کردند با روش ترانسفورماسیون Z-score دارای میانگین ۰ و انحراف معیار ۱ شده، به این صورت نرمال شدند. سپس، برای تعیین معنی‌داری اختلاف

مقادیر صفات کمی بین گونه‌های مطالعه شده، آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA به کار برده شد. برای تعیین معنی‌داری اختلاف صفات کیفی از آزمون Kruskal-Wallis استفاده شد. آزمون‌های اشاره شده با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت. همچنین، برای تعیین قرابت و روابط گونه‌ای از آنالیزهای مؤلفه‌های اصلی و خوشه‌ای با روش UPGMA استفاده شد. آنالیز مؤلفه‌های اصلی با نرم‌افزار CANOCO نسخه ۴ (Ter Braak and Šmilauer, 2002) و تحلیل خوشه‌ای با نرم‌افزار NTSYS نسخه ۲ (Rohlf, 2000) انجام شد.

### نتایج

**نتایج مطالعات تشریحی برگ:** شکل کلی مقطع عرضی برگ در گونه‌های بررسی شده *Carex*,

تعدادی از گونه‌ها اتاقک‌های زیر روزنه‌ای کاملاً مشهود هستند. روی سطوح اپیدرمی فوقانی و تحتانی در برخی از گونه‌ها اجسام سیلیسی به صورت برآمدگی‌های پستانکی و سیخکی دیده می‌شوند که از جمله ویژگی‌های خوب تشریحی در تشخیص گونه‌های دارای این زواید است (شکل‌های ۱، ۲ و ۳).

#### نتایج حاصل از مطالعات تشریحی ساقه: شکل

کلی ساقه در مقطع عرضی، از سه گوش تیز تا تقریباً استوانه‌ای متغیر هستند. روی سطح اپیدرم ساقه لایه‌ای از کوتیکول پوشیده شده است. همچنین، اجسام سیلیسی روی سطح اپیدرمی ساقه به صورت برجستگی‌های پستانکی در تعدادی از گونه‌ها مشاهده می‌شود. در زیر اپیدرم بلافاصله بعد از یک یا چند لایه سلول کلرانثیمی می‌توان سلول‌های پارانشیمی را دید که تا مغز ساقه امتداد دارند. غلاف‌های آوندی درشت و ریز به صورت پیرامونی تا نیمه پیرامونی تنها در حواشی ساقه آرایش یافته‌اند در حالی که در ناحیه مغزی غلاف آوندی وجود ندارد. ستون‌های اسکلرانثیمی در یک یا هر دو سوی غلاف‌ها مشخص می‌شوند که تا زیر اپیدرم و یا مغز ساقه کشیده شده‌اند. حفره‌های هوایی در اغلب گونه‌ها دیده می‌شوند و در شکل و اندازه، میان گونه‌ها تمایز ایجاد می‌کنند. در تعدادی از گونه‌ها در ساقه، روزنه و اتاقک‌های زیر روزنه‌ای را می‌توان دید (شکل‌های ۴ و ۵).

#### نتایج حاصل از مطالعه سطوح اپیدرمی: در سطوح

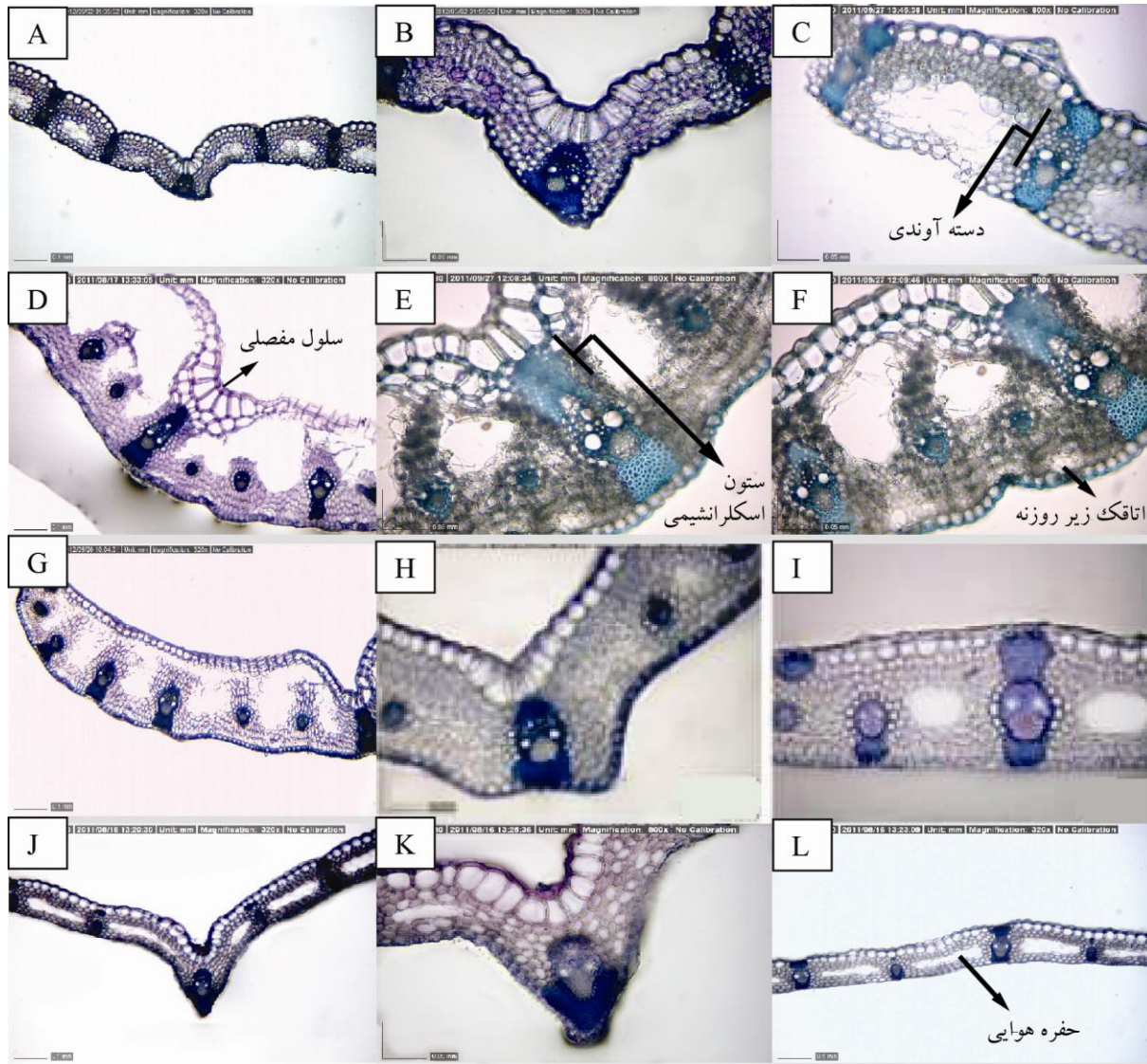
اپیدرمی، حضور سلول‌های مستطیلی بزرگ در نواحی بین رگبری مشهود است. دیواره‌های سلولی آنتی‌کلینالی بسیار مواج است و در رأس، خمیدگی‌ها ضخیم شده و ظاهر گره‌مانند پیدا می‌کنند. روزنه‌ها در سطح اپیدرم در ردیف‌های طولی در نواحی بین رگبری سطح زیرین

V شکل در اغلب گونه‌ها و M شکل در *C. melanostachya* بود. در برش عرضی برگ می‌توان در ناحیه میانی، ناو را مشاهده کرد که دارای تنوع شکلی از نوک تیز راست تا نوک گرد و کج است. سلول‌های مفصلی در سطح بالایی برگ که به صورت سلول‌های اپیدرمی درشت مشاهده می‌شوند نیز از نظر اندازه و تعداد در بین گونه‌های مطالعه شده متغیر بودند. همچنین، تعداد لایه‌های اپیدرمی در سطح فوقانی برگ در گونه *C. physodes* از سایر گونه‌ها متفاوت بود. اپیدرم فوقانی و تحتانی را لایه نسبتاً ضخیمی از کوتیکول پوشانیده است که در میان برخی از گونه‌ها از نظر ضخامت، تفاوت معنی‌داری وجود دارد. در زیر اپیدرم‌های فوقانی و تحتانی یک یا چند لایه سلول‌های پارانشیمی کلروفیل‌دار به نام کلرانثیم حضور دارد. آناتومی کرانز که در گیاهان C4 یافت می‌شود در این گیاهان نیز مشاهده می‌شود. دستجات آوندی توسط غلاف آوندی (متشکل یک لایه سلول پارانشیمی و یک لایه سلول اسکلرانثیمی) احاطه شده‌اند، به طوری که معمولاً چوب در داخل و آبکش در بیرون قرار می‌گیرد. این دستجات با آرایش خطی در طول برگ پراکنده شده‌اند. از ویژگی‌های بارز برگ‌های این گیاهان داشتن ستون‌های اسکلرانثیمی است که از غلاف‌های آوندی تا زیر اپیدرم فوقانی و تحتانی امتداد دارند. طول و عرض این ستون‌ها، حضور یا عدم حضور آنها در هر دو سوی غلاف‌های آوندی از جمله ویژگی‌های هستند که در میان برخی از گونه‌ها تفاوت ایجاد کردند. حفره‌های هوایی با اندازه و شکل‌های متفاوت ما بین غلاف‌های آوندی برگ متمرکز شدند. همچنین، حضور روزنه‌ها از نوع پاراسیتیک منحصر به سطح زیرین برگ شده است. در

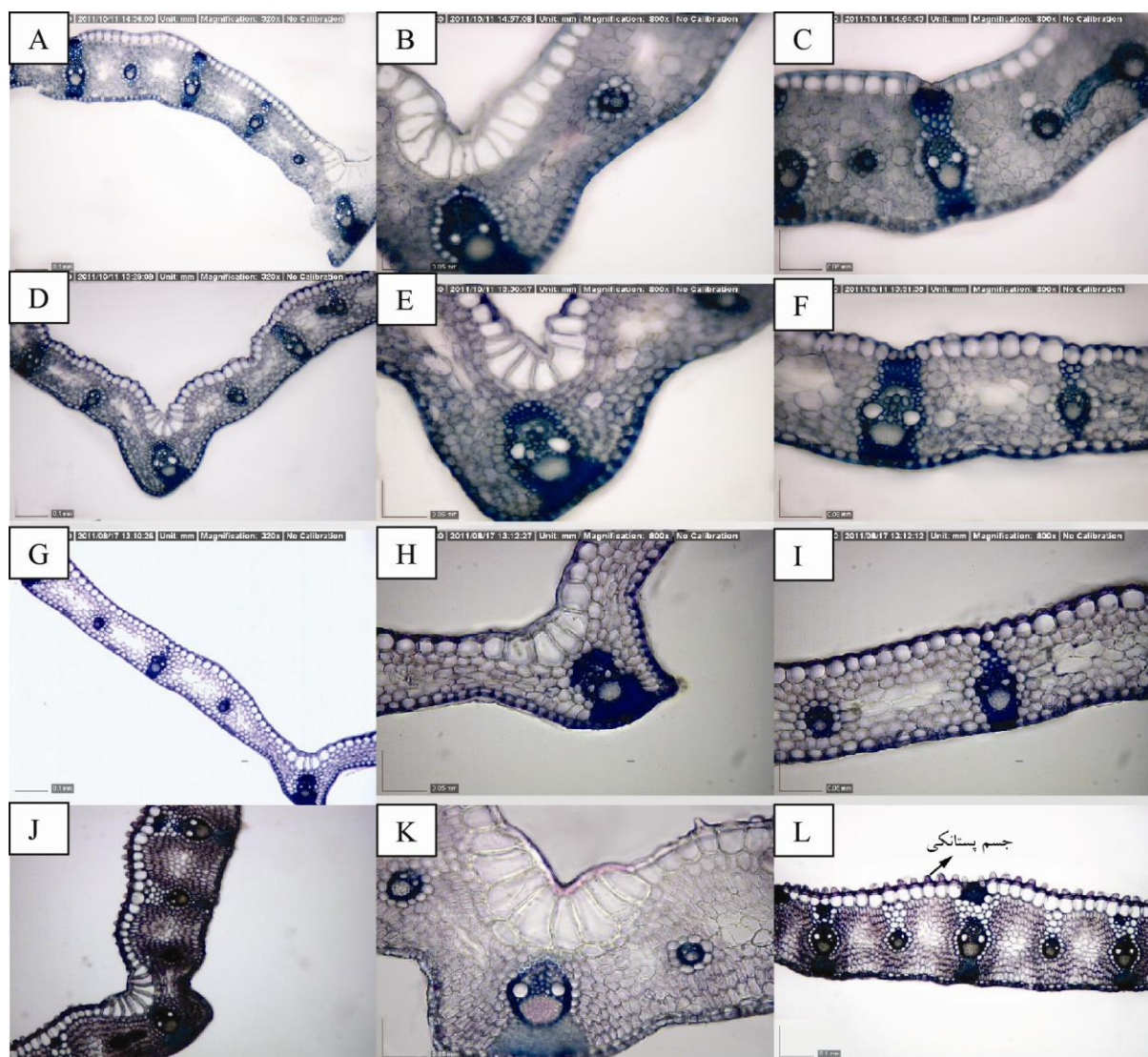


سلول‌های همراه روزنه قرار می‌گیرند. در سطوح اپیدرمی حضور یا عدم حضور اجسام سیلیسی پستانکی یا سیخکی در دو سطح فوقانی و تحتانی برگ در تفکیک گونه‌ها حایز اهمیت است (شکل ۶).

(هیپوستوماتی) آرایش یافته‌اند. ممکن است روزنه‌ها در این ردیف‌ها توسط یک یا تعدادی سلول بین رگبرگی جدا شده باشند. روزنه‌ها از نوع پاراسیتیک هستند. سلول‌های رگبرگی مجاور با روزنه تا حدودی در بالای

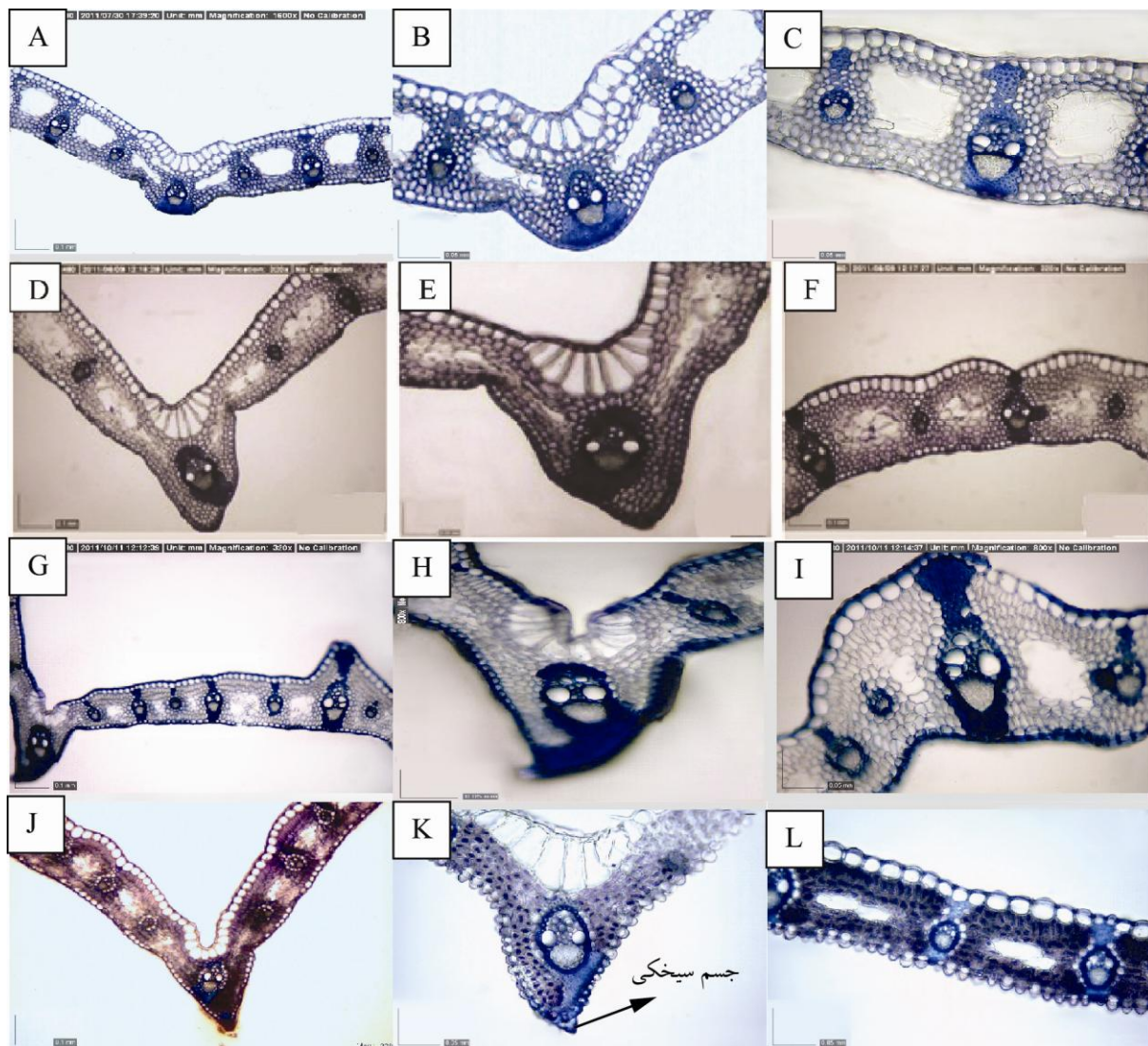


شکل ۱- برش عرضی برگ. تصاویر از سه بخش مختلف تهیه شده است: چپ (۴۰×): نمای کلی، وسط (۱۰۰×): ناو، راست (۱۰۰×): بخش میانی. دسته آوندی، اتاقک زیر روزنه، ستون اسکرانشیمی، سلول مفصلی و حفره هوایی با پیکان سیاه در شکل نشان داده شده‌اند. (C و B، A) میانی. (C، *sylvatica* (L و K، J؛ *pachystylis* (I و H، G؛ *physodes* (F و E، D؛ *C. halleriana*

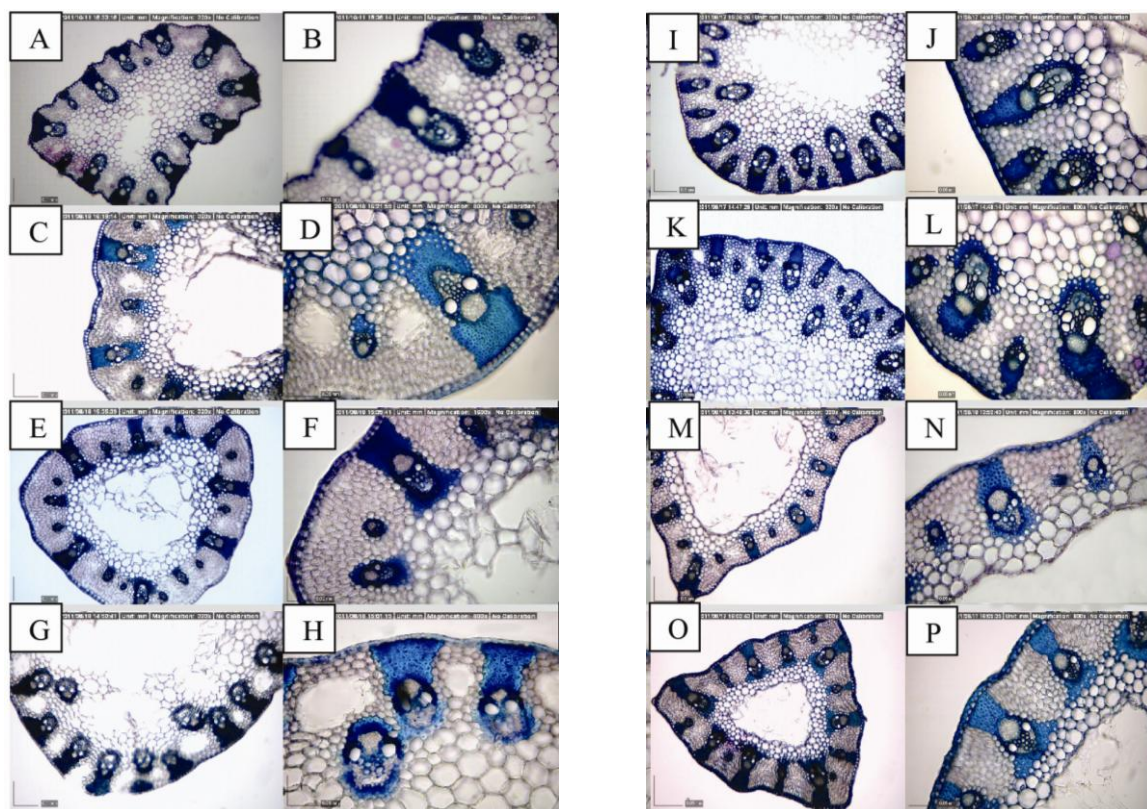


شکل ۲- برش عرضی برگ. تصاویر از سه بخش مختلف تهیه شده است: چپ ( $\times 40$ ): نمای کلی، وسط ( $\times 100$ ): ناو، راست ( $\times 100$ ): بخش میانی. جسم پستانکی با پیکان سیاه در شکل نشان داده شده‌اند. A، B و C: *C. diluta*؛ D، E و F: *C. distans*؛ G، H و I: *C. divulsa*؛ J و K: *C. divisa* (L).

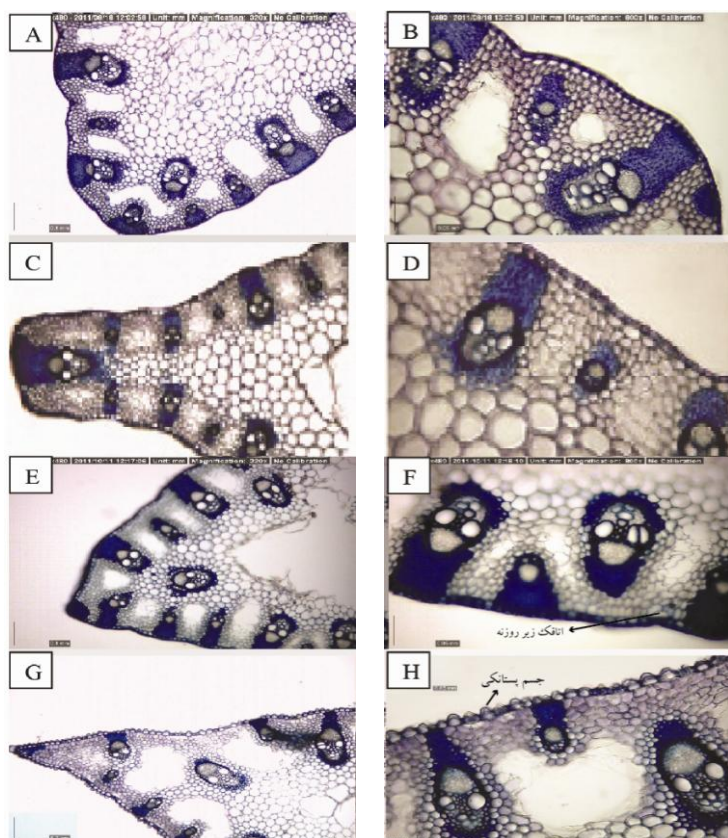




شکل ۳- برش عرضی برگ. تصاویر از سه بخش مختلف تهیه شده است: چپ ( $40\times$ ): نمای کلی، وسط ( $100\times$ ): ناو، راست ( $100\times$ ): بخش میانی. جسم سیخکی با پیکان سیاه در شکل نشان داده شده‌اند. A و B، C: *songorica* (C و B، A، *cuprina* (F و E، D؛ C، *cuprina* (I و H، G؛ C، *melanotachya* (L و K، J؛ C، *orbicularis* (L و K، J؛ C، *melanotachya*

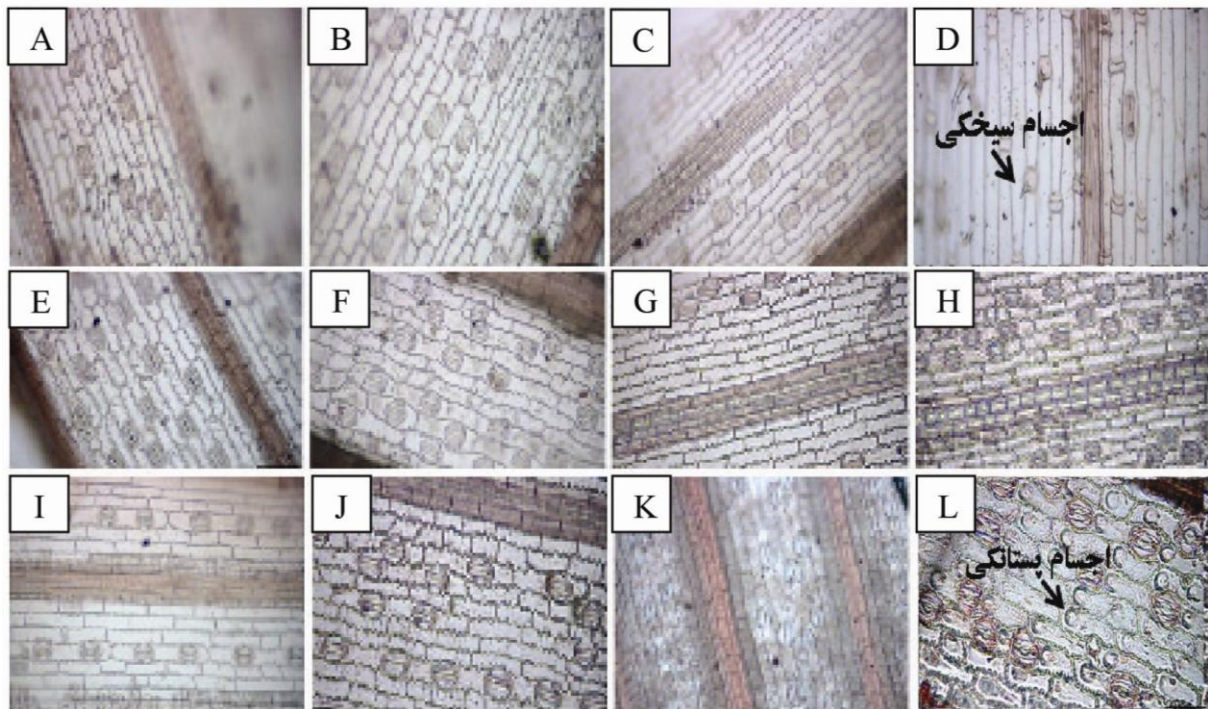


شکل ۴- برش عرضی ساقه. تصاویر هر گونه با دو بزرگ‌نمایی مختلف تهیه شده است: چپ (۴۰×) و راست (۱۰۰×): (A و B) *C. halleriana*; (C و D) *C. physodes*; (E و F) *C. pachystylis*; (G و H) *C. sylvatica*; (I و J) *C. diluta*; (K و L) *C. distans*; (M و N) *C. divulsa*; (O و P) *C. divisa*



شکل ۵- برش عرضی ساقه. تصاویر با دو بزرگ‌نمایی مختلف تهیه شده است: چپ (۴۰×) و راست (۱۰۰×): (A و B) *C. songorica*; (C و D) *C. cuprina*; (E و F) *C. melanotachya*; (G و H) *C. orbicularis*





شکل ۶- تصاویر اپیدرم تحتانی (abaxial) ۱۲ گونه *Carex* در استان‌های خراسان. حروف نشان داده شده در تصاویر معرف گونه‌ها هستند؛ اجسام پستانکی و سیخکی با پیکان سیاه در شکل نشان داده شده‌اند. A) *C. halleriana* (B) *C. physodes* (C) *C. pachysylis* (D) *C. sylvatica* (E) *C. diluta* (F) *C. distans* (G) *C. divulsa* (H) *C. divisa* (I) *C. songorica* (J) *C. cuprina* (K) *C. melanostachya* (L) *C. orbicularis* (L)

THCS و WACL. سپس، صفات فاقد توزیع نرمال با روش تغییر z-score، نرمال استاندارد (میانگین ۰ و انحراف معیار ۱) شدند. در نهایت، تمام صفات نرمال شده برای تعیین معنی‌داری وارد آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) شدند. در این آنالیز با آزمون Tukey در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد مشخص شد که دو صفت ALBS و WDMS اختلاف معنی‌داری بین گونه‌ها نشان نمی‌دهند. این دو صفت در نهایت از ماتریس و متعاقباً از آنالیزهای بعدی حذف شدند.

#### آنالیز مؤلفه‌های اصلی صفات تشریحی: آنالیز

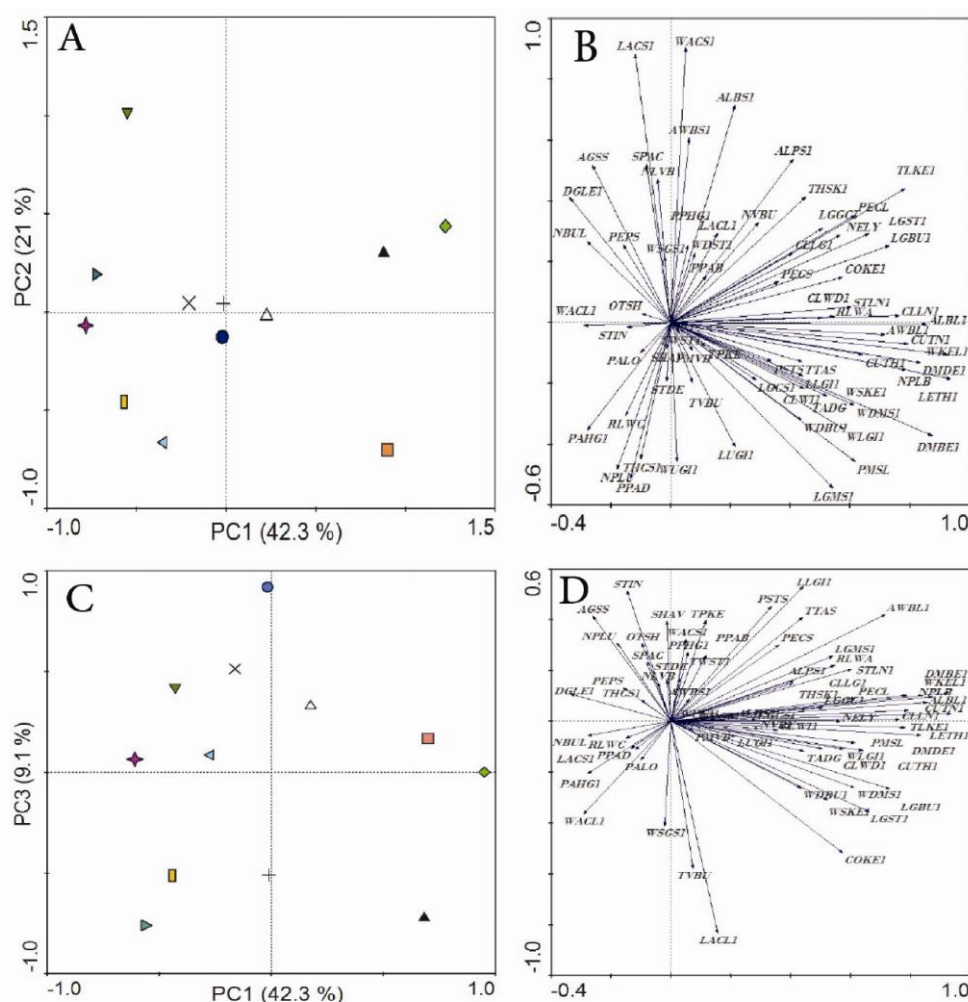
مؤلفه‌های اصلی صفات ریخت‌شناسی با ۶۷ صفت متشکل از ۱۷ صفت کیفی و ۵۰ صفت کمی انجام شد.

#### نتایج حاصل از تحلیل داده‌های تشریحی: در

مجموع، ۶۹ صفت تشریحی ساقه و برگ ۱۲ گونه جنس *Carex* مطالعه شد. از این تعداد، ۵۲ صفت کمی و ۱۷ صفت کیفی بودند. معنی‌داری صفات کیفی با آزمون Kruskal-Wallis H سنجیده شد. تمام صفات کیفی مطالعه شده با این آزمون با درجه اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری بین گونه‌های مطالعه شده ایجاد کردند. داده‌های کمی به منظور بررسی توزیع نرمال با آزمون Kolmogorov-Smirnov تحلیل شد. از ۵۲ صفت کمی ارزیابی شده با این آزمون، ۱۱ صفت توزیع نرمال نداشتند. این صفات عبارت بودند از: LGST, LACL, ALBS, PPHG, PAHG, NVBU, NPLU, NELY, LLGI

تقریباً در مرکز شکل ۷ نزدیک به یکدیگر قرار گرفتند. گونه‌های *C. orbicularis* و *C. divisa* به دلیل داشتن ویژگی بارز اجسام سیلیسی پستانکی در سطوح اپیدرمی برگ و ساقه در دو سوی مخالف هم در کل A-۷ واقع شدند. گونه‌های *C. sylvatica* و *C. halleriana* نزدیک به هم در کل A-۷ دیده می‌شوند، در حالی که در کل B-۷ این دو گونه موقعیت کاملاً مجزا از هم را اشغال کردند.

محور اول با ۴۲/۳ درصد، محور دوم با ۲۱ درصد و محور سوم با ۹/۱ درصد از تغییرات به ترتیب بیشترین سهم را در تفکیک گونه‌ها در طول PC1، PC2 و PC3 داشتند (شکل A-۷، B). با این آنالیز، موقعیت گونه‌ها بر اساس شباهت‌ها و اختلافات خصوصیات ارزیابی شده نشان داده می‌شود (شکل ۷). همان‌طور که در شکل ۷- A نشان داده شده است گونه‌های *C. diluta*، *C. distans*، *C. melanostachya* و *C. songorica*



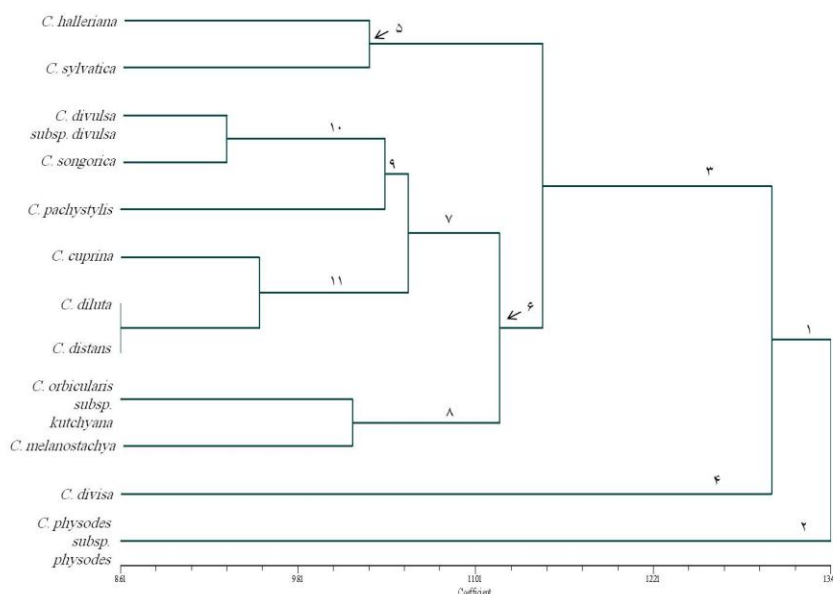
شکل ۷- نمودار حاصل از آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) با ۶۷ صفت کمی و کیفی. A و B: موقعیت گونه‌ها و صفات بر اساس اولین و دومین مؤلفه اصلی. C و D: موقعیت گونه‌ها و صفات بر اساس اولین و سومین مؤلفه اصلی. نمادها نمایانگر گونه‌ها هستند.  $\blacktriangleleft$  = *C. pachystylis*،  $\blacklozenge$  = *C. physodes*،  $\blacktriangle$  = *C. cuprina*،  $\bullet$  = *C. distans*،  $+$  = *C. songorica*،  $\square$  = *C. divisa*،  $\times$  = *C. melanostachya*،  $\blacktriangledown$  = *C. orbicularis*،  $\blacktriangle$  = *C. sylvatica*،  $\triangle$  = *C. diluta*،  $\triangleleft$  = *C. halleriana*،  $\blacktriangle$  = *C. sylvatica*،  $\blacktriangle$  = *C. cuprina*

گروه کلی از هم قابل تشخیص‌اند؛ گروه اول شامل گونه‌های: *C. cuprina*، *C. diluta*، *C. distans*، *C. divisa*، *C. divulsa*، *C. halleriana*، *C. melanostachya*، *C. orbicularis*، *C. pachystylis* و *C. sylvatica* است. در گروه دوم تک گونه *C. physodes* دیده می‌شود. این نوع تفکیک شدن به دو گروه نشان دهنده تفاوت‌های بسیار مشخص گونه *C. physodes* با سایر گونه‌های گروه اول است، به طوری که تنها با یک نگاه در مقاطع عرضی ساقه و به ویژه برگ این گونه می‌توان آن را از سایر گونه‌ها تمیز داد (شکل ۸ گروه‌های ۱ و ۲). اما در خوشه ۱ نیز گونه‌ها در دو گروه ۳ و ۴ تفکیک شدند. در گروه ۴ تک گونه *C. divisa* با داشتن صفات بارز از سایر گونه‌های گروه اول متمایز شده است. در خوشه ۳، دو گروه ۵ و ۶ مشاهده می‌شوند، به طوری که دو گونه *C. halleriana* و *C. sylvatica* در گروه ۵ از دیگر گونه‌های گروه ۶ جدا شده‌اند. در خوشه ۶، دو گروه ۷ و ۸ دیده می‌شوند که در آن دو گونه *C. orbicularis* و *C. melanostachya* از سایر گونه‌های گروه ۷ تفکیک شدند.

گروه *C. divulsa* و *C. pachystylis* و گروه *C. cuprina* و *C. physodes* در شکل A-۷ در دو سو و در مقابل هم قرار گرفتند. چهار گونه *C. diluta*، *C. distans*، *C. melanostachya* و *C. songorica* که در شکل A-۷ نزدیک به هم قرار گرفتند در شکل B-۷ از هم کاملاً متمایز واقع شدند. بر اساس بردارهای ویژه هر صفت، صفات DMDE، ALBL، WKEL، LETH، NPLB، TLKE، DMBE بالا در طول PC1 در تفکیک گونه‌ها مؤثرند و صفات WACS و LACS با داشتن بردارهای ویژه بالا در طول PC2 در جدایی گونه‌ها نقش مثبت داشتند.

صفاتی از قبیل متوسط طول دستجات آوندی در برگ (ALBL)، متوسط طول سلول‌های اپیدرم فوقانی (CLLN)، متوسط عرض حفره‌های هوایی در برگ (WACL) و نسبت طول به عرض سلول‌های اپیدرم فوقانی (RLWA) توانستند به طور کلی ۱۲ گونه مطالعه شده را از هم تفکیک کنند.

**نتایج حاصل از آنالیز خوشه صفات تشریحی ساقه و برگ:** همان طور که در شکل ۸ نشان داده شده، دو



شکل ۸- فنوگرام حاصل از آنالیز خوشه‌ای صفات تشریحی با روش UPGMA برای گونه‌های جنس *Carex* در استان‌های خراسان

## بحث

از زمان آغاز استفاده از صفات تشریحی در علم تاکسونومی تاکنون، حدود یک قرن می‌گذرد و طی چهل سال گذشته و حتی بیشتر، تحول چشمگیری در بررسی‌های انجام شده در ساختار تشریحی گیاهان آوندی و کاربرد آنها در رده‌بندی صورت گرفته است. بررسی‌های متعددی توسط پژوهشگران در این زمینه انجام شده است که بیشترین اطلاعات تشریحی توسط Metcalfe (۱۹۷۱) در مورد اهمیت ویژگی‌های تشریحی در طبقه‌بندی Cyperaceae انجام شده است. دانشمندان متعددی اظهار داشتند که ویژگی‌های تشریحی همانند ویژگی‌های ریختی در شناسایی و طبقه‌بندی گیاهان این تیره مفید و با ارزش هستند و نباید آنها را نادیده گرفت (Metcalfe, 1971؛ Standley, 1989).

طی انجام پژوهش حاضر با توجه به اهمیتی که ویژگی‌های تشریحی در تعیین روابط گونه‌ای در تیره Cyperaceae داشتند، مطالعه تشریحی ساقه، برگ و سطح اپیدرم پشتی در ۱۲ گونه و زیرگونه *Carex* متعلق به دو زیرجنس *Carex* و *Vigna* صورت گرفت. در مطالعه حاضر سعی شد با به کارگیری صفات تشریحی زیاد تفسیر دقیق‌تری از روابط گونه‌ای ارائه شود. تعدادی از صفات ارزیابی شده در این مطالعه با بررسی منابع متعدد در زمینه مطالعات تشریحی نظیر مطالعات: Metcalfe (۱۹۷۱)، Standley (۱۹۸۹)، Szczepanik- Janyszek و Klimko (۱۹۹۹) و Starr و Ford (۲۰۰۱) انتخاب شد و صفات دیگر برای نخستین بار برای گونه‌های *Carex* ارائه شدند.

با نگاه کلی به شکل‌های ۱ تا ۵ می‌توان برخی

ویژگی‌ها را در مقاطع ساقه و برگ یافت که اغلب گونه‌ها را از هم تفکیک می‌کنند. برای نمونه: خصوصیات ناحیه ناو (TPKE) به راحتی برخی گونه‌ها نظیر: *C. physodes*، *C. melanostachya*، *C. divisa* و *C. songorica* را از هم متمایز می‌کند. به علاوه، یکی از صفاتی که *C. melanostachya* را به راحتی از سایر گونه‌ها جدا می‌کند، شکل کلی برگ (UTSH) است که در این گونه برخلاف دیگر گونه‌ها M شکل است.

داشتن زوایید پستانکی روی سطوح اپیدرمی (PPAD و PPAB) از دیگر صفات مهم کلیدی در جدایی گونه‌های *C. divisa*، *C. halleriana* و *C. orbicularis* از سایر گونه‌هاست. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است تفاوت در تعداد لایه‌های اپیدرمی (NELY) تنها توانسته است گونه اپیدرمی *C. physodes* را از سایرین مجزا کند. با توجه به این که این گونه ساکن مناطق نیمه بیابانی است، به نحوی برای جلوگیری از اتلاف آب مکانیسم دو لایه‌ای کردن اپیدرم و ضخیم شدن برگ را برگزیده است. ضخیم شدن کوتیکول، پایلادار شدن سطوح اپیدرمی و ضخیم شدن برگ نیز از مکانیسم‌های دیگری هستند که برخی از گونه‌های نیمه بیابانی برای جلوگیری از اتلاف آب در این شرایط انتخاب می‌کنند (Molina et al., 2008). برای نمونه در گونه‌های *C. divulsa* و *C. sylvatica* که گونه‌هایی ساکن در مناطق مرطوب و پُر آب هستند، کمترین ضخامت برگی مشاهده می‌شود و در مقابل، گونه‌های *C. divisa* و *C. physodes* که از نواحی خشک استان‌های خراسان رضوی و جنوبی یافت شدند، بیشترین ضخامت‌های برگ را دارند. گونه



آب و تابش مستقیم نور به سطح پهنک مقابله می‌کنند (Grigore et al., 2010).

در ساقه نیز می‌توان ویژگی‌هایی یافت که گونه‌ها را از هم متمایز می‌کند. با نگاه کلی به مقاطع ساقه (شکل‌های ۴ و ۵)، آوندها دارای آرایش متفاوتی هستند، به این صورت که در تعدادی از گونه‌ها آرایش دستجات آوندی صرفاً پیرامونی و حاشیه‌ای است در حالی که در برخی دیگر، دستجات آوندی به صورت پراکنده دیده می‌شود. انواع مختلفی از سه وجهی شدن ساقه‌ها (TTAS) در گونه‌های مطالعه شده مشاهده می‌شود. مثلاً در گونه‌های *C. cuprina*، *C. divisa*، *C. divulsa*، و *C. orbicularis* ساقه‌ها تیز سه‌وجهی شده است در حالی که در بقیه گونه‌ها سه‌وجهی شدن ساقه کند است (شکل‌های ۴ و ۵).

ضخامت ستون‌های اسکله‌انثیمی روی دستجات آوندی در ساقه‌ها صفتی قابل بحث است. در برخی گونه‌ها نظیر: *C. cuprina*، *C. diluta*، *C. distans*، *C. divulsa*، *C. halleriana*، *C. melanostachya*، *C. orbicularis*، *C. songorica* و *C. sylvatica* ستون‌های اسکله‌انثیمی روی دستجات آوندی تنها به سمت مخالف اپیدرم محدود شده است، در حالی که در گونه‌های *C. divisa*، *C. pachystylis* و *C. physodes* و در هر دو سمت دستجات آوندی این ستون‌های اسکله‌انثیمی مشاهده می‌شوند.

حضور یا عدم حضور حفره‌های هوایی در برخی گونه‌ها از صفاتی است که باعث تفکیک گروه‌های گونه‌ای از هم شده است. برای مثال، گونه‌های: *C. cuprina*، *C. diluta*، *C. distans*، *C. divisa*

*C. divisa* علاوه بر داشتن ضخامت برگ‌ی زیاد دارای زواید پستانکی روی اپیدرم پشتی خود نیز است.

در گونه *C. physodes* شکل حفره‌های هوایی (SHAV) کاملاً از سایر گونه‌ها متفاوت است با این وجود، اختلافات بارزی در شکل حفره‌های هوایی در ۱۱ گونه و زیرگونه دیگر مشاهده نمی‌شود، اگرچه در اندازه حفره‌های هوایی می‌توان بین گونه‌ها تمایز قایل شد (شکل ۱). مثلاً در گونه‌های *C. melanostachya* و *C. songorica* بزرگترین و در *C. sylvatica* بیشترین حجم اشغال فضای برگ‌ی توسط حفره‌های هوایی را می‌توان دید (شکل‌های ۱ و ۳). شایان ذکر است که گونه‌های نام‌برده شده همگی در نواحی مرطوب استان خراسان شمالی یافت شدند. بنابراین، انتظار می‌رود برای مقاومت در برابر شرایط غرق شدگی برگ‌ها و شناور ماندن روی سطح آب، حفره‌های هوایی حجیم شوند (Molina et al., 2008).

در ارتباط با اندازه سلول‌های مفصلی در برگ‌های مطالعه شده، اختلاف بارزی میان گونه‌های مختلف مشاهده نمی‌شود. تنها در گونه‌های *C. physodes* و *C. songorica* سلول‌های مفصلی در ناحیه ناو دو لایه هستند (شکل‌های ۱ و ۳). این سلول‌ها نقش باز و بستن پهنک برگ در شرایط مختلف نوری و آبی را به عهده دارند. به این صورت که با در دسترس بودن آب و شرایط آبی مساعد، این سلول‌ها منبسط شده و متعاقباً پهنک برگ باز می‌شود و می‌تواند در معرض نور یا باد قرار گیرد و برعکس در شرایط کم آبی، این سلول‌ها آب خود را از دست می‌دهند و باعث به هم نزدیک شدن دو نیمه پهنک می‌شوند. به این صورت با اتلاف

هوایی بزرگ و قلبی شکل از جمله ویژگی‌های منحصر به فرد در این گونه هستند. با توجه به برخی تفاوت‌های آشکار در ویژگی‌های ریخت‌شناسی (رویشی و زایشی) و تشریحی این گونه با سایر گونه‌های خراسانی می‌توان این گونه را گونه‌ای نوظهور در این استان در نظر گرفت. شواهد نشان می‌دهد از استقرار این گونه در استان‌های خراسان مدت زمان زیادی نمی‌گذرد و از این جهت سازش‌های ریخت‌شناسی و تشریحی این گونه با شرایط محیطی و اقلیمی استانی در شرف آغاز است. نخستین جمع‌آوری این گونه از مناطق حفاظت شده گلکول و سرانی (هم مرز با کشور ترکمنستان) شاهدهی بر این ادعاست.

به طور کلی می‌توان گفت به استثنای وجود برخی صفات متمایز کارآمد در جدایی تعدادی از گونه‌ها، برای بیشتر صفات مربوط به برگ و ساقه در گونه‌های این سه استان، سطوح بالایی از یکنواختی مشاهده می‌شود. این یکنواختی تشریحی نسبی را می‌توان تا حدودی به شرایط محیطی ارجاع داد. به این صورت که می‌توان در گونه‌های ساکن در زیستگاه‌های مشابه الگوهای تقریباً مشابهی را مشاهده کرد. بنابراین، ویژگی‌های تشریحی در این جنس بر اساس نظر Molina و همکاران (۲۰۰۸) بیشتر تحت تأثیر شرایط آبی و زیستگاهی است.

بر اساس آنالیز مؤلفه‌های اصلی صفات تشریحی، ۱۲ گونه و زیرگونه مطالعه شده در مطالعه حاضر تا حدودی از هم تفکیک شده‌اند. همان‌طور که در شکل A-۷ مشاهده می‌شود گونه‌های *C. divisa*، *C. orbicularis* و *C. physodes* از سایر گونه‌ها به

*C. pachystylis* و *C. divulsa* فاقد حفره‌های هوایی یا دارای حفره‌های هوایی کم و با اندازه کوچک هستند، در حالی که شش گونه دیگر حفره‌های هوایی بزرگ دارند. تا حدودی وجود یا فقدان حفره‌های هوایی با گروه‌بندی گونه‌ها در دو زیرجنس مختلف همسویی دارد. مثلاً شش گونه یاد شده (به غیر از *C. diluta* و *C. distans*) که فاقد یا دارای حفره‌های هوایی بسیار اندک هستند متعلق به زیرجنس *Vignea* هستند. به همین ترتیب صفت آرایش دستجات آوندی که پیرامونی و نیمه پیرامونی است با گروه‌بندی‌های زیرجنسی هم‌خوانی دارد. مثلاً گونه‌های متعلق به زیرجنس *Vignea* (*C. pachystylis*، *C. divisa*، *C. divulsa*، *C. cuprina*) و *C. physodes*) همگی دارای آرایش پیرامونی از دستجات آوندی هستند، در حالی که آرایش دستجات آوندی در گونه‌های متعلق به زیرجنس *Carex* (*C. diluta*، *C. halleriana*، *C. distans*، *C. orbicularis melanostachya*، *C. songorica* و *C. sylvatica*) از نوع نیمه پیرامونی است (شکل‌های ۴ و ۵). در این مورد می‌توان گفت صفاتی که به این ترتیب موجب اختلاف بین دو زیرجنس شده است، ویژگی‌های نسبتاً مقاومی هستند که کمتر از سایر صفات دستخوش تغییر شرایط محیطی شده‌اند. از این نظر اگرچه در سطح گونه به اختلاف‌های معنی‌دار منجر نمی‌شوند اما در تفکیک سطوح بالاتر مانند زیرجنس کارآمد هستند.

در مورد گونه *C. orbicularis* می‌توان صفاتی یافت که کاملاً از سایر گونه‌ها متمایز است. مثلاً نوع تیز شدن ساقه، دستجات آوندی پراکنده‌تر از سایر گونه‌ها، پستانک‌دار بودن سطح اپیدرم ساقه و داشتن حفره‌های

دست ندهد به این علت که تعدادی از گونه‌ها در برخی ویژگی‌های مقاطع برگی بسیار شبیه به هم هستند، در حالی که مقاطع ساقه‌ای آنها را به خوبی از یکدیگر تفکیک می‌کند، مانند *C. divulsa* و *C. sylvatica*؛ یا بر عکس گونه‌هایی که دارای مقاطع برگی بسیار متفاوت هستند ولی در مقاطع ساقه‌ای شبیه به هم هستند، مانند *C. melanostachya* و *C. songorica*.

Shepherd (۱۹۷۶) و Standley (۱۹۸۹) هر دو معتقد بودند که گرچه ظاهراً تا حدودی میان صفات تشریحی و طبقه‌بندی‌های ریخت‌شناسی حاضر ارتباط وجود دارد، با این وجود، زمانی که صفات تشریحی به تنهایی استفاده شوند، گروه‌هایی که از کاربرد این صفات حاصل می‌شود کاملاً غیر طبیعی است. Starr و Ford (۲۰۰۱) به این نتیجه رسیدند که ویژگی‌های تشریحی برگ و ساقه شاخص‌های مؤثری از محدوده‌های گونه‌ای هستند اما به خودی خود به دلیل عدم وجود تعریف دقیقی از صفات کیفی و نیز سطوح بالای یکنواختی ممکن است نقش آنها در مطالعات فیلوژنتیکی آینده در سطوح پایین‌تر از بخش محدود شود.

نتایج حاصل از مطالعه تشریحی ساقه و برگ در ۱۲ گونه و زیرگونه موجود در استان‌های خراسان به درستی نتوانست طبقه‌بندی ارائه شده بر اساس بخش و زیرجنس فلورا ایرانیکا را تأیید کند، اگرچه جدایی گونه‌ها بر اساس صفات تشریحی ساقه تا حدودی با طبقه‌بندی زیرجنسی منطبق بود. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت ویژگی‌های تشریحی ساقه نسبت به برگ طی تکامل از ثبات بیشتری برخوردار بوده، با محدوده تغییرات ریخت‌شناسی سازگاری بیشتری دارد.

خوبی مجزا شدند. چنان که بیشتر اشاره شد، هر کدام از این گونه‌ها دارای ویژگی‌های تشریحی منحصر به فرد هستند. همچنین دو گونه *C. halleriana* و *C. sylvatica* در شکل A-۷ نزدیک به یکدیگر واقع شده‌اند. این قرابت را می‌توان به علت شباهت‌های زیاد مقاطع ساقه در این دو گونه نسبت داد، گرچه این دو گونه در مقاطع برگی دارای ویژگی‌های مشابهی از قبیل: ضخامت تقریباً یکسان برگ، تعداد یکسان سلول‌های مفصلی، اندازه‌های تقریباً یکسان دستجات آوندی و ضخامت‌های یکسان ستون‌های اسکلرانشیمی دو سوی دستجات آوندی هستند.

تقریباً در مرکز شکل A-۷ می‌توان تجمعی از چهار گونه *C. distans*، *C. diluta*، *C. melanostachya* و *C. songorica* را مشاهده کرد. ویژگی‌های تشریحی برگ و ساقه این چهار گونه تا حدودی به هم شبیه است. برخی از این صفات عبارتند از: متوسط طول غلاف‌های آوندی در برگ (ALBL)، طول روزنه (LGST)، ضخامت برگ (LETH)، متوسط طول دستجات آوندی در ساقه (ALBS)، طول سلول‌های مفصلی (LGBU)، تعداد لایه‌های سلول‌های پارانشیمی بالای حفره‌های هوایی در برگ (NPLU) و متوسط طول ستون‌های اسکلرانشیمی پیرامونی ساقه (ALPS).

نتایج حاصل از آنالیز خوشه‌ای تا حدودی نتایج حاصل از مؤلفه‌های اصلی را تأیید می‌کند. از آنجا که ویژگی‌های تشریحی برگ و ساقه با همدیگر آنالیز شدند و تمام صفات ارزش یکسانی در آنالیز مؤلفه‌های اصلی و خوشه‌ای دارند، لذا ممکن است آرایش گونه‌ها در این وضعیت در کد درستی از قرابت‌های گونه‌ای به

کلید شناسایی گونه‌های *Carex* در استان‌های خراسان شمالی، رضوی و جنوبی بر اساس ویژگی‌های تشریحی ساقه و برگ

- a1. ضخامت برگ ۱۲۰ تا ۳۰۰ میکرومتر، اپیدرم فوقانی برگ تک لایه، حفره‌های هوایی برگ محدود، اپیدرم تحتانی صاف، اتافک‌های زیر روزنه‌ای نا آشکار ..... ۲
- b. ضخامت برگ بیشتر از ۳۵۰ میکرومتر، دارای دو لایه اپیدرم در سطح پشتی، حفره‌های هوایی بسیار توسعه یافته، اپیدرم تحتانی موج، اتافک‌های زیر روزنه‌ای آشکار ..... *C. physodes* ..... ۳
- a2. اپیدرم فوقانی دارای زواید پستانکی (پاپیلا) ..... ۳
- b. اپیدرم فوقانی فاقد زواید پستانکی ..... ۴
- a3. ضخامت برگ ۲۸۰ تا ۳۰۰ میکرومتر، زواید پستانکی برجسته و بلند، ساقه تیز سه وجهی، آوندها کاملاً پیرامونی ..... *C. divisa* ..... ۴
- b. ضخامت برگ ۱۳۰ تا ۱۵۰ میکرومتر، زواید پستانکی محو و کوتاه، ساقه کند سه وجهی، آوندها نیمه پیرامونی ..... *C. halleriana* ..... ۵
- a4. اپیدرم تحتانی برگ دارای زواید پستانکی آشکار، سطح اپیدرم ساقه نیز دارای زواید پستانکی، حفره‌های هوایی ساقه بسیار توسعه یافته و قلبی شکل ..... *C. orbicularis* ..... ۵
- b. اپیدرم تحتانی برگ فاقد زواید پستانکی، اپیدرم سطح ساقه فاقد زواید پستانکی، حفره‌های هوایی ساقه محدود ..... ۵
- a5. اپیدرم ناحیه نو در برگ دو لایه، نو کاملاً گرد، حفره‌های هوایی مربعی شکل ..... *C. songorica* ..... ۶
- b. اپیدرم ناحیه نو در برگ تک لایه، نو نوک تیز، حفره‌های هوایی برگ غیر مربعی ..... ۶
- a6. برگ M شکل، در ناحیه نو زایده پستانکی ..... *C. melanostachya* ..... ۷
- b. برگ V شکل، فاقد زایده پستانکی در ناحیه نو ..... ۷
- a7. ساقه در مقطع عرضی کند سه وجهی شده، تقریباً استوانه‌ای، نو گرد ..... *C. pachystylis* ..... ۸
- b. ساقه در مقطع عرضی تیز سه وجهی شده، نو تقریباً تیز ..... ۸
- a8. ضخامت برگ ۲۵۰ تا ۲۸۰ میلی‌متر، متوسط طول سلول‌های مفصلی برگ ۱۰۰ میکرومتر، ساقه در محل زوایا بسیار کشیده ..... *C. cuprina* ..... ۹
- b. ضخامت برگ بین ۱۳۰ تا ۲۱۰ میلی‌متر، متوسط طول سلول‌های مفصلی برگ بین ۵۲ تا ۶۰ میکرومتر، ساقه فاقد کشیدگی در محل زوایا ..... ۹
- a9. آرایش دستجات آوندی در ساقه کاملاً پیرامونی و حاشیه‌ای، در زوایای ساقه زواید پستانکی، فاقد حفره‌های هوایی در ساقه، در رأس نو نیز یک زایده پستانکی ..... *C. divulsa* ..... ۱۰
- b. آرایش دستجات آوندی در ساقه نیمه پیرامونی، ساقه در مقطع عرضی کند سه وجهی شده، طول سلول‌های اپیدرم پشتی بین ۲۴ تا ۳۳ میکرومتر ..... ۱۰
- a10. برگ فاقد اسکلرانشیم گوشه‌ای، متوسط طول ستون‌های اسکلرانشیمی در ساقه ۴۴/۵ میکرومتر، متوسط تعداد دستجات آوندی در ساقه ۳۰ عدد، متوسط عرض ستون‌های اسکلرانشیمی ساقه ۱۱۰ میکرومتر، متوسط طول

- C. sylvatica* ..... حفره‌های هوایی در برگ ۱۸۰ میکرومتر
- b. برگ دارای اسکلرانسیم گوشه‌ای، متوسط طول ستون‌های اسکلرانشیمی در ساقه ۶۰ تا ۶۰/۴ میکرومتر، متوسط تعداد دستجات آوندی در ساقه ۴۰ تا ۴۴ عدد، متوسط عرض ستون‌های اسکلرانشیمی ساقه ۶۰ تا ۷۴ میکرومتر، متوسط طول حفره‌های هوایی در برگ ۶۰ تا ۶۵ میکرومتر ..... ۱۱
- a. برگ فاقد و ساقه دارای اتافک‌های زیر روزنه‌ای، ضخامت کوتیکول اپیدرم فوقانی ۶/۹ میکرومتر، تعداد سلول‌های مفصلی در برگ ۱۳ عدد ..... *C. diluta*
- b. ساقه فاقد و برگ دارای اتافک‌های زیر روزنه‌ای، ضخامت کوتیکول اپیدرم فوقانی ۴/۵ میکرومتر، تعداد سلول‌های مفصلی ۷ عدد ..... *C. distans*

## نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از مطالعه تشریحی نشان دهنده ارتباط مستقیم تغییرات تشریحی با شرایط زیستگاهی گونه‌های مورد بررسی بود. برای مثال، در گونه‌های بیابان‌زی و دور از محیط‌های آبی، صفات منحصر به فرد تشریحی مشاهده شد. در گونه‌های خشکی‌پسند مانند *C. divisa* و *C. physodes* سازش‌های بارز فیزیولوژیک نظیر ضخیم و گوشتی شدن برگ به منظور ذخیره بیشتر آب، ایجاد برآمدگی در سطوح پشتی و شکمی برگ که مانع تبخیر بیش از حد آب از سطح برگ می‌شود، دو لایه شدن اپیدرم و بزرگ شدن سلول‌های مفصلی برای حفظ آب بیشتر و جمع کردن بیشتر پهنای برگ از تابش مستقیم نور مشاهده می‌شود. برعکس، در گونه‌های ساکن نواحی مجاور آب مانند *C. divulsa* و *C. sylvatica* ضخامت اندک برگ، حفره‌های هوایی بزرگ‌تر که یکی از سازش‌های فیزیولوژیک به منظور جلوگیری از غرق شدگی برگ و شناور ماندن در باتلاق‌ها و برکه‌ها است مشاهده می‌شود. نتایج به دست آمده از آنالیزهای مؤلفه‌های اصلی و خوشه‌ای نیز تفاوت‌های برجسته میان گونه‌های خشکی‌پسند و رطوبت‌پسند را به خوبی منعکس کرده است. به بیان

دیگر، گروه‌بندی‌های ارائه شده بر اساس نتایج تشریحی با داده‌های حاصل از مطالعات ریخت‌شناسی و مولکولی در توافق نیستند. مثلاً گونه‌هایی با ویژگی‌های ریخت‌شناسی بسیار متفاوت اما ساکن در شرایط زیستگاهی مشابه از نظر دسترسی به آب، موقعیت مکانی یکسان در نمودارهای حاصل از آنالیزها پیدا کردند. بنابراین، گروه‌بندی‌های ارائه شده بر اساس اطلاعات تشریحی به ایجاد مرزبندی‌های طبیعی در این جنس منجر نمی‌شوند. شاهد این ادعا تطابق کم گروه‌بندی‌های زیرجنسی و بخشی ارائه شده برای گونه‌های *Carex* در فلورا ایرانیکا (Kukkenen, 1998) با نتایج حاصل از مطالعه حاضر است.

## سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر حمایت مالی این پروژه با پژوهانه شماره ۳/۱۵۹۴۳، از آقای مهندس محمدرضا جوهرچی برای شناسایی نمونه‌ها و از آقای علی اصغر بصیری کارشناس محترم آزمایشگاه سیستماتیک دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر کمک در جمع‌آوری نمونه‌ها تشکر و قدردانی می‌نمایند.

## منابع

- Grigore, M. N., Toma, C. and Boşcaiu, M. (2010) Ecological implications of bulliform cells on halophytes, in salt and water stress natural conditions. *Analele științifice ale Universității, Biologie Vegetală* 56(2): 5-15.
- Kükkenen, I. (1998) Cyperaceae. In: *Flora Iranica* (Ed. Rechinger, K. H.) vol. 173. Akademische druck- und verlagsanstalt, Graz.
- Metcalfe, C. (1971) Cyperaceae. In: *Anatomy of the monocotyledons* (Ed. Metcalfe, C. R.) vol. 5. Clarendon Press, Oxford.
- Molina, A. A., Cedo, C. and Lamas, F. (2008) Taxonomy and new taxa of the *Carex divulsa* aggregate in Eurasia (section *Phaestoglochin*, Cyperaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 156: 385-409.
- O'Brien, T. P., Feder, N. and McCully, M. E. (1964) Polyehromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 2: 367-373.
- Peterson, R. L., Peterson, C. A. and Melville, L. H. (2008) Teaching plant anatomy through creative laboratory exercises. National Research Council Press, Ottawa.
- Reznicek, A. A. (1990) Evolution in sedges (*Carex*, Cyperaceae). *Canadian Journal of Botany* 68: 1409-1432.
- Rohlf, F. J. (2000) NTSYS-PC: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.0. Exeter Software, Setauket, New York.
- Shepherd, G. J. (1976) The use of anatomical characters in the intrageneric classification of *Carex* (Cyperaceae). *Hoehnea* 6: 33-54.
- Spinner, J. (1902) L'anatomie foliare des *Carex suisses*. *Bulletin de la Societe Neuchateloise des Sciences Naturelles* 30: 65-80.
- Standley, L. A. (1989) Anatomical aspects of the taxonomy of sedges (*Carex*, Cyperaceae). *Canadian Journal of Botany* 68: 1449-1456.
- Starr, J. R., Bayer, R. J. and Ford, B. A. (1999) The phylogenetic position of *Carex* section phyllostachys and its implications for phylogeny and subgeneric circumscription in *Carex* (Cyperaceae). *American Journal of Botany* 86: 563-57.
- Starr, J. R. and Ford, B. A. (2001) The taxonomic and phylogenetic utility of vegetative anatomy and fruit epidermal silica bodies in *Carex* section Phyllostachys (Cyperaceae). *Canadian Journal of Botany* 79: 362-379.
- Szczepanik-Janyszczek, M. and Klimko, M. (1999) Application of anatomical methods in the taxonomy of sedges (*Carex* L.) from the section *muehlenbergiana* (L.H. Bailey) Kük. occurring in Poland. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu* 2: 97-107.
- Ter Braak, C. J. F. and Šmilauer, P. (2002) CANOCO, version 4.0. reference manual and user's guide to Canoco for Windows, Wageningen.

## **Anatomical study of leaf and stem of *Carex* L. species (Cyperaceae) in Shomali, Razavi and Jounobi Khorasan provinces**

**Jinus Hejazi<sup>1</sup>, Jamil Vaezi<sup>2\*</sup>, Dorrieh Amiri Moghaddam<sup>1</sup> and Farshid Memariani<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<sup>2</sup> Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>3</sup> Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

### **Abstract**

The genus *Carex* L. is one of the largest genera (2000 spp.) of the flowering plants . There are 85 species of *Carex* in Iran plateau that approximately half of them are present in Iran. In this study, stem and leaf anatomy of 12 species and subspecies of *Carex* from two subgenera, *Carex* and *Vignea*, were investigated using hand cutting method and blue toluidine staining. The results showed that some of anatomical features such as, location of vascular bundles, size of air cavities, type of triangular stem, number of sclerenchyma layer and amount of lignified stem and cuticle thickness were effective in determining the species. This study did not confirm the classical taxonomy based on morphological characteristics and the results revealed that anatomical characteristics were correlated with plant water conditions.

**Key words:** *Carex*, Cyperaceae, Stem and leaf anatomy, Blue toluidine staining, Khorasan provinces