فصلنامه علمی - پژوهشی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۳ ، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۹

بررسی ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگ گونه‌های *Anemone* L. و *Pulsatilla* Mill. (Ranunculaceae) در ایران

محدثه شجاعی[۱]، فریبا شریف نیا*[۲]، مصطفی اسدی[۳]، ایرج مهرگان[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۱۶

چکیده

در این مطالعه ۹ آرایه متعلق به جنس‌های Anemone و Pulsatilla تحت بررسی‌های ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگ گرفته‌اند تا به اهمیت این صفات در شناسایی آرایه‌های این جنس‌ها پی برده شود. برای دستیابی به یافته‌های دقیق‌تر از بررسی‌های میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) نیز بهره برده‌ایم. صفات متعدد اندازه، شکل و نوک برگ‌ها، ویژگی‌های کرک، الگوی اپیدرمی، شکل قطعات برگ و... مورد بررسی قرار گرفتند که براساس شکل برگ‌ها چهار شکل: سه بخشی عمیق، سه بخشی پنجه‌ای شکل، سه بخشی مضاعف، شانه‌ای و براساس الگوی اپیدرمی چهار تیپ: مخطط، مشبک، چروکیده و بدون طرح مشاهده شد. با استفاده از آنالیز تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) صفاتی از جمله طول، شکل کلی، الگوی اپیدرمی و شکل قطعات برگ دارای بیشترین تفاوت هستند و قابلیت جداسازی گونه‌ها و حتی واریته‌ها را دارند همچنین در فنوگرام نیز جدایی آرایه‌ها به خوبی مشاهده می‌شود.

واژه های کلیدی: ***آرایه، الگوی اپیدرمی، شکل برگ، میکروسکوپ الکترونی نگاره***

مقدمه

تیره‌ی Ranunculaceae دارای ۵ زیر تیره، ۴۳ جنس و ۲۳۴۶ گونه است (Christenhusz & Byng, 2016). دو جنس *Anemone* L. و *Pulsatilla* Mill. متعلق به زیر قبیله‌ی *Anemonineae* و قبیله‌ی *Anemoneae* از تیره آلاله-ایان(Ranunculaceae) هستند. *Anemone* s.str شامل ۱۱۸ گونه در ۱۵ زیر جنس و ۲۳ بخشه، با پراکنش در سراسر دنیا اما به طور غالب در نیمکره‌ی شمالی است (Ziman *et al*., 2008). بعضی از گونه‌های *Anemone* از نظر زینتی دارای اهمیت هستند ازجمله گونه‌ی *A.coronaria* L. که دارای کولتیوارهایی به رنگ‌های سفید، بنفش، قرمز و صورتی می‌باشد. جنس *Pulsatilla*

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- دانشیار زیست‌شناسی، گروه زیست‌شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
*(نویسنده‌ی مسئول: f_sharifnia@iau-tnb.ac.ir)
۳- استاد پژوهش، موسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ، ایران
۴- دانشیار زیست‌شناسی، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

نیز دارای ۳۵ گونه در اروپا، ترکیه، ایران، روسیه و آسیای مرکزی است. دو جنس مذکور دارای دو نوع برگ هستند: برگ‌های قاعده‌ای با تعداد متفاوت، دمبرگ‌دار و برگ‌های گریبان با آرایش فراهم، دو تا سه عدد، دارای دمبرگ یا فاقد آن.

در فلورا ایرانیکا به ۱۷ گونه از جنس *Anemone* اشاره شده است که پنج گونه از آن متعلق به ایران است (Rechinger & Riedl, 1992). هرچند که که در طی سال‌های اخیر گونه‌ی *A. tschernajaewii* Regel. در شرق و شمال‌شرق ایران (Joharchi & Akhani, 2006, Joharchi *et al*., 2011) و گونه‌ی *A. narcissiflora L.* در شمال غرب ایران (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۰) گزارش شده است. براساس مطالعات Ziman *et al*. (1998) و حیدری (۱۳۸۶) گونه‌ی *A. petiolulosa* Juz. که به‌عنوان یک گونه‌ی مجزا در فلورا ایرانیکا و فلور شوروی است، به عنوان واریته‌ای از گونه‌ی *A. biflora* DC. معرفی شده است. هم‌چنین آرایه‌ی *A. gortschakowii* Kar. & Kir. نیز در فلور شوروی (Komarov, 1937) و رستنی‌های ایران (مبین، ۱۳۶۴) به‌عنوان یک گونه‌ی مجزا در نظر گرفته شده اما براساس مطالعه‌ی Sinno-Saoud *et al*. (2007) مرتبه واریته گزارش شده است. فلورا ایرانیکا ۳ گونه از جنس *Pulsatilla* را نام برده است که تنها یک گونه از آن (*P. albana* (Stev.) Bercht &j.Presi) در ایران رویش دارد (Rechinger & Riedl, 1992).

با توجه به تنوع زیاد و پراکنش گسترده، جنس *Anemone* بیش از صد سال است که موضوع مطالعه‌ی محققان مختلفی بوده و طبقه‌بندی و تعداد گونه‌ی متفاوتی برای این جنس ارائه شده است. گروه اول از این مطالعات مبتنی بر صفات ریخت‌شناسی، کاریولوژی، تشریح و گرده‌شناسی است (Ulbrich, 1905/1906, Ziman *et al*.,1998; 2008; 2011, Tamura, 1993; 1995, Rasmussen, 1979, Strodubtsev, 1991, Manning & Goldblatt, 2013) و براساس همین صفات چند جنس را از *Anemone* جدا کردند. Strodubtsev (1991) برپایه کاریولوژی و ویژگی‌های ریخت‌شناسی، جنس *Anemone* را به هفت جنس مجزا تقسیم کرده اند. هشت گونه‌ی متعلق به جنس *Knowltonia* (دارای میوه گوشتی) از جنس **Anemone** (دارای میوه خشک) تنها براساس نوع میوه صورت گرفته است (Rasmussen, 1979). حیدری (۱۳۸۶) صفات تشریحی دمبرگ و ساقه و ویژگی‌های دانه‌گرده‌ی ۵ گونه‌ی *Anemone* در ایران را مورد بررسی قرار داده است و صفاتی همچون تعداد و آرایش دستجات آوندی دمبرگ، تعداد لایه‌های فیبری و تیپ بافت مکانیکی اطراف دسته‌ی آوندی را صفات تشخیصی معرفی کرده است.

ویژگی‌های ریخت‌شناسی برگ *Anemone* نیز همواره دارای اهمیت بوده است به طور مثال دو جنس *Barneoudia* و *Oreithales* که از *Anemone* مجزا شده‌اند (Lourteigh, 1951; 1956) و این جدایی تنها براساس ویژگی‌های برگ از جمله فقدان برگ‌های قاعده‌ای در زمان گلدهی در جنس *Barneoudia* و فقدان برگ‌های گریبان در جنس *Oreithales* بوده است. **هم‌چنین** صفات متعدد ریخت‌شناسی از جمله ویژگی‌های برگ‌های قاعده‌ای و گریبان به عنوان صفات مهم تشخیصی برای شناسایی ده گونه‌ی Anemone متعلق به ناحیه بالکان معرفی شده است (Ziman et al., 2011).

در سال‌های اخیر صفات ریزریخت‌شناسی نیز مورد توجه قرار گرفته و این گونه مطالعات بیشتر بر روی میوه بوده است (Ziman *et al*., 2008 ،Chaudhary & Trifonaova, 1988 ،Rutkowska & Antkowiak 2013 ،Cheng et al., 2015). ساختار داخلی و خارجی میوه در نود و پنج آرایه‌ی متعلق به بیست و هفت جنس تیره رانونکولاسه در چین مورد مطالعه قرارگرفته است؛ براساس ویژگی‌های میوه، جنس‌های این تیره به چهار گروه تقسیم شدند و دو جنس *Anemone* و *Pulsatilla* در گروه چهارم با داشتن میوه‌ی فندقه با دو دسته‌ی آوندی غیرمنشعب و اندوکارپ با یک لایه‌ی فیبری ویژگی یافته است (Cheng et al., 2015). شجاعی و همکاران (تحت چاپ) نیز به بررسی ریخت‌شناسی، ریزریخت‌شناسی و تشریح فندقه‌ی گونه‌های ایرانی *Anemone* و *Pulsatilla* پرداختند و تفاوت‌های آشکاری در الگوی سطح فندقه (achene body)، تعداد لایه‌های اندوکارپ و مزوکارپ و هم چنین طول و شکل خامه مشاهده کردند و این صفات را دارای ارزش تشخیصی معرفی کردند.

گروه دوم مطالعات مبتنی بر داده‌های مولکولی است (Hoot *et al*., 1994; 1995; 2012، Ehrendorfer & Samuel, 2009، Meyer *et al*., 2010). Hoot *et al*. (2012) با مطالعه‌ی نواحی ITS هسته‌ای و atp*B*-rbcL کلروپلاستی بر روی گونه‌های *Anemone* خصوصاً گونه‌های متعلق به نیمکره جنوبی، از تک نیایی بودن *Anemone* حمایت کردند و برخلاف سایر طبقه‌بندی‌ها تنها دو زیرجنس *Anemone* (X=8) و *Anemonidium* (x=7) را در *Anemone* تشخیص دادند. زیرجنس *Anemonidium* شامل بخشه‌های *Hepatica*, *Keiskea*, *Anemonidium* و *Omalocarpous* و زیر جنس *Anemone* شامل بخشه‌های *Pulsatilloides*، *Pulsatilla*، *Rivularidium* و *Anemone* است.

گروه سوم مطالعات مبتنی بر ترکیبی از مطالعات هستند، البته تعداد این مطالعات کم می‌باشد. Zhang *et al*. (2015) با استفاده از داده‌های گرده‌شناسی، سیتولوژی و سیستماتیک مولکولی به مطالعه‌ی بخشه‌ی *Begoniifolia* از جنس *Anemone* پرداخته است و در بین آرایه‌های مورد مطالعه سه تیپ گرده‌ی سه‌شیاری، شش‌شیاری و پنج‌منفذی با کاریوتیپ 2n=(10m+4st+2t) مشاهده کرده است و در بررسی‌های توالی DNA هسته‌ای و کلروپلاستی دو کلاد شامل دو زیرجنس *Anemonidium* و *Anemone* را تشخیص داده است.

به سه دلیل مطالعه‌ی این دو جنس در ایران دارای اهمیت است:

۱) ایران پراکنش انتهایی چندین گونه‌ی *Anemone* و محل تلاقی آرایه‌های آسیایی با آرایه‌های اروپایی است. به طور مثال آخرین مرز پراکنش شرقی گونه *A. coronaria* که در اروپا و عراق رویش دارد، نواحی غربی ایران است. هم‌چنین مرز جنوبی پراکنش *A. caucasica* Willd. ex Rupr. ناحیه‌ی هیرکانی در ایران است. *A. biflora* از کشورهای شرقی به ایران وارد شده و با عبور از مناطق مرکزی ایران وارد عراق می‌شود و دیگر در اروپا دیده نمی‌شود. *A. biflora* var. *petiolulosa* (Juz.)

.Ziman نیز از شرق وارد ایران می‌شود و حداکثر تا سمنان کشیده شده است. *A. tschernjaewii* از شمال شرقی کشور وارد شده است و تنها در شرق و شمال شرق ایران یافت می‌شود.

۲) تعیین جایگاه دقیق گونه‌ی *P. albana* که همواره مورد بحث در بین گیاه شناسان بوده است. بعضی از محققین بر این اعتقادند که این گونه باید در جنس *Pulsatilla* قرار گیرد (مبین، ۱۳۶۴، Rechinger & Riedl, 1992، Yaprak *et al.*, 2011، Komarov, 1937) و برخی دیگر آن را در میان گونه‌های *Anemone* ذکر می‌کنند (Boissier, 1867 ، Parsa, 1951، Davis, 1965).

۳) کمبود مطالعه‌ی جنس *Anemone* در ایران و حتی در آسیا، در حالی‌که اکثر مطالعات بر روی گونه‌های متعلق به نیمکره‌ی جنوبی انجام شده است.

در این مطالعه ۹ آرایه از جنس‌های مذکور تحت مطالعه‌ی ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگ‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) قرار گرفتند.

مواد و روش کار

آرایه‌های مورد بررسی متعلق به نمونه‌های هرباریومی موسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور (TARI) هستند، لیست گونه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

پس از اطمینان از شناسایی گونه‌ها با استفاده از فلورهای ایرانیکا، ترکیه، عراق، شوروی و رستنی‌های ایران، برگ‌ها تحت مطالعه‌ی ماکروسکوپی و عکس‌برداری قرار گرفتند. برای بررسی دقیق‌تر از لوپ و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) مدل Hitachi استفاده شد. در این روش ابتدا سطح پشتی برگ‌ها را با کمک برس مویی تمیز کردیم و روی پایه‌های مخصوصی چسباندیم و پس از فریز شدن به وسیله دستگاه اندودکننده، با لایه‌ی نازکی از طلا پوشاندیم و سپس نمونه‌ها با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) مورد مشاهده قرار گرفتند. از هر نمونه با ۳ بزرگنمایی x70، x200 و x400 عکس‌برداری شد.

صفات متعدد کمی و کیفی تعریف و کدگذاری شدند (جدول ۲)(شریف نیا و چلبیان، ۱۳۸۲). سپس با استفاده از نرم‌افزار مربوطه (IBM SPSS Statistics ver.22) آنالیز تجزیه‌ی خوشه‌ای (Cluster Analysis) به روش Average linkage و آنالیز تجزیه به عامل‌های اصلی (PCA) بر روی داده‌ها انجام گرفت.

جدول۱: نمونه‌های مورد بررسی و محل جمع آوری و شماره هرباریومی آن‌ها در مطالعات ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگ

گونه	محل جمع آوری و شماره‌ی هرباریومی
A. biflora var. *biflora*	اراک، ۱۰ کیلومتری اراک به سمت بروجرد، در حاشیه‌ی روستای خانه میدان، ۲۳۰۰ متر، متقی ۴۲۸(TARI)
	اصفهان، سمیرم، کوه دنا، بالای تنگه ریگان، ۲۴۰۰ متر، نوروزی ۲۰۹۱(TARI)
	ایلام، ابدانان، اناران به سمت گرازان، ۱۵۲۰ متر، مظفریان ۹۳۱۶۱(TARI)
	چهار محال و بختیاری، لردگان، ۱۸۷۰ متر، غلامیان ۳۵۲۶(TARI)
	خراسان، ۹ کیلومتری بیرجند به سمت قوچان، ۱۷۸۰ متر، اسدی و معصومی ۵۵۶۴۷(TARI)
	خراسان، ۷ کیلومتری مشهد به سمت کلات نادری، ۱۲۵۰ متر، اسدی و معصومی ۵۵۸۱۳(TARI)
	خراسان، جاده گرگان- بجنورد، قبل از روستای رباط قرابیل، ۱۰۵۰ متر، اسدی و شهسواری ۶۹۱۲۷(TARI)
	زنجان، کوه قیداری، ۲۰۰۰-۲۵۰۰ متر، باقری ۹۸۲۶۸(TARI)
	فارس، اقلید، کیلومتر ۱۸ سد دورودزن به سمت اقلید، ۲۱۵۰ متر، زندی ۸۲۴۵(TARI)
	قزوین، شجاع‌الدین، عبدل‌آباد، ۲۵۰۰ متر، چرخ چیان ۱۲۳۳(TARI)*
	کرمان، سیرچ بالای تونل، کوه سرو، ۲۷۰۰ متر، غنچه ای ۵۶۱۲(TARI)
	کرمان، کوهپایه، دهانه‌ی کوه آبشار، ۲۸۰۰ متر، غنچه ای ۵۵۹۸(TARI)
	کرمانشاه، کوه پارو، ۱۷۰۰ -۲۰۰۰ متر، وندل و اسدی ۱۶۷۳۰(TARI)
	گلستان، گرگان، ۱۲ کیلومتری شرق مراوه تپه، ۲۵۰ متر، اسدی و شهسواری ۶۹۲۰۵(TARI)
	همدان، ۱۰ کیلومتر غرب نهاوند، جنگل کیان، کوه گرین، ۱۶۵۰-۱۸۰۰ متر، صفی خانی و علی دادی ۲۴۶۶(TARI)
	همدان، ۱۵ کیلومتری ملایر به سمت همدان، جاده سیاه کمر، روستای بارابند، ۲۳۰۰-۲۳۷۰ متر، کالوندی و رزاقی ۵۵۴۴(TARI)
A. biflora var. *petiolulosa*	اراک، ۳ کیلومتری جنوب شرقی شازند، کوه چال خاتون، ۲۵۰۰-۲۱۰۰ متر، آخانی ۸۳۵(TARI)
	اصفهان، به سمت دلیجان وموته، ۲۰۰۰ متر، باباخانلو ۱۷۶۲۴(TARI)
	تهران، ۷۳ کیلومتری از تهرانبه سمت قم، ۱۳۹۰ متر، وندل و معصومی ۱۹۰۲۶(TARI)
	تهران، کوه برف خانه، ۲۸۰۰-۲۳۰۰ متر، وندلبو و اسدی ۱۶۴۶۹(TARI)
	خراسان، مشهد به سمت قوچان،چناران، برفاب های بینالود، ۲۰۰۰-۱۵۰۰ متر، جم زاد، مظهری، پاریاب و امیرآبادی ۷۵۷۷۷(TARI)*
	خراسان، جاده گرگان- بجنورد، نرسیده به روستای رباط قرابیل، ۱۰۵۰ متر، اسدی و شهسواری ۶۹۱۲۷(TARI)
	خراسان، حدود ۲۹ کیلومتری غرب کلات نادری، نزدیک سلطان آباد، ۸۵۰ متر، اسدی و معصومی ۵۵۷۷۵(TARI)

	سمنان، شاه پسند به سمت شاهرود، ۱۸۰۰ متر، مندل، فروغی، ثانی و شیدل پور ۱۱۱۴۴(TARI)
	سمنان، منطقه حفاظت شده‌ی توران، کوه پیغمبر، ۲۲۰۰-۱۵۰۰ متر، Freitag و جویدی ۲۹۰۸۶(TARI)
	فارس، ۳۳ کیلومتری از بابا میدان به سمت یاسوج، ۲۰۰۰ متر، اسدی و ابوحمزه ۳۸۴۲۴(TARI)
	فارس، ۶۰ کیلومتری جنوب آباده، کوه بول، نزدیک اقلید، ۲۸۰۰ متر، فروغی ۱۷۳۱۸(TARI)
	کهگلویه و بویر احمد، یاسوج نزدیک آبشار، ۱۸۰۰ متر، اسدی و ابوحمزه ۳۸۴۴۰(TARI)
A. biflora var. *gortschakowii*	گلستان، گرگان، ۳ کیلومتری شرق مراوه تپه، ۲۵۰ متر ، Hewe ۳۵۹۸ (TARI) خراسان، ۴۵ کیلومتری شمال شیروان، ۳۰۰۰ -۲۳۰۰ متر، اسدی و معصومی ۵۰۴۱۳(TARI) گلستان، گرگان، ۹ کیلومتری شرق مراوه تپه، ۳۰۰ متر، اسدی و معصومی ۵۵۴۷۶(TARI)* تهران به سمت کرج، ۲۰۰۰ متر، اسدی، مظفریان و وثوقی ۳۳۳۷۵(TARI)
A. narcissiflora	آذربایجان، ماکو به سمت خوی، کوه‌های جنوب غرب کلیسای کندی، ۲۶۵۰- ۲۴۰۰ متر، اسدی و مظفریان ۳۰۳۱۳(TARI)* آذربایجان، حدودا ۳۰ کیلومتری شمال شرقی مرند، روستای کوه کمر، ۲۰۰۰-۲۶۰۰متر، اسدی و شهسواری ۶۵۶۲۷(TARI) آذربایجان ، مرند،کوه سلطان جهانگیر، ۲۵۰۰ متر، اکرمی و مظفریان ۹۳۸۱۵(TARI)
P. albana	آذربایجان، اسالم به سمت خلخال، ۲۳۰۰ متر، وندل و اسدی ۲۷۸۰۱(TARI) آذربایجان، منطقه حفاظت شده ارسباران، ۲۳۰۰-۲۰۰۰ متر، اسدی و معصومی، ۲۰۲۶۳(TARI)* آذربایجان، جاده اسالم به سمت خلخال، گردنه آلماس، ۲۴۰۰-۲۳۵۰ متر، وندل و اسدی، ۱۸۵۱۲(TARI)
	آذربایجان، منطقه حفاظت شده ارسباران، ۲۳۰۰-۲۵۰۰ متر، اسدی و سردابی، ۲۴۱۰۸(TARI)
	آذربایجان، ماکو به خوی، کوه‌های جنوب غربی کلیسای کندی، ۲۴۰۰- ۲۶۵۰ متر، اسدی و مظفریان ۳۰۳۱۲(TARI)
A. coronaria	خوزستان، شوشتر، ۳۷ کیلومتری جاده اهواز، ۹۰۰ متر، فروغی، ۳۰۸۹(TARI) کرمانشاه، ۱۵۰ کیلومتر شمال غرب کرمانشاه به سمت بابایادگار، ۱۳۰۰ متر، شوشتری و حاتمی ۲۵۷۳(TARI)
	کرمانشاه، ۱۵۰ کیلومتری از اسلام آباد به سمت ایلام، تنگه دالاب، روستای گلزار، ۱۴۶۰ متر، شوشتری و حاتمی ۲۲۲۹(TARI)
	کرمانشاه، ۲۴ کیلومتری از گیلانغرب به سمت سومار، ۸۷۰ متر، نعمتی و روشن زاده ۳۷۳۴ (TARI)
	کرمانشاه، اسلام آباد غرب، ۴۰ کیلومتری اسلام آباد به سمت ایلام، ۱۵۰۰ متر، فتاحی، توکلی و زنگنه ۲۵۹۷(TARI)
	کرمانشاه، حاشیه رودخانه گراسو، نزدیک روستای گدارپی، ۱۲۴۵ متر، مظفریان ۹۳۹۸۸(TARI)
	کرمانشاه، ۱۵۰ کیلومتری شمال غرب کرمانشاه، بابایادگار، ۱۳۰۰ متر، شوشتری و حاتمی ۲۵۷۲(TARI)* کرمانشاه، ۴۵ کیلومتری غرب کرند، روستای ریجاب، ۹۰۰ متر، حاتمی ۲۵۶۱(TARI) لرستان، خرم آباد، تنگه ملاوی، ۷۰۰ متر، فروغی ۳۰۷۹(TARI)
A. blanda	مازندران، سیاه بیشه، جاده چالوس، ۲۱۲۰ متر، ثابتی ۳۶۸۸(TARI)*

A. caucasica	آذربایجان، اسالم به سمت خلخال، ۲۰۰۰ متر، وندل و معصومی ۱۹۱۰۵(TARI)
	آذربایجان، کالیبار به سمت مکیدی، ۱۷۰۰-۱۳۰۰ متر، وندل و اسدی ۱۷۰۰۷(TARI)
	سمنان، کوه قطری(کوه ابر)، شمال شاهرود، ۲۵۰۰ متر، وندل، فروغی، ثانی و شیردل پور ۱۱۱۷۱(TARI)
	فیروزکوه، پل ورش، ۱۷۲۰ متر، فروغی ۱۲۲۴(TARI)
	مازندران، پل سفید، جنگل بالای روستای سنگ ده، ۲۲۰۰-۱۷۰۰ متر، اسدی ۷۳۲۸۷ (TARI)
	مازندران، جاده چالوس، ۲ کیلومتری سیاه بیشه، ۲۴۵۰ متر، Runemark و مظفریان ۲۸۰۷۷(TARI)
	مازندران، جنوب رامسر،دره نی دشت، ۱۷۰۰ متر، وندل و معصومی ۱۹۱۴۵(TARI)
	مازندران، دره چالوس، بالای سیاه بیشه، ۲۲۰۰ متر، وندل و شیردل پور۱۱۶۸۴(TARI)
	مازندران، سیاه بیشه، جاده چالوس، کیلومتر۳۹ به سمت مرزن آباد، ۲۰۵۰ متر، خاتم ساز و رحمان پور۶۹۲۴۱(TARI)*
	مازندران، سیاه بیشه، دره چالوس، ۲۳۶۰ متر، فروغی۳۹۶(TARI)
A. tschernjaewii	خراسان رضوی، ۵۰ کیلومتری مشهد به سمت کلات نادری، ۱۸۵۰ متر، اسدی و معصومی ۵۵۸۷۵(TARI)*

نمونه‌های مورد بررسی با SEM با * نشان دار شده اند

نتایج و بحث

بررسی‌های ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگ انجام شد و از ۷ صفت کمی و ۶ صفت کیفی برای مقایسه و ارزیابی آرایه‌ها استفاده گردید. کلیه‌ی اطلاعات کمی و کیفی به طور دقیق و با جزئیات معرفی و شرح داده شده است (جداول۲ و ۳).

طی این بررسی‌ها نتایج زیر به دست آمد: بزرگترین میانگین طول و عرض پهنک برگ و تعداد برگ در گونه‌ی *A. narcissiflora* و کوچکترین طول و عرض پهنک برگ در *A. biflora* var. *gortschakowii* مشاهده شده است.

براساس شکل برگ، آرایه‌ها به ۴ گروه تقسیم می‌شوند: سه بخشی عمیق (trisect)، سه بخشی پنجه‌ای شکل (Palmately trisected)، سه بخشی مضاعف (Ternately compound) و شانه‌ای (Pinnaite).

براساس شکل نوک برگ ۳ حالت در بین نمونه‌ها مشاهده شده است: نوک کند (Obtuse)، نوک تیز (Acute) و نوک منقارک‌دار(Mucronate).

برگ‌ها در سه واریته‌ی *A. biflora* سه بخشی عمیق (trisected) با نوک کند (obtuse) هستند که عمدتاً در واریته‌ی *gortschakowii* به علت تقسیمات عمیق به صورت سه بخشی پنجه‌ای شکل (palmately trisected) به نظر می‌رسد، برگ گونه‌ی *A. tschernjaewii* نیز سه بخشی با تقسیمات عمیق (trisected) و نوک منقارک‌دار (Mucronate). برگ *A. coronaria* به شکل سه بخشی مضاعف (Ternately compound) با نوک تیز (acute)، برگ *A. narcissiflora* سه تا پنج بخش پنجه‌ای شکل (Palmately 3-5 partite) با نوک کند (obtuse)، برگ *A. blanda* سه بخشی عمیق (trisected) با قطعات دمبرگ‌دار با نوک

کند(obtuse)، برگ *P. albana* ۲ تا۳ بار شانه‌ای (2-3 pinnaite sect) با نوک کند (obtuse) و برگ *A. caucasica* سه بخشی عمیق (trisected) با نوک تیز (acute) می‌باشد (شکل۱).

جدول۲: صفات و داده‌های کمی برگ گونه‌های *Anemone* و *Pulsatilla* مورد مطالعه

گونه	میانگین طول پهنک(mm)	میانگین عرض پهنک(mm)	نسبت میانگین طول به عرض پهنک	تعداد برگ	تعدادروزنه(در $0/1\ mm^2$)	میانگین طول کرک(mm)	میانگین طول دمبرگچه(mm)
A. biflora var. *biflora*	۱/۹	۳/۱	۰/۶۱	۱-۲	۵	۰	۱/۵
A. biflora var *petiolulosa*	۳/۳	۴/۲	۰/۷۸	۲-۳	۱۰	۰	۶/۵
A. biflora var *gortschakowii*	۱/۵	۱/۲	۱/۲۵	۲	۵	۰	۰
A. tschernjaewii	۴	۴/۲	۰/۹۵	۲	۳	۰	۰
A. coronaria	۳/۵	۲/۹	۱/۲۰	۴	۲	۰/۳۱	۶
A. blanda	۳	۶	۰/۵۰	۳-۴	۲	۰/۳۱	۶
A. caucasica	۲/۱	۴/۵	۰/۴۶	۲-۳	۲	۰/۲۹	۰
A. narcissiflora	۶/۵	۶/۵	۱	۹-۱۱	۸	۰/۸۰	۰
P. albana	۳	۵	۰/۷۰	۳-۴	۱۲	۰/۶۲	۰

برگ نمونه‌های *A. biflora* var. *biflora*، *A. biflora* var. *petiolulosa*، *A. biflora* var. *gortschakowii* و *A. tschernjaewii* فاقد کرک و سایر نمونه‌ها دارای کرک هستند. بزرگترین میانگین طول کرک متعلق به *A. narcissiflora* و بیشترین تراکم کرک متعلق به *P. albana* است. قطعات برگ آرایه‌های *A. biflora* var. *biflora*، *A. biflora* var. *petiolulosa*، *A. blanda* و *A. coronaria* دارای دمبرگچه با طول متفاوت هستند که گسترده‌ترین بازه و میانگین طول دمبرگچه به نمونه‌های *A. biflora* var. *petiolulosa* تعلق دارد که بین ۳ تا ۱۳ میلیمتر متغیر است.

براساس الگوی اپیدرمی ۴ تیپ مشاهده شده است: تیپ۱) مشبک (Reticulate) در آرایه‌های *A. biflora* var. *biflora*، *A. biflora* var. *petiolulosa*، *A. biflora* var .*gortschakowii* (اشکال ۲ و ۳).

تیپ ۲) بدون طرح (Simple) در آرایه‌ی *A. tschernjaewii* (شکل۳).

تیپ ۳) چروکیده (Rugose) در آرایه‌های *A. narcissiflora*، *A. coronaria* و *P. albana* (اشکال ۲ و ۳).

تیپ ۴) مخطط(Striate) در آرایه‌های *A. blanda* و *A. caucasica* (شکل۳).

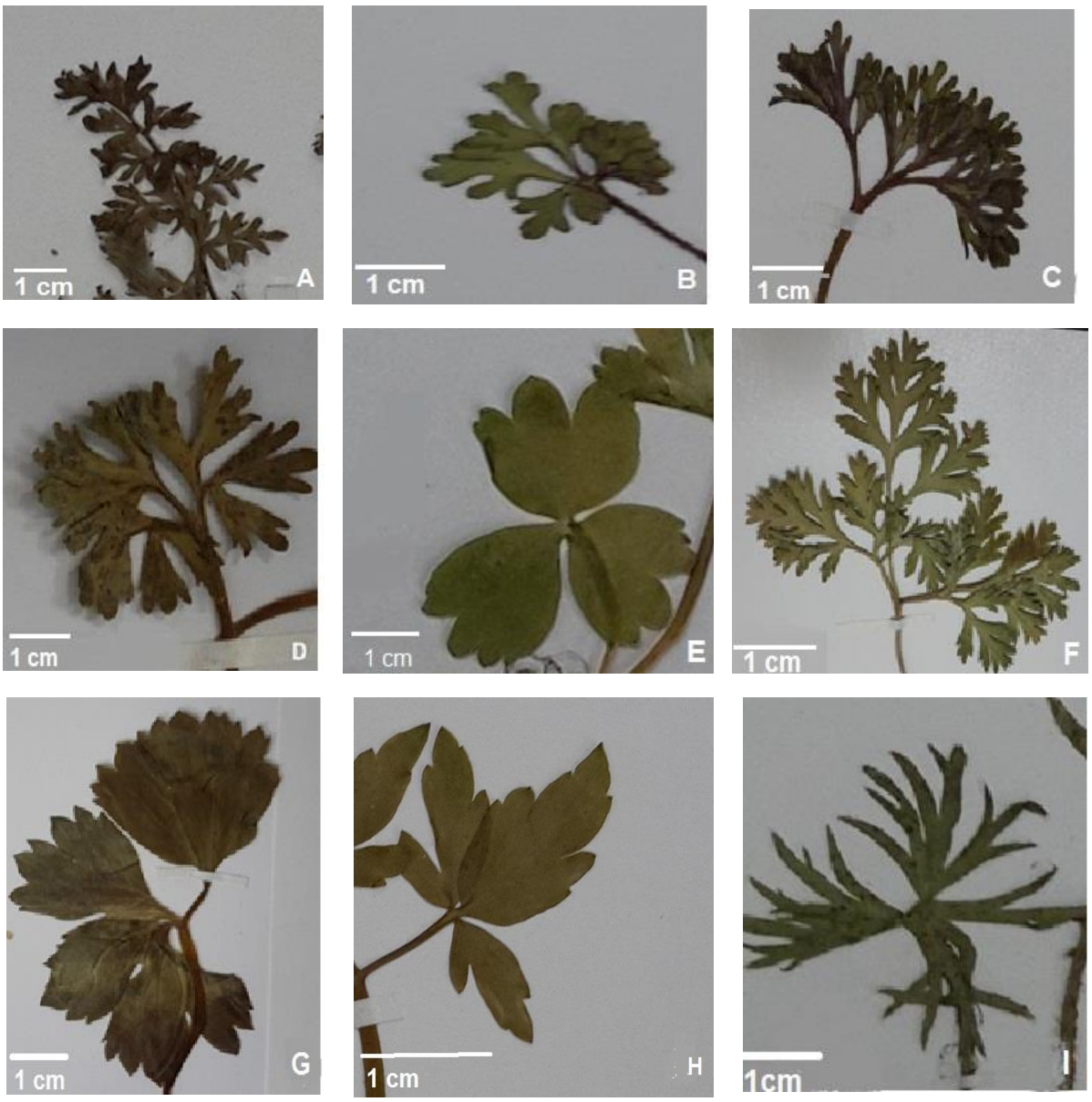
جدول۳: صفات و داده‌های کیفی برگ گونه‌های *Anemone* و *Pulsatilla* مورد مطالعه

گونه	الگوی اپیدرمی	شکل برگ	شکل قطعات برگ	شکل نوک برگ	تراکم کرک	وجود یا عدم وجود دمبرگچه
A. biflora var. *biflora*	Reticulate	Trisected or sometimes palmately trisected	Pinnatifid	Obtuse	Hairless	Positive
A. biflora var *petiolulosa*	Reticulate	Trisected with long petiolule	Pinnatipartite	Obtuse	Hairless	Positive
A. biflora var *gortschakowii*	Reticulate	Palmately trisected sessile or sub sessile	Pinnatifid	Obtuse	Hairless	Negative
A. tschernjaewii	Simple	Trisect	Flabellate	Mucronate	Hairless	Negative
A. coronaria	Rugose	Ternately compound with petiolule	Pinnatipartite	Acute	Hairy	Positive
A. blanda	Striate	Trisected with petiolule	Flabellate	Obtuse	Hairy above	Positive
A. caucasica	Striate	Trisect	Obovatos	Acute	Hairy above	Negative
A. narcissiflora	Rugose	Palmately 3-5 partite	Flabelliform	Obtuse	Hairy	Negative
P. albana	Rugose	2-3 pinnaite sect	Pinnatisect	Obtuse	Hairy	Negative

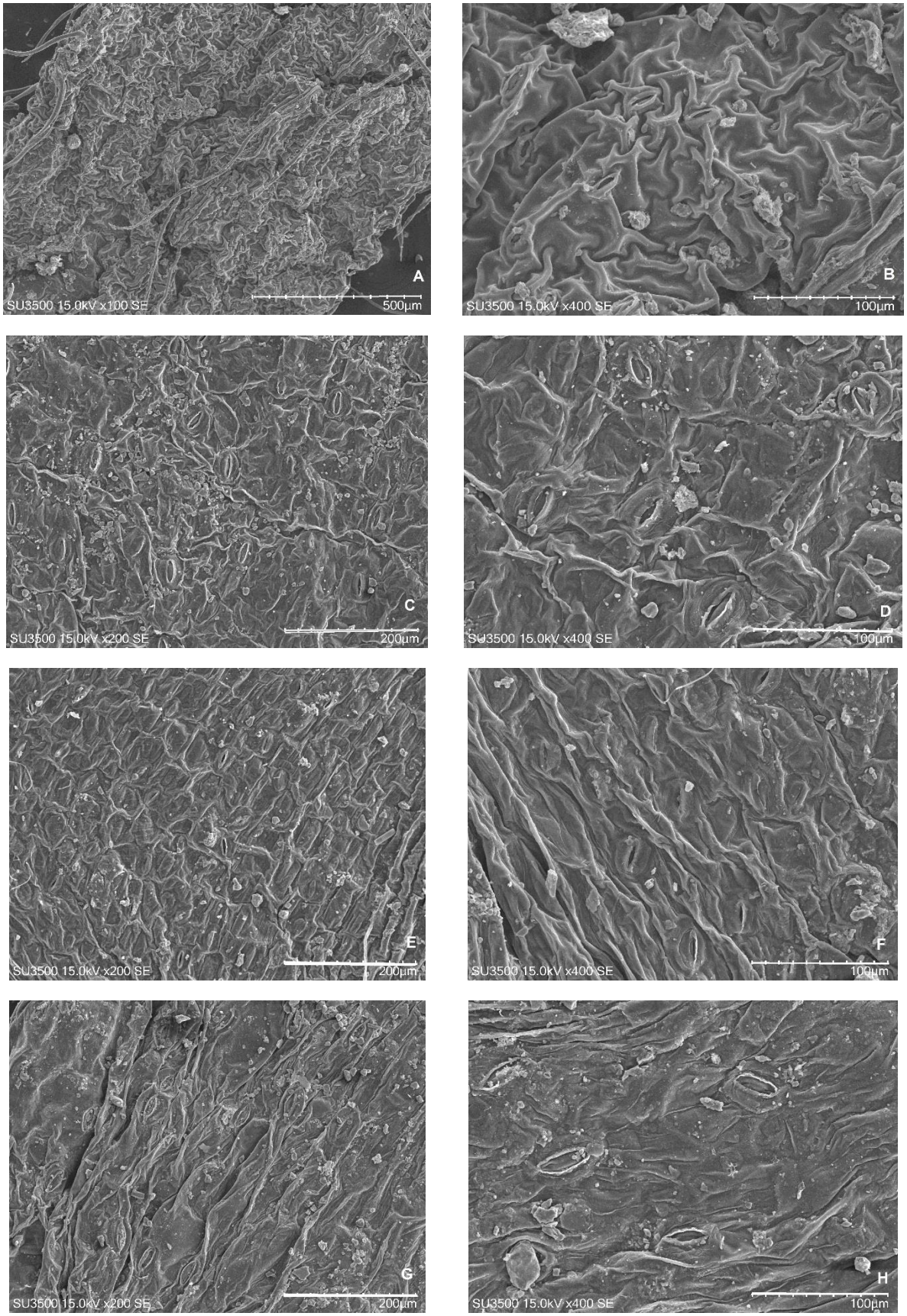
فنوگرام تجزیه خوشه‌ای به روش Average Linkage براساس کلیه داده‌های کمی و کیفی صفات ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگ ترسیم گردید. فنوگرام در فاصله‌ی ۲۵، دو شاخه شده و گونه‌ی *P. albana* از گونه‌های *Anemone* جدا شده است. در فاصله ۲۱ نیز *A. narcissiflora* از سایر آرایه‌ها مجزا گشته است (شکل۴).

در فاصله‌ی ۱۲ مجددا فنوگرام دو شاخه شده و دو گونه‌ی *A. blanda* و *A. caucasica* در حالی‌که تشکیل یک گروه خواهری را داده‌اند از آرایه‌های دیگر جدا شده‌اند (شکل۴).

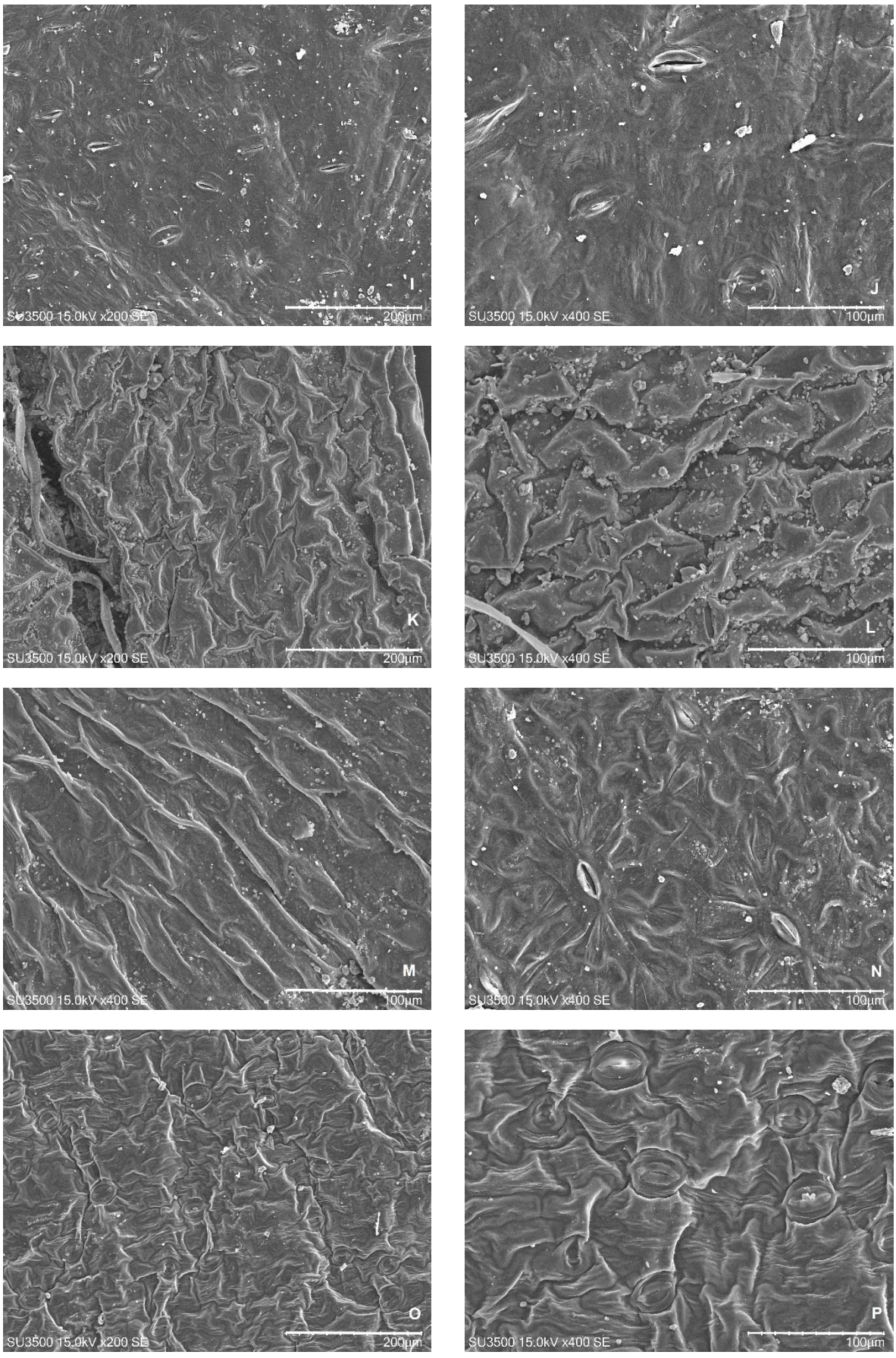
درنهایت در فاصله ۱۱، دو گونه‌ی *A. coronaria* و *A. tschernjaewii* تشکیل یک خوشه را می‌دهند و خوشه‌ی دیگر شامل سه واریته‌ی *A. biflora*، *A. biflora* var. *biflora* و *A. biflora* var. *petiolulosa* تشکیل یک گروه خواهری را می‌دهند در مرحله‌ی بعد با *A. biflora* var. *gortschakowii* نزدیکی نشان می‌دهند (شکل۴).



شکل۱: تصاویر برگ در گونه‌های مورد مطالعه در بررسی‌های ریخت‌شناسی. A (*A. albana*)، B (*A. biflora* var *biflora*)، C (*A. biflora*)، D (var. *petiolulosa*)، E (*A .tschernjaewii*)، F (*A. cronaria*)، G (*A. blanda*)، H (A. caucasica)، I (*A. narcissiflora*)



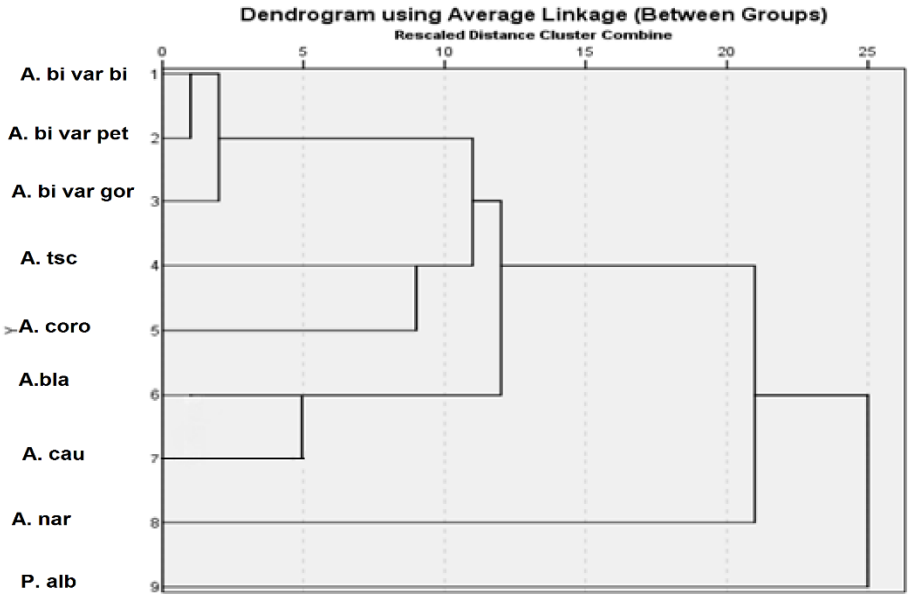
شکل۲: جزئیات سطح برگ در گونه‌های مورد مطالعه در بررسی‌های SEM. A-B (*A. albana*)، C-D (*A. biflora* var *biflora*)، E-F (*A. biflora* var. *gortschakowii*) G-H، (*biflora* var. *petiolulosa*)



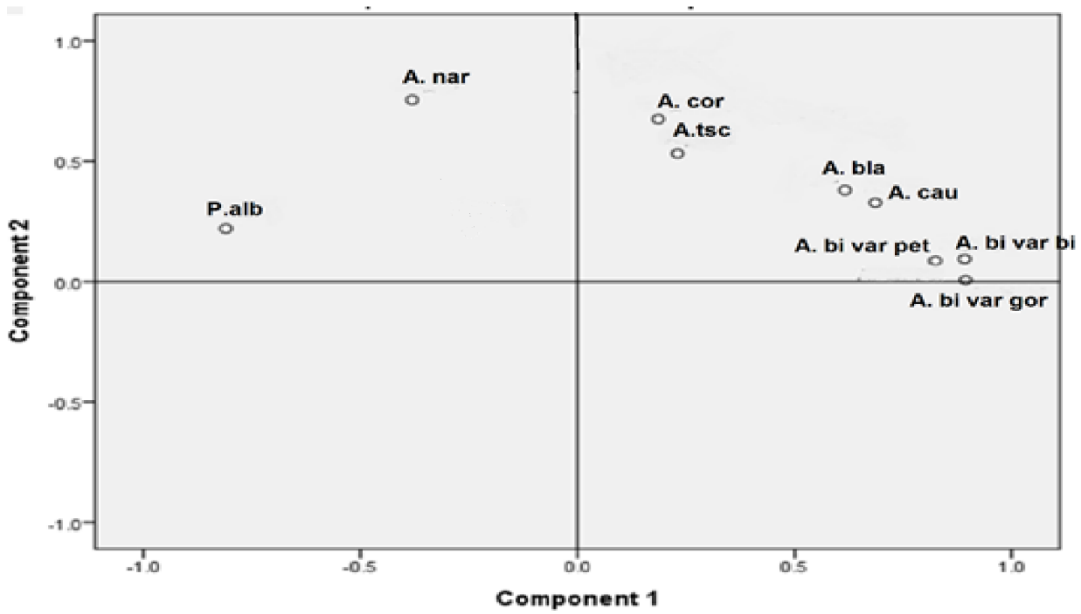
شکل۳: جزئیات سطح برگ در گونه‌های مورد مطالعه در بررسی‌های SEM. I- J (*A .tschernjaewii*)K-L، (*A. cronaria*) M، (*blanda*)N، (A. caucasica) O-P، (*A. narcissiflora*)

آنالیز تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) نشان داد که متغیرترین صفات در مؤلفه‌ی اول با درصد واریانس ۴۰ درصد شامل شکل برگ و الگوی اپیدرمی و همچنین متغیرترین صفات در مؤلفه‌ی دوم با درصد واریانس ۲۵ درصد شامل صفات طول و شکل قطعات برگ می‌باشد.

در پلات رسم شده با استفاده از آنالیز تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) نیز جدایی آرایه‌ها به خوبی دیده می‌شود (مشابه با فنوگرام) و بیشترین فاصله را *P. albana* با سایر آرایه‌ها دارد و واریته‌های *A. biflora* کمترین فاصله و بیشترین نزدیکی را با یکدیگر نشان می‌دهند، از طرفی در میان گونه‌های *Anemone*، گونه‌ی *A. narcissiflora* بیشترین فاصله را با سایر آرایه‌ها دارد که براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی (به طور مثال داشتن ریشه‌ی چوبی، گل‌آذین چتر، تعداد گل‌های بیشتر، ارتفاع و اندازه بزرگ‌تر گیاه، وجود کرک و موهای بلند در تمام قسمت‌های گیاه) و ویژگی‌های کاریوتایپی کاملا منطقی به نظر می‌رسد (شکل ۵).



شکل۴: فنوگرام رسم شده به روش Average linkage بر اساس داده‌های ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگِ نمونه‌های مورد مطالعه(A. bi var bi: *A. biflora var. biflora*، A. bi var pet: *A biflora var. petiolulosa*، A. bi var *gor: A.biflora var. gortschakowii*، A. tsc: *A. tschernjaewii*، A. bla: *A. blanda*، coro: *A. coronaria*، A. nar: *A. narcissiflora*، A. cau: *A. caucasica*، P. alb: *P. albana*)



شکل ۵: تجزیه به مولفه‌های اصلی(PCA) بر اساس داده‌های کمی و کیفی ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگ نمونه‌های مورد مطالعه (A. bi var bi: *A. biflora var. biflora*، A. bi var pet: *A biflora var. petiolulosa*، A. bi var *gor: A.biflora var. gortschakowii*، A. tsc: *A. tschernjaewii*، A. bla: *A. blanda*، cor: *A. coronaria*، A. nar: *A. narcissiflora*، A. cau: *A. caucasica*، P. alb: *P. albana*)

نتیجه گیری کلی

تا به امروز سه طبقه‌بندی معتبر برای *Anemone* ارائه شده است. طبقه‌بندی‌های Tamura (1995) و Ziman *et al.* (2008) مبتنی بر صفات ریخت‌شناسی و طبقه‌بندی Hoot *et al*. (2012) مبتنی بر داده‌های مولکولی (نواحی ITS و cpDNA) بوده است. تاکسونومیست‌ها براساس تفاوت‌های ریخت‌شناسی، کاریولوژی و سایر مشاهدات جنس‌های متعددی از جنس *Anemone* را جدا کردند از جمله جنس‌های *Pulsatilla*، *Knowltonia*، *Hepatica*، *Barneoudia* و *Oriethales* که این جدایی از طرف بسیاری از محققان کاملاً پذیرفته شده و منطقی به نظر می‌رسد اما Hoot *et al*.(2012) اعتقاد به ایجاد یک جنس بزرگ و ناهمگن *Anemone* s.l با حدود ۲۰۰ گونه دارند که جنس‌های مجزا شده از *Anemone* با نام‌های اختصاصی خودشان در درون این جنس جای گرفته‌اند.

در مطالعه‌ی حاضر در جهت بررسی‌های ریخت‌شناسی برگ گونه‌های ایرانی *Anemone* و تک گونه‌ی ایرانی متعلق به جنس *Pulsatilla* یعنی *P. albana*، علی‌رغم اینکه این جنس‌ها در ایران مورد غفلت واقع شده‌اند، علاوه بر صفات ماکروسکوپی، از صفات میکروسکوپی نیز استفاده کرده‌ایم که مطالعه با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) به دلیل دقت بالا و وضوح تصاویر صورت گرفت و نیز در سال‌های اخیر مورد توجه محققان زیادی قرار گرفته است. تفاوت‌های شاخصی در بین گونه‌های مورد بررسی مشاهده کردیم حتی بعضی از ویژگی‌ها در بین واریته‌های متعلق به گونه‌ی *A. biflora* که سال‌هاست به‌عنوان کمپکس گونه‌ای معرفی شده‌اند، نیز متفاوت و قابل تشخیص بوده‌اند. بررسی‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نیز تائید کننده‌ی

نتایج ما می‌باشند. صفات مورد استفاده در این مطالعه، صفات خوب و دارای ارزش تشخیصی هستند و قابلیت جداسازی گونه‌ها و حتی واریته‌ها را دارند. در بین مطالعاتی که به اهمیت و ارزش صفات برگ در این جنس اشاره کرده‌اند می‌توان به مطالعه‌ی Zhange *et al*.(2015) و Ziman *et al*.(2011) اشاره کرد. Zhange *et al*.(2015) ارزش تشخیصی ویژگی‌های برگ و تقسیمات برگی در سطح گونه در بخشه *Begoniifolia* را نشان داده‌اند هم‌چنین Ziman *et al*.(2011) در بررسی‌های ریخت‌شناسی و تاکسونومی گونه‌های *Anemone* در ناحیه بالکان به ویژگی‌های برگ‌های اصلی و همسانی برگ‌های اصلی و گریبان توجه کرده‌اند. دربین آرایه‌های ایرانی متعلق به دو جنس *Anemone* و *Pulsatilla* نیز صفات تقسیمات برگی و همسانی و عدم‌همسانی برگ‌های اصلی و گریبان نیز دارای ارزش بوده‌اند.

از آنجایی که این مطالعه در واقع مبتنی بر صفات ریخت‌شناسی است در نتیجه هم راستا و منطبق بر طبقه‌بندی‌هایی از همین دست و مؤید مطالعات متعدد گذشته در این زمینه می‌باشد؛ هرچند که روابط بین آرایه‌های متعلق به جنس *Anemone* براساس صفات ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگ منطبق بر هر دو نوع طبقه‌بندی است. به طور مثال آرایه‌های *A. biflora* var. *biflora*، *A. biflora* var. *petiolulosa*، *A. biflora* var. *gortschakowii*، *A. tschernjaewii* و *A. coronaria* در همه‌ی طبقه‌بندی‌ها در یک زیرجنس و بخشه قرار گرفته‌اند (جدول۴) و نزدیکی بیشتری را به هم نشان می‌دهند، در این مطالعه نیز در فنوگرام و پلات در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند.

هم‌چنین گونه‌ی *A. narcissiflora* که در این تحقیق بیشترین تفاوت و فاصله را با سایر آرایه‌های *Anemone* دارد، در همه‌ی طبقه‌بندی ها در زیرجنسی کاملا متفاوت از سایرین قرار گرفته است، قابل ذکر است که در طبقه‌بندی Hoot *et al*.(2012)، تنها دو زیرجنس معرفی شده‌اند که ارتباط مستقیمی با عدد کروموزومی پایه دارد. *A. narcissiflora* نیز دارای عدد کروموزومی پایه (X=7) متفاوت از سایر آرایه‌ها (X=8) می‌باشد.

دو گونه‌ی *A. caucasica* و *A.blanda* در طبقه‌بندی‌های Tamura (1995) و Ziman *et al*. (2008) در زیرجنس و بخشه‌ی متفاوتی از سایر آرایه‌ها قرار گرفته‌اند اما در طبقه‌بندی Hoot *et al*.(2012)، به دلیل داشتن x=8 در زیرجنس *Anemone* قرار گرفته‌اند (جدول ۴)، در مطالعه‌ی ما هم در یک خوشه قرار گرفته و تشکیل یک گروه خواهری را داده‌اند (شکل۴).

در ارتباط با جایگاه گونه‌ی *P. albana* که از دیرباز گاهی در جنس *Anemone* و گاهی در جنس *Pulsatilla* قرار داده شده است؛ براساس مطالعات ما با توجه به تفاوت‌های ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی برگ بین این گونه و گونه‌های متعلق به جنس *Anemone* و هم‌چنین نتایج فنوگرام و پلات، می‌توان این گونه را متعلق به جنس *Pulsatilla* دانست و این نتیجه مشابه مطالعات مبین، (۱۳۶۴، Rechinger & Riedl, 1992، Yaprak *et al*., 2011، Komarov, 1937)است.

جدول۴: موقعیت آرایه‌های ایرانی *Anemone* در طبقه‌بندی‌های مختلف

Taxon	Ziman (2008)	Tamura (1995)	Hoot *et al*. (2012)
A. caucasica *A. blanda*	Sub gen. *Anemonanthea* sect. *Tuberosa*	Sub gen. *Anemonanthea* sect. *Tuberosa*	Sub gen. *Ane*mone sect. *Ane*mone
A. biflora var. *biflora* *A. biflora var. petiolulosa* *A. biflora var. gortschakowii* *A. coronaria* *A. tschernjaewii**	Sub gen. *Ane*mone sect. *Ane*mone	Sub gen. *Ane*mone sect. *Ane*mone	Sub gen. *Ane*mone sect. *Ane*mone
A. narcissiflora	Sub gen. *Homalocarpus* sect. *Homalocarpus*	Sub gen. *Homalocarpus* sect. *Homalocarpus*	Sub gen. *Anemonidium* sect. *Homalocarpus*

منابع

حیدری بالادهی، م. ه. (۱۳۸۶) بررسی تاکسونومیکی جنس‌های .*Anemone* L و .*Pulsatilla* Mill از تیره آلاله(Ranunculaceae) در ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد

شریف نیا، ف. و چلیبیان، ف. (۱۳۸۲) فرهنگ مصور اصطلاحات گیاه شناسی (ترجمه)، چاپ دوم، انتشارات آییژ، ۲۰۸ صفحه

مبین، ص. (۱۳۶۴) رستنی‌های ایران، فلور گیاهان آوندی. انتشارات دانشگاه تهران، ۲۰۱۴ صفحه

Akrami, S., Nejadsattari, T., Mozaffarian V. and Maassoumi, A. (2011) A new species of Hedysarum (Fabaceae) and a new record of Anemone (Ranunculaceae) from NW Iran. Iranian Journal of Botany, 17: 20-23

Boissier, E. (1867) Flora Orientalis, Vol. 1. Georg, Pp 48-54, Basel

Chaudhary, R.P. and Trifonova, V.I. (1988) Morphology of fruit and comparative anatomy of pericarp and seed coat in the Nepal species of the genus Anemone (Ranunculaceae). Botanicheskii Zhurnal, 73: 803–817

Cheng, X.Y., Liu, M., Shi, C.Q., Zhang, X.X. and Ru, J. (2015) The Phylogenetic Significance of Fruit Structures In: Ranunculaceae of China. Pakistan Journal of Botany, 47: 453-466

Christenhusz, M. J. and Byng, J. W. (2016) The number of known plants species in the world and its annual increase. Phytotaxa, 261:201-217

Davis, P.H. (1965) Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 1. Edinburgh at the University Press. Edinburgh

Ehrendorfer, F. and Samuel, R. (2009) Contributions to a molecular phylogeny and systematics of Anemone and related genera (Ranunculaceae–Anemoninae). Acta Phytotaxonomica Sinica, 39:293–307

Hoot, S. (1995) Phylogeny of the Ranunculaceae based on preliminary atpB, rbcL & 18S nuclear ribosomal DNA sequence data. Plant Systematics & Evolution, 9: 241-251

Hoot, S.B., Meyer, K.M. and Manning, J.C. (2012) Phylogeny and Reclassification of Anemone (Ranunculaceae), with an Emphasis on Austral Species. Systematic Botany, 37:139–152
International Plant Names Index. (2012)Anemone biflora var. gortschakowii (Kar. & Kir.) Sinno

Hoot, S.B., Palmer, J.D. and Reznicek, A.A. (1994) Phylogenetic relationships in Anemone based on morphology and chloroplast DNA variation. Systematic Botany, 19: 169–200

Joharchi, M., Ghahremaninejad, F. and Vitek, E. (2011) New plant records for Khorassan province, Iran, IV; with complementary notes to its flora, Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien. Serie B für Botanik und Zoologie, 329-367

Joharchi, M.R. and Akhani, H. (2006) Notes on the flora of Iran 6: eight new plant records from Iran collected from Khorasan & Golestan provinces (NE. Iran). Rostaniha, 7:1-12

Komarov, V. L. (1937) Ranals and Rhoeadales, Flora of the U.S.SR. Vol VII, (translated from Russian), Smithsonian Institution and the National Science Foundation, Pp.184-219, Washington D.C.

Lourteig, A. (1951) Ranunculaceae de Sudamerica templada. Darwiniana, 9:562-604

Lourteig, A. (1956) Ranunculaceae de Sudamerica tropical. Memoria Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, 16:199-224

Maciejewska-Rutkowska, I. and Antkowiak, W. (2013) Taxonomic Utility of Achene Morphology & Anatomy In Anemone L. (Ranunculaceae) Species. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 55: 29–36

Manning, J. & Goldblatt, P. (2013) A taxonomic review of the dry-fruited species of Anemone (Ranunculaceae) in southern Africa. Bothalia 43:1–13

Meyer, K.M., Hoot, S.B. and Arroyo, M.T.K. (2010) Phylogenetic affinities of South American Anemone (Ranunculaceae), including the endemic segregate genera, Barneoudia and Oreithales. International Journal of Plant Sciences, 17:323–331

Parsa, A. (1951) Flora de Iran, Vol.1. Tehran university. Tehran

Rasmussen, H. (1979) The genus Knowltonia (Ranunculaceae). Opera Botanica, 53: 2–43

Rechinger, K.H. and Riedl, H. (1992) Anemone(Ranunculaceae). In: Rechinger, K H(ed.), Flora Iranica. No. 171. Akademische Druk- u Verlagsanstalt. Graz

Shojaee, M., Sharifnia, F., Assadi, M. and Mehregan, I. (in press) Macro & micro- morphological and anatomical investigation of Iranian Anemone and Pulsatilla achene. Rostaniha

Sinno -Saoud, N., Knio, K. and Jury, S. (2007) Phenetic analysis of Anemone coronaria (Ranunculaceae) and related species. Botanical Journal of the Linnean Society, 153:417–438

Starodubtsev, V.N. (1991) Anemone: Systematics and Evolution, Pp 1-197, Leningrad: Nauka (in Russian)

Tamura, M. (1993) Ranunculaceae. In: The Families and Genera of Vascular Plants, vol. 2. (Eds.): Kubitzki, K., J.G. Rohwer and V. Bittrich. Springer-Verlag, Pp 563-583, Berlin

Tamura, M. (1995) Angiospermae: Ordnung Ranunculales. Fam. Ranunculaceae. II. Systematic Part: 223-519

Ulbrich, E. (1905/1906) Uber die systematische Gliederung und geographische Verbreitung der Gattung Anemone L. Botanische Jahrbucher, 37:171-334

Yaprak, A.E., Körüklü, S.T. and Ketenoğlu, A.O. (2011) A synopsis of the genus Pulsatilla (Ranunculaceae) in Turkey. Turkish Journal of Botany, 35:351-355

Zhang, Y., Kong, Y., Ren, C., Tang, M., Hoot, S.B. and Yang, Q. E. (2015) Palynology, cytology, and molecular systematics of Anemone section Begoniifolia (Ranunculaceae). Plant Systematic Evolution, 301:411-424

Ziman, S., Bulakh, E.V., Kadota, Y. and Keener, C.S. (2008) Modern view on the taxonomy of the genus Anemone L.sensu stricto (Ranunculaceae). The Journal of Japanese Botany, 83:127–155

Ziman, S.N., Bulakh, E. V. and Tsarenko, E. (2011) Anemone L. (Ranunculaceae): comparative morphology and taxonomy of the species from the Balkan flora. Botanica Serbica, 35:87-97

Ziman, S.N., Ehrendorfer, F., Keener, C.S., Dutton, B.E., Trifonova, V., Tsarenko, O.N., Moldovanova, E. and Terentjeva, A. (1998) The Anemone biflora complex (Ranunculaceae) in Central and South-West Asia: its differentiation and affinities. Thaiszia, 8:57–85

Leaves Macro and Micro morphological study of Iranian *Anemone* L. and *Pulsatilla* Mill. (Ranunculaceae)

M. Shojaee[1], F. Sharifnia[2]*, M. Assadi[3], I. Mehregan[4]

Received:2020.4.26
Accepted:2020.9.6

Abstract

In this survey, 9 Iranian taxa of Anemone L. and Pulsatilla Mill. were studied by their macro and micro-morphological features of leaves to understand the importance of these characteristics in identifying taxa of these genera. For achieving more accurate results the scanning electronic microscope (SEM) was also used. Several features such as size, shape, trichome, epidermal pattern, segment shape and tip of leaf were studied 4 types including Trisect, Palmately trisect, Ternately compound and Pinnaitesec observed based on leaf shape and 4 types which are reticulate, rugos, striate and simple identified based on epidermal pattern. Using Principal Component Analysis, features such as length, shape, epidermal pattern and segment shape of leaf demonstrate the most distinctive characteristics and they can separate the species and even the varieties. Furthermore, the separation of the taxa well observed in the phenogram.

Keywords: **Epidermal pattern, leaf Shape, SEM, Taxon**

1-PhD student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University,Tehran, Iran
2- Associate Prof., Department of Biology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
*(Corresponding author: f_sharifnia@iau-tnb.ac.ir)
3- Research Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
4- Associate Prof., Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University,Tehran, Iran