

تنوع کرک در برگ کهپروئیان

حمید نظری: دانش‌آموخته دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ۳۸۶۹۵-۶۵۱۷۸، ایران
فرخ قهرمانی‌نژاد✉: استاد گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران ۱۵۷۱۹-۱۴۹۱۱، ایران (fgh@khu.ac.ir)

چکیده

کرک‌های برگ از اجزای مهم گیاهان در سیستماتیک، ریخت‌شناسی، مکانیسم‌های دفاعی و تعاملات بوم‌شناختی هستند. در این بررسی از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای بررسی کرک‌های برگ ۱۵ گونه از کهپروئیان از جمله گونه‌های نماینده جنس‌های *Bourreria*, *Ehretia*, *Halgania*, *Lepidocordia*, *Rocheportia* و *Tiquilia* استفاده شد. نتایج انواع مختلفی از کرک‌ها، اعم از غده‌ای و غیرغده‌ای را در بین گونه‌های مورد مطالعه نشان داد. همچنین، برخی گونه‌ها دارای برگ‌های بدون کرک بودند. نتایج تفاوت‌هایی را در ریخت‌شناسی، تراکم و توزیع کرک در داخل و بین جنس‌ها نشان داد. پراکنش کرک‌ها در سطح برگ برخی از گونه‌ها متراکم و در برخی دیگر بسیار کم است. کرک‌های برگ نیز از نظر اندازه متفاوت بودند و در برخی گونه‌ها هر دو نوع کرک کوتاه و بلند مشاهده شد. برخی از کرک‌ها روی سطح خود تزییناتی داشتند و تنوع در شکل آن‌ها دیده شد. نتایج این بررسی تنوع کرک‌ها و کاربرد بالقوه آن‌ها به عنوان ابزار رده‌بندی به منظور تعیین جایگاه دقیق آرایه‌های این تیره را برجسته می‌کند.

واژه‌های کلیدی: بوم‌شناسی، پراکنش، دوبازویی، سازگاری، کرک غده‌ای، Ehretiaceae

Leaf trichome diversity in Ehretiaceae

Hamid Nazari: PhD Graduate, Department of Biology, Bo-Ali Sina University, Hamedan, 65178-38695, Iran

Farrokh Ghahremaninejad✉: Prof., Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran 15719-14911, Iran (fgh@khu.ac.ir)

Abstract

Leaf trichomes are important components of plants in systematics, morphology, defense mechanisms, and ecological interactions. In this study, scanning electron microscopy (SEM) was used to examine leaf trichomes of 15 species of Ehretiaceae (Boraginales), including representative species of the genera *Bourreria*, *Ehretia*, *Halgania*, *Lepidocordia*, *Rocheportia*, and *Tiquilia*. The results showed a variety of trichome types, both glandular and non-glandular, among the studied species. Some species also had glabrous leaves. The results showed differences in morphology, density, and distribution of trichomes within and between genera. The distribution of trichomes on the leaf surface of some species is dense and in others very sparse. Leaf trichomes also varied in size, and in some species, both short and long hairs were observed. Some trichomes have appendages on their surface and their shape is varied. The results of this study highlight the diversity of trichomes and their potential use as a taxonomic tool to determine the precise position of the arrays of this family.

Keywords: Adaptability, bifurcate, ecology, distribution, glandular trichome

کرک‌ها ساختارهای اپیدرمی تخصصی هستند که نقش مهمی در سازگاری گیاهان با شرایط مختلف محیطی مانند خشکی، گیاه‌خواری و تاثیر اشعه ماوراء بنفش دارند (Wagner et al. 2004). این زاینده‌های میکروسکوپی می‌توانند غده‌ای یا غیرغده‌ای باشند که برای انجام عملکردهای چندوجهی تکامل یافته‌اند. کرک‌های غیرغده‌ای عمدتاً در دفاع فیزیکی در برابر گیاه‌خواران، کاهش اتلاف آب و انعکاس نور بیش از حد نقش دارند (Tattini et al. 2004). در مقابل، کرک‌های غده‌ای غالباً متابولیت‌هایی مانند ترپن‌ها، فنول‌ها و آلکالوئیدها را ترشح می‌کنند که به عنوان بازدارنده شیمیایی در برابر گیاه‌خواران و پاتوژن‌ها عمل می‌کنند (Glas et al. 2012). با توجه به اهمیت بوم‌شناختی و عملکردی آن‌ها، توصیف کرک‌ها بینش‌های ارزشمندی را در مورد تعاملات گیاه با محیط و مکانیسم‌های سازگاری ارائه می‌دهد. تغییرات ریخت‌شناسی، چگالی و عملکرد کرک‌ها بیشتر از نظر رده‌بندی مهم هستند (Werker 2000).

کهیروئیان، متعلق به گاوزبان‌سانان (Boraginales)، دارای تاریخچه رده‌بندی پیچیده‌ای هستند. در ابتدا، این تیره در گاوزبانیان (Boraginaceae) جای داشت (Tieghem 1899)، اما نتایج مطالعات بعدی سبب رده‌بندی آن به عنوان یک تیره متمایز شد. تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیک مولکولی دانش بیشتری را در مورد روابط درون کهیروئیان ارائه کرده است که منجر به شناخت چندین جنس شامل *Bourreria*، *Ehretia*، *Lepidocordia*، *Halgania* و *Tiquilia* شده است (Gottschling et al. 2005). بررسی‌های فیلوژنتیک و تطبیق آن با برخی صفات گل و میوه گیاهان این تیره را در یک کلاذ مجزا قرار داد (Weigend et al. 2014). طبق آخرین بررسی‌های صورت گرفته، هم اکنون این تیره یکی از ۱۱ تیره در راسته گاوزبان‌سانان است (Luebert et al. 2016). این تیره در حال حاضر شامل حدود ۱۵۰ گونه است که عمدتاً در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان پراکنده شده‌اند (Gottschling et al. 2016). تحقیقات در حال انجام روی کهیروئیان به اصلاح درک نگارندگان این مقاله، از تاریخچه تکاملی و قرارگیری طبقه‌بندی آن در زمینه وسیع‌تر تنوع گیاهی منجر گردیده است.

تاریخچه طبقه‌بندی این تیره به تجزیه و نظر بر عدم قطعیت‌ها، به ویژه در مورد جنس‌های آن همراه است. *Rocheftoria* که توسط سوارتز در سال ۱۷۸۸ توصیف شد، دستخوش تغییرات طبقه‌بندی متعددی شده است (Swartz 1788). برخی نگارندگان براساس صفات گل نام‌های *Lutrostylis* و *Diplostylis* را پیشنهاد کردند اما هر دو در نهایت با *Rocheftoria* مترادف شدند (Irimia & Gottschling 2014). جایگاه سیستماتیک *Bourreria* نیز حل نشده باقی ماند، زیرا در کنار آنالیزهای فیلوژنتیک، بررسی صفات ریخت‌شناسی نیاز است، اگرچه داده‌های مولکولی آن را در تیره کهیروئیان قرار داده است (Gottschling & Miller 2007). به طور مشابه، *Lepidocordia* که در ابتدا توسط Duce (۱۹۲۵) در زیرتیره *Ehretioideae* قرار داشت، به دلیل ویژگی‌های مشترک آرایه‌های آن با *Heliotropioideae* مورد ارزیابی مجدد قرار گرفت (Miller & Nowicke 1990). جنس *Tiquilia*، علی‌رغم ویژگی‌های ریخت‌شناسی و مولکولی آن، یک گروه تک‌فلیتیک با *Bourreria*، *Lepidocordia* و *Rocheftoria* تشکیل می‌دهد (Gottschling et al. 2014).

کهیرو (*Ehretia*)، به عنوان یک آرایه مرکزی در کهیروئیان قرار دارد و نام تیره براساس آن گذاشته شده است. با این حال، این جنس نیز خود با چالش‌های طبقه‌بندی مواجه شده است (Miller 1989). *Halgania* یک جنس استرالیایی که به *Ehretiaceae* اختصاص داده شده است. این جایگاه بر اساس ویژگی‌های گل و شواهد مولکولی (Holstein & Gottschling 2018) به این جنس داده شده است، در حالی که فیلوژنتیک مولکولی به روشن شدن روابط بین برخی از جنس‌ها کمک کرده است، تمایلات حل نشده و تنوع ریخت‌شناسی همچنان مشکلات طبقه‌بندی را در این تیره ایجاد می‌کند.

کهیروئیان، شامل گونه‌هایی است که اگرچه نسبتاً کوچک هستند، اما تنوع ریخت‌شناختی قابل توجهی را در کرک‌های برگ‌ی خود نشان می‌دهند که از بعد سیستماتیک به طور اختصاصی مورد بررسی قرار نگرفته است. گرچه در گاوزبان‌سانان، ریخت‌شناسی کرک به طور گسترده در تیره‌هایی مانند گاوزبانیان مورد مطالعه قرار گرفته اما مطالعات جامع مشابه در مورد کهیروئیان کمیاب است. آرایه‌های کهیروئیان، مانند *Ehretia*، ساختارهای سطحی متنوعی را نشان می‌دهند که می‌تواند به عنوان صفات متمایزکننده برای رده‌بندی و روابط فیلوژنتیکی عمل کند (Chacon et al. 2016). به علاوه، چنین ساختارهایی برای درک روندهای تکاملی در کل گاوزبان‌سانان حیاتی هستند (Noroozi et al. 2024). تحقیقات نشان داده است که بررسی ساختار دانه‌گرده و تطبیق نتایج با داده‌های موجود در بانک ژنی روند تکاملی گونه‌های موجود در گاوزبان‌سانان را نشان می‌دهد (Noroozi et al. 2021). لذا بررسی روند تکاملی با در نظر گرفتن صفات کرک‌ها نیز امکان‌پذیر است.

با وجود شواهد مولکولی که این تیره را در یک کلاذ قرار می‌دهد، کهیروئیان از نظر ریخت‌شناسی متنوع هستند. در حال حاضر آرایه‌های این تیره را داشتن گل‌هایی با خامه‌های دوگانه و کلاله دو شاخه که ممکن است یک صفت پلزیومورفیک باشد، در کنار هم قرار داده است (Gottschling *et al.* 2016). استفاده از صفات ریخت‌شناسی بیشتر برای تایید جدایی این تیره، همچنین تعیین حدود جنس‌ها و جایگاه گونه‌ها می‌تواند اهمیت به سزایی در رده‌بندی این تیره داشته باشد. احتمال می‌رود که بررسی کرک برگ بتواند ابزاری مناسب را در این راستا در اختیار متخصصان قرار دهد.

هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی اهمیت تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) در آرایه داده‌هایی در مورد وضعیت کلی کرک‌ها در کهیروئیان است تا در تقویت و تایید و یا اصلاح طبقه‌بندی جنس‌های این تیره استفاده شود. از آنجا که بررسی‌های عمیقی روی کرک برگ گونه‌های این تیره صورت نگرفته است، نتایج این بررسی می‌تواند اهمیت و پتانسیل کرک و صفات آن را به عنوان ابزاری برای رفع مشکلات رده‌بندی و تعیین جایگاه آرایه‌های این تیره پررنگ کند.

روش بررسی

پانزده نمونه هرباریومی از کهیروئیان، شامل سه گونه از *Bourreria*، سه گونه از *Ehretia*، دو گونه از *Halgania*، دو گونه از *Lepidocordia*، دو گونه از *Rochefortia* و سه گونه از *Tiquilia* برای تجزیه و تحلیل انتخاب شدند. نمونه‌ها از هرباریوم موزه تاریخ طبیعی وین (W) و هرباریوم موزه ملی تاریخ طبیعی مؤسسه اسمیتسونین (US) تهیه شدند. تجزیه و تحلیل SEM در موزه تاریخ طبیعی وین (NHM)، انجام شد. نمونه‌های هرباریومی با استفاده از روش‌های استاندارد قبل از تصویربرداری تهیه شدند. نمونه‌های برگ حاوی کرک به دقت از نمونه هرباریومی خشک جدا شدند و با زبانه‌های چسب رسانا به خرده‌های SEM متصل شدند. هر دو سطح فوقانی و زیری برگ‌ها برای تصویربرداری آماده شدند. سپس نمونه‌ها با آلیاژی از طلا و پالادیوم پوشانده شدند تا رسانایی را بهبود بخشد و کیفیت تصویربرداری را افزایش دهد. آماده‌سازی نمونه‌ها شامل کندوپاش طلا با استفاده از دستگاه HUMMER V و تصویربرداری با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل JEOL JXA 6610LV انجام شد. تجزیه و تحلیل SEM با وضوح بالا برای بررسی کرک‌ها در بزرگنمایی‌های مختلف صورت گرفت. ثبت جزئیاتی مانند شکل، اندازه (کوتاه: کمتر از ۵۰ میکرومتر و بلند: بیش از ۵۰ میکرومتر) و تزیینات سطح کرک‌ها انجام شد. چندین تصویر دیجیتال از مناطق مختلف هر نمونه گرفته شد تا از پوشش جامع اطمینان حاصل شود. ویژگی‌های کرک از جمله نوع (غده‌ای یا غیرغده‌ای)، اندازه، تراکم، الگوهای توزیع، برای هر گونه ثبت شد. اطلاعات نمونه‌های هرباریومی گونه‌های مورد مطالعه کهیروئیان در جدول ۱ نشان داده شده است. همه مخلف‌های هرباریوم مورد استفاده در این مقاله با فهرست معتبر آنلاین هرباریوروم (Thiers 2024) مطابقت دارند.

جدول ۱- اطلاعات نمونه‌های هرباریومی گونه‌های مورد مطالعه در کهیروئیان

Table 1. Information on herbarium specimens of the studied Ehretiaceae species

Taxon	Country	Collector and collecting number	QR code	Herbarium acronym
<i>Bourreria spathulata</i> (Miers) Hemsl.	Mexico	D. Rodriguez B. 18 & E. Martinez S.	W0254102	W
<i>B. succulenta</i> Jacq.	Mexico	C. Wright 3121	W0254103	W
<i>B. virgata</i> (Sw.) G. Don	Puerto Rico	L.H.I. 3380	W0254104	W
<i>Ehretia acuminata</i> R.Br.	Japan	Without collector	W0254130	W
<i>E. cortesia</i> Gottschling	Argentina	J. Chiapella 2145 & E. Vitek 09-0160	W0254131	W
<i>E. longiflora</i> Champ. ex Benth.	China	S.K. Lau 115	W0254132	W
<i>Halgania anagaloides</i> Endl.	Australia	R.C. Lewis s.n.	W0254128	W
<i>H. andromedifolia</i> Behr. & F. Muell.	Australia	R.C. Lewis s.n.	W0254129	W
<i>Lepidocordia punctata</i> Ducke	-	Without collector	US00812284	US
<i>L. williamsii</i> (I.M. Johnst.) J.S. Mill.	-	Without collector	B100313480	W
<i>Rochefortia acanthophora</i> (A. DC.) Griseb.	Argentina	Wulochlagel 384	W0254127	W
<i>R. spinosa</i> (Jacq.) Urb.	-	Without collector	P03876532	W
<i>Tiquilia canescens</i> (DC.) A.T. Richardson	United States	A.E. Brant & R.D. Noyes 5738	W0254124	W
<i>T. darwinii</i> (Hook. f.) A.T. Richardson	-	Without collector	W0254125	W
<i>T. paronychioides</i> (Phil.) A.T. Richardson	Peru	M. Wiegand & N. Dostert 98/169	W0254126	W

بررسی SEM روی نمونه‌های انتخاب شده از ۱۵ گونه کپروئیان تنوع در شکل، اندازه، توزیع و تزیینات سطح کرک را در برگ‌ها نشان داد. کرک‌ها شامل انواع غده‌ای و غیرغده‌ای بودند و از نظر اندازه تنوع بالایی داشتند. از نظر پراکندگی کرک‌ها در سطح برگ، انواع کم تراکم، متراکم و بسیار متراکم در این گونه‌ها مشاهده شد. تزیینات سطح کرک در اکثر کرک‌های غیرغده‌ای، برآمدگی‌های گرد یا بیضوی بود که از نظر تعداد با تراکم کم، متراکم و یا بسیار متراکم بودند. اطلاعات مربوط به ویژگی‌های کرک گونه‌های مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- خصوصیات ریخت‌شناختی کرک‌ها در گونه‌های مورد مطالعه در کپروئیان

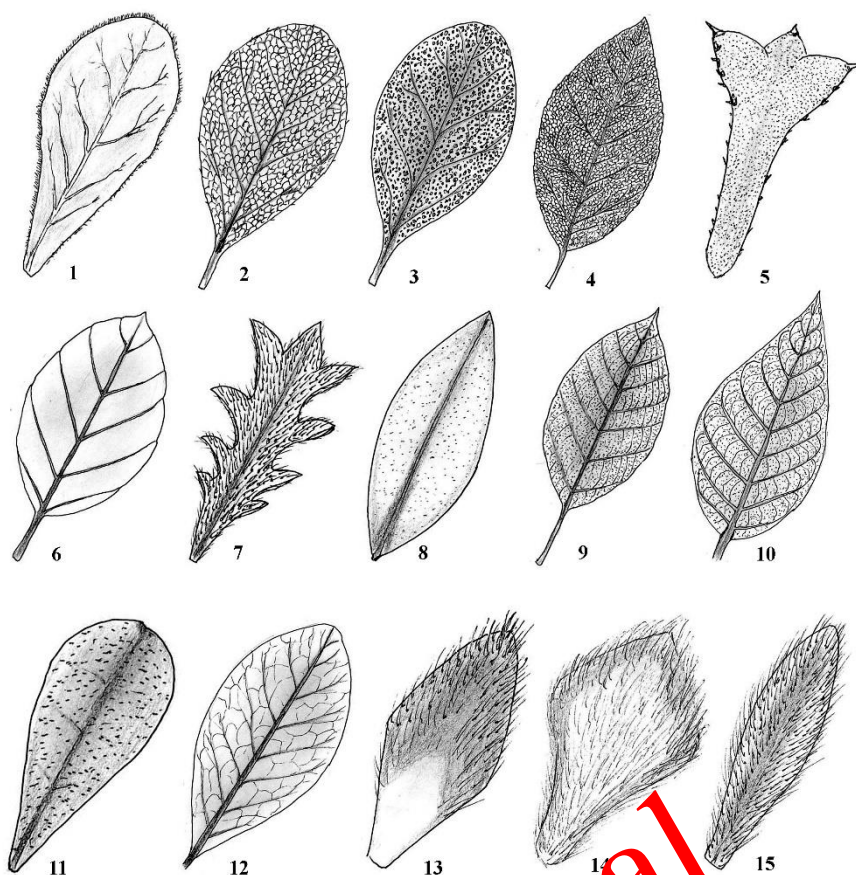
Table 2. Morphological characteristics of trichomes in the studied Ehretiaceae species

Taxon	Type of Trichome	Multicellular base	Size	Density	Shape of surface appendage	Density of surface appendage
<i>Bourreria spathulata</i>	Non-glandular	Absent	Short	Rare		
<i>B. succulent</i>	Glabrous		Short			
<i>B. virgata</i>	Non-glandular	Absent	Short & Long	Sparse	Hemisphere	Sparse
<i>Ehretia acuminata</i>	Non-glandular	Present	Short	Rare		
<i>E. cortesia</i>	Non-glandular	Present	Short	Rare		
<i>E. longiflora</i>	Glabrous		Short & Long			
<i>Halgania anagaloides</i>	Bifurcate	Absent	Short & Long	Sparse	Hemisphere	Dense
<i>H. andromedifolia</i>	Non-glandular	Absent	Short & Long	Sparse		
<i>Lepidocordia punctata</i>	Non-glandular & glandular	Present	Short & Long	Rare	Hemisphere	Rare
<i>L. williamsii</i>	Non-glandular	Absent	Short	Sparse	Hemisphere	Dense
<i>Rocheportia acanthophora</i>	Non-glandular	Absent	Short	Sparse		
<i>R. spinosa</i>	Non-glandular	Present	Short	Sparse		
<i>Tiquilia canescens</i>	Non-glandular	Present	Short & Long	Very dense	Hemisphere	Sparse
<i>T. darwinii</i>	Non-glandular	Present	Short & Long	Dense	Oval	Sparse
<i>T. paronychioides</i>	Non-glandular & glandular	Present	Short	Sparse	Oval	Dense

صفات: glandular = غده‌ای، non-glandular = غیرغده‌ای، dene = متراکم، sparse = پراکنده، rare = به ندرت، hemisphere = نیم‌کره‌ای یا گرد، oval = تخم‌مرغی یا بیضوی

- تراکم کرک‌ها در سطح برگ

پراکنش کرک در هر دو سطح برگ گونه‌های مورد مطالعه متفاوت بود. همان‌طور که در جدول ۲ آمده است، در سطح برگ برخی از گونه‌ها کرک وجود نداشت؛ در برخی پراکنده و در برخی دیگر متراکم بود. این تفاوت بدون استفاده از میکروسکوپ نیز تا حدودی قابل مشاهده بود (شکل ۱). استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی باعث افزایش دقت مطالعه کرک و تراکم آن شد.

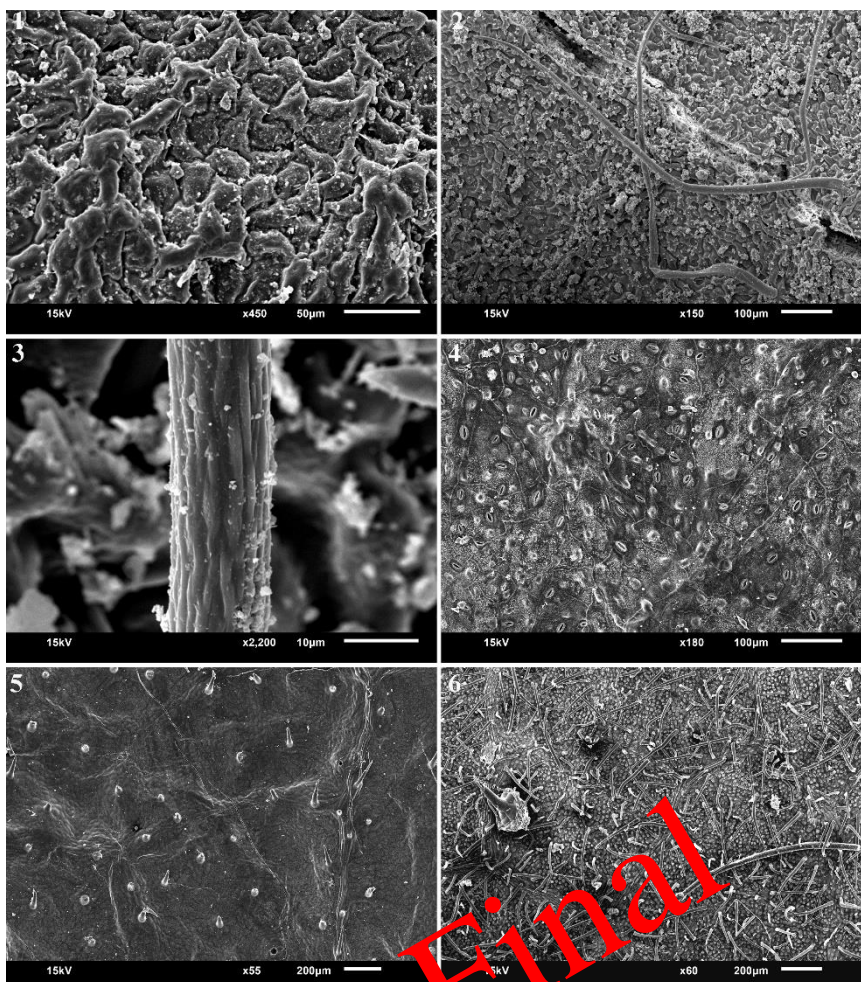


شکل ۱- تراکم کرک در سطح فوقانی برگ گیاهان مورد مطالعه از کپیروئیان: 1. *Bourreria spathulata* 2. *B. succulent* 3. *B. virgata* 4. *Ehretia acuminata* 5. *E. cortesia* 6. *E. longiflora* 7. *Halgania anagalloides* 8. *H. andromedifolia* 9. *Lepidocordia punctata* 10. *L. williamsii* 11. *Rochefortia acanthophora* 12. *R. spinosa* 13. *Tiquilia canescens* 14. *T. darwinii* 15. *T. paronychioides* (ترسیم: توسط نگارنده نخست).

Fig. 1. Trichome density on the leaf surface of the studied species from Ehretiaceae: 1. *Bourreria spathulata*, 2. *B. succulent*, 3. *B. virgata*, 4. *Ehretia acuminata*, 5. *E. cortesia*, 6. *E. longiflora*, 7. *Halgania anagalloides*, 8. *H. andromedifolia*, 9. *Lepidocordia punctata*, 10. *L. williamsii*, 11. *Rochefortia acanthophora*, 12. *R. spinosa*, 13. *Tiquilia canescens*, 14. *T. darwinii*, 15. *T. paronychioides* (Drawn by: 1st. author).

Bourreria P. Browne

بررسی میکروسکوپی برگ سه گونه از این جنس (شکل ۲) نشان داد که در *B. spathulata* سطح فوقانی برگ فاقد کرک بود و در سطح تحتانی برگ کرک‌های بلند غیرغده‌ای با تراکم کم دیده شد که تنها روی رگبرگ‌ها تعداد آن‌ها بیشتر بود. این کرک‌ها تزئینات سطحی شامل برآمدگی نداشتند اما سطح آن‌ها غیرصاف و دارای ناهمواری‌های بود. در *B. succulenta* هر دو سطح برگ فاقد کرک و تنها دارای برآمدگی‌های کوچک و بسیار پراکنده بودند. در *B. virgata* در سطح فوقانی برگ نوعی کرک کوچک شاخی شکل با فاصله کم از یکدیگر سطح برگ را پوشانده بودند. پایه برخی از این کرک‌ها دارای چند سلول پهن شده روی اپیدرم بود. در سطح تحتانی برگ، تنوع در اندازه و شکل بیشتر و در کنار کرک‌های کوتاه، کرک‌های بلند و باریک و همچنین کرک‌های ضخیم با پایه چندسلولی حضور داشتند. برخی از این کرک‌ها دارای تزئینات سطحی بودند که شامل برآمدگی‌های بیضوی کوچک بود.

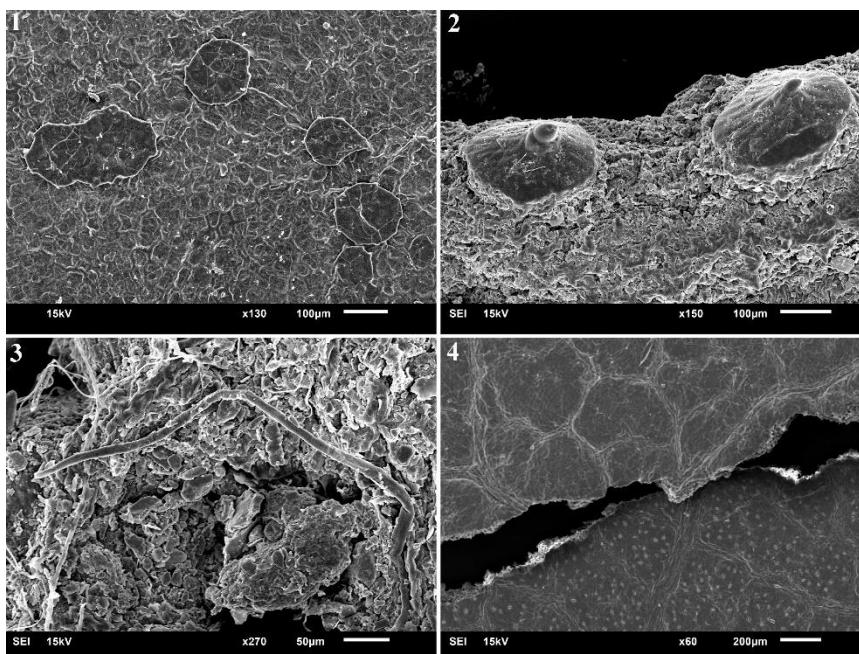


شکل ۲- سطح برگ گونه‌های مورد مطالعه از *Bourreria*: 1. سطح فوقانی *B. spathulata*, 2. سطح تحتانی *B. spathulata*, 3. سطح کرک *B. spathulata*, 4. سطح فوقانی *B. succulent*, 5. سطح فوقانی و تحتانی *B. virgata*.

Fig. 2. Leaf surface of the studied species of *Bourreria*: 1. Adaxial surface of *B. spathulata*, 2. Abaxial surface of *B. spathulata*, 3. Trichome surface of *B. spathulata*, 4. Adaxial surface of *B. succulent*, 5. Adaxial and abaxial surfaces of *B. virgata*.

Ehretia P. Browne

بررسی سطح برگ سه گونه از این جنس (شکل ۳) نشان داد که در *E. acuminata* هر دو سطح برگ دارای تعداد کمی کرک شامل یک پایه پهن شده روی اپیدرم و یک سلول کوچک برآمده در وسط بود. در *E. cortesia* سطح فوقانی برگ و در حاشیه آن تعداد کمی کرک خاص وجود داشت. این کرک‌ها پایه بزرگ و مخروطی چندسلولی داشتند که در راس آن یک سلول کروی در مرکز قرار گرفته بود که برخی به جای سلول کوچک کروی، امتداد شاخی شکل داشتند. در سطح پشت برگ، کرک‌های بلند و باریک حضور داشتند که تعداد آن‌ها نیز کم بود. در *E. longiflora* هر دو سطح برگ بدون کرک بود.

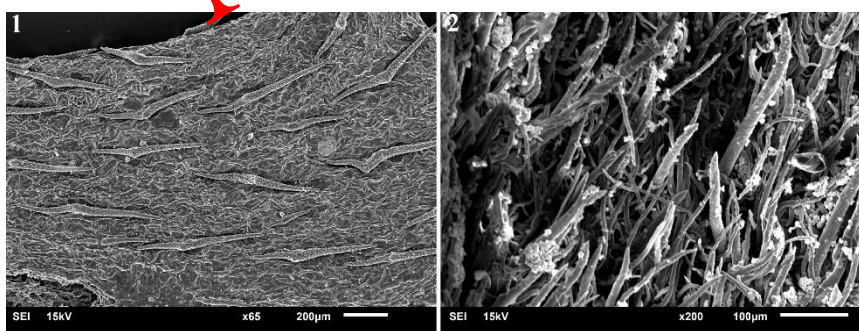


شکل ۳- سطح برگ گونه‌های مورد مطالعه *Ehretia*: 1. سطح فوقانی *E. acuminata*, 2. سطح فوقانی *E. cortesia*, 3. سطح تحتانی *E. cortesia*, 4. سطح فوقانی (بالا) و تحتانی (پایین) *E. longiflora*.

Fig. 3. Leaf surface of the studied *Ehretia* species: 1. Adaxial surface of *E. acuminata*, 2. Adaxial surface of *E. cortesia*, 3. Abaxial surface of *E. cortesia*, 4. Adaxial (up) and abaxial (down) surfaces of *E. longiflora*.

Halgania Gaudich.

بررسی برگ دو گونه از این جنس (شکل ۴) نشان داد که در هر دو سطح برگ *H. anagaloides* کرک دو شاخه (bifurcate) یا به عبارتی دو بازویی وجود داشت که در سطح تحتانی تراکم آن‌ها بیشتر بود. تمام این کرک‌ها دارای تزیینات بودند که شامل برآمدگی‌هایی گرد که تمام سطح آن‌ها را پوشانده بودند. اما بررسی برگ *H. andromedifolia* نشان داد که سطح فوقانی دارای کرک‌های کوتاه با پایه پهن شده بود که تراکم کمی داشتند. در سطح تحتانی برگ، کرک‌های ساده و مخروطی داشتند که در حاشیه تراکم کمتر و در بخش مرکزی تراکم‌تر بودند. این کرک‌ها فاقد تزیینات سطحی بودند.



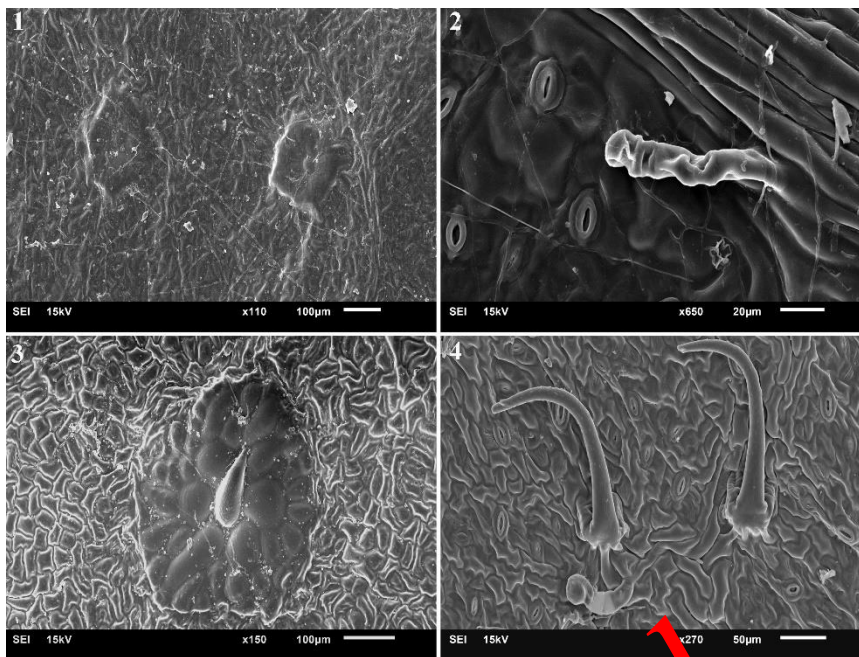
شکل ۴- سطح برگ گونه‌های مورد مطالعه از *Halgania*: 1. سطح فوقانی *H. anagaloides*, 2. سطح تحتانی *H. andromedifolia*.

Fig. 4. Leaf surface of the studied species of *Halgania*: 1. Adaxial surface of *H. anagaloides*, 2. Abaxial surface of *H. andromedifolia*.

Lepidocordia Ducke

بررسی سطح برگ دو گونه از این جنس (شکل ۵) نشان داد که سطح فوقانی برگ *L. punctata* دارای کرک‌های پراکنده کوتاه پهن شده با یک سلول گرد در مرکز بخش پهن شده بودند. در سطح تحتانی برگ علاوه بر کرک‌های غیرغده‌ای ساده، کرک‌های سرغده‌ای با پایه چندسلولی به تعداد کم حضور داشتند که بیشتر روی رگبرگ قرار گرفته بودند. اما در *L. williamsii* سطح فوقانی برگ دارای

کرک‌های ساده کوتاه بود که پایه‌ای پهن شده و چندسلولی داشتند. تراکم این کرک‌ها کم بود. در سطح تحتانی برگ، علاوه بر کرک‌های ساده نسبتاً بلند که معمولاً در انتها قلاب مانند شده بودند، کرک‌های سرغده‌ای با پایه چندسلولی و گاهی پایه کوتاه حضور داشتند. کرک‌های غیرغده‌ای در برگ این گونه فاقد تزیینات سطحی بودند.

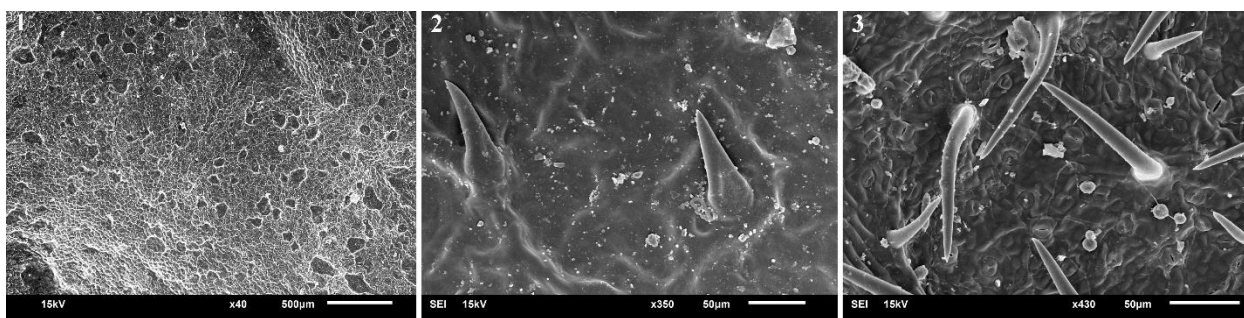


شکل ۵- سطح برگ گونه‌های مورد مطالعه از *Lepidoecordia*: 1. سطح فوقانی *L. punctata*, 2. سطح تحتانی *L. punctata*, 3. سطح فوقانی *L. williamsii*, 4. سطح تحتانی *L. williamsii*.

Fig. 5. Leaf surface of the studied species of *Lepidoecordia*: 1. Abaxial surface of *L. punctata*, 2. Abaxial surface of *L. punctata*, 3. Adaxial surface of *L. williamsii*, 4. Abaxial surface of *L. williamsii*.

Rocheftortia Sw.

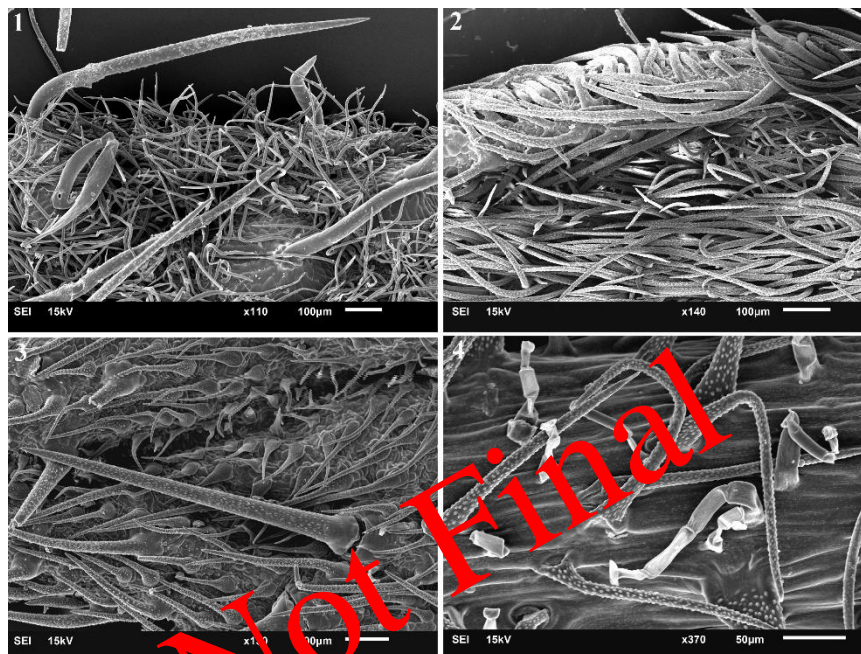
بررسی برگ دو گونه از این جنس (شکل ۶) نشان داد که در *R. acanthophora* سطح فوقانی دارای کرک‌های کوتاه ساده که برخی از آن‌ها دارای پایه پهن شده و برخی فاقد آن بودند. این کرک‌ها پراکنده و تراکم آن‌ها کم بود. سطح تحتانی دارای کرک‌های بلندتر که فاقد پایه پهن و تراکم آن‌ها بیشتر از سطح فوقانی بود. این کرک‌ها تزیینات سطحی نداشتند. اما بررسی برگ *R. spinosa* نشان داد که هر دو سطح برگ تنها دارای یک نوع کرک بودند. این کرک کوتاه و شامل پایه‌ای پهن شده در سطح برگ و یک سلول کوچک در مرکز بود. تراکم کرک در سطح تحتانی بیشتر بود.



شکل ۶- سطح برگ گونه‌های مورد مطالعه از *Rocheftortia*: 1. سطح تحتانی *R. spinosa*, 2. سطح فوقانی *R. acanthophora*, 3. سطح تحتانی *R. acanthophora*.

Fig. 6. Leaf surface of the studied species of *Rocheftortia*: 1. Abaxial surface of *R. spinosa*, 2. Adaxial surface of *R. acanthophora*, 3. Abaxial surface of *R. acanthophora*.

بررسی برگ سه گونه از این جنس (شکل ۷) نشان داد که هر دو سطح برگ *T. canescens* از کرک‌های غیرغده‌ای کوچک و بزرگ پوشیده شده بود. تراکم کرک در هر دو سطح زیاد و تعداد کرک‌های کوچک بیشتر بود. کرک‌های بزرگ دارای پایه چندسلولی بزرگ و پهن بودند. تزئینات سطح کرک‌های بزرگ شامل برآمدگی‌های نیم‌کره مانند بود که همه سطح کرک را پوشانده بودند. کرک‌های کوچک معمولاً خمیده بودند. بررسی *T. darwinii* نشان داد که هر دو سطح برگ این گونه نیز از کرک‌های غیرغده‌ای کوتاه و بلند پوشیده شده بود. تنوع در اندازه کرک وجود داشت اما تفاوت در شکل بسیار کم بود. تزئینات سطح این کرک‌ها بیضوی بود و تمام سطح کرک را پوشانده بودند. هر دو سطح برگ در *T. paronychioides* دارای کرک‌های غیرغده‌ای ساده و شاخی شکل بزرگ و کوچک بود. تنوع در اندازه و شکل این کرک‌ها وجود داشت. تراکم آن‌ها متوسط در بین آن‌ها کرک‌های غده‌ای با پایه چندسلولی نیز مشاهده شد که در اندازه و شکل سلول تفاوت‌هایی داشتند.



شکل ۷- سطح برگ گونه‌های مورد مطالعه از *Tiquilia*: 1. سطح تحتانی *T. canescens*, 2. سطح فوقانی *T. darwinii*, 3. سطح فوقانی *T. paronychioides*, 4. سطح تحتانی *T. paronychioides*

Fig. 7. Leaf surface of the studied species from *Tiquilia*: 1. Abaxial surface of *T. canescens*, 2. Adaxial surface of *T. darwinii*, 3. Adaxial surface of *T. paronychioides*, 4. Abaxial surface of *T. paronychioides*.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که کرک‌های برگ در تیره کهپروئیان (Ehretiaceae) دارای تنوع ریخت‌شناختی بالایی هستند و می‌توانند به عنوان شاخص‌های بالقوه در سیستماتیک این تیره مورد استفاده قرار گیرند. بررسی حاضر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) توانست ویژگی‌های دقیق‌تری از کرک‌ها را آشکار کند که در مطالعات قبلی مورد بررسی قرار نگرفته بودند. این یافته‌ها در مقایسه با پژوهش‌های پیشین روی گاوزبان‌سانان (Boraginales) ابعاد جدیدی را در سیستماتیک این تیره ارائه می‌دهد. مطالعات قبلی روی صفات ریخت‌شناختی و مولکولی در گاوزبان‌سانان (Gottschiling *et al.* 2016, Luebert *et al.* 2016) عمدتاً بر ساختار گل و میوه متمرکز بوده‌اند، اما بررسی حاضر اهمیت کرک‌های برگ را به عنوان صفاتی ارزشمند در فیلوژنی این گروه نشان می‌دهد. به ویژه، یافته‌های پژوهش حاضر تایید می‌کند که ساختار کرک‌ها در برخی از جنس‌های کهپروئیان، نظیر *Ehretia* و *Bourreria*، دارای ویژگی‌های مشترکی با سایر اعضای این تیره است، اما در جنس‌هایی مانند *Halgania* و *Tiquilia* تمایزات بارزی مشاهده شد. این نتایج با مطالعاتی که بر اهمیت صفات میکروسکوپی در تاکسونومی گیاهان تأکید دارند (Chacon *et al.* 2016, Mehrabian *et al.* 2014) همسو است.

مطالعه مصطفی و همکاران (Mostafa et al. 2018) نشان داد که کرک‌های معدنی شده در گاوزبان‌سانان دارای الگوهای فیلوژنتیکی ساده اما ناهمگنی‌های میکروسکوپی پیچیده‌ای هستند. این یافته‌ها می‌تواند در تفسیر نتایج پژوهش حاضر نقش داشته باشد، زیرا نشان می‌دهد که ساختار کرک‌ها نه تنها در طبقه‌بندی بلکه در درک تکامل این گروه گیاهی اهمیت دارد. یکی از چالش‌های اصلی تاکسونومی گاوزبانیان، تعیین مرزهای دقیق میان جنس‌های مختلف بوده است (Weigend et al. 2016). در این مطالعه، تنوع در کرک‌های برگ نشان داد که برخی از این ویژگی‌ها می‌توانند در تفکیک آرایه‌های مختلف کهیروئیان مفید باشند. برای مثال، وجود کرک‌های غیرغده‌ای دوشاخه در *Halgania* یا کرک‌های دارای تزئینات سطحی در *Tiquilia*، نشانگرهای احتمالی برای تعیین روابط فیلوژنتیکی این گروه‌ها هستند. براساس مطالعات گوتشلینگ و هیلگر (Gottschling & Hilger 2004)، درخت فیلوژنی حاصل از داده‌های مولکولی نشان داد که گونه‌های مورد بررسی براساس صفات میوه‌ای در سه گروه دارای چهار، دو و یک آندوکارپ قرار گرفتند. این یافته‌ها با شواهد مولکولی همخوانی داشتند و تأییدی بر ارتباط نزدیک داده‌های ریخت‌شناسی و مولکولی در این گروه هستند. مطالعه حاضر نیز نشان داد که کرک‌های برگ می‌توانند چنین ارتباطی را در مورد کهیروئیان داشته باشند. به علاوه، یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که کرک‌های برگ در کهیروئیان دارای الگوهای توزیع متنوعی هستند که ممکن است به عوامل محیطی وابسته باشد. همان‌طور که مطالعات قبلی نشان داده‌اند، کرک‌های گیاهی می‌توانند نقش مهمی در حفاظت در برابر تنش‌های محیطی ایفا کنند (Tattini et al. 2004, Wagner et al. 2004). تراکم بالای کرک‌های غده‌ای در برخی گونه‌های *Tiquilia* می‌تواند نشان‌دهنده یک سازگاری بوم‌شناختی خاص در این گروه باشد. از منظر سیستماتیک، این مطالعه یک گام مهم در جهت درک بهتر موقعیت تاکسونومیک کهیروئیان محسوب می‌شود. با توجه به اینکه بسیاری از جنس‌های این تیره هنوز به طور کامل طبقه‌بندی نشده‌اند (Gottschling et al. 2005, Irimia & Gottschling 2014)، داده‌های حاصل از این پژوهش می‌تواند مبنایی برای مطالعات آینده در این زمینه باشد. همچنین، یافته‌های تحقیق حاضر، پتانسیل استفاده از صفات میکروسکوپی را در کنار داده‌های مولکولی برای بازنگری جایگاه تاکسونومیک این گروه تقویت می‌کند. در نهایت، این تحقیق به وضوح نشان داد که مطالعه کرک‌های برگ می‌تواند در حل برخی از چالش‌های تاکسونومیک کهیروئیان و در مقیاس گسترده‌تر، گاوزبان‌سانان، مؤثر باشد. با این حال، برای درک کامل‌تر این نقش، ترکیب داده‌های ریخت‌شناسی، مولکولی و بوم‌شناختی در مطالعات آینده توصیه می‌شود.

سیاسگزاری

سپاس ویژه از هایمو راینر، رییس محترم بخش گیاه‌شناسی موزه تاریخ طبیعی وین، برای حمایت و کمک به پیشرفت کار، همچنین از آسترید هیل، آندریاس برگر، تانیا شوستر و یوهانس والتر، دیگر اعضای بخش گیاه‌شناسی موزه تاریخ طبیعی وین برای کمک‌هایشان قدردانی می‌گردد. همچنین، از ونکه وگنر، متخصص SEM، برای نظارت بر تصویربرداری میکروسکوپی سیاسگزاری می‌گردد. در پایان، نگارندگان بر خود لازم می‌دانند که از مسئولان هرباریوم‌های W (اتریش) و US (آمریکا) برای به اشتراک گذاشتن منابع گیاهی تشکر نمایند. پژوهش حاضر مستخرج از رساله دکتری نگارنده نخست است.

References

- Akbarnejad, B., Ghahremaninejad, F., Bidarlord, M., Riahi, M. & Hoseini, E. 2024. Palynological study on a number of Iranian species of *Myosotis*. *Rostaniha* 25(1): 1–18. DOI: 10.22092/bot.j.iran.2024.365023.1382.
- Chacon, J., Luebert, F., Hilger, H.H., Ovchinnikova, S., Selvi, F., Cecchi, L., Guilliams, M., Hasenstab-Lehman, K., Sutorý, K., Simpson, M.G. & Weigend, M. 2016. The borage family (Boraginaceae s.str.) is not monophyletic. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 99: 43–53. DOI: 10.12705/653.6.
- Glas, J.J., Schimmel, B.C., Alba, J.M., Escobar-Bravo, R., Schuurink, R.C. & Kant, M.R. 2012. Plant glandular trichomes as targets for breeding or engineering of resistance to herbivores. *International Journal of Molecular Sciences* 13(12): 17077–17103. DOI: 10.3390/ijms131217077.

- Gottschling, M., Weigend, M. & Hilger, H.H. 2016. Ehretiaceae Mart. Flowering Plants. Eudicots. DOI: 10.1007/978-3-319-28534-4_12.
- Gottschling, M. & Hilger, H.H. 2004. Characterisation of a novel fruit type found in *Ehretia* (Ehretiaceae, Boraginales). *Blumea* 49(1): 145–153. DOI: 10.3767/000651904X486250.
- Gottschling, M. & Miller, J.S. 2007. A revision of *Bourreria* (Boraginales, Ehretiaceae) in South America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94(4): 734–744.
- Gottschling, M., Hilger, H.H., Wolf, M. & Diane, N. 2005. Secondary structure of the ITS1 transcript and its application in a reconstruction of the phylogeny of Boraginaceae. *Plant Biology* 7(6): 620–636. DOI: 10.1055/s-2001-19371.
- Gottschling, M., Nagelmüller, S. & Hilger, H.H. 2014. Generative ontogeny in *Tiquilia* (Ehretiaceae: Boraginales) and phylogenetic implications. *Biological Journal of the Linnean Society* 112(3) 520–534. DOI:10.1111/bij.12266.
- Holstein, N. & Marc Gottschling, M. 2018. Flowers of *Halgania* (Ehretiaceae, Boraginales) are set up for being buzzed and the role of intertwining anther trichomes. *Flora* 240: 7–15. DOI: 10.1016/j.flora.2017.12.005.
- Irimia, R.E. & Gottschling, M. 2016. Taxonomic revision of *Rocheffortia* Sw. (Ehretiaceae, Boraginales). *Biodivers Data Journal* 8(4): e7720. DOI: 10.3897/BDJ.4.e7720.
- Luebert, F., Cecchi, L., Frohlich, M.W., Gottschling, M., Guillems, C.M., Hasenstab-Lehman, K.E., Hilger, H.H., Miller, J.S., Mittelbach, M., Nazaire, M., Nepi, M., Nocentini, D., Ober, D., Olmstead, R.G., Selvi, F., Simpson, M.G., Sutory, K., Valdes, B., Walden, G.K. & Weigend, M. 2016. Familial classification of the Boraginales. *Taxon* 65(3): 502–522. DOI: 10.12705/653.5.
- Mehrabian, A.R., Sheidai, M. & Mozaffarian, V. 2014. Micromorphology of leaf trichomes in *Onosma* (Boraginaceae) and their systematic relevance in Iran. *Phytologia Balcanica* 20: 33–48. URL: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:83080505>
- Menzel, A., Sparks, T., Estrella, N., Koch, E., Aasa, A., Alts, R., Am-Kübler, K., Bissolli, P., Braslavska, O., Briede, A., Chmielewski, F.M., Crepinsek, Z., Curnel, Y., Dahl, A., Defila, C., Donnelly, A., Filella, Y., Jatczak, K., Mage, F., Mestre, A., Nordli, O., Penuela, J., Piriñen, P., Remisova, V., Scheffinger, H., Striz, M., Susnik, A., Vliet, A.J.H. van, Wielgolaski, F.E., Zach, S. & Züst, A. 2006. European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Global Change Biology* 12(2): 196–207. DOI: 10.1111/j.1365-2486.2006.01193.x.
- Miller, J.S. 1989. A revision of the New World species of *Ehretia* (Boraginaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76(4): 1050–1076. DOI: 10.2307/2399691.
- Miller, J.S. & Nowicke, J.W. 1990. Dioecy and a reevaluation of *Lepidocordia* and *antrophora* (Boraginaceae: Ehretioideae). *American Journal of Botany* 77(4): 543–551. DOI:10.1002/j.1537-2197.1990.tb13586.x.
- Mostafa, A., Ensikat, H.J., & Weigend, M. 2018. Mineralized trichomes in Boraginales: complex microscale heterogeneity and simple phylogenetic patterns. *Annals of Botany* 121: 741–751.
- Nazari, H. & Ghahremaninejad, F. 2024. A SEM study of leaf trichomes in Heliotropiaceae. *Iranian Journal of Botany* 30(2): 173–183.
- Noroozi, M., Ghahremaninejad, F., Boglerb, D., Witherspoon, M.J., Ryand, L.G., Millerb, S.J., Riahi, M. & Cohen, I.J. 2021. Parsing a plethora of pollen: the role of pollen size and shape in the evolution of Boraginaceae. *Cladistics* 38(2): 204–226. DOI: 10.1111/cla.12488.
- Noroozi, M., Ghahremaninejad, F., Mehrshid Riahi, M. & Cohen, J.I. 2024. Phylogenomics and plastome evolution of *Lithospermeae* (Boraginaceae). *BMC Plant Biology* 24(1): 957. DOI: 10.1186/s12870-024-05665-6.

- Swartz, O. 1788. Nova genera & species plantarum, seu, Prodrum descriptionum vegetabilium: maximam partem incognitorum quæ sub itinere in Indiam Occidentalem Annis. Pp. 1783–1787.
- Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D. & Agati, G. 2004. Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Phytologist* 163(3): 547–561. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2004.01126.x.
- Thiers, B.M. 2024. [Continuously updated] Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available from: <http://sweetgum.nybg.org/ih> (accessed 14 May 2024).
- Tieghem, P.V. 1899. Sur les Borragineacées et les Heliotropiacées. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique* 8(10): 283–307. <https://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/5010>.
- Wagner, G.J., Wang, E. & Shepherd, R.W. 2004. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. *Annals of Botany* 93(1): 3–11. DOI: 10.1093/aob/mch011.
- Weigend, M., Luebert, F., Gottschling, M., Couvreur, T.L.P., Hilger, H.H. & Miller, J.S. 2016. From capsules to nutlets-phylogenetic relationships in the Boraginales. *Cladistics*, 32(1): 1–20. DOI: 10.1111/cla.12061.
- Werker, E. 2000. Trichome diversity and development. *Advances in Botanical Research* 31: 1–35. DOI: 10.1016/S0065-2296(00)31005-9.

Not Final