Research Article

Nova Biologica Reperta 8(1): 56-67 (2021)

Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115

https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.8.1.56

مقاله پژوهشی

یافته‌های نوین در علوم زیستی

جلد ۸، شماره ۱، صفحات ۵۶ الی ۶۷ (۱۴۰۰)

انتشارات دانشگاه خوارزمی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]

[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

تبارزایی مولکولی و آرایه‌شناسی گونه‌های بخشه *Stenocephalae* از سرده *Cousinia* (تیره کاسنیان) در شمال‌شرقی ایران

سیمین کلوتی[۱]، شاهرخ کاظم‌پور اوصالو[۱، ۴]، فریده عطار[۲، ۴]، آلفونسو سوزانا[۳] و نوریا گارسیا-جاکاس[۳]

[۱]گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت‌مدرس، تهران، ایران؛[۲] هرباریوم مرکزی دانشگاه تهران، دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران؛[۳] موسسه گیاهشناسی بارسلونا، بارسلونا، اسپانیا،[۴] قطب تبارزایی موجودات زنده ایران، دانشگاه تهران، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: شاهرخ کاظم پور اوصالو، skosaloo@modares.ac.ir

چکیده. تبارزایی و تنوع ریختی گونه‌های *Cousinia hypopolia*، *C. decipiens*، *C. esfandiarii*، *C. renominota*، *C. stahliana* و *C. daryoushiana* از بخشه *Stenocephalae* از سرده *Cousinia* که در مناطق شمال‌شرقی ایران پراکنش دارند، مورد بررسی قرار گرفتند. توالی‌های هسته‌ای ITS ، ETS و کلروپلاستی *rpl*32-*trn*L$^{(UAG)}$ برای ۱۲ گونه (۱۷ نمونه) تولید شد. روابط تبارزایشی بین گونه‌ای با استفاده از روش استنباط بیزی و روش بیشینه درست نمایی بازسازی شد. همچنین نمونه‌ها از لحاظ صفات ریخت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه جدایی این گونه‌ها توسط نتایج حاصل از داده‌های مولکولی (داده‌های ترکیبی هسته‌ای ITS، ETS و کلروپلاستی *rpl*32-*trn*L$^{(UAG)}$) علی‌رغم دارا بودن صفات ریختی و توزیع جغرافیایی بسیار مشابه تأیید شد. بر اساس مطالعه حاضر گونه‌های ذکر شده، بر اساس صفات ریختی و نتایج حاصل از داده‌های مولکولی از یکدیگر جدا می‌شوند. کلید شناسایی و شرح گونه‌ها ارائه می‌شود. این نتایج با مطالعات قبلی ریخت‌شناسی، گرده‌شناسی و تشریحی هم‌خوانی قابل توجهی نداشت.

واژه‌های کلیدی. توزیع جغرافیایی، توالی‌های کلروپلاستی، توالی‌های هسته‌ای ، روش استنباط بیزی، صفات ریختی

Molecular phylogeny and taxonomy of species of *Cousinia* section *Stenocephalae* (Asteraceae) in NE of Iran

Simin Kalouti[1], Shahrokh Kazempour Osaloo[1, 4], Farideh Attar[2, 4], Alfonso Susanna[3] & Núria Garcia-Jacas[3]

[1]Department of Plant Biology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran; [2]Central Herbarium, School of Biology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran; [3] Botanic Institute of Barcelona (CSIC-ICUB), Pg. del Migdia s.n., 08038 Barcelona, Spain, [4]Center of Excellence in Phylogeny of Living Organisms, University of Tehran, Tehran, Iran

Correspondent author: Shahrokh Kazempour Osaloo, skosaloo@modares.ac.ir

Abstract. In this study, the phylogeny and morphological variation of 6 species of the genus *Cousinia* sect. *Stenocephalae*, i.e., *C. hypopolia*, *C. decipiens*, *C. esfandiarii*, *C. renominata*, *C. stahliana* and *C. daryoushiana*, distributed in NE regions of Iran, were investigated. ITS, ETS and *rpl*32-*trn*L $^{(UAG)}$ sequences for 12 species (17 specimens) were generated. Phylogenetic interspecies relationships were constructed by Bayesian method and likelihood analysis. The specimens were also investigated in terms of morphological characters. Despite very similar morphological characters and geographical distributions, the separation of these species was confirmed by the obtained results of the molecular data (combined data of plastid and nuclear sequences). On the basis of the present study, the above-mentioned species were almost separated from each other by morphological characters and molecular data. A diagnostic key and the description of these species were also presented. These results did not conform with the previous palynological and anatomical studies of the species.

Keywords. Bayesian analysis, chloroplast sequences, geographical distribution, morphological characters, nuclear sequences

Received 06.10.2019/ Revised 22.11.2019/ Accepted 29.11.2019/ Published 10.06.2021

دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۱۴/ اصلاح: ۱۳۹۸/۰۹/۰۱/ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۰۸/ انتشار: ۱۴۰۰/۰۳/۲۰

مقدمه

هزارخار (*Cousinia* Cass.) یکی از سرده‌های مهم ناحیه ایرانو-تورانی است (Rechinger, 1986; Djamali et al., 2012). این سرده یکی از بزرگترین و پیچیده‌ترین سرده‌های تیره کاسنیان Asteraceae Martinov بوده و دومین سرده بزرگ، بعد از سرده *Asteragalus* L.، در ایران است (Rechinger, 1972,1979; Tscherneva et al.; 2005; Djavadi & Attar, 2006). *Cousinia* با داشتن سه زیر سرده، ۷۰ بخشه و بیش از ۶۰۰ گونه متعلق به طایفه Cass. Cardueae، زیر طایفه Carduinae(Cass.) Dumort و کمپلکس *Arctium-Cousinia* است (Rechinger 1972,1979; Tscherneva, 1962; Susanna & Garcia-Jacas, 2007; López-Viyallonga et al., 2009, 2011). بیش از ۴۰۰ گونه از این سرده در آسیای‌غربی و میانه رویش دارند و ایران دارای تقریبا ۲۴۰ گونه است (Rechinger, 1986; Knapp, 1987; Djavadi & Attar, 2010; Zare et al., 2013). مهم‌ترین مرکز تنوع این سرده سرزمین‌های کوهستانی محدوده پامیر- آلای آسیای‌میانه با حدود ۱۷۰ گونه است (Knapp, 1987). مناطق شمال‌شرقی ایران و جنوب ترکمنستان می‌توانند به‌عنوان دومین مرکز تنوع برای این سرده در نظر گرفته شوند (با تقریبا ۱۰۰ گونه که ۷۰ گونه انحصاری هستند (Zare et al., 2013). بر طبق مطالعه اخیر که بر روی پراکنش این سرده در ایران صورت گرفته است مناطقی در ایران که دارای بالاترین غنای گونه‌ای برای این سرده بودند شناسایی شدند. این مناطق عبارتند از : شمال استان سمنان، کوه‌های دنا، البرز مرکزی، استان لرستان، شمال غربی ایران و کوه‌های کپه داغ (Zare et al., 2013).

در فلورا ایرانیکا برای این سرده ۵۹ بخشه در نظر گرفته شده است (Rechinger, 1972, 1979) که از میان آنها ۴۳ بخشه برای ایران گزارش شده است (Attar, 2011a) . بخشه Bunge *Stenocephalae* به ترتیب بعد از بخشه‌هایBunge *Cynaroidae* و Bunge *Alpinae*، سومین بخشه بزرگ سرده در فلورا ایرانیکا است (Ghaffari & Djavadi, 1998). این بخشه در دنیا و ایران به ترتیب تقریبا شامل ۴۶ و ۳۵ گونه است و حدود ۳۰ گونه انحصاری در ایران دارد (Attar et al., 2005; Djavadi & Attar, 2006; Attar, 2011b; Saber et al., 2009). گونه‌های این بخشه در جنوب غربی آسیا پراکنش دارند (Rechinger, 1972, 1979). حوزه پراکنش گونه‌ها از ترکمنستان تا لبنان بوده و به ترتیب از شرق به غرب از تنوع و تعداد گونه‌ها کاسته می‌شود به‌طوری‌که عراق و لبنان هر کدام دارای یک گونه از این بخشه هستند (Post, 1933; Rechinger, 1972, 1979). دامنه پراکنش گونه‌ها در ایران، قسمت‌های شرقی و مرکزی رشته کوه البرز، قسمت مرکزی رشته کوه زاگرس و کوه‌های خراسان شمالی است (Zare et al., 2013). به‌نظر می‌رسد که ایران خاستگاه و مرکز تنوع این بخشه است (Ghaffari & Djavadi, 1998).

صفات متمایزکننده این بخشه عبارتند از: برگ‌های علفی یا چرمی کشیده بر ساقه و واجد بالهای بلند، کپه‌ها کوچک، استوانه‌ای باریک، تعداد گل‌ها کم (حداکثر ۳۰ عدد)، براکته‌های گریبان (۹۰)۱۵-۵۰(-۱۲)، خار انتهایی براکته به حالت گسترده، افراشته یا کم‌وبیش برگشته، رنگ جام گل سفید، صورتی، زرد و به‌ندرت دو رنگ (Saber, 2005; Djavadi & Attar, 2006).

تاکنون مطالعات کروموزومی (Ghaffari et al., 1985; Ghaffari & Djavadi 1998; Ghaffari et al., 2006; Djavadi, 2007; Djavadi & Attar 2010; Djavadi, 2012; Bordbar et al., 2017)، ریخت‌شناسی (Saber, 2005)، گرده شناسی (Saber et al., 2009) و تشریحی (Saber, 2005) بر روی گونه‌های این بخشه صورت گرفته است. اما این مطالعات نتوانستند به‌طور کامل گونه‌های این بخشه را تفکیک نمایند. نتایج حاصل از مطالعات کروموزومی عدد کروموزومی X=۱۳ را برای گونه‌های این بخشه نشان دادند. مطالعه گرده شناسی اگرچه توانست برخی از گونه‌ها را از یکدیگر تفکیک نماید اما جدایی تمامی گونه‌ها با استفاده از نتایج حاصل امکان پذیر نبود. صفات تشریحی به‌دست آمده در مطالعه ساختار تشریحی برگ‌های میانی ساقه، گونه‌های این بخشه را در سه گروه قرار داد.گروه اول: برگ‌ها کاملا چرمی با دو لایه پارانشیم در هر دو سطح اپیدرم. گروه دوم: برگ‌ها علفی- چرمی دارای یک لایه پارانشیم نردبانی در سطح تحتانی اپیدرم. گروه سوم: برگ‌ها علفی با پارانشیم نردبانی در سطح فوقانی اپیدرم.محققین دیگر گونه‌های این بخشه را به دو گروه تقسیم کرد: ۱) گونه‌های دارای کپه‌های استوانه ای و تعداد گل کم (حداکثر تا ۱۵ عدد)، ۲) گونه‌های دارای کپه‌های تخم مرغی و تعداد گل‌ها و براکته‌ها بیشتر از گونه‌های گروه اول. گروه بندی بر اساس صفات گرده‌ای تا حدودی تاییدکننده تقسیم‌بندی بر اساس صفات ریختی می‌باشد (Saber et al., 2009). تا به امروز مطالعات مولکولی و تبارزایشی برای تعیین محدوده گونه‌های این بخشه صورت نگرفته است. جدیدترین مطالعات مولکولی در ارتباط با این سرده به‌منظور تعیین مرزهای سرده و زیر سرده کمپلکس *Arctium-Cousinia* با استفاده از نشانگرهای هسته‌ای (nrDNA ITS و کلروپلاستی *rpS*4-*trn*T-*trn*L$^{(UAA)}$, *rpl*32-*trn*L$^{(UAG)}$) صورت گرفته است. این مطالعات شامل تعداد اندکی از گونه‌های بخشه

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]
[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

Stenocephalae است (López-Viyallonga et al., 2009, 2011). تحلیل‌های تبارزایشی نشان داد که به دلیل سن نسبتا جوان و تعداد بالای گونه‌های سرده *Cousinia*، تعداد صفات به دست آمده در تحلیل‌ها پایین بوده و علی‌رغم تعداد بالای صفات، امکان نشان دادن جورنمایی وجود دارد (López-Viyallonga et al. 2009).

در بیش‌تر موارد شناسایی گونه‌های این بخشه با مشکل روبرو است. به دلیل آن‌که برخی صفات ریخت‌شناسی در گونه‌های این بخشه دارای دامنه تغییرات وسیعی بوده و حتی تغییرات ریخت شناسی در افراد مختلف یک گونه بالا بوده به‌طوری‌که در برخی موارد به‌عنوان گونه‌های جدید در نظر گرفته می‌شوند. برخی صفات نیز وجود دارند که در حد یک گونه ثابت هستند. برخی گونه ها نظیر *C. hypopolia* Bornm. & Sint، *C. decipiens* Boiss. & Buhse، *C. esfandiarii* Rech.f. & Aellen، *C. renominota* Rech.f. & Gauba، *C. stahliana* Bornm. و *C. daryoushiana* Parsa به لحاظ برخی صفات ریخت‌شناسی و نیز پراکنش جغرافیایی بسیار شبیه به هم بوده و در قسمت‌های شمال‌شرقی ایران پراکنش دارند. صفات ریختی گونه ها در جمعیت‌های مختلف آنها متغیر است. به‌طور مثال افراد جمعیت‌های مختلف گونه *C. esfandiarii* به لحاظ صفات ریختی متفاوت بوده و تنوع ریختی در جمعیت‌های آن دیده می‌شود. گونه *C. daryoushiana* در فلور ایران توسط پارسا معرفی شده است و برای این گونه صفات ریختی همچون برگ‌های سبز با پوششی از کرک‌های تار عنکبوتی، برگ‌های ساقه ای چرمی بدون دمبرگ مستطیلی، براکته‌ها با نوک مایل به ارغوانی و منتهی به خاری بلند، کپه‌ها دارای ۱۰-۷ گل، براکته‌هایی خوابیده بر هم-گسترده، گریبان با کرک‌های تار عنکبوتی را می‌توان در نظر گرفت (Parsa, 1945). در فلورا ایرانیکا دو گونه *C. decipiens* و *C. daryoushiana* مترادف در نظر گرفته شده‌اند. مطالعات تشریحی برگ‌های میانی ساقه و گرده‌شناسی تایید کننده نتایج حاصل از مطالعات ریخت‌شناسی گونه‌های مذکور نبودند. تاکنون مطالعه و تبارزایشی مولکولی بر روی گونه‌های ذکر شده در بالا صورت نگرفته است. هدف این پژوهش: ۱) بررسی روابط تبارزایشی گونه‌های *C. hypopolia*، *C. decipiens*، *C. esfandiarii*، *C. renominota*، *C. stahliana* و *C. daryoushiana* با استفاده از نشانگرهای هسته‌ای (ETS, ITS) و کلروپلاستی *rpl*32-*trn* L$^{(UAG)}$ ۲) تعیین محدوده‌های گونه‌های ذکر شده و بررسی تنوع ریختی در جمعیت‌های گونه *C. esfandiarii* و ۳) ارائه شرح گونه‌ها و کلید شناسایی برای گونه‌هایی از این بخشه که در شمال‌شرقی ایران پراکنش دارند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه نمونه‌های هرباریوم‌های دانشگاه تهران (TUH) و موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور (TARI) مورد بررسی قرار گرفتند. جهت شناسایی و بررسی نمونه‌ها از فلورا ایرانیکا، ترکیه، شوروی، فلسطین و سوریه استفاده شد. در مجموع ۱۷ نمونه از این ۱۲ گونه (نه گونه دورن گروه و سه گونه برون گروه) مورد بررسی قرار گرفتند. مشخصات نمونه‌ها در جدول شماره ۱ آورده شده است.

استخراج DNA

DNA کل ژنوم از برگ‌های خشک شده نمونه‌های هرباریومی استخراج شد. روش استخراج بر مبنای روشCTAB (Doyle & Doyle, 1987) و با استفاده از کیت استخراج DNA گیاهی (Exgene ™ Plant SV mini) انجام شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

به منظور انجام واکنش PCR توالی‌های هسته‌ای nrDNA ITS با استفاده از آغازگرهای ITS4 (White et al., 1990) و $ITS5_m$ (Sang et al., 1995) بر اساس برنامه [۱۵۰S، ۹۴ °C؛ ۴۰-۳۴ (S ۵۰، ۹۴°C؛ ۴۰ S ، ۵۴ °C؛ ۵۰S، ۷۲ °C)؛ ۳۰۰S، ۷۲ °C] تکثیر شدند. توالی‌های ETS nrDNA با آغازگرهای ETS1F (Linder et al., 2000)، L-ETS (Lee et al., 2002)، AST1F (Marcos & Baldwin 2001) و ETS-COUF (طراحی شده در این مطالعه: 5' TGAAGGTCTGCCGATTTG 3') برای رفت و آغازگرهای 18S-2L ETSR (Linder et al., 2000)، 18S-ETSR (Marcos & Baldwin, 2001) و AST1R (Baldwin & Marcos, 1998) برای برگشت و طبق برنامه [۳۰۰S، ۹۵ °C؛ ۳۰(S ۶۰، ۹۵°C؛ S ۴۵-۳۰، ۴۸-۵۵ °C؛ ۴۰S، ۷۲ °C)؛ ۴۲۰S، ۷۲ °C] تکثیر شدند. همچنین برای تکثیر فاصله‌انداز کلروپلاستی *rpl*32-*trn*L $^{(UAG)}$ آغازگرهای rpl32-F و trnL$^{(UAG)}$ (Shaw et al., 2007) مطابق با برنامه [۱۵۰S، ۸۰ °C؛ ۳۳ (S ۶۰، ۹۵°C؛ S ۶۰، ۵۳ °C؛ ۶۰S، ۶۵ °C)؛ ۴۲۰S، ۶۵ °C] به‌کارگرفته شد. محصولات PCR به منظور توالی‌یابی از طریق شرکت پیشگام و موسسه گیاهشناسی بارسلونا به ترتیب به کره و مادرید ارسال و توسط شرکت Macrogen تعیین توالی گردید.

هم‌ردیف سازی توالی‌های DNA

بر اساس مطالعات López-Viyallonga et al., 2009, 2011 گونه‌های *A. umbrosum*، *A. amplissimum* و *A. lappa* به عنوان برون گروه انتخاب شدند. توالی‌های به‌دست آمده با استفاده از

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]
[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]

[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

جدول ۱- نمونه‌ها، مکان و شماره هرباریومی آرایه‌های مورد مطالعه.

Table 1. Accessions, locations and herbarium numbers of studied taxa.

Accessions	Voucher Specimen	GenBank accession No: ITS/ETS/*rpl32-trn*L$^{(UAG)}$/
Cousinia esfandiarii (1) Rech.f. & Aellen	Iran: Semnan: Shahrud, Gardaneh-ye Khosh Yeylagh, 65-68 km to Azadshahr, Saber & Moazzeni 34367 (TUH)	LC530282/LC530299/LC530316
C. esfandiarii (2) Rech.f. & Aellen	Iran: Golestan: Golestan pass, 65 km to Bojnurd: Ghahreman & Attar 21896 (TUH)	LC530283/LC530300/LC530317
C. esfandiarii (3) Rech.f. & Aellen	Iran: Semnan: Shahrud, Tash, Ghahreman, Attar & Mehdigholi 27674 (TUH)	LC530284/LC530301/LC530318
C. esfandiarii (4) Rech.f. & Aellen	Iran: Semnan: Shahmirzad to Fulad-Mahalleh, Ca. 10km after Molla-Deh to Hikoo Village, Attar & Zamani 38719 (TUH)	LC530285/LC530302/LC530319
C. esfandiarii (5) Rech.f. & Aellen	Iran: Semnan: 20 km after Meyqan, Attar, Miratadzadinii & Rastegar 45830 (TUH)	LC530286/LC530303/LC530320
C. esfandiarii (6) Rech.f. & Aellen	Iran: Gorgan: Between Azadshahr and Shahrud, after Farsian, Assadi & Azadi 76128 (TARI)	LC530287/LC530304/LC530321
C. decipiens Boiss. & Buhse	Iran: Golestan: Park Golesten, after Tang-e Rah to Bojnurd, Ghahreman, Attar & Mehdigholi 25437 (TUH)	LC530281/LC530298/LC530315
C. renominata Rech.f.	Iran: Khorassan: Kalaleh to Maraveh Tappeh, Gardaneh-ye Chenaran prope: Saber & Moazzeni 34368 (TUH)	LC530288/LC530305/LC530322
C. stahliana Bornm. & Gauba	Iran: Khorassan: 30 km to Bojnurd from Shirvan, Attar & Zamani 43027 (TUH)	LC530289/LC530306/LC530323
C. hypopolia Bornm. & Sint	Iran: Khorassan: Between Bojnurd and Chaman Bid, Ghahreman & Attar 21904 (TUH)	LC530290/LC530307/LC530324
C. daryoushiana Parsa	Iran: Gorgan: On the road from Bojnurd to Shahpasand, Chaman-Bid: Assadi & Maassoumi 21447 (TARI)	LC530291/ LC530308/LC530325
C. stenocephala Boiss.	Iran: Kermanshah: 35 km to Gilane Gharb from Ghasreshirin, Attar & Hamzehee 45544 (TUH)	LC530292/LC530309/LC530326
C. cylindracea var. *patula* Heimer	Iran: Zanjan: 33 km to Qaidar from Soltanieh, Zarre & Saber 34392 (TUH)	LC530294/LC530311/LC530328
C. alexeenkoana Bornm.	Iran: Hamedan: Soltan Bolagh, between Avaj and Razan, Kharaghan, Djavadi & Ghanbari 20376/3 (IRAN)	LC530293/LC530310/LC530327
A. umbrosum (Bunge) Kuntze	Iran: Khorassan: road of Neyshabour, Binaloud, Ghahreman & Attar 21914 (TUH)	LC530280/LC530297/LC530314
A. amplissimum (Boiss.) Kuntze	Iran: Khorassan: Hezar Masjed, Arab Chah, Attar& Zaman 43023 (TUH)	LC530279/LC530296/LC530313
Arctium lappa L.	Iran: Mazandaran: Karaj-Chalus road. Pol-e Zanganeh, near the river, Nazarian 33071 (TUH)	LC530278/LC530295 /LC530312

نشانگرهای هسته‌ای ITS, ETS و کلروپلاستی *rpl*32-*trn*L$^{(UAG)}$ با استفاده از نرم‌افزار MUSCLE (Edgar, 2004) و به صورت چشمی در نرم‌افزار PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2002) هم‌ردیف سازی شدند.

تحلیل و بررسی‌های تبارزایشی

به منظور آنالیز داده‌ها از نرم افزار PAUP* (Swofford, 2002) از روش جستجوی ابتکاری تعبیه شده در نرم‌افزار با ۱۰۰۰ تکرار و روش تبادل شاخه، دو نیمه‌سازی درخت و اتصال مجدد شاخه‌ها استفاده شد. روش استنباط بیزی به صورت بر خط از طریق نسخه.۳. ۳ گذرگاه علمی CIPRES (Miler et al., 2010) و روش بیشینه درست‌نمایی از طریق نسخه اینترنتی بر خط IQ TREE (Trifinopoulos et al 2016: W-IQ TREE) مورد تحلیل قرار گرفتند. پیش فرض روش استنباط بیزی برای آنالیزهای فیلوژنی ۴ زنجیره مارکوف مونت کارلو (MCMC) شامل ۳ زنجیره گرم و ۱ زنجیره سرد است که برای ۱۰۰ میلیون نسل اجرا شد و هر ۱۰۰۰ نسل، یک درخت نمونه

برداری شد. پس از پایان اجرای برنامه، انحراف معیار برای توالی‌های هسته‌ای و کلروپلاستی به ترتیب ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۴ بود و هر چه این عدد به صفر نزدیکتر باشد بدین معناست که هر دو اجرا درخت‌های احتمالی را که بسیار مشابه هم بودند، نمونه-برداری کرده‌اند و توزیع درختان نمونه‌گیری شده به توزیع هدف، همگرایی یافت. سپس ۲۵ درصد درختان یعنی درختانی که به مرحله همگرایی نرسیده بودند و احتمال پسین خوبی نداشتند حذف شدند .مدل تکاملی برای داده‌های هسته‌ای ITS , ETS و کلروپلاستی *rpl*32-*trn*L$^{(UAG)}$ با استفاده از برنامه MrModeltest version 2.3 (Nylander, 2004) بر اساس معیار اطلاعاتی Akaike (AIC) انتخاب شد. مدل GTR+I برای داده‌های حاصل ازنشانگرهای هسته‌ای ITS و ETS و GTR برای داده‌های حاصل از نشانگر کلروپلاستی *rpl*32-*trn*L$^{(UAG)}$ در نظر گرفته شدند. جایگاه‌های حذف و اضافه برای همه داده‌ها نیز به عنوان صفات دو حالته در نظر گرفته شدند و با استفاده از نرم‌افزار Fastgap V.1.2 (Borchsenius, 2009) کد داده شدند. درخت‌های تکاملی حاصل از داده‌های هسته‌ای و کلروپلاستی بصورت مجزا فاقد صفات اطلاعاتی بودند و در این مطالعه برای تحلیل تبارزایی این گروه از گونه‌ها از درخت حاصل از داده‌های ترکیبی هسته‌ای و کلروپلاستی استفاده شد. مشخصات داده‌های مولکولی در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

نتایج

جهت ترکیب داده‌ها، ناسازگاری مهمی بین سه گروه داده‌های هسته‌ای و کلروپلاستی بر پایه آزمون اختلاف طول ناسازگار (Faris et al. 1995) تعبیه شده در نرم افزار PAUP* (Swofford, 2002) مشاهده نشد (P=0.05) در نتیجه ماتریس ترکیبی از داده‌های هسته‌ای و کلروپلاستی تهیه شد. در درخت تبارزایی حاصل از داده‌های ترکیبی هسته‌ای ETS, ITS و کلروپلاستی *rpl*32-*trn*L$^{(UAG)}$ دو کلاد با احتمال پسین بیزی بالا (PP=0.95) از یکدیگر جدا شده‌اند. گونه *C. stenocephalae* (کرمانشاه) با احتمال پسین بیزی بال ا(PP=1.00) از این کلادها جدا شده است. کلاد اول افراد گونه *C. esfandiarii* به همراه گونه‌های *C. alexeenkoana* (همدان) و *C. cylindracea* var. *patula* (زنجان) و کلاد دوم گونه‌های *C. hypopolia, C. daryoushiana, C. decipiens, C. renominata, C. stahliana* را شامل می‌شوند. کلاد اول با احتمال پسین بیزی بالا (PP= 0.99) شامل یک زیر کلاد با احتمال پسین بیزی و درصد بوتستراپ بیشینه درست‌نمایی بالا است (PP=1.00, BP=82).

در این زیر کلاد نمونه‌های *C. esfandiarii* (76128: TARI) (45830: TUH), به همراه گونه‌های *C. alexeenkoana* (همدان) و *C. cylindracea* var. *patula* (زنجان) قرارگرفته‌اند. دو نمونه *C. esfandiarii* (45830:TUH) و *C. esfandiarii* (76128: TARI) با احتمال پسین بیزی بالا (PP=1.00) از یکدیگر جدا شده‌اند. نمونه‌های *C. esfandiarii* (34367: TUH)، (21896: TUH)، (38719: TUH) و (27674: TUH) جزئی از یک پلی‌تومی بوده و به صورت حل نشده به همراه گونه‌های *C. esfandiari* (45830: TUH), (76128: TARI) ، *C. alexeenkoana* (همدان) و *C. cylindracea* var. *patula* (زنجان) قرار می‌گیرند *C. esfandiarii* (27674: TUH) و (38719: TUH) با احتمال پسین بیزی ودرصد بوتستراپ بیشینه درست‌نمایی بالا از یکدیگر جدا شده‌اند (PP=1.00, BP=100). در کلاد دوم دو گونه *C. renominata* و *C. daryoushiana* متعلق به یک پلی‌تومی بوده و از دیگر گونه‌های قرار گرفته در کلاد دوم جدا شده‌اند (PP:1 BP:78). *C. hypopolia* با دو گونه *C. decipiens* و *C. stahliana* با احتمال پسین بیزی (PP=0.79) خویشاوند است. *C. decipiens* و *C. stahliana* با احتمال پسین بیزی (PP=1.00) گونه‌های خواهری هستند.

کلید شناسایی گونه‌های مورد مطالعه

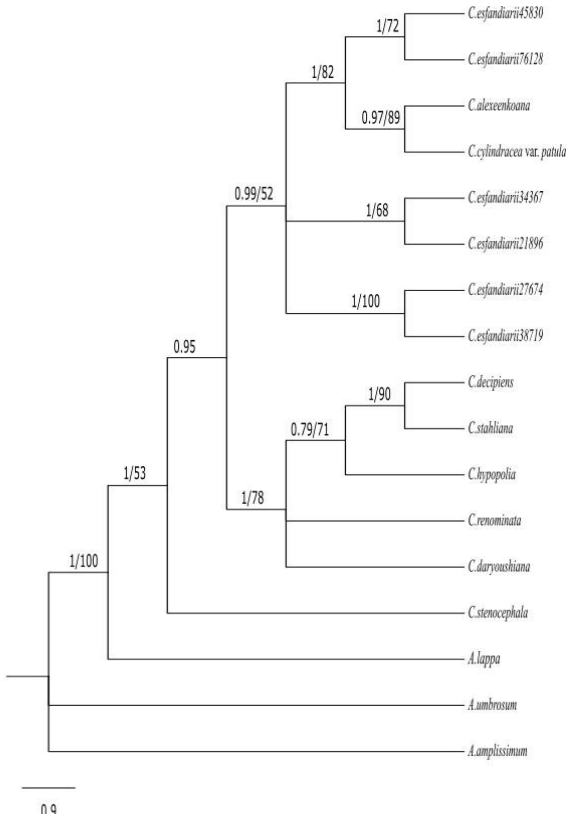
۱- جام گل زرد رنگ، برگ‌های فوقانی احاطه کننده کپه‌ها فاقد بریدگی یا دارای بریدگی‌های کم عمق ۲
- جام گل ارغوانی یا زرد، برگ‌های فوقانی احاطه کننده کپه‌ها دارای بریدگی (تا عمیق) ۵
۲- کپه‌ها کوچک و کشیده، برگ‌های فوقانی احاطه کننده کپه‌ها ..۳
- کپه‌ها تخم مرغی کوچک، برگ‌های فوقانی تا حدودی احاطه کننده کپه ها.....*C. stahliana*
۳- براکته‌های گریبانی با خار انتهایی بلند و افراشته ۴
-براکته‌های گریبانی با خار انتهایی کوتاه و افراشته ..*C. renominata*
۴.کپه‌ها به طور متراکمی کرکدار، برگ‌های فوقانی احاطه کننده کپه‌ها، سطح رویی برگ‌ها سفید رنگ.....*C. decipiens*
-کپه‌ها به طور تنک کرکدار، برگ‌های فوقانی کاملا احاطه کننده کپه‌ها، سطح رویی برگ‌ها سبز رنگ.....*C. hypopolia*
۵.براکته‌های گریبان افراشته با خار کوتاه، برگ‌های فوقانی احاطه کننده کپه‌ها دارای بریدگی‌های کم عمق ....*C. daryoushiana*
-براکته‌های گریبان افراشته تا برگشته با خار کوتاه تا بلند، برگ-های فوقانی احاطه کننده کپه‌ها دارای بریدگی‌های عمیق .....*C. esfandiarii*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]
[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

جدول ۲- مشخصات داده‌های مولکولی مورد تحلیل و بررسی

Table 2. Summary statistics of the molecular data sets analysis.

	nrDNA ITS	**nrDNA ETS**	**cpDNA *rpl32-trn*L (UAG)**	**Combined ETS-ITS- *rpl32-trn*L (UAG)**
Number of samples	17	17	17	17
Number of characters	645	1026	978	2649
GC contents mean (%)	30.35	25.4	13.65	21.95
Parsimony-Informative Characters, included /not included outgroups (PIC)	59/19	55/18	21/7	135/44
Conserved Characters included /not included outgroups(McCauley)	558/595	753/781	948/964	2259/2340
Variable Characters included /not included outgroups (VC)	85/46	93/58	29/12	207/116
CI of MPTs (excluding uninformative characters)	0.887	0.800	1.000	0.838
RI of MPTs (excluding uninformative characters)	0.921	0.868	1.000	0.889
Overall Mean p-distance	0.028	0.026	0.008	0.018
Best fitting model of evolution (BI analyze)	GTR+I	GTR+ I	GTR	GTR +I
Best fitting model of evolution (ML analyze)	-	-	-	TIM2+F+I



شکل۱- درخت حاصل از بازسازی روابط تبارزایشی داده‌های ترکیبی هسته‌ای و کلروپلاستی (ITS + ETS +*rpl*32-*trn*L(UAG)) بر اساس روش استنباط بیزی. مقدار احتمال پسین بیزی و درصد بوتستراپ بیشینه درست‌نمایی در بالای هر یک از شاخه‌ها نمایان است.

Figure 1. 50% rule consensus tree resulting from Bayesian analysis of the combined dataset (ETS+ITS+*rpl*32- *trn* L (UAG)). Numbers above branches are posterior probability (PP) and bootstrap values from maximum likelihood, respectively.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]
[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

شرح گونه‌ها

Cousinia decipiens Boiss. & Buhse, Nouv. Mem. Soc. Nat. Mose. 12 (18): 125 (1860). Syn.: *C. hyrcanica* Bornm., Osterr. Bot. Zeitschr. 75: 233 (1926), syn. nov. edescr. *C. Daryoushiana* Parsa, Kew Bull. 1948: 203 (1948).

شکل‌های۲F و ۴A.

گیاهی چند ساله، در قاعده چوبی. ساقه به ارتفاع ۵۰-۳۰ سانتی متر. پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی متراکم و خوابیده، کرک‌ها کم‌وبیش ریزان. برگ‌ها چرمی- علفی، به رنگ سبز تیره، در هر دو سطح پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی و نمدی خاکستری؛ فوقانی‌ترین برگ‌ها فاقد بریدگی‌های عمیق، تخم مرغی شکل، احاطه کننده کپه‌ها. کپه‌ها به صورت منفرد یا ۳-۲ تایی، تخم مرغی پهن تا باریک یا استوانه‌ای کوچک، گریبان به ابعاد (۱۸-۷)×۱۲-۱۳-۱۵ میلی‌متر، پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی متراکم. براکته‌ها به تعداد ۶۰-۳۰، چرمی ضخیم، در قاعده هم-پوش، در میانه‌های طول فشرده شده، در انتها به حالت افراشته تا گسترده، در حاشیه از بخش میانی تا رأس دارای مژک‌های ریز؛ گل‌ها به تعداد (۱۸-)۱۳-۹، جام ارغوانی یا زرد، در حالت خشک شده رنگ پریده، طول جام ۱۴-۱۰ میلی‌متر، پهنک جام (۹-۵/۵)-۶/۷ میلی‌متر، لوله جام ۵ میلی‌متر، لوبه‌ها ۲/۵± میلی‌متر، لوله بساک ارغوانی، در حالت خشک شده رنگ پریده. فندقه‌ها به طول ۳ میلی‌متر، قهوه‌ای تیره، در قسمت فوقانی دندانه‌دار.

تیپ:کوه‌های شاه کوه.

پراکنش عمومی: انحصاری ایران.

نمونه دیده شده: گلستان: پارک ملی گلستان، بعد از تنگه راه به طرف بجنورد، ۱۲۰۰ متر، قهرمان، عطار و مهدیقلی، TUH-۲۵۴۳۷.

C. esfandiarii Rech. f. & Aell., Ann. Nat. Mus. Wien 57: 75 (1950).

شکل‌های ۲(A, B, C, D, E) و ۳ (A, B, C, D, E, F).

گیاهی چند ساله، به ارتفاع تقریبی ۴۵-۲۰ سانتی‌متر، در قاعده چوبی. برگ‌ها چرمی- علفی، تقریبا دو رنگ، گاهی یک‌رنگ، در هر دو سطح به‌طور بسیار متراکم پوشیده از کرک‌های عنکبوتی و نمدی خوابیده و خاکستری،گاهی کرک‌دار غده‌ای و منقوط، گاهی بدون کرک شونده، فوقانی‌ترین برگ‌ها به تدریج کوچک شونده، تخم مرغی پهن، در قاعده گرد- گوه ای دارای بریدگی‌های عمیق؛ نزدیک به کپه‌ها. کپه‌ها منفرد یا ۳-۲ تایی، تخم مرغی شکل، در قسمت بالا فشرده؛ گریبان به ابعاد ۱۰-۷×۱۵-۱۲ میلی‌متر، پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی بسیار متراکم، گاهی تنک و غده‌ای. براکته‌ها به تعداد ۳۷-۷۰، چرمی، در بخش‌های قاعده‌ای هم‌پوش، نوک خار براکته‌ها کمی تا کاملا برگشته به خارج یا افراشته، براکته‌های داخلی دارای زگیل‌های پراکنده؛ گل‌ها به تعداد (۲۷-)۱۸-۱۴، جام ارغوانی یا زرد ارغوانی رنگ، به طول ۱۵-۱۳ میلی‌متر، پهنک جام به طول ۹-۸ میلی متر، لوله جام ۶-۴ میلی‌متر، لوبه-ها ۳-۲ میلی متر، لوله بساک ارغوانی، فاقد کرک. فندقه دیده نشد. جقه‌ها زود افت.

تیپ: خراسان: کوه‌های خوش ییلاق: ۷۰ کیلوتری شرق شاهرود، ۲۰۰۰-۲۲۰۰ متر.

پراکنش عمومی: انحصاری ایران.

نمونه‌های دیده شده:گلستان: پارک ملی گلستان، ۶۵ کیلومتر به بجنورد، ۲۱۵۰m، قهرمان، عطار TUH- ۲۱۸۹۶؛ شاهرود: خوش ییلاق، ۱۹۹۰m-۲۱۰۰، صابر و موذنی TUH-۳۴۳۶۷؛ گلستان: گرگان: بین آزادشهر و شاهرود، بعد از فارسیان، اسدی و آزادی TARI- ۷۶۱۲۸؛ سمنان: شهمیرزاد به فولاد محله، تقریبا ۱۰ کیلومتر بعد از ملاده به روستای هیکو، عطار و زمانی TUH-۳۸۷۱۹؛ سمنان: ۲۰ کیلومتر بعد از میجان، عطار، میرتاج الدینی و رستگار، TUH- ۴۵۸۳۰؛ TUH- ۲۷۶۷۴.

C.renominata Rech. f., Fl. Iranica. Vol.90, pp. 163. (1972, 1979). Syn.: *C. Turkmenorum* Bornm. & Gauba, Feddes Repert. 46: 277 (1939).

شکل‌های ۲G و ۴C.

گیاهی چند ساله، در قاعده چوبی، به ارتفاع ۲۰-۱۵ سانتی-متر، ساقه پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی و نمدی خوابیده و سفید. برگ‌ها علفی- چرمی، دو رنگ، سطح زیرین به‌طور متراکم پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی و نمدی خوابیده و سفید برفی؛ فوقانی‌ترین برگ‌ها در قاعده گرد- گوه‌ای و فاقد بریدگی‌های عمیق، تقریبا احاطه کننده کپه‌ها. کپه‌ها منفرد یا ۳-۲ تایی، تخم مرغی کشیده و باریک یا استوانه‌ای، در قاعده گرد، در بالا اندکی فشرده، دارای دم گل‌آذین کوتاه به طول ۲-۱ میلی‌متر؛ گریبان به ابعاد ۷-۵×۱۴-۱۰ میلی‌متر، پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی نسبتا ریزان. براکته‌ها به تعداد ۳۰±، هم پوش، افراشته، گل‌ها به تعداد (۱۲-)۷-۶، جام زرد رنگ، به طول ۹-۱۱ میلی متر، پهنک جام به طول ۷± میلی‌متر، لوله جام۳/۵-۲/۵ میلی متر، لوله بساک ارغوانی، فاقد کرک، فندقه دیده نشد.

تیپ: خراسان: گردنه چناران، اطراف مروان تپه، ۷۰۰ متر.

پراکنش عمومی: انحصاری ایران.

نمونه‌های دیده شده:کلاله به مراوه تپه، گردنه چناران، چنارلی، ۶۰۸ m، صابر، موذنی و کشوری، TUH-۳۴۳۶۸.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]
[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

C. hypopolia Bornm. & Sint, Bull. Herb. Boissier, Ser. 2, 7: 214 (1907).

شکل‌های I ۲و B۴.

گیاهی چند ساله، در قاعده چوبی؛ به ارتفاع ۴۰-۲۰ سانتی-متر. ساقه پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی و نمدی خوابیده. برگ‌ها چرمی، تقریبا دو رنگ، در حاشیه واجد دندانه‌های دور از هم، پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی و نمدی متراکم و خاکستری؛ فوقانی‌ترین برگ‌ها فاقد بریدگی‌های خیلی عمیق، تا حدودی یا کاملا احاطه کننده کپه‌ها. کپه‌ها منفرد یا ۳-۲ تایی، تخم مرغی-استوانه‌ای پهن و دراز، در قاعده گرد؛ گریبان با احتساب خارها به ابعاد ۱۴-۱۳×۱۸ میلی‌متر، پوشیده از کرک-های تار عنکبوتی نسبتا تنک و ریزان، براکته‌ها به تعداد ۶۰-۴۹، چرمی، در قاعده هم‌پوش، منتهی به خار بلند انتهایی به طول ۳-۱ میلی‌متر، نوک براکته‌های خارجی و میانی به حالت برگشته-گسترده به‌ندرت افراشته؛ گل‌ها به تعداد ۱۵-۱۰، جام زرد به ندرت ارغوانی رنگ، به طول ۱۲/۵ میلی‌متر، پهنک جام به طول ۷-۸ میلی‌متر، لوله جام ۵-۴ میلی‌متر، لوبه‌ها ۲± میلی‌متر، لوله بساک ارغوانی، فاقد کرک. فندقه دیده نشد.

تیپ: خراسان: بجنورد، سولوکلو، در کوه‌های شیستی.

پراکنش عمومی: انحصاری ایران.

نمونه دیده شده: خراسان: بین بجنورد و چمن بید، ۲۰۰۰ متر، قهرمان و عطار TUH- ۲۱۹۰۴.

C. stahliana Bobnm. & Gauba, Mitt. Thur. Bot. Ver. N. F. 47: 117 (1941). Syn.: *G. hypopolia*sensu K u l t., Herb. Fl. As. Med. nur. 45 et auct., nec Bornm. & Sint.(1907).

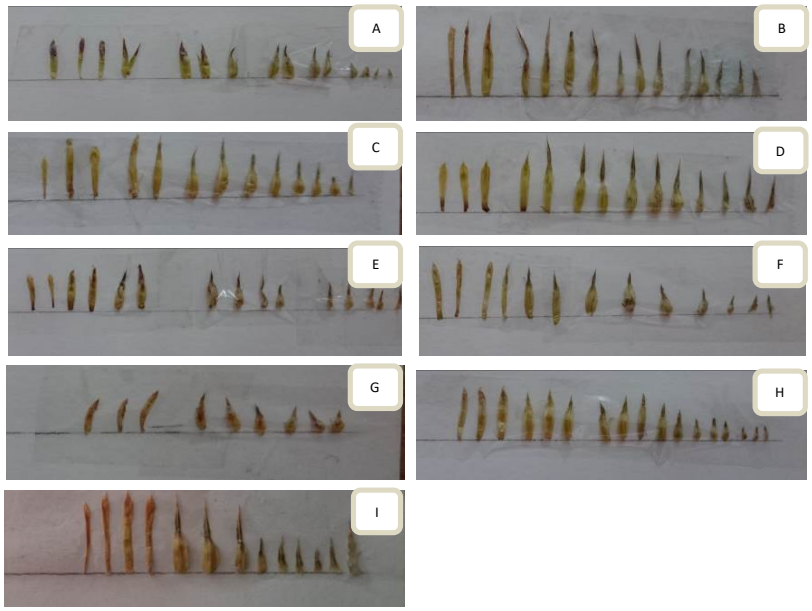
شکل‌های H۲وD۴.

گیاهی چند ساله، در قاعده چوبی، به ارتفاع ۳۰-۱۵ سانتی‌متر، ساقه پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی و نمدی خاکستری. برگ‌ها چرمی ضخیم، بیضوی- تخم مرغی، تقریبا دو رنگ، در هر دو سطح پوشیده از کرک‌های تار عنکبوتی و نمدی متراکم و تقریبا خاکستری؛ فوقانی‌ترین برگ‌ها فاقد بریدگی‌های عمیق، تقریبا با فاصله از کپه واقع شده. کپه‌ها تخم مرغی شکل، منفرد یا ۳-۲تایی؛ گریبان با احتساب خارها به قطر ۱۴-۱۰ میلی متر، واجد کرک‌های بسیار تنک. براکته‌ها به تعداد (۹۰-)۸۰-۵۰، در قاعده کاملا هم‌پوش و افراشته؛ براکته‌های خارجی و میانی واجد خار انتهایی ظریف و نسبتا بلند به حالت برگشته؛ براکته‌های میانی درفشی- سر نیزه‌ای، حاشیه براکته‌ها از قاعده تا رأس مژه‌دار؛ داخلی‌ترین براکته‌ها غشایی و خارج شده از گریبان. گل‌ها به تعداد ۲۰-۱۳، جام زرد لیمویی به طول ۱۳-۹ میلی‌متر، لوله جام ۴/۵-۲ میلی متر، پهنک جام ۸-۶ میلی‌متر، لوبه‌ها ۲±/۵ میلی متر. فندقه‌ها واژ هرمی به ابعاد ۱×۲/۵ میلی‌متر، تقریبا پهن و فشرده، قهوه‌ای رنگ پریده، در قسمت‌های فوقانی گرد.

C. daryushiana Parsa, Flore de l'Iran, vol. 3: 480 (1943).

شکل E۴.

برگ‌ها سبز با پوششی از کرک‌های تار عنکبوتی، برگ‌های ساقه‌ای چرمی بدون دمبرگ مستطیلی، نوک تیز، به عرض ۴-۳ سانتی‌متر،



شکل ۲- تصاویر براکته‌های (خارجی، داخلی، میانی به ترتیب راست به چپ) گونه‌های مورد مطالعه. **A**، **B**، **C**، **D**، **E**. به ترتیب افراد ۵-۱ از گونه *C. esfandiarii*. **F**. گونه *C. decipiens*. **G**. گونه *C. renominata*. **H**. گونه *C. stahliana*. **I**. گونه *C. hypopolia*.

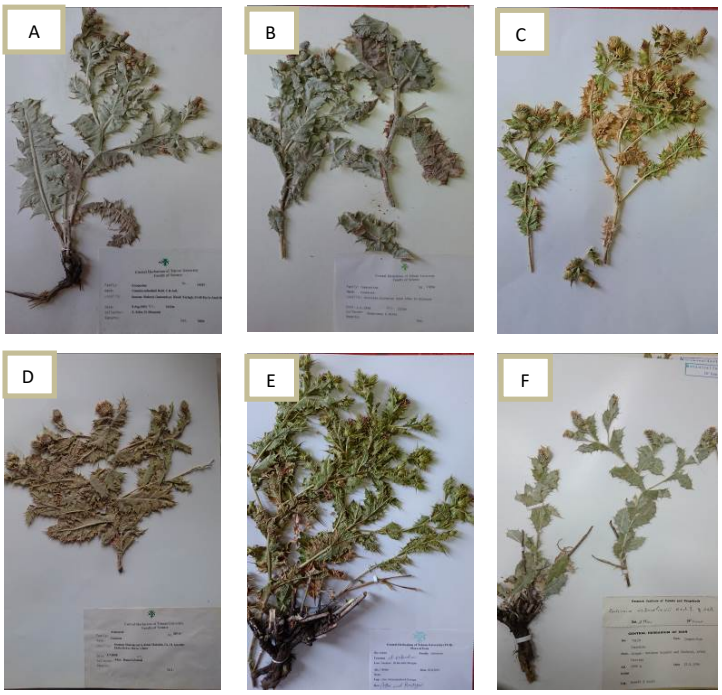
Figure. 2. Photos of the bracts (outer, median, and inner from right to left, respectively) of the studied species. **A, B, C, D, E**. 1-5 individuals from *C. esfandiarii*. **F.** *C. decipiens*. **G.** *C. renominata*. **H.** *C. stahliana*. **I.** *C. hypopolia.*

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]
[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]

[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]



شکل ۳- تصاویر افراد ۶-۱ از گونه *C. esfandiarii*.

Figure. 3. Photos of 1-6 individuals from *C. esfandiarii*.

شکل ۴- تصاویر گونه‌های A: *C. decipiens*، B: *C. hypopolia*، C: *C. renominata*، D: *C. stahliana*، E: *C. daryoushiana*.

Figure. 4. Photos of the species: A: *C. decipiens*, B: *C. hypopolia*, C: *C. renominata*, D: *C. stahliana*, E: *C. daryoushiana*

در حاشیه دارای بخش‌های مستطیلی، در طول کوتاهی کشیده بر ساقه، براکته‌ها با نوک مایل به ارغوانی و منتهی به خاری بلند، کپه‌ها دارای ۱۰-۷ گل، دارای دم‌گل کوتاه به قطر ۱۷-۱۵ میلی‌متر با براکته‌هایی خوابیده بر هم-گسترده، گریبان با کرک‌های تار عنکبوتی، براکته‌ها نیزه‌ای بلند در سطح خارجی بدون کرک شونده، تار نهنجی سفید، نهنج با کرک‌های سفید، فندقه ۳ وجهی در بالا با حاشیه‌ای از دندانه-های نامساوی.

تیپ: شرق ایران: مناطق استپی جنگل ابر، ۱۵۰۰ متر.

پراکنش عمومی: ایران

نمونه دیده شده: گرگان: در جاده بجنورد به شاه پسند، چمن بید، اسدی و معصومی TARI- ۲۱۴۴۷.

بحث

مطالعه بر روی گونه‌های بخشه *Stenocephalae* نشان داد، گونه‌هایی از این بخشه که در شمال‌شرقی ایران پراکنش دارند، از نظر صفات ریخت‌شناسی بسیار شبیه به هم بوده و پیدا کردن صفات ریخت‌شناسی که متمایزکننده این گونه‌ها از یکدیگر است بسیار مشکل است (Saber, 2005)؛ زیرا در جمعیت‌های مختلف هر یک از این گونه‌ها صفات ریختی متغیر بوده و تنوع ریختی در جمعیت‌های مختلف گونه‌ها قابل مشاهده است. از این رو جدایی گونه‌ها تنها با استفاده از صفات ریخت‌شناسی مشکل است. همان‌طور که درخت تبارزایشی (شکل ۱) نشان می‌دهد، گونه‌های مذکور با حمایت بالای آماری از یکدیگر جدا شده‌اند. روابط دو گونه *C. renominata* و *C. daryoushiana* با یکدیگر و با سایر گونه‌های بررسی شده در این مطالعه حل نشده باقی مانده است. افراد جمعیت‌های مختلف گونه *C. esfandiarii* با حمایت بالای آماری از سایر گونه‌های شمال شرقی بخشه *Stenocephalae* جدا شده‌اند که مطالعه حاضر با نتایج حاصل از مطالعه‌ای که کمپلکس گونه‌ای *C. decipiens* و *C. esfandiarii* را به دلیل عدم یافتن صفات ریخت‌شناسی مهم جهت جدایی این دو گونه مطرح می کند (Saber, 2005) در تضاد است. نمونه‌های *C. esfandiarii* (TARI :76128)، (TUH :45830) به همراه گونه‌های *C. cylindracae* var. *patula* (زنجان) و (همدان) *C. alexeenkoana* قرار گرفته‌اند. این دو گونه دارای پراکنش وسیعی در ایران بوده و در مناطق غربی و شرقی کشور پراکندگی دارند. با توجه به اینکه به همراه دو نمونه از گونه *C. esfandiarii* قرار گرفته‌اند چند احتمال را می‌توان در نظر گرفت: ۱) گونه‌های *C. alexeenkoana* و *C. cylindracea* var. *patula* دارای پراکنش در غرب ایران بوده و سپس به مناطق شرقی پراکنده شده‌اند و یا بالعکس. ۲) گونه *C. esfandiarii* در گذشته دارای پراکندگی وسیعی بوده و هم اکنون به مناطق شرقی و شمال شرقی ایران محدود شده است. هر یک از این احتمالات مستلزم بررسی بیش‌تر است.

دو گونه *C. decipiens* و *C. daryoushiana* که در فلورا ایرانیکا (Rechinger 1972, 1979) مترادف ذکر شده‌اند، با استفاده از نتایج حاصل از داده‌های مولکولی (شکل ۱) از یکدیگر جدا قرار گرفته‌اند. این دو گونه از نظر صفات ریخت-شناسی نظیر رنگ جام گل، بریدگی‌های برگ‌های فوقانی، طول خار کپه‌ها، شکل کپه‌ها و کرکپوش کپه‌ها از یکدیگر متمایز می‌شوند. بر اساس داده‌های مولکولی و صفات ریختی پیشنهاد می‌شود که این دو گونه مترادف نبوده و دو گونه مجزا هستند. در مطالعه (Saber (2005، دو گونه *C. stahliana* و *C. hypopolia* در یک کمپلکس گونه‌ای قرار گرفته‌اند، وجود این کمپلکس با داده‌های مولکولی تأیید نشد و این گونه‌ها با حمایت نسبتا بالای آماری از یکدیگر جدا شده‌اند.

تنوع ریختی مشاهده شده در افراد جمعیت‌های مختلف *C. esfandiarii* توسط داده‌های مولکولی تأیید می‌شود. این گروه‌بندی با صفات ریخت‌شناسی همچون تعداد گل، رنگ جام گل، شکل کپه‌ها، کرکپوش برگ‌ها و شکل خار انتهایی براکته‌ها حمایت می‌شود. پیشنهاد می‌شود که این افراد در یک گروه و تحت نام *C. esfandiarii* قرار بگیرند و نمی‌توان آنها را به گونه‌های مجزا تفکیک نمود، چرا که این امر مستلزم مطالعات بیش‌تر بر روی افراد جمعیت‌های مختلف این گونه است.

نتایج حاصل از داده‌های مولکولی در مطالعه حاضر تأیید-کننده نتایج حاصل از مطالعات گرده‌شناسی و تشریح برگ‌های میانی ساقه (Saber et al., 2009) نبودند. در مطالعه با استفاده از داده‌های ترکیبی هسته‌ای و کلروپلاستی (ITS, *rpS4-trn*T-*trn*L) سن تقریبی سرده *Cousinia*، ۸/۷ میلیون سال قبل تخمین زده شد که نشان‌دهنده جوان بودن این سرده است. در این مطالعه سن تقریبی برخی از گونه‌های بخشه *Stenocephalae* نیز برآورد شده است. سن گونه‌های این بخشه کمتر از ۴/۴ میلیون سال قبل بیان شد که نشان‌دهنده جوان بودن این بخشه است. همچنین پژوهشگران جوان بودن سرده، کمبود صفات اطلاعاتی و امکان وجود جورنمایی را از دلایل احتمالی برای روابط حل نشده

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]
[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

گونه‌های این سرده دانستند. به دلیل عدم وجود عدد کروموزومی پلی‌پلوئید در این سرده، احتمال گونه‌زایی از طریق دورگه‌گیری بسیار کم است (López-Viyallonga et al., 2009).

نتیجه گیری

بر اساس مطالعه حاضر، گونه‌هایی از بخشه *Stenocephalae* که در مناطق شمال‌شرقی ایران پراکنش دارند از یکدیگر جدا شدند. داده‌های مولکولی و صفات ریخت‌شناسی جدایی گونه‌های ذکر شده را تایید می‌نمایند. دو گونه *C. decipiens* و *C. daryushiana* که درفلور ایرانیکا مترادف در نظر گرفته شده بودند در این مطالعه از یکدیگر جدا شدند. جدایی افراد جمعیت-های گونه *C. esfandiarii* نیاز به مطالعه بیش‌تر دارد.

سپاسگزاری

این پژوهش بخشی از رساله دکتری نویسنده اول است که با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است. نویسندگان از دکتر Teresa Garnatje مدیر محترم موسسه گیاهشناسی بارسلونا که امکانات لازم جهت تکمیل پژوهش را فراهم کردند کمال تشکر را دارند.

RREFERENCES

Attar, F., Ghahreman, A., Saber, A. & Zarre, S. 2005. A new species of the genus *Cousinia* (Compositae, sect. *Stenocephalae*) from SW of Iran. Iranian Journal of Botany 11: 65-69.

Attar, F. 2011a. Taxonomic revision of *Cousinia* sect. *Albidae* Bunge (Asteraceae) in the flora of Iran. Iranian Journal of Botany 17: 150-157.

Attar, F. 2011b. New taxa of *Cousinia* Cass., Sect. *Stenocephalae* Bunge (Asteraceae) from Iran. Taxonomy and Biosystematics 3: 59-68.

Baldwin, B.G & Marcos, S. 1998. Phylogenetic utility of the external transcribed spacer (ETS) of 18S–26S rDNA: Congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia* (Compositae). Molecular Phylogenetics and Evolution 10: 449-463.

Borchsenius, F. 2009. FastGap 1.2. Department of biosciences, Aarhus University, Denmark. Published online at http://www.aubot.dk/FastGap_home.htm

Bordbar, F., Baqeri, M. & Mirtadzadini, M. 2017. New chromosome counts in *Cousinia* (Asteraceae) from Flora of Iran. Cytologia 82: 485-488.

Djamali, M., Baumel, A., Brewer, S., Jackson, S.T, Kadereit, J.W., López-Vinyallonga, S., Mehregan, I., Shabanian, E. & Simakova, A. 2012. Ecological implications of *Cousinia* Cass. (Asteraceae) persistence through the last two glacial–interglacial cycles in the continental Middle East for the Irano-Turanian flora. Review of Palaeobotany and Palynology 172: 10-20.

Djavadi, S.B. & Attar, F. 2006. Two new species of *Cousinia* Cass. of sect. *Stenocephalae* Bunge from Iran. Feddes Repertorium 117: 453-458.

Djavadi, S.B. 2007. New or rare chromosome count in ten species of *Cousinia* from Iran. Rostaniha 8: 19-27.

Djavadi, S.B. & Attar, F. 2010. New chromosome counts in the genus *Cousinia* (Asteraceae, Cardueae) from Iran. Willdenowia 40: 351-357.

Djavadi, S.B. 2012. New chromosome count in *Cousinia* (Asteraceae, Cardueae) section *Cynaroideae* and *Stenocephalae* from Iran. Iranian Journal of Botany 18: 86-93.

Doyle, J.J. & Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Buletin 19: 11-15.

Edgar, R.C. 2004. Muscle: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. Nucleic Acids Research 32: 1792-1797.

Faris, J.S. Kallersjo, M. Kluge, A.G. & Bult, C. (1995). Testing significance of incongruence. Cladistics 10: 315-319.

Ghaffari, S.M. & Sanaei Chariat-Panahi, M. 1985. Chromosome count of some angiosperms from Iran. Iranian Journal of Botany 3: 67-73.

Ghaffari, S.M. & Djavadi, S.B. 1998. Chromosome studies and distribution of nine species of *Cousinia* section *Stenocephlae* (Asteraceae) in Iran. Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles 121: 61-68.

Ghaffari, S.M, Susanna, A. and Garcia-Jacas, N. 2006. New chromosome counts in the genus *Cousinia* (Asteraceae) from Iran. Botanical Journal of the Linnean Society 151: 411-419.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]
[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.1.9.8]

[DOI: 10.52547/nbr.8.1.56]

Knapp, H.D. 1987. On the distribution of the genus *Cousinia* (Compositae). Plant Systematic and Evolution 155: 15-25.

Lee, J., Baldwin, B.G. & Gottlieb, L. 2002. Phylogeny of *Stephanomeria* and related genera (Compositae–Lactuceae) based on analysis of 18S–26S nuclear rDNA ITS and ETS sequences. American Journal of Botany 89: 160-168.

Linder C.R., Goertzen, L.R., Heuvel, B.V., Francisco-Ortega, J. & Jansen, R.K. 2000. The complete external transcribed spacer of 18S–26S rDNA: amplification and phylogenetic utility at low taxonomic levels in Asteraceae and closely allied families. Molecular Phylogenetics and Evolution 14: 285-303.

López-Vinyallonga, S., Mehregan, I., Garcia-Jacas, N., Tscherneva, O., Susanna, A. & Kadereit, J.W. 2009. Phylogeny and evolution of the *Arctium-Cousinia* complex (Compositae, Cardueae-Carduinae). Taxon 58: 153-171.

López-Viyallonga, S. Romaschenko, K., Susanna, A. & Garcia-Jacas, N. 2011. Systematics of the Arctioid group: Disentangling *Arctium* and *Cousinia* (Cardueae, Carduinae). Taxon 60: 539-554.

Marcos, S. & Baldwin, B.G. 2001. Higher-Level Relationships and Major Lineages of *Lessingia* (Compositae, Astereae) Based on Nuclear rDNA Internal and External Transcribed Spacer (ITS and ETS) Sequences. Systematic Botany 26: 168-183.

Miller, M.A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. 2010. Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees. *In* Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA, 8 pp, available at: htpp://www.phylo. org.

Nylander, J.A.A. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre. Uppsala University, Uppsala.

Parsa, A. 1945. *Cousinia* in flore de L' Iran. vol. 3. Tehran University Press, pp. 480.

Post, G.E. 1933. Flora of Syria, Palestine and Sinai, vol. II. American University of Beirut, pp. 84-87.

Rechinger, K.H. 1986. *Cousinia* morphology, taxonomy and phytogeographic implications. Proceedings of the Royal Society. Edinburgh, B., Biological Sciences 89: 45-58.

Rechinger, K.H. 1972. Compositae-Cynareae I: *Cousinia*. – In: Rechinger K.H. (ed.), Flora Iranica vol. 90. Akad. Druck- und Verlagsanstalt, Graz, 329 pp.

Rechinger, K.H. 1979. Compositae-Cynareae III: *Cousinia*. – In: Rechinger K.H. (ed.), Flora Iranica vol. 139a. Akad. Druck- und Verlagsanstalt, Graz, pp: 105-156.

Saber, A. 2005. Biosystematical studies on the *Cousinia* section *Stenocephalae* (Asteraceae) in Iran. M.Sc. thesis, University of Tehran.

Saber, A., Attar, F. & Djavadi, S.B. 2009. Studies of pollen grains in the sect. *Stenocephalae* (*Cousinia* Cass. Asteraceae) in Iran. Iranian Journal of Botany 15: 114-128.

Sang, T., Crawford, D.J. & Stuessy, T.F. 1995. Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: implications for biogeography and concerted evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 92: 6813-6817.

Shaw J., Lickey, E., Schilling, E. & Small, R.L. 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequence to choose noncoding regions for phylogenetic studies in Angiosperms: The tortoise and the hare III. American Journal of Botany 94: 275-288.

Susanna, A. & Garcia-Jacas, N. 2007. Tribe Cardueae. pp: 123–146 *In* Kadereit, J.W. & Jeffrey, C. (eds.). The families and genera of vascular plants, vol. 8. Flowering plants: Eudicots; Asterales. Berlin, Heidelberg: Springer.

Swofford, D.L. 2002. PAUP*: PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), Version 4.0b10. Sunderland, Sinauer Associates. [Accessed 11 November 2019].

Trifinopoulos, J., Nguyen, L.T., Haseler, A.V. & Quang Minh, B. 2016. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. Nucleic Acids Research. 44: 232-235. Available from: http://iqtree.cibiv.univie.ac.at [Accessed 11 November 2019].

Tscherneva, O.V. 1962. ***Cousinia* Cass.** – In: Shishkin, B.K. (ed.), Flora U.S.S.R. vol. 27. Akademiya Nauk, Leningrad; pp: 108-357.

White, J.T., Bruns, T.D., Lee, S.T. & Taylor, J.W. 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. *In* Innis DH (ed) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, San Diego 31: 315-322.

Tscherneva, O.V., Joharchi, M.R., & Ghahremaninejad, F. 2005. A new species of the genus *Cousinia* (Asteraceae) from Iran. Botanicheskii Zhurnal 90(3): 411-414

Zare, M., Khossravi, A.R. & Joharchi, M.R. 2013. Distribution patterns of the genus *Cousinia* (Asteraceae) in Iran. Iranian Journal of Botany 19: 127-141.

*****

How to cite this article:

Kalouti, S., Kazempour Osaloo, Sh., Attar, F., Susanna, A. & Garcia-Jacas, N. 2021. Molecular phylogeny and taxonomy of species of *Cousinia* section *Stenocephalae* (Asteraceae) in NE of Iran. Nova Biologica Reperta 8: 56-67. (In Persian).

کلوتی، س.، کاظم‌پور اوصالو، ش.، عطار، ف.، سوزانا، آ. و گارسیا- جاکاس، ن. ۱۴۰۰. تبار زایی مولکولی و آرایه‌شناسی گونه‌های بخشه *Stenocephalae* از سرده *Cousinia* (تیره کاسنیان) در شمال‌شرقی ایران. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۸: ۶۷-۵۶.