بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

گرایش سیستماتیک- اکولوژی گیاهی

بررسی فیلوژنی جنس *Euphrasia* در ایران

از:

الهام رودی

اساتید راهنما:

دکتر شهریار سعیدی مهرورز

دکتر ایرج مهرگان

استاد مشاور:

دکتر رضا حسن ساجدی

بهمن ۱۳۹۰

تقدیم به او که دعایش همواره بدرقه راهم بود؛

مادرم

شکر سپاس بیکران پروردگار یکتا را که توفیق رفیق راهم ساخت تا این پایان نامه را به پایان برسانم. اعتراف می کنم که نه زبان شکر تو را دارم و نه توان شکر از بندگان تو، و امابر حسب وظیفه؛

قبل از هر چیز سپاس بیکران بر هدایت و همراهی و همگامی مادر دلسوز و مهربانم که سجده ی ایثارش گل محبت را در وجودم پروراند و دامان گهربارش لحظه های مهربانی را به من آموخت.

از برادر عزیزم سپاسگزارم که همواره در طول تحصیل متحمل زحماتم بود و تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات، و وجودش مایه دلگرمی من می باشد.

از استاد راهنمای گرانقدرم جناب آقای دکتر شهریار سعیدی مهرورز که تحقیق حاضر مرهون فکر روشن و راهنمایی های ایشان است کمال تشکر خود را ابراز می دارم.

از زحمات و پیگیری های مستمر استاد راهنمای بزرگوارم جناب آقای دکتر ایرج مهرگان سپاسگزارم که در انجام این تحقیق همواره از راهنمایی های ایشان بهره مند شدم.

از استاد مشاور دلسوز و فرهیخته ام جناب آقای دکتر رضا حسن ساجدی که زحمات بسیار زیادی را در طول تحقیق متحمل شدند و همیشه مرا مورد لطف خود قرار دادند و رهنمود های ارزشمندشان همواره برایم راهگشا بود، بسیار متشکرم.

از اساتید محترم و بزرگوار، جناب آقای دکتر اعلمی و دکتر افشار محمیان، که زحمت داوری و بازبینی پایان نامه را بر عهده داشتند کمال تشکر را دارم.

از نماینده محترم تحصیلات تکمیلی سرکار خانم دکتر سرمد سپاسگزارم.

از تمام اساتید بزرگوار گروه زیست شناسی دانشکده علوم که در راه آموزش اینجانب زحمت فراوان کشیده اند تشکر می نمایم.

از کارشناسان محترم آزمایشگاه ها خانم ها شاهی، هادوی، شاکیان، ستوده، محمدی، امیدی و رحمانی و جناب آقای روضاتی، گلچین و علوی سپاسگزارم.

از دوستان عزیز و خوبم: خانم ها مائده میرکریم پور، معصومه داآخم، زینب کاظمی، نگاه زنجانچی، فرشته شیخ حسن، مریم محمدی، فاطمه وحدتی، نرجس ابوالقاسمی، زهرا مسعودیان، شیرین شاهنگیان، مریم ملاکریمی، علیه مهدوی، مهدیه فرجی، سیده زهرا موسوی، و آقایان صیادروحی، کمال صدرزمانی، سعید مهدوی، رضا کریمی، عباس اخلاقی، حسین رحمانی، عمار محسنی همه کسانی که همیاری آنان پیمودن این راه را بر من آسان نمود قدردانی کرده و در نهایت از زحمات همکلاسی خوبم جناب آقای مهدی وافی که در پیمودن این راه همواره در کنار من بود، کمال تشکر را دارم.

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی..... ر

چکیده انگلیسی..... ز

فصل اول : مقدمه

۱-۱ تاریخچه مطالعات سیستماتیکی خانواده Orobanchaceae ۲

۱-۲ موقعیت سیستماتیکی راسته Lamiales ۹

۱-۳ موقعیت سیستماتیکی تیره Orobanchaceae..... ۱۳

۱-۴ موقعیت سیستماتیکی سرده *Euphrasia* L. ۱۳

۱-۵ شرح ریخت شناسی راسته Lamiales ۱۵

۱-۶ شرح ریخت شناسی تیره Orobanchaceae ۱۵

۱-۷ شرح ریخت شناسی سرده *Euphrasia*..... ۱۶

۱-۸ پراکنش جغرافیایی تیره Orobanchaceae ۱۶

۱-۹ پراکنش جغرافیایی سرده *Euphrasia* ۱۷

۱-۱۰ مصارف دارویی سرده *Euphrasia*. ۱۸

۱-۱۱ مطالعات فیلوژنی مولکولی ۱۹

۱-۱۱-۱ ساختار توالی هسته ای ITS..... ۱۹

۱-۱۱-۲ ساختار ژنوم کلروپلاستی *trn*L-F ۲۰

۱-۱۲ مطالعات فیلوژنتیک جنس *Euphrasia* ۲۲

۱-۱۳ اهداف ۲۴

فصل دوم : مواد و روش ها

مطالعات فیلوژنی مولکولی ۲۶

۲-۱ تهیه و جمع آوری نمونه های گیاهی ۲۶

۲-۲ استخراج DNA از گیاه ۳۱

۲-۲-۱ استخراج DNA ژنومی از گیاه با استفاده از روش CTAB اصلاح شده ۳۲

۲-۲-۱-۱ روش نهیه بافرCTAB ۳۳

۲-۲-۲ استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج ۳۳

۲-۲-۳ تعیین غلظت و خلوص DNA ۳۵

۲-۲-۴ واکنش زنجیره ای پلی مراز PCR..... ۳۵

۲-۲-۵ پرایمرها..... ۳۶

۲-۲-۶ دستورالعمل استاندارد یک واکنش PCR..... ۳۶

۲-۲-۷ الکتروفورز ژل آگارز..... ۳۹

۲-۲-۷-۱ روش تهیه بافر TBE..... ۴۰

۲-۲-۸ تخلیص محصول PCR..... ۴۰

۲-۲-۹ تعیین توالی مناطق تکثیرشده..... ۴۳

۲-۳ هم ردیف سازی و آنالیز توالی ها..... ۴۴

۲-۴ آنالیز فیلوژنتیکی..... ۴۵

۲-۴-۱روش اتصال مجاور(Neighbourjoining)..... ۴۷

۲-۴-۲روش Maximum parsimony..... ۴۷

۲-۴-۳ روش Maximum likelihood..... ۴۸

۲-۴-۴ روش Baysian..... ۴۹

۲-۴-۵ بررسی تکاملی صفات با استفاده از نرم افزار McClade 4.0..... ۵۰

فصل سوم : نتایج

۳-۱ آنالیز ماکسیمم پارسیمونی داده های مولکولی nrDNA ITS ۵۳

۳-۲ آنالیز Baysian داده های مولکولی nrDNA ITS..... ۵۵

۳-۳ آنالیز Maximum Likelihood داده های nrDNA ITS..... ۵۷

۳-۳ آنالیز ماکسیمم پارسیمونی داده های cpDNA *trn*L-F..... ۵۹

۳-۴ آنالیز Neighbourjoining..... ۶۱

۳-۵ بررسی تکامل صفات با استفاده از نرم افزار McClade 4.0..... ۶۱

فصل چهارم : بحث

۴-۱ مطالعات مولکولی..... ۷۰

۴-۱-۱ فیلوژنی جنس Euphrasia (داده های ITS)..... ۷۰

۴-۱-۲ آنالیز Baysian..... ۷۴

۴-۱-۳ آنالیز Maximum likelihood داده های nrDNA ITS..... ۷۵

۴-۱-۴ آنالیز Maximum parsimony داده های cpDNA *trn*L-F ۷۵

۴-۱-۴ آنالیز McClade 4.0 ۷۶

فصل پنجم : منابع

منابع ۷۸

فهرست جدول ها

فصل اول : مقدمه

جدول ۱-۲-۱ تیره های راسته Lamiales ۱۰

جدول ۱-۲-۲ موقعیت سیتماتیکی راسته Lamiales براساس سیستم APG III ۱۱

جدول ۱-۳-۱ مراتب طبقه بندی خانواده Orobanchaceae براساس سیستم APG III ۱۲

چدول ۱-۴-۱ بخشه های سرده *Euphrasia* بر اساس طبقه بندیBarker ۱۳

جدول ۱-۴-۲ موقعیت سیستماتیکی سرده *Euphrasia* بر اساس سیستم APG III ۱۴

فصل دوم : مواد و روش ها

جدول ۲-۱-۱ مشخصات نمونه های هرباریومی مورداستفاده در مطالعات مولکولی ۲۹

جدول ۲-۱-۲ توالی های به دست آمده از بانک ژنی ۲۹

جدول شماره ۲-۲-۵-۱ توالی های آغازگر مورد استفاده در PCR ۳۶

جدول شماره ۲-۴-۱ مزایا و معایب آنالیزهای فیلوژنتیک ۴۶

جدول ۲-۴-۵-۱ صفات به کار رفته در آنالیز McClade4.0 ۵۰

فهرست شکل ها

فصل اول : مقدمه

شکل ۱-۱-۱ نمودار درخت فیلوژنی تغییرات ایجاد شده در خانواده Scrophulariacea..... ۲

شکل ۱-۱-۲ بخش پایینی درخت حاصل از آنالیز بیشینه شباهت داده های *PHYA* در خانواده Orobanchaceae..... ۴

شکل ۱-۱-۳ بخش بالایی درخت حاصل از آنالیز بیشینه شباهت داده های *PHYA* در خانواده Orobanchaceae..... ۵

شکل ۱-۱-۴ درخت توافقی بر اساس داده های حاصل از ژن های *rpl*16 و*trn*T -L- در خانواده Orobanchaceae..... ۷

شکل ۱-۲- ۱تغییرات ایجاد شده در راسته Lamiales..... ۹

شکل۱-۲-۲ روابط بین اعضای Lamiales ۱۱

شکل ۱-۸-۱ نقشه پراکندگی تیره Orobanchacea در جهان..... ۱۶

شکل ۱-۹-۱ پراکنش جنس *Euphrasia* در جهان..... ۱۷

شکل۱-۱-۱۱-۱ ساختار مارکر ریبوزومی ITS..... ۱۹

شکل ۱-۲-۱۱-۱ تصویر شماتیکی از ژنوم کلروپلاستی..... ۲۰

شکل ۱-۱۲-۱ درخت حاصل از آنالیز ماکسیمم پارسیمونی و Baysian داده های nrDNA ITS سرده *Euphrasia*.... ۲۲

فصل دوم : مواد و روش ها

شکل۲-۱-۱ نقشه پراکندگی گونه های *Euphrasia* در ایران..... ۲۶

شکل ۲-۱-۲ تصویر نمونه *Euphrasia salisburgensis* محل جمع آوری: آلوارس..... ۲۷

شکل ۲-۱-۳ *Euphrasia hirtella* محل جمع آوری: روستای گرسماسر..... ۲۷

شکل ۲-۱-۴ : *Euphrasia sevanensis* محل جمع آوری: کلیبر..... ۲۸

شکل ۲-۱-۵ : *Euphrasia pectinata* محل جمع آوری: دربندسر..... ۲۸

شکل ۲-۲-۷-۱ نمونه ای از ژل الکتروفورز..... ۳۹

شکل۲-۲-۹-۱ نمونه ای از کروماتوگرام حاصل از تعیین توالی..... ۴۳

شکل۲-۲-۹-۲بخشی از توالی نوکلئوتیدی در قالب PDF..... ۴۳

شکل ۲-۳-۱ نمونه ای از داده های آنالیز شده توسط نرم افزار McClade4.0 ..... ۴۴

شکل۲-۴-۴-۱ روش Baysian..... ۴۹

فصل سوم : نتایج

شکل ۳-۱-۱ درخت قطعی بر اساس توالی ITS ۵۴

شکل۳-۲-۱درخت حاصل از آنالیز Baysian داده های حاصل از توالی ITS..... ۵۶

شکل ۳-۳-۱درخت قطعی حاصل از آنالیز Maximum likelihood داده هایITS ۵۸

شکل ۳-۴-۱ درخت حاصل از آنالیز ماکسیمم پارسیمونی داده های cpDNA *trn*L-F..... ۶۰

شکل۳-۵-۱ آنالیز Neighbourjoining داده های ITS..... ۶۲

شکل۳-۶-۱ بررسی تکامل صفت تارهای غده ای در گونه های جنس *Euphrasia*..... ۶۳

شکل۳-۶-۲ بررسی تکامل دمبرگ در گونه های جنس *Euphrasia* ۶۴

شکل ۳-۶-۳ بررسی تکاملی اندازه کپسول در گونه های جنس *Euphrasia*..... ۶۵

شکل۳-۶-۴ بررسی تکاملی صفت رویشگاه را در گونه های جنس *Euphrasia*..... ۶۶

شکل ۳-۶- ۵ بررسی تکاملی پراکنش گونه های جنس *Eupuhrasia* ۶۷

شکل ۳-۶-۶ بررسی تکاملی تعداد کروموزوم های گونه های جنس *Euphrasia*..... ۶۸

چکیده

بررسی فیلوژنی جنس *Euphrasia* (Orobanchaceae) در ایران

الهام رودی

جنس .*Euphrasia* L متعلق به خانواده Orobanchaceae می باشد. اعضای این جنس، گیاهان نیمه انگلی یکساله و یا دو ساله ای هستند که در نواحی معتدل مناطق نیمکره شمالی و جنوبی پراکنده می باشند. این جنس دارای ۳۵۰ گونه در جهان و ۶ گونه در ایران می باشند. مطالعه حاضر به منظور تشخیص روابط فیلوژنی گونه های این جنس در ایران بر اساس داده های حاصل از توالی قطعات ITS و *trn*L-F صورت گرفت و همچنین بعضی از صفات مرفولوژیک برای بررسی تکامل صفات و تشخیص صفات سین آپومورف انتخاب شدند. مطالعات مولکولی جایگاه این گونه ها را در سطح بخشه و زیربخشه در فلورا ایرانیکا تایید کرد به جز *Euphrasia salisburgensis* بر اساس فلورا ایرانیکا در بخشه Angustifulia قرار می گیرد، در حالی که مطالعات مولکولی نشان داد که این گونه در بخشه *Euphrasia* قرار می گیرد. بر اساس فلورا ایرانیکا دو گونه *Euphrasia pectinata* و *Euphrasia juzepczukii* در بخشه Euphrasia و زیر بخشه Cilliatae قرار می گیرند. مطالعات مولکولی نشان داد که این در گونه با ارزش حمایتی ۸۱٪ گروه خواهری محسوب می شوند. دو گونه *Euphrasia sevanensis* و *Euphrasia petiolaris* با حمایت ۱۰۰٪ گروه خواهری تشکیل یک گروه خواهری را می دهند و بر اساس فلورا ایرانیکا این دو گونه در بخشه Euphrasia ، زیر بخشه Cilliatae و سری Petiolaris قرار می گیرند. *Euphrasia hirtella* با حمایت ۱۰۰٪ در بین اعضای بخشه Euphrasia در اروپا قرار می گیرد. بررسی تکاملی صفات برای تشخیص صفات سین آپومورف نشان داد که ویژگیهای ریخت شناسی در این جنس به دلیل وجود دامنه بالایی از تغییرات، ارزش تاکسونومیکی ندارند و هیچ صفت سین آپومورفی در این جنس مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: *Euphrasia*، Orobanchaceae، سین آپومورف، ایران

Abstract

Phylogenetic investigation of the genus *Euphrasia* (Orobanchaceae) in Iran

Elham Roudi

Genus *Euphrasia* L. belongs to the family Orobanchaceae. This genus includes annual or prennial hemiparasit palnts which are distributed in temperate regions of the both north and south hemisphere. *Euphrasia* comprises of 350 species throughout the world and 6 species in Iran. In this study, molecular investigation of ITS and *trn*L-F region was done to determine the phylogenetic relation among the species in Iran. Some of the vegetative characters was chosen, In order to investigate the molcular phylogeny of the genus. Molecular studies have corroborated the position of the species in flora Iranica except *Euphrasia salisburgensis* which belongs to Angustifolia sect., while the molecular studies have indicated that this species belongs to Euphrasia section. *Euphrasia sevanensis* and *Euphrasia petiolaris* are recognized as a sister group with the 100 percent support. Based on Flora Iranica, these two species are positioned in Euphrasia sect., cilliateae sub sect. and petiolaris seri. Molecular phylogeny investigation of this genus indicated that morphological characters are not considered as significant features for the taxonomic study of this genuse and no synapomorph character has been observed in this study.

Key words : *Euphrasia*, Orobanchaceae, phylogeny, synapomorph, Iran

فصل اول

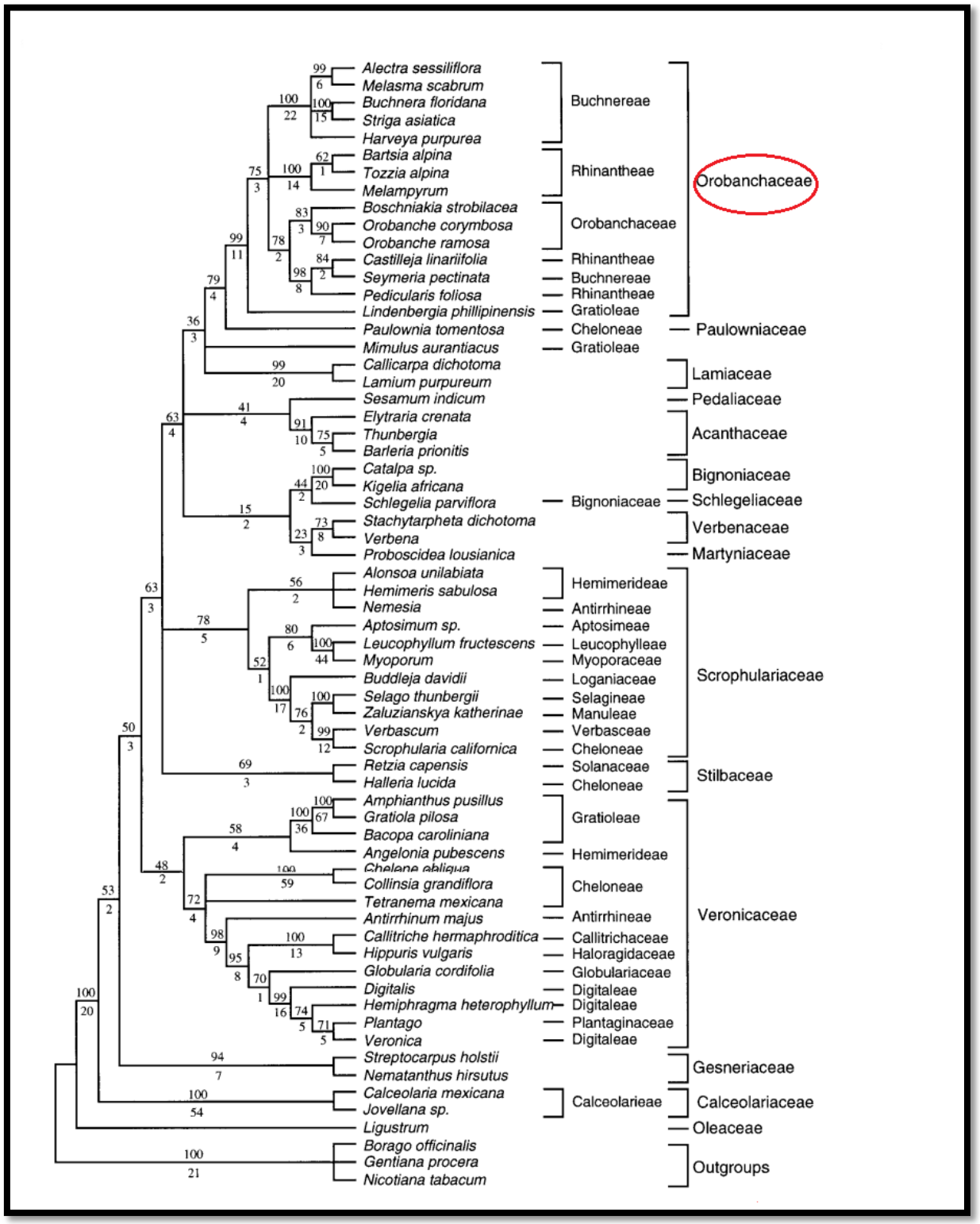
مقدمه

۱- ۱ تاریخچه مطالعات سیستماتیکی خانواده Orobanchaceae

بر اساس نظریات Young و همکارانش در سال ۱۹۹۹، خانواده Orobanchaceae بزرگترین خانواده متشکل از گیاهان پارازیت می باشد. اکثریت گونه ها، انگل های اختیاری و اجباری ریشه می باشند که ممکن است فتوسنتزکننده باشند و یا به طور کلی به میزبان وابسته باشند(هولوپارازیت) (Bennett & Mathews 2006). به بیان دیگر اعضای این خانواده از همی پارازیت هایی تشکیل شده اند که درجات مختلفی از کاهش در قابلیت فتوسنتز داشته اند و یا هولوپارازیت هایی هستند که به طور کامل قدرت فتوسنتزی خود را از دست داده اند (Scheeweiss et al, 2003). اعضای این خانواده ارزش اقتصادی زیادی دارند، زیرا بسیاری از جنس ها همانند *Striga*، *Alectra* و *Orobanche* آفات مهمی برای محصولات زراعی می باشند که عمدتا شامل غلات و حبوبات می شوند (Bennett & Mathews 2006). اعضای این خانواده پراکنش جهانی دارند و بیشتر در مناطق معتدل یافت می شوند. مطالعات Bennett & Mathews در سال ۲۰۰۶ نشان داد که این خانواده دارای ۸۹ جنس و ۲۰۶۱ گونه است. بر اساس APG III 2009[1] تیره Orobanchaceae دارای ۹۹ سرده و بیش از ۲۰۶۰ گونه در سطح جهان می باشد اما مطالعات Morawetz و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داد که این خانواده دربردارنده ۸۷ سرده و ۱۷۰۰ گونه است که شامل جنس های همی پارازیت و هولوپارازیت می باشد که با درجات متفاوتی قدرت فتوسنتز خود را از دست داده اند. با وجود اینکه تک تبار بودن این خانواده توسط مطالعات زیادی به اثبات رسیده است، تفاوت های موجود در روابط بین جنس های این خانواده و تعداد گونه ها ممکن است در ارتباط با نوع ژن به کار رفته در تخمین فیلوژنی آنها باشد (Morawetz et al. 2010). بر اساس طبقه بندی های سنتی Bentham در سال ۱۸۷۶، این خانواده در بردارنده جنس های های هولوپارازیت همانند *Orobanche*، *Epifagus* و *Conopholis* بوده است و سایر جنس های همی پارازیت در خانواده Scrophulariaceae قرار داشتند. این طبقه بندی در مورد بعضی از جنس ها همانند *Hyobanch* و *Lathraea* که از لحاظ ریخت شناسی (صفت مادگی دو حجره ای) در خانواده Scrophulariaceae قرار می گیرند و از لحاظ فرم انگلی جزو خانواده Orobanchaceae هستند، مناسب نیست. Hallier در سال ۱۹۰۳و Bellini در سال ۱۹۰۷ تمامی اعضای خانواده Orobanchacea را در خانواده Scrophulariaceae قرار دادند Bennett & (Mathews 2006). آنالیز های مولکولی فیلوژنتیک انجام شده (Oxelman و همکاران، ۲۰۰۵، Albach و همکاران ۲۰۰۵، Olmstead و همکاران ۲۰۰۲، Olmstead وReeves ۱۹۹۵) سبب تغییر جایگاه خانواده Scrophulariaceae و سایر خانواده های خویشاوند در راسته Lamiales شده است. مطالعات انجام شده توسط Olmsted و همکاران بر روی خانواده Scrophulariacea بر اساس ژن های پلاستیدی *rbcl*، *ndhf* و*rps2* در سال ۲۰۰۱، Orobanchaceae را به

1- Angiosperm plant phylogeny

عنـوان یـک کـلاد مجـزا در Scrophulariacea مشـخص کـرد. شـکل شـماره ۱-۱-۱ تغیـرات ایجـاد شـده در خـانواده Scrophulariaceaeو موقعیت خانواده ها ی خویشاوند را نشان می دهد

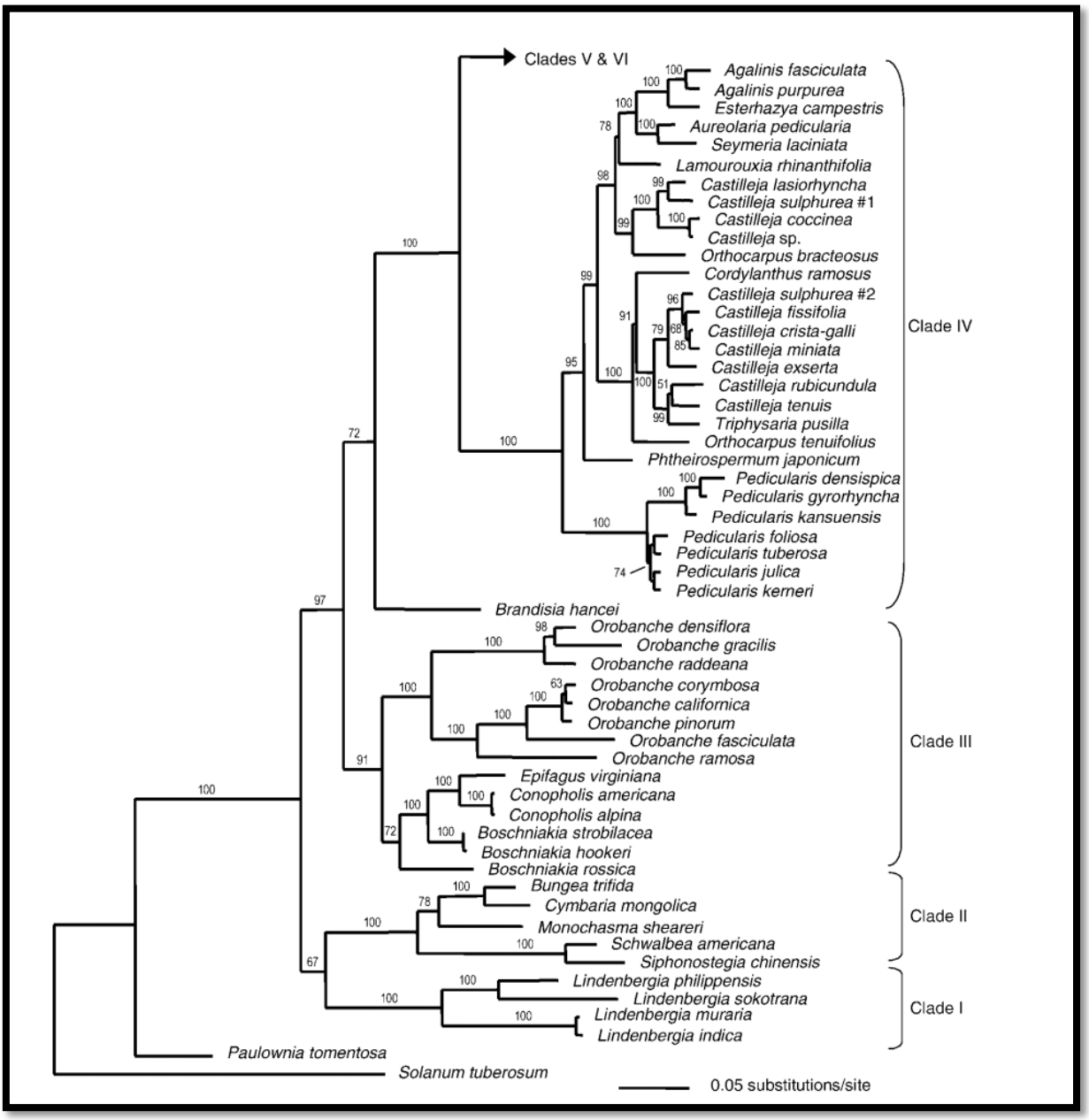


شکل ۱-۱-۱ نمودار درخت فیلوژنی تغییرات ایجاد شده در خانواده Scrophulariacea براساس آنالیز بیشینه شباهت داده های حاصل از توالی *ndhf* (Olmstead et al., 2001) . اعداد روی شاخه ها نشان دهنده ارزش های حمایتی می باشند.

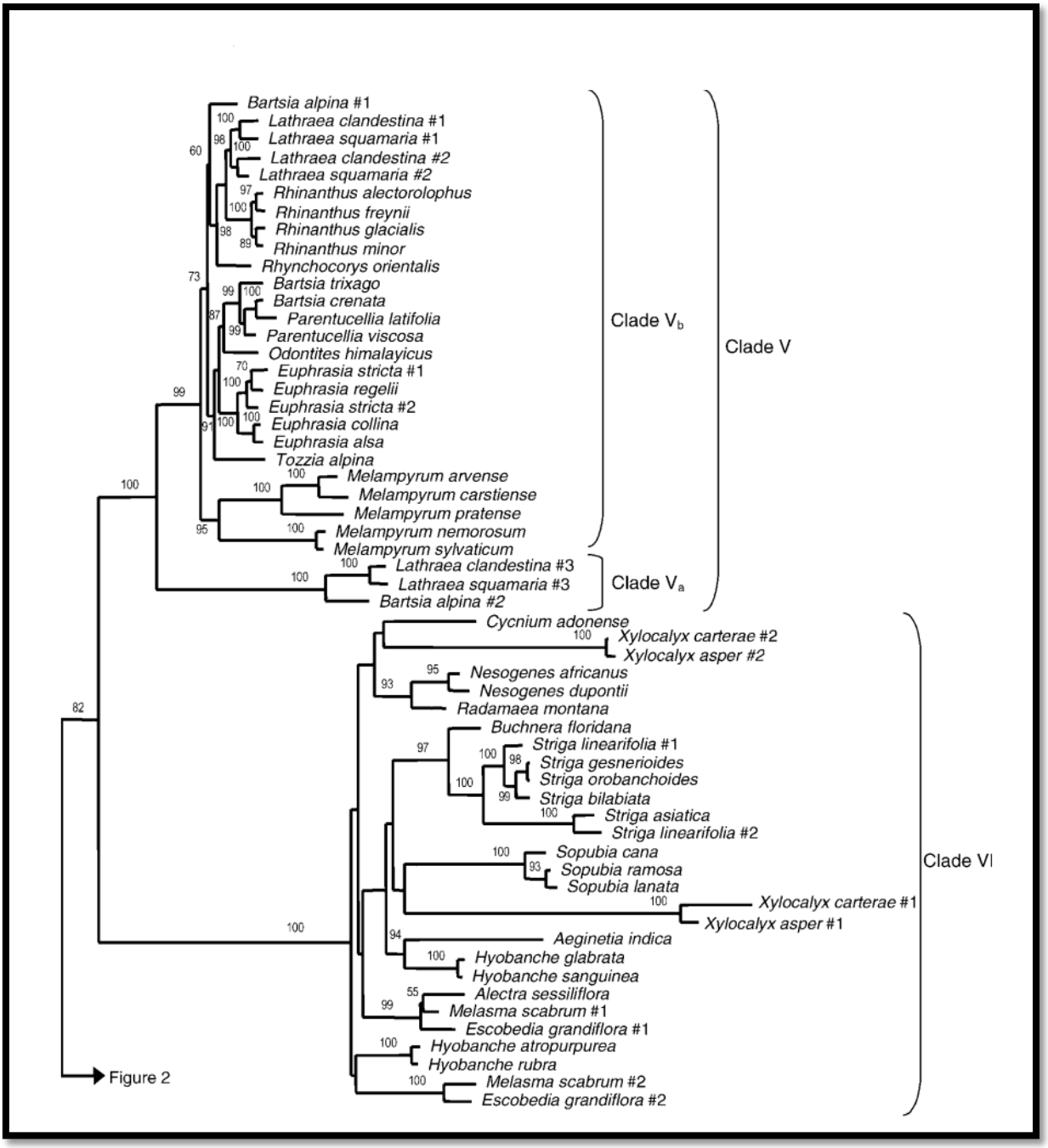
این تغییرات خانواده Orobanchaceae را هم تحت تاثیر قرار داده است که در طبقه بندی سنتی شامل تمامی جنس های هولوپارازیت بوده است و اکنون تمامی جنس های پارازیت و همی پارازیت از زیرخانواده Rhinanthoideae و یک جنس آسیایی اتوتروف به نام *Lindenbergia* را در بر می گیرد (Park et al. 2008). آنالیز داده های حاصل از توالی های پلاستیدی نشان داد که گونه های همی پارازیت در زیر خانواده Rhinanthoidaea قرار می گیرند و Orobanchaceae یک گروه تک نیا را تشکیل می دهد. بر اساس طبقه بندی Wettstein در سال ۱۸۹۱ *Lindenbergia philippensis* متعلق به جنس Lindenbergia از زیرخانواده Antirrhinoideae و خانواده Scrophulariaceae بود. براساس آنالیز های مولکولی انجام شده توسط Nickrent و همکاران در سال ۱۹۹۸، این جنس به عنوان گروه خواهری جنس های پارازیت معرفی شد و درخانواده Orobanchaceae قرار گرفت. این آنالیز مولکولی نزدیکی گونه های هولوپارازیت و همی پارازیت را به هم نشان داد اما از دست دادن قابلیت فتوسنتز با درجات مختلف در این گروه، مغایر با نظرات Boeshore است که معتقد بود هولوپارازیت ها در اثر یک تغییر رو به جلو از اتوتروف ها به وجود آمده اند. سایر مدارک هم در تایید قرابت همی پارازیت ها و هولوپارازیت ها می باشند. داده های به دست امده از مطالعات گرده شناسی نشان می دهد که دانه گرده در هردو گروه همی پارازیت و هولوپارازیت، سه شیاره[۲] و اگزین دارای تزئینات منفذدار[۲] می باشد، در حالی که دانه گرده در خانواده Scrophulariaceae، سه شیاره و همراه با تزئینات شبکه ای[۳] می باشد. دانه گرده در *Lindenbergia*، سه شیاره با تزئینات reticulate می باشد، اما الگوی جام گل همانند گونه های پارازیت می‌باشد. آنالیز توالی های به دست آمده تا حد زیادی روابط بین گونه های پارازیت را مورد درک و بررسی قرار داده است و تکامل پارازیتیسم در این خانواده را مشخص کرده است. از مشکلات این مطالعات می توان به کمبود تعداد نمونه های مورد مطالعه و عدم وجود یک مارکر مناسب اشاره کرد که باعث ایجاد ابهاماتی در ارتباط بین اعضای خانواده شده است به طوری که استفاده از مارکر ITS روابط بین اعضای این خانواده را به طور قطعی مشخص نکرد. برای مشخص شدن روابط بین اعضای خانواده Orobanchaceae از ژن فیتوکروم A استفاده شد. فیتوکروم ها در تنظیم رشد و نمو و در پاسخ به سیگنال های طول موج های مختلف نور قرمز نقش دارند و به طور قابل ملاحظه ای در پارازیت ها تغییر کرده اند. تغییر دراین ژن ها علاوه بر کشف روابط فیلوژنی و تکمیل مطالعه مارکرهای پلاستیدی در گیاهان پارازیت، سبب تغییرات کاربردی در آنها شده است. نتایج حاصل از آنالیزهای فیلوژنیک این مارکر نگرش جدیدی را در روابط بین اعضای این خانواده ایجاد کرده است و سطوح حمایتی از کلادها نسبت به سایرآنالیز ها

1- tericolpate
2- retipilate
3-reticulate

بالاتر می باشد. فیتوکروم A به عنوان یک مارکر مفید برای بعضی از کلادهای انتهایی Orobanchaceae مـی باشـد کـه در گذشته جایگاه مشخصی نداشتند و یا نمونه برداری بـه طـور کامـل از آنهـا صـورت نگرفتـه بـود (Bennett & Mathews 2006) نتایج حاصل از این آنالیز در شکل های ۱-۱- ۲و۱-۱-۳ نشان داده شده است.



شکل ۱-۱-۲ بخش پایینی درخت حاصل از آنالیز بیشینه شباهت مربوط به داده های*PHYA* (Bennett & Mathews 2006).

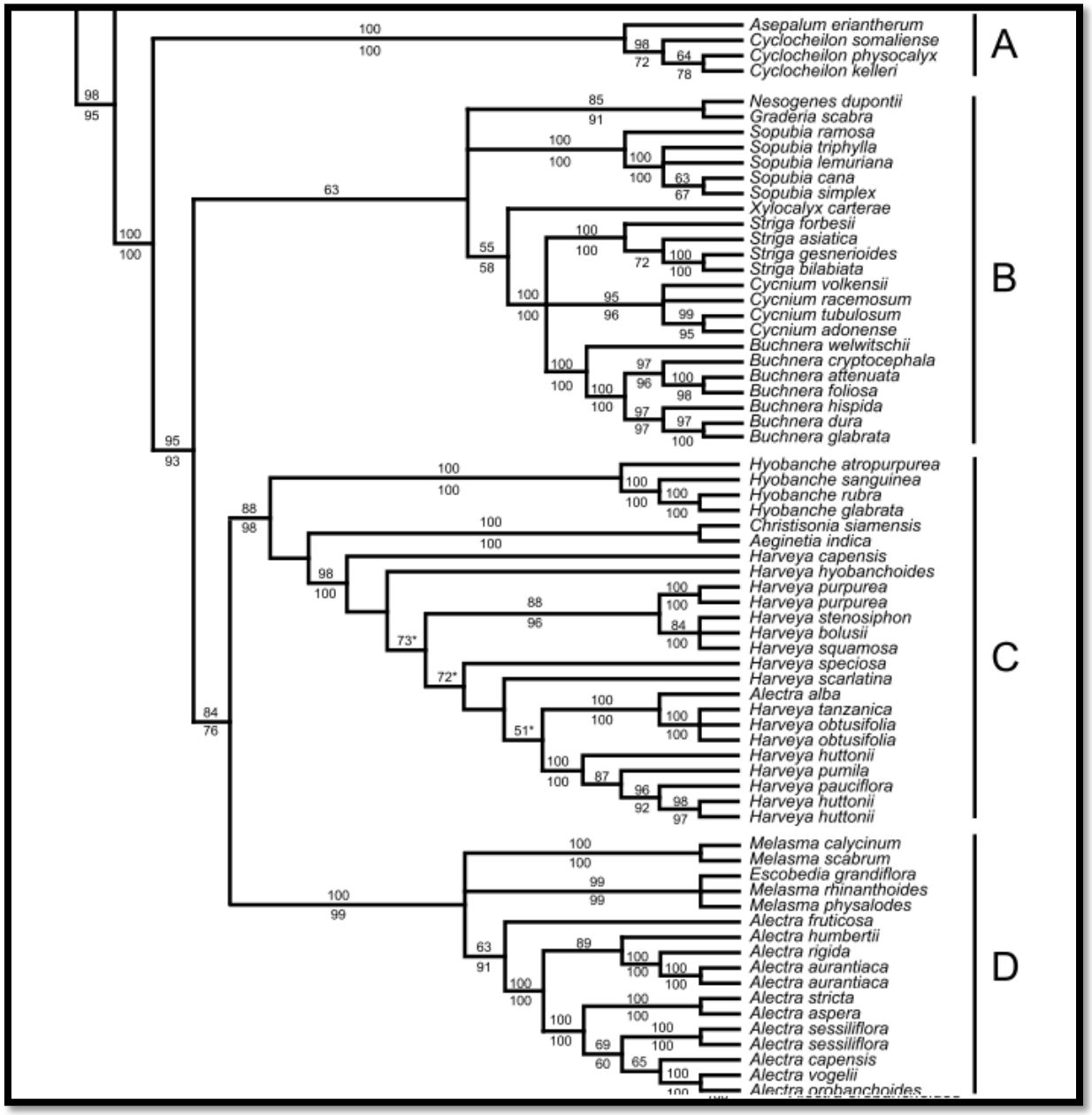


شکل ۱-۱-۳ بخش بالایی درخت حاصل از آنالیز بیشینه شباهت داده های *PHYA* . طول شاخه ها نمایانگر تعداد تغییراتی است کـه در هر گونه رخ داده است (Bennett & Mathews 2006).

داده های فیلوژنتیک شش کلاد اصلی را در این خانواده ایجاد کرده است. این مطالعات تک تباری Orobanchaceae و سایر مطالعات پلاستیدی و هسته ای انجام شده بر روی این خانواده را تایید می کند و بیان می کند کـه طبقـه بنـدی سـنتی ایـن خانواده و Scrophulariaceae نشان دهنده روابط فیلوژنی آنها نمـی باشـد. براسـاس مطالعـات Park و همکـاران در سـال ۲۰۰۸، گونه *Lindenbergia philippensis* یـک گونـه غیرپارازیـت اسـت کـه بـه عنـوان گـروه خـواهری سـایر اعضـای هولوپارازیت این خانواده محسوب می شود و این به این معناست که پارازیتیسم از این گونه آغاز شده است و در سـایر اعضـای

خانواده ادامه پیدا کرده است. بر اساس مطالعات اخیر چهار گونـه از جـنس *Lindenbergia* در قاعـده درخـت، کـلاد اول را تشکیل می دهند که به عنوان گروه خواهری با اعضای کلاد دوم می باشد. بنابراین اعضای گـروه دوم از ابتـدایی تـرین شـاخه های اشتقاق یافته مـی باشـند. کـلاد دوم شـامل جـنس هـای *Bungea*، *Cymbaria*، *Monochasma*، *Sehwalbea* و *Siphonostegia* می باشـد. ایـن جـنس هـا پـراکنش گسسـته ای دارنـد، *Sehwalbea* تنهـا یـک گونـه در آمریکـا دارد، *Bungea* دو گونــه در ایــران و ترکیــه دارد، *Cymbaria* چهــار گونــه در مغولســتان، اوکــراین، چــین و روســیه دارد و *Siphonostegi*a دو گونه در چین، کره، ژاپن، تایوان و یک گونه در مدیترانه دارد. قرار گرفتن a*Sehwalbe* و سایر گونه ها در یک کلاد، که دارای پراکنش دوری از هم هستند، منبعی از تنوع ژنی منحصر به فرد و اشتقاق کلادهای دیگـر از ایـن گونـه ها را نشان می دهد. کلاد سوم در بردارنده گونه های پارازیت و همی پارازیت می باشد و بیشترین تعـداد گونـه هـا مربـوط بـه جنس *Orobanch* می باشد که یک گروه تک نیاست و به عنوان گروه خواهری جنس*Epifagus* محسوب می باشد. نتـایج به دست آمده در تضاد با نتایج به دست آمده از توالی های پلاستیدی می باشد که *Orobanche* را به عنوان یک گروه چنـد نیا معرفی می کرد. در کلادهای چهارم و پنجم گونه های هتروتروف دیده می شود که می توان به جنس هـای *Aeginetia* و *Hyobanche* در این کلاد اشاره کرد و بعضی از جنس ها همانند *Striga* و *Alectra* تاحدی قدرت فتوسـنتزی خـود را از دست داده اند. در کلاد پنجم، *Latheraea* تنها جنس هولوپارازیت است. در کلاد چهارم جـنس *Pedicularis* یـک گـروه تک نیا را تشکیل می دهد که گروه خواهری سایر اعضای این گروه می باشد. روابـط بـین گونـه هـای جـنس *Pedicularis* تحت تاثیر الگوی پراکنش جغرافیایی اعضای این جنس می باشد و گونه های اروپایی و آسیایی دو گروه مجـزا را تشـکیل مـی دهنـد. کـلاد پـنجم از جـنس هـای اروپـایی ایـن خـانواده کـه شـامل جـنس هـای *Euphrasia* ، *Bartsia*، *Tozzia*، *Parentucellia*، *Rhinanthus*، *Lathraea* و *Odontites* می باشند، تشکیل شده است کـه همگـی از ارزش حمـایتی بالایی برخوردارند. اکثریت اعضای خانواده Orobanchaceae گیاهان علفی انگلی هستند. یک استثنا در این خانواده جنس *Brandsia* می باشد که یک درختچه نیمه چوبی از آسیا می باشد و به عنوان گروه خواهری کلادهای چهارم، پنجم و ششـم محسوب می شود. *Brandsia* در ابتدا در قبیله Chloneae از خانوادهScrophulariaceae قرار داشت، سپس به خانواده های Verbenaceae، Myoporaceae و Solanaceae نسبت داده شد. با وجود ماهیـت نیمـه پارازیـت، ایـن گیـاه را بـه اعضای پارازیت خانواده Scrophulariaceae نزدیک نمی دانستند اما تحقیقات Oxelman در سـال ۲۰۰۵ نشـان داد کـه این جنس در خانواده Orobanchaceae قرار می گیرد. با وجود اینکه صفت چوبی بودن در این خـانواده بسـیار کـم اسـت، براساس مطالعات ژن فیتوکرومA ، جنس های چوبی *Xylocalyx* و *Radamaea* هم در خانواده Orobanchaceae قرار می گیرند. پراکنش این جنس ها در ماداگاسکار و سومالی می باشد. ایـن جـنس هـا بـه همـراه دو جـنس*Cyclocheilon* و *Escobedia* در کلاد ششم قرار می گیرند. این کلاد یک گروه متنوع فیلوژنیک از جنس های پراکنـده در منـاطق تروپیکـال

نیمکره جنوبی می باشد (Bennett & Mathews 2006). در شکل ۱-۱-۴ چهار گروه از جنس های نیمکره جنوبی نشان داده شده است.



شکل ۱-۱-۴ درخت توافقی بر اساس آنالیز بیشینه شباهت داده های حاصل از ژن های *rpl*16 و *trn*T-L (Morawetz et. al 2010)

براساس مطالعات انجام شده بر اساس ژن های هسته ای (ITS) و پلاستیدی (*rpl*16 و*trn*T-L) در سال ۲۰۱۰ بر روی جنس های پراکنده در مناطق تروپیکال نیمکره جنوبی، تک نیا بودن این گروه از جنس ها اثبات شد و چهار کلاد اصلی در بین این جنس ها دیده شد. دو جنس *Asepalum* و *Cyclocheion* به عنوان ابتدایی ترین اعضای این گروه شناسایی شدند. این جنس ها قبلا در خانواده Cyclocheionaceae قرار داشتند. دو گونه جدید از جنس *Melasma* که متعلق به