بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده علوم زیستی
گروه علوم گیاهی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد
رشته علوم گیاهی
گرایش سیستماتیک

فیلوژنی مولکولی بخشه *Acanthophace* از سرده گون (Fabaceae) بر اساس توالی هسته ای nrDNAITS و توالی کلروپلاستی *rpl*32-*trn*L$_{(UAG)}$

نگارنده
سحر قلعه نویی

استاد راهنما
دکتر شاهرخ کاظم پور اوصالو

استاد مشاور
دکتر علی اصغر معصومی

مهر ۱۳۹۳

بسمه تعالی

دانشکده علوم زیستی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخهٔ نهایی پایان‌نامه **خانم سحر قلعه نویی** رشته **علوم گیاهی** به شماره دانشجویی **۹۱۵۱۳۳۱۰۰۹** با عنوان : **«فیلوژنی مولکولی بخشه Acanthophace Bunge از سرده Astragalus (Fabaceae) براساس توالی هسته ای nrDNA ITS و توالی کلروپلاستی ycf1»** از نظر فرم و محتوا بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجهٔ کارشناسی‌ارشد مورد تائید قرار دادند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر شاهرخ کاظم پوراوصالو	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکتر علی اصغر معصومی	استاد	
۳- استاد ناظر داخلی	دکتر مظفر شریفی	دانشیار	
٤- استاد ناظر خارجی	دکتر علی سنبلی	استادیار	
٥- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر مظفر شریفی	دانشیار	

عنوان پایان نامه در جلسه دفاع به: «فیلوژنی مولکولی بخشه Acanthophace Bunge از سرده Astragalus(Fabacea) براساس توالیهای هسته ای nrDNA ITS و توالی کلروپلاستی rpL32-trnL(UAG)» تغییر یافت.

دستورالعمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه‌ها / رساله‌های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هرگونه بهره‌برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین‌نامه‌ها و دستورالعمل‌های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه / رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آئین نامه های مصوب انجام می‌شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هرگونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری می شود.

نام و نام خانوادگی

امضاء

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه،دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته سیستماتیک گیاهی است که در سال ۹۳ در دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم/جناب آقای دکتر کاظم پور اوصالو ، مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکتر علی اصغر مقصودی و مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکتر ـــــ از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده رابه عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواندخسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده‌نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب سحر قلم نوی دانشجوی رشته سیستماتیک گیاهی مقطع کارشناسی ارشد

تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: سحر قلم نوی

Sahar

تاریخ و امضا: ۹۳/۹/۲۰

تشکر و قدردانی:

سپاس خدایی را که ما را آفرید و بهترین و زیباترین و پاک‌ترین رحمت‌ها و نعمت‌هایش را نصیبمان کرد و برتری‌مان بخشید به مالکیت بر همه موجودات، چنان که جمیع خلق به قدرت او گردن به امر ما نهند و به نیروی او سر به فرمان ما سایند.درود و سپاس بر پدرو مادرم، آنان که عاشقانه سوختند تا گرمابخش وجودم و روشن‌گر راهم باشند و سپاس تمام معلمان و آموزگارانی را که در طول دوران تحصیل دانسته‌هایشان را بدون چشم داشتی به من آموختند.

این پژوهش مرهون راهنمایی‌های بی‌دریغ اساتید گرانقدرم جناب آقای دکتر شاهرخ کاظم‌پور اوصالو و جناب آقای دکتر علی اصغر معصومی می‌باشد. از ایشان به پاس زحمات بی‌شائبه‌شان کمال تشکر و سپاس را دارم.

از جناب آقای دکتر سنبلی و جناب آقای دکتر شریفی که زحمت داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند و پیشنهادهای ارزنده‌ای در انجام پژوهش و تنظیم آن به اینجانب ارائه دادند، بسیار سپاسگزارم.

از دوستان عزیزم سرکار خانم دکتر کوثر نادری، محبوبه شرافتی، فریده محرک و ربابه شاهی که همواره لطف و محبت خود را به من ارزانی داشتند ،کمال تشکر را دارم.

در نهایت با سپاس فراوان از همسر مهربانم که با حمایت‌های بی‌دریغ‌شان سختی مراحل کار را بر من آسان نمودند.

چکیده

سرده گون (*Astragalus*) از تیره Fabaceae با حدود ۳۰۰۰-۲۰۰۰ گونه و ۲۴۵ بخشه بزرگ‌ترین سرده در میان گیاهان گلدار است. گون‌های خاردار گروه نسبتاً بزرگی از این سرده را تشکیل می-دهند. بخشه *Acanthophace* به عنوان گروه پایه‌ای در گون‌های خاردار شامل۱۰-۹ گونه می‌باشد که ۷ گونه انحصاری ایران می‌باشند. در پژوهش حاضر به منظور بازسازی روابط فیلوژنی ۴۲ تاکسون (۱۷ نمونه متعلق به ۱۰ گونه از بخشه *Acanthophace* و ۲۳ گونه از بخشه‌های خویشاوند به عنوان درون گروه و ۲ گونه به عنوان برون گروه) با استفاده از داده‌های حاصل از توالی nrDNA ITS و cpDNA *rpl*32-*trn*L$_{(UAG)}$ مورد مطالعه قرار گرفتند. آنالیزهای فیلوژنی با استفاده از روش بیشینه صرفه جویی تعبیه شده در نرم افزار PAUP*، روش درست نمایی حداکثر با استفاده از نرم‌افزار Raxml GUI، روش Bayesian با استفاده از نرم افزار Mr Bayes صورت گرفتند. همچنین برای تعیین درخت گونه‌ای از نرم افزار BEAST* استفاده شد.

آنالیز فیلوژنی داده‌های هسته‌ای و کلروپلاستی ناسازگار می باشد. آنالیز فیلوژنی داده ها نشان می دهد که گونه‌های اصلی بخشه *Acanthophace* در وضعیت حاضر تک تبار نمی‌باشد. در درخت nrDNA ITS همه گونه‌های آن به جز دو گونه (*A. lamprocarpus* و *A. ovigerus*) در یک کلاد قرار دارند. این اعضا توسط تخمدان دو خانه متمایز می شوند درحالی که گونه های دیگر این بخشه توسط تخمدان یک خانه مشخص می‌شوند. قابل توجه است که هر دو مجموعه داده‌ها نشان می-دهند که *A. lycioides* تک تبار نمی‌باشد. یک نمونه دور از این بخشه قرار گرفته است و با اعضای بخشه *Aegacontha* متحد می‌شود. درخت *rpl*32-*trn*L$_{(UAG)}$ با درخت nrDNA ITS با توجه به موقعیت چهار گونه این بخشه (*A. ovigerus*، *A. hemesleyi*، *A. laprocarpus* و نمونه‌ایی از *A. lycioides*) متضاد است. آن‌ها خارج از کلاد گون‌های خاردار قرار گرفته‌اند. این تغییر در توپولوژی ممکن است به علت اخذ کلروپلاست، ورود کلروپلاست از یک گونه به گونه دیگر از طریق دورگه گیری/ introgression باشد.

بر اساس داده‌های حاصل از نرم افزار BEAST*، درخت گونه‌ای منعکس کننده درخت‌های ژنی حاصل از داده‌های هسته‌ای می‌باشد.

کلمات کلیدی: فیلوژنی، گون‌های خاردار، بخشه *Acanthophace*، nrDNA ITS، cpDNA *rpl32-trnL (UAG)*

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱ راسته Fabales ۲
۱-۲ تیره باقلائیان (Fabaceae) ۲
۱-۲-۱ مطالعات مولکولی زیرتیره Faboideae ۴
۱-۳ کلاد IRLC ۵
۱-۴ معرفی قبیله Galegeae ۵
۱-۵ سرده گون *Astragalus* L. ۷
۱-۵-۱ مروری بر پراکنش جغرافیایی سرده *Astragalus* ۷
۱-۵-۲ تاریخچه رده بندی سرده *Astragalus* ۹
۱-۵-۳ ویژگی‌های اکولوژیکی سرده *Astragalus* ۱۲
۱-۵-۴ اهمیت اقتصادی و دارویی سرده *Astragalus* ۱۳
۱-۵-۴ صفات ریخت شناسی سرده *Astragalus* ۱۴
۱-۶ گون‌های خاردار ۱۵
۱-۶-۱ بوم شناسی، جغرافیای زیستی و بوم‌زادی درگون‌های خاردار ۱۵
۱-۷ بخشه *Acanthophace* Bounge ۱۶
۱-۷-۱ پراکنش جغرافیایی و اکولوژیکی بخشه *Acanthophace* ۱۶
۱-۷-۲ شرح بخشه *Acanthophace* Bounge ۱۸
۱-۷-۳ روابط بین گونه‌ای داخل بخشه و ارتباط تکاملی با بخشه های مجاور ۲۰
اهداف ۲۰

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱ مطالعه منابع ۲۲
۲-۲ تهیه و جمع آوری نمونه‌های گیاهی ۲۲
۲-۳ بررسی‌های فیلوژنی ملکولی ۲۵
۲-۳-۱ استفاده از DNA در سیستماتیک مولکولی ۲۵

۲-۳-۲ استخراج DNA ۲۷
۲-۳-۳ تعیین کیفیت و کمیت DNA استخراج شده ۲۷
۲-۳-۴ واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR=Polymerase Chain Reaction) ۲۸
۲-۳-۴ -۱ آغازگرهای مورد استفاده ۲۹
۲-۳-۴-۲ تهیه محلول PCR ۳۰
۲-۳-۴-۳ برنامه مربوط به تکثیر قطعه nrDNA ITS ۳۱
۲-۳-۴-۴ برنامه مربوط به تکثیر قطعه *rpl*32–*trn*L$_{(UAG)}$ ۳۱
۲-۳-۵ الکتروفورز ژل آگارز ۳۲
۲-۳-۶ تعیین توالی نواحی تکثیر شده ۳۲
۲-۳-۷ هم‌ردیف سازی توالی‌های DNA ۳۳
۲-۴ بررسی‌های فیلوژنی ۳۳
۲-۴-۱ روش بیشینه صرفه جویی (Maximum Parsimony) ۳۳
۲-۴-۱-۱ بوتستراپ (Bootstrap) ۳۴
۲-۴-۱-۲ تعیین شاخص‌های آماری ۳۵
۲-۴-۲ روش بیشینه درست نمایی (Maximum Likelihood) ۳۵
۲-۴-۳ روش بیزین (Bayesian) ۳۶
۲-۴-۴ آنالیز با استفاده از نرم افزار BEAST* ۳۸

فصل سوم: نتایج

۳- ۱ آنالیز داده‌های nrDNA ITS ۴۰
۳-۱-۱ نتایج حاصل از روش بیزین ۴۲
۳-۱-۲ نتایج حاصل از روش بیشینه صرفه جویی ۴۳
۳-۱-۳ نتایج حاصل از بیشینه درستنمایی (Maximum likelihood) ۴۶
۳-۱-۴ مطالعه گونه‌های بخشه Acanthophace از طریق شبکه فیلوژنتیک ۴۸
۳-۲ آنالیز داده‌های cpDNA *rpl32-trnL*$_{(UAG)}$ ۵۰
۳-۲-۱ نتایج حاصل از روش بیزین ۵۲
۳-۲-۲ نتایج حاصل از روش بیشینه صرفه جویی (ماکسیمم پارسیمونی) ۵۴
۳-۲-۳ نتایج حاصل از روش بیشینه درست نمایی ۵۴

۳-۳ تعیین درخت گونه‌ای بین گونه‌های سرده *Astragalus* با استفاده از نرم افزار BEAST * ۵۷

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری و پیشنهادها

۴-۱ موقعیت فیلوژنتیکی بخشه *Acanthophace* و گونه‌های آن ۶۰
۴-۲ منشا دورگ یا نفوذی (introgression) در گون‌های خادار ۶۴
۴-۳ درخت گونه‌ای ۶۴
۴-۴ کلید شناسایی گونه‌های *Astragalus* بخشه *Acanthophace* ۶۴
پیشـــنهادات ۶۹
منابع ۷۰

فهرست شکل‌ها

شکل۱-۱ کلاد فاقد توالی تکرار معکوس (Wojciechowski 2005, IR–Lacking clade) ۵
شکل۱-۲ مراکز مهم پراکنش سرده *Astragalus* در جهان ۸
شکل۱-۳ دیاگرام ساده شده *Astragalus* و گروه خواهری آن *Oxytropis* ۱۲
شکل ۱-۴ محدوده پراکنش گونه های بخشه *Acanthophace* در ایران و جهان ۱۸
شکل۱-۵ *Astragalus hezarensis* ۱۹
شکل ۱-۶ *Astragalus cystosus* ۱۹
شکل۲-۱ ساختار ناحیه nrDNA ITS برگرفته از (Simpson 2006) ۲۶
شکل۲-۲ ساختار قطعه *rpl*32-*trn*L$_{(UAG)}$ ۲۷
شکل۲-۳ کروماتوگرام حاصل از تعیین توالی nrDNA ITS مربوط به گونه *Astragalus lycioides* ۳۷
شکل۳-۱ درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز nrDNA ITS با استفاده از روش بیزین ۴۴
شکل۳-۲ درخت حاصل از آنالیز nrDNA ITS با استفاده از روش ماکسیمم پارسیمونی ۴۵
شکل۳-۳ درخت حاصل از آنالیز داده‌های nrDNA ITS به روش Maximum Likelihood ۴۷

شکل۳-۴ Splits graph حاصل از آنالیز داده‌هایnrDNA ITS ۴۹

شکل۳-۵ درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز *rpl*32-*trn*L$_{(UAG)}$ با استفاده از روش Bayesian ۵۳

شکل۳-۶ درخت مطلق مرکزی حاصل از آنالیز *rpl*32-*trn*L$_{(UAG)}$ cpDNA با استفاده از روش ماکسیمم پارسیمونی ۵۵

شکل۳-۷ درخت فیلوژنی حاصل از *rpl*32-*trn*L$_{(UAG)}$ cpDNA به روش Max imum Likelihood ۵۶

شکل۳-۸ درخت گونه‌ای حاصل از آنالیز داده‌های هسته‌ای nrDNA ITS و کلروپلاستی-*rpl*32 cpDNA *trn*L$_{(UAG)}$ با استفاده نرم افزار BEAST* ۵۸

شکل ۴-۱ استفلال گونه های *A.schistocalyx* ، *A.syrtschensis* و *A.pseudoangustifolius* در درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز nrDNA ITS با استفاده از روش بیزین ۶۳

فهرست جدول‌ها

جدول۱-۱ موقعیت سیستماتیکی تیره Fabaceae براساس توالی‌های DNA ۴

جدول ۱–۲ پراکنش گونه های بخشه *Acanthophace* بر اساس Podlech & Zarre (2001a) ۱۷

جدول۲- ۱ لیست نمونه‌های آنالیز شده برای توالی‌های nrDNA ITS و *rpl*32–*trn*L$_{(UAG)}$ ۲۲

جدول۲-۲ توالی آغازگرهای مورد استفاده در تکثیر قطعه هسته‌ای ITS و قطعه کلروپلاستی -*rpl*32 *trn*L$_{(UAG)}$ ۲۹

جدول۲-۳ اجزای موجود در محلول نهایی PCR ۳۰

جدول۳-۱ محاسبه تعداد جفت بازها و فراوانی هر یک از نوکلئوتیدها توسط برنامه MEGA5 در هر یک از گونه‌های مورد مطالعه ۴۰

جدول۳-۲ محاسبه تعداد جفت بازها و فراوانی هر یک از نوکلئوتیدها توسط برنامه MEGA5 در هر یک از گونه‌های مورد مطالعه ۵۰

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱ راسته Fabales

Fabales Bromhead. به همراه Fagales، Cucurbitales و Rosales کلاد تثبیت کننده نیتروژن را در eurosidI تشکیل می دهند (Soltis et al., 1995). کلادی از Fabales با صفات پیشرفته مشترک وجود عناصر آوند چوبی با منافذ منفرد، یک رویان بزرگ سبز و حضور الاژیک اسید شامل تیره‌های Fabaceae Lindl, Polygalaceae Hoffmanns & Link, Quillajaceae D.Don & Surianaceae Arn می باشد(APG III, 2009 ;APG II,2003). تک تباری این راسته به وسیله مطالعه توالی *rbc*L، *mat*K و دیگر توالی‌های ژنومی حمایت شده است (Wojciechowski et al., 2004). همان‌طور که در بالا نیز اشاره شد، این راسته شامل چهار تیره و حدود ۲۰۰۰۰ گونه است. در این کلاد تیره Fabaceae با داشتن برگ‌های معمولاً مرکب، گوشواره و بالشتک های رشد یافته و میوه نیام از تیره‌های دیگر جدا می‌شود (Judd et al., 2008).

۱-۲ تیره باقلائیان (Fabaceae)

تیره Fabaceae با بیش از ۷۲۰ سرده و ۱۹۳۲۵ گونه دارای پراکنش وسیعی بوده و سومین تیره بزرگ گیاهان گلدار بعد از Asteraceae و Orchidaceae می‌باشند، ولی از نظر اهمیت اقتصادی پس از تیره گندمیان، در رتبه دوم جای گرفته است (Wojciechowski et al., 2004; Lewis, Schrire et al. 2005). تنوع در شکل رویشی اعضای این تیره، از درختان بلند تا علف‌های یک‌ساله، باعث شده این گیاهان دارای نمایندگانی از مناطق معتدله تا نواحی گرمسیری دنیا باشند (Rundel, 1989; Wojciechowski et al., 2004)، در عین حال در رویشگاه‌های معتدل و مرطوب حضور ندارد و یا پراکنش ضعیفی دارد. تمایل آن‌ها به زیستگاه‌های خشک و نیمه خشک به متابولیسم نیتروژن مربوط می‌شود و به نظر می‌رسد سازشی است به زیستگاه‌هایی که از نظر اقلیمی متنوع، تغییرپذیر یا غیرقابل پیش بینی هستند. تثبیت نیتروژن در تعداد زیادی از اعضای این تیره رخ می‌دهد اما در برخی از دودمان‌های ابتدایی که زود اشتقاق یافته‌اند، وجود ندارد. این تیره بر

اساس بازسازی‌های متعددی که در سال‌های اخیر با استفاده از اطلاعات ریخت شناسی، شیمیایی و ملکولی انجام شده جز یکی از گسترده‌ترین تیره‌های نهاندانگان از نظر فیلوژنتیکی می‌باشد (Tucker & Doughlas, 1994; Chappill, 1995; Doyle, 1995; Kass & Wink, 1996; Doyle et al., 1997; 2000; Bruneau et al., 2001; Kajita et al., 2001; Herendeen et al., 2003; Wojciechowski, 2003; Wojciechowski et al., 2004; Lewis et al., 2005). برطبق بررسی‌های فسیلی احتمالاً منشأ این تیره به اواخر کرتاسه (۶۵-۷۰ میلیون سال قبل) برمی‌گردد. تک‌تباری تیره Fabaceae به وسیله ویژگی‌های مختلف ریخت شناسی و داده‌های توالی *rbc*L، *mat*K و اینترون *trn*L حمایت شده است (Wojciechowski et al., 2004). بزرگترین سرده این تیره *Astragalus* L. با بیش از ۲۵۰۰ گونه می‌باشد (Maassoumi .1998).

گیاهان این تیره علفی، درختچه‌ای یا درختی و اغلب بالارونده هستند. برگ‌ها به صورت متناوب، مرکب، گوشواره‌دار می‌باشند. گل‌ها دارای جام منظم یا نامنظم، کاسه از ۴ یا ۵ کاسبرگ تشکیل شده که آزاد یا متصل می‌باشند. گلبرگ‌ها دارای ۵ گلبرگ و به ندرت کمتر از این تعداد می‌باشند، شامل درفش، بال‌ها و ناو که آزاد یا متصل هستند. پرچم‌ها ۱۰ عدد یا به تعداد زیاد و یا گاهی کمتر از این تعداد می‌باشند که به صورت آزاد یا متصل دیده می‌شوند. مادگی تک برچه‌ای تخمدان فوقانی، تک حفره‌ای، تخمک یک عدد یا به تعداد بیشتری یافت می‌شود. میوه به صورت نیام یا نیامک، دانه معمولاً دارای یک پوسته چرمی و شفاف با آندوسپرم خیلی جزئی و یا حتی فاقد آندوسپرم می‌باشد. آن‌ها دارای متابولیسم تثبیت نیتروژن و آمینو اسیدهای غیر عادی و اغلب دارای گرهک های ریشه‌ای حاوی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (ریزوبیوم) هستند، همچنین برخی از آن‌ها دارای حفرات یا مجاری ترشحی معمولاً تانن‌دار؛ اغلب دارای آلکالوئید؛ گاهی سیانوژنیک و پلاستیدهای عناصر غربالی دارای بلورهای پروتئینی و معمولاً دارای نشاسته می‌باشند (Judd et al., 2008; Simpson, 2006; Sharma, 2004; Datta, 2003) .

از نظر صفات ریخت شناسی به ویژه صفات مربوط به گل این تیره به طور سنتی به سه زیرتیره Caesalpinioideae، Mimosoideae وPapilionoideae تقسیم شده که گاهی به عنوان تیره‌های مجزا در نظر گرفته می‌شوند (Polhill, 1981a; Lewis et al., 2005). اکثر مطالعات انجام شده، بدون در نظر گرفتن

ناسازگاری‌های مکان‌شناختی، حالت تک‌تباری را برای زیرتیره‌های (=Papilionoideae) Faboideae و Mimosoideae و موقعیت پیراتباری را برای Caesalpinioideae پیشنهاد کرده‌اند (Wojciechowski et al.,2004; Lewis et al., 2005).

موقعیت سیستماتیکی تیره باقلائیان در رده بندی‌های جدید فیلوژنتیکی حاصل از توالی‌های DNA در جدول ۱-۱ ارائه شده است.

جدول ۱-۱ موقعیت سیستماتیکی تیره Fabaceae بر اساس توالی‌های DNA

APG II 2003	APG III 2009	Chase & Reveal, (2009)
Angiosperms	Angiosperms	Angiosperms
Eudicots	Eudicots	Eudicots
Core eudicots	Core eudicots	Core eudicot
Rosids	Rosids	Rosanae (Rosids)
(Fabids) Eurosid I	Fabids	Fabids
Fabales	Fabales	Fabales
Fabaceae	Fabaceae	Fabaceae

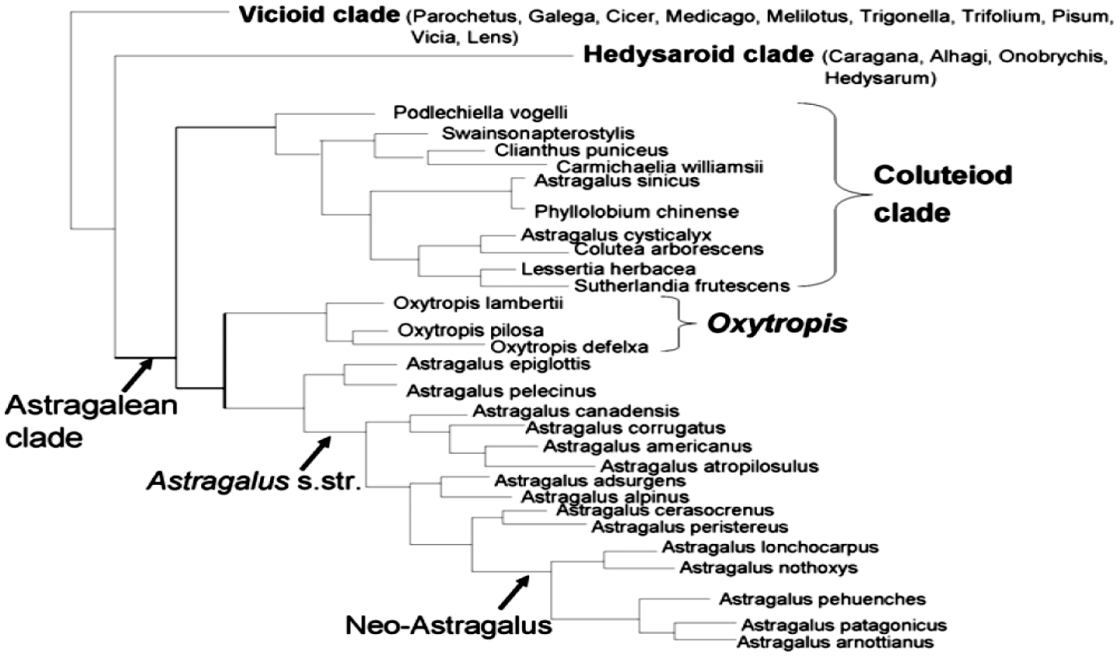
1-2-1 مطالعات مولکولی زیر تیره Faboideae

تک تباری این زیر تیره با صفات ریخت شناسی از جمله صفات رویشی ، زایشی، صفات میوه و همچنین توسط آنالیزهای توالی‌های پلاستیدی *rbc*L، *mat*K و اینترون *trn*L مورد تایید قرار گرفته است (Polhil et al., 1981; Doyle et al., 2000; Kajita et al., 2001; Pennington et al., 2001; Wojciechowski et al., 2004; Lewis et al., 2005) . ماهیت و روابط بسیاری از کلادهای زیرتیره Papilionoideae اولین بار در مطالعه فیلوژنی لگوم‌ها بر اساس ژن کلروپلاستی *mat*K به خوبی آشکار شده است. این مطالعه نشان می‌دهد که زیرتیره Papilionoideae از ۷ کلاد تشکیل شده است که عبارتند از کلادهای Genistoid, Dalbergioid, Robiniod, Mirbelioid, Milletioid, Cladrastis و کلاد فاقد توالی تکراری معکوس یا IRLC (Inverted Repeat Lacking Clade). دو کلاد آخر با هم کلاد Hologalegina را می‌سازند که یک

کلاد تک تبار است که با بیش از ۴۸۰۰ گونه به عنوان بزرگ‌ترین زیرکلاد مشخص شده Papilionoideae می‌باشد که حجم عمده‌ای از لگوم‌هایی را که در مناطق معتدله توسعه یافته‌اند را شامل می‌شود (Wojciechowski et al., 2004). بزرگ‌ترین قبیله این زیرتیره Phaseoleae است (Doyle et al., 1997).

۱-۳ کلاد IRLC

کلاد IRLC با دارا بودن ۶ قبیله، ۴۵ سرده و حدود ۴۴۰۰ گونه گسترده‌ترین کلاد لگوم‌های پروانه‌آسا (Papilinoid) است. اولین بار بر اساس صفات پیشرفته مشترک مولکولی یعنی فقدان یک کپی از توالی تکرار معکوس ۲۵ کیلو بازی در ژنوم کلروپلاستی تشخیص داده شد (Lavin et al., 1990; Liston, 1995; Wojciechowski et al.; 2000, 2004) IRLC (Inverted Repeat Lacking Clade) اخیراً توسط Wojciechowski(2013) به عنوان یک گروه معتبر در رده بندی لگوم‌ها با نام *IR–lacking clade* (Wojciechowski et al., 2000) معرفی شده است (شکل ۱-۱).



شکل ۱-۱ کلاد فاقد توالی تکرار معکوس(Wojciechowski 2005, IR–Lacking clade)

۱-۴ معرفی قبیله Galegeae

قبیله Galegeae بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین قبیله IRLC می‌باشد (Sanderson &Wojciechowski, 1996; Polhill, 1981) و شامل سرده‌های *Swainsona*, *Sutherlandia*, *Oxytropis*, *Chesneya*, *Astragalus*, *Clutea* و *Carmichaelia* می‌باشد. تاریخچه رده بندی Galegeae شاهد دوره‌های مکرر تعیین محدوده‌های وسیع و در حال تغییر و انتقال به محدوده‌های باریک‌تر بوده است. برای مثال Galegeae از نظر Bentham & Hooker (1865) مجموعه ناهمگنی از ۹ زیرقبیله بوده است. Hutchinson (1964) این مجموعه را با قبیله‌های کم و بیش مشابهی جایگزین کرد و Galegeae مونوتیپیک را تنها با سرده *Galega* ارائه کرد.

Polhill (1981a) قبیله‌هایColuteae، Astragaleae و Galegeae معرفی شده توسط Hutchinson را در Galegeae جدیدی با حدود ۲۰ سرده ترکیب کرد. بر اساس مطالعه اولیه Dormer (1945, 1946) که برای تشخیص گروهی از قبیله‌های چندساله علفی بالشتکی مناطق معتدله ویژگی‌های ریخت شناسی را به کار برد، Polhill عنوان کرد که Galegeae جدید به مجموعه‌ای از قبیله‌های دیگر بسیار نزدیک‌تر و خویشاوندتر است تا به گروه‌های گرمسیری که قبلا در Galegeae گنجانده شده بودند. از جمله این گروه‌ها می‌توان به زیرقبیله‌های Termopsieae و Robonieae معرفی شده توسط Bentham اشاره کرد. ایده فیلوژنتیک Polhill در این زمینه با کشف جهش ساختاری (از دست دادن یک نسخه از توالی‌های تکراری معکوس) در ژنوم کلروپلاستی (Lavin et al., 1990) بسیاری از تاکسون‌های مجموعه‌های بالشتکی در مطالعه Dormer را به طور قابل توجهی تاییدکرد. تا اینجا آنچه که حل نشده باقی ماند این بود که آیا خود Galegeae تک تبار است؟ و چگونه این قبیله یا اعضای تک تبارش با دیگر قبیله‌های منطقه معتدله خویشاوندند و به آن‌ها نسبت داده می‌شوند؟

Polhill (1981)، Carmichaelieae و Galegeae را به عنوان دو قبیله مجزا از هم تشخیص داد و ۴ زیرقبیله Coluteinae, Astragalinae, Galeginae و Glycyrrhizinae را درون Galegeae قرار داد. وی در سال ۱۹۹۴ با توجه به ویژگی‌های غیر عادی و متناقض سرده *Alhagi* زیرقبیله Alhagineae (Yakovlev) را به

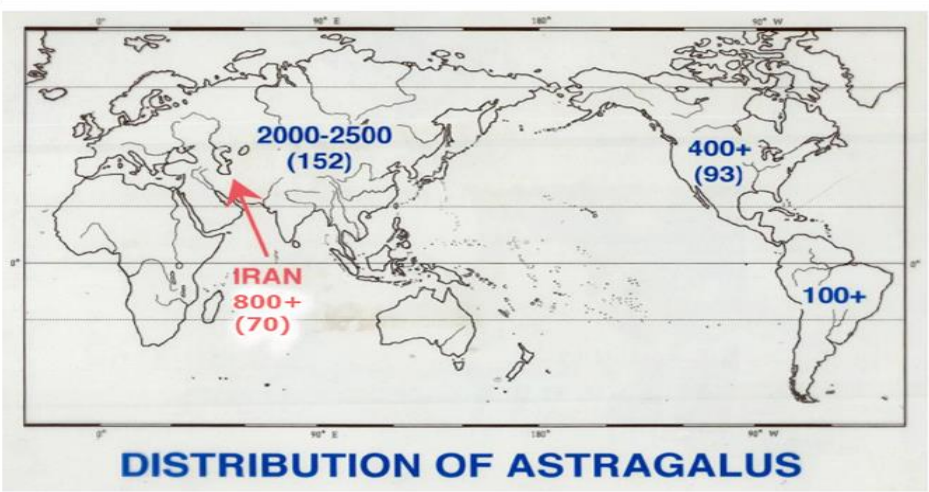
عنوان پنجمین زیرقبیله در Galegeae اضافه کرد. Yakovlev در سال ۱۹۹۱ این سرده را در زیرتباری مستقل در Galegeae تشخیص داده بود اما مطالعات Sanderson & Liston (1995) بر اساس داده‌های nrDNA ITS و به دنبال آن مطالعات Wojciechowski et al. (2000, 2004) بر اساس داده‌های *mat*K این سرده کوچک در جنوب آسیای مرکزی را مجدداً با قبیله اوراسیایی Hedysareae یکی ساخت (همان‌گونه که Hutchinson در سال ۱۹۶۴ بر اساس شباهت آن‌ها در میوه‌های بندبند ناشکوفا سرده *Alhagi* را در قبیله مذکور قرار داده بود). اعضای Galegeae در هر یک از ۳ زیرکلاد بزرگ IRLC (کلاد Astragalean با غلبه سرده‌های Galegeae، کلاد Hedysaroid و کلاد Vicioid) و همچنین در خود IRLC کلادهایی با موقعیت پایینی را اشغال می‌کنند که این موید دیدگاه Polhill درباره Galegeae به عنوان پایگاهی است که از آن سری‌های غیربالشتکی به وجود می‌آیند. به هر حال برخلاف دیدگاه Polhill قبیله Galegeae درون Hologalegina قرار می‌گیرد که گروه خواهری کمپلکس Phaseoleae-Millittieae به علاوه Indigofereae است نه کلاد معتدله قبیله Millettieae. قبیله Galegeae به همراه نزدیک‌ترین خویشاوندانش گروهی طبیعی را تشکیل می‌دهند که از قبیله گرمسیری و عمدتاً چوبی Millettieae اشتقاق یافته و در نواحی معتدله اوراسیا در اوایل دوره ترشیاری (دوران چهارم) به وجود آمده‌اند و سپس در زیستگاه‌های مشابه در دنیای جدید گسترش پیدا کردند (Wojciechowski et al., 2000).

مطالعات مولکولی Galegeae را به عنوان قبیله‌ای چندتبار در (Inverted Repeat Lacking Clade) IRLC معرفی می‌کنند که بخش عمده لگوم‌های منطقه معتدله را در برمی‌گیرد (Wagstaff et al. 1999; Wojciechowski et al. 2000, 2004; Kazempour Osaloo et al. 2007). مطالعات مولکولی بر اساس nrDNA ITS و *rpo*C نشان می‌دهند که سایر قبیله‌های IRLC درون Galegeae قرار داشته و از آن منشا می‌گیرند (Sanderson & Liston, 1995).

۱-۵ سرده گون *Astragalus* L.

۱-۵-۱ مروری بر پراکنش جغرافیایی سرده *Astragalus*

سرده *Astragalus* (تیره Fabaceae) در میان گیاهان گلدار از بزرگ‌ترین سرده‌ها است و دارای ۲۵۰ بخشه و ۳۰۰۰-۲۵۰۰ گونه می‌باشد (Lock and Simpson, 1991) . این گیاه عمدتاً در مناطق کوهستانی سرد تا خشک و نیمه خشک گرم نیم‌کره شمالی و آمریکای جنوبی دیده می‌شود (تصویر۱-۱). بیشترین تنوع سرده *Astragalus* در منطقه ایرانی –تورانی در جنوب غربی آسیا (۱۵۰۰-۱۰۰۰ گونه)، فلات Sino-Himalayan در جنوب آسیای مرکزی (حدود ۵۵۰ گونه) و فلات Great Basin و Colorado در غرب آمریکای شمالی (حدود ۴۵۰ گونه) دیده می‌شود. همچنین حدود ۱۰۰ گونه در مناطق معتدل آمریکای جنوبی وجود دارد. مرکز پیدایش و تنوع این سرده در آسیا به ویژه بخش‌های کوهستانی خشک جنوب آسیای مرکزی و هیمالیا و جنوب غربی آسیا می‌باشد (Wojciechowski, 2005; Podlech, 1986, 1998, 1999; Maassoumi, 1998; Lock and Schrire, 2005; Gillett, 1963). از بین کل گونه‌های گون، بیش از ۲۰۰۰ گونه آن انحصاراً در قاره آسیا پراکنش دارند که ایران با داشتن بیش از ۸۰۰ گونه، که از میان آن‌ها ۵۲۷ گونه انحصاری کشور است، به عنوان یکی از مراکز مهم گونه زایی گون درنظر گرفته می‌شود (معصومی، ۱۳۸۴). میزان گونه‌های انحصاری حدود ۶۲/۳۰ درصد می‌باشد که تعداد زیادی از گونه‌های آن در استپ‌های کوهستانی دیده می‌شود (Maassoumi, 2003).



شکل۱- ۲ مراکز مهم پراکنش سرده *Astragalus* در جهان

۱-۵-۲ تاریخچه رده بندی سرده *Astragalus*

لینه اولین بار در سال ۱۷۵۳ سرده گون *Astragalus* L. را با ۳۳ گونه شرح داد. لینه سرده *Phaca* L. را با میوه‌های نیام تک خانه و گونه‌های گون را با میوه‌های نیام دو خانه‌ای(به علت وجود تیغه در وسط نیام) شناسایی می‌کرد اما Bunge (1868, 1869) به دلیل مشاهده گونه‌هایی از *Astragalus* که دارای سپتوم‌های ناقص و حد واسط بودند، *Phaca* را زیرسرده‌ای از گون قرار داد. اولین نظام رده بندی گون‌ها توسط De candolle با پایه گذاری ۱۴ بخشه در سال ۱۸۲۵ انجام شد. Steven در سال۱۸۵۶ بجز سرده *Tragacantha*، بیش از ۲۵ سرده دیگر را نیز از *Astragalus* جدا کرد. Fischer در سال ۱۸۵۳ با در نظر گرفتن صفات مشترک، تمامی سرده‌های جدا شده از *Astragalus*، آن‌ها را به این سرده برگرداند و صفات جداکننده آن‌ها را برای رده‌بندی درون سرده به بخش‌های مختلف، مورد استفاده قرار داد. Boissier، در سال‌های ۱۸۴۳تا ۱۸۵۴، بخش‌های جدید دیگری را نیز معرفی کرد (Maassoumi, 2000). در سال ۱۸۶۸، اساس طبقه بندی جامع گون‌های دنیای قدیم، توسط Bunge ارائه گردید. در این طبقه بندی، گون‌های دنیای قدیم در ۷ زیرسرده، ۱۵۰ بخشه معرفی شدند. Bunge در سال ۱۸۶۹ گونه‌های جدیدی را شرح داد. تقریباً همزمان با Bunge، Gray گون‌های دنیای جدید را طبقه‌بندی کرد، او ۲ زیرسرده و ۲۷ بخشه را تشخیص داد. گون‌ها حدود ۱۶-۱۲ میلیون سال پیش از نزدیک‌ترین گروه خواهری خود *Oxytropis* مشتق شده اند (Wojciechowski, 2005).

از اواخر دهه ۱۹۶۰، Podlech با همکاری دانشجویانش به طور مستمر مطالعات خود را در زمینه رده‌بندی گون‌های دنیای قدیم، با مبنای فکری Boissier، Bunge و Rechinger و با توجه به کارهای De Candolle آغاز کرد.

Podlech (1982) صفات ظاهری که توسط افرادی مانند Baker و Boissier مبنای تعیین زیرسرده قرار گرفته بودند را کنار گذاشت و عنوان کرد که تنها کرک با دارا بودن مبنای ژنتیکی، می‌تواند در این زمینه مورد استفاده قرار گیرد. کل گون‌های چندساله را در ۲ زیرسرده با کرک‌های ساده (زیرسرده *Astragalus*) و