

صلى الله عليه وسلم



دانشکده علوم زیستی
پایان نامه برای دریافت درجه
کارشناسی ارشد زیست شناسی
سیستماتیک گیاهی

سیستماتیک مولکولی

جنس *Ebenus* (Fabaceae-Hedysareae)

براساس توالی‌های *nrDNA ITS* و *matK*

نگارنده:

اکرم کاوه

استاد راهنما:

دکتر شاهرخ کاظم پور اوصالو

خرداد ۱۳۸۹

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخه نهایی پایان نامه خانم اکرم کاوه رشته زیست شناسی (علوم گیاهی) تحت عنوان: «سیستماتیک مولکولی *Ebenus* (Fabaceae-Medysarcae) براساس توابعی های nr DNA ITS و Matk» از نظر فرم و محتوا بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجه کارشناسی ارشد مورد تأیید قرار دادند.

امضاء	رتبه علمی	نام و نام خانوادگی	اعضای هیات داوران
	دانشیار	دکتر شاهرخ کاظم پور	- استاد راهنما
	دانشیار	دکتر فائزه قناتی	- استاد ناظر داخلی
	استاد	دکتر علی اصغر معصومی	- استاد ناظر خارجی
	استادیار	دکتر مظفر شریفی	- نماینده تحصیلات تکمیلی

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

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری 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 هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهش‌های علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

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

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

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

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱۶ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

اینجانب..... دانشجوی رشته..... و ورودی سال تحصیلی.....
مقطع..... دانشکده..... متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه و کالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا:
تاریخ: ۸۹/۱۰/۱

آیین نامه چاپ پایان نامه (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 می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» 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 سلسله‌های گسسته است که در سال ۱۳۸۹-۸۶ در دانشکده علوم ریسی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم اجناب آقای دکتر حاج طهماسب، مشاوره سرکار خانم اجناب آقای دکتر _____ و مشاوره سرکار خانم اجناب آقای دکتر _____ از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

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

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

ماده ۶: اینجانب اکرم کاروه دانشجوی رشته سلسله‌های گسسته مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده؛ به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: اکرم کاروه
تاریخ و امضا: ۱۳۹۱/۱۰/۲۱

**سپاس بیکران شایسته پروردگار بی همتاست که نعمت شعور و شور آموختن
را به انسان ارزانی داشت، ضمیر تشنه اش را به پشمه سار زلال معرفت
مهمان کرد و مشقت طریق عشق و وصالش را به شهد دانستن بر وی گوارا
گرداند که اوست مهربانترین**

در ابتدا بر خود میدانم از راهنمایان و تمامی عزیزانی که در این راه همراهیم کردند
سپاسگزاری کنم.

از استاد راهنمای ارجمندم، جناب آقای دکتر شاهرخ کاظم پور اوصالو که همواره از
راهنمایی ها و همراهی هایشان بهره مند بودم، بی نهایت سپاسگزارم.

سپاس فراوان از سرکار خانم دکتر قناتی، به پاس راهنماییها و همراهیهای گراندیشان.
که زحمت ارزیابی این پایان نامه را نیز پذیرفتند.

تقدیر و تشکر فراوان از جناب آقای دکتر مظفر شریفی به پاس کمکها و راهنمایی های
بی دریغ شان که زحمت ارزیابی این پایان نامه را نیز پذیرفتند.

بی نهایت سپاسگزارم از جناب آقای دکتر علی اصغر معصومی که زحمت ارزیابی این
پایان نامه را پذیرفتند.

سپاسگزارم از سرکار خانم عاطفه امیراحمدی به پاس همه محبت های بی دریغشان..

تشکر فراوان از سرکار خانم خرمی شاد و همچنین سرکار خانم فدایی، مسئولین محترم
آزمایشگاه علوم گیاهی دانشگاه تربیت مدرس.

سپاسگزارم از دوستان عزیزی که در طول انجام کار از همراهیشان بهره مند بوده ام :
نیوشا جعفر زاده، فاطمه فرخی، اعظم عبدالله زاده، شیرین اسماعیل زاده، کوثر نادری،

حوریه حسینی، فاطمه معین و فرزانه جعفری

سپاس فراوان از خانواده بزرگوaram که بدون همراهی و پشتیبانی آنها طی این مسیر برایم
غیرممکن بود.

چکیده

Ebenus در مناطق جنوب غرب آسیا، شرق مدیترانه و شمال آفریقا گسترش یافته است و حدوداً شامل ۱۹ گونه است. در مطالعه حاضر، ۳۱ تاکسون (۳۱ گونه در آنالیز nrDNA ITS، ۲۵ تاکسون در آنالیز *matK* و ۲۵ گونه در آنالیز ترکیبی) شامل ۱۸ گونه از *Ebenus*، ۶ گونه از *Taverniera*، ۲ گونه از جنس *Onobrychis* و دو گونه از جنس *Hedysarum* به عنوان درونگروه و بعلاوه *Alhagi persarum* به عنوان برونگروه در بازسازی فیلوژنی انتخاب شدند. روش ماکسیمم پارسیمونی تعبیه شده در نرم افزار PAUP* با استفاده از جستجوی ابتکاری و روش Bayesian با استفاده از MrBayes برای آنالیز فیلوژنی به کار برده شد. آنالیز کلادیستیک ریخت شناسی با استفاده از ۲۱ صفت و ۲۶ تاکسون شامل ۱۹ گونه از *Ebenus*، ۲ گونه از *Taverniera*، ۲ گونه از جنس *Onobrychis* و دو گونه از جنس *Hedysarum* به عنوان درونگروه و بعلاوه *Alhagi persarum* به عنوان برونگروه در بازسازی فیلوژنی انتخاب شدند. در تمام آنالیزها *Ebenus* و *Taverniera* تک تبار هستند. بخش‌های *Euebenus* و *Ebenidium* جنس *Ebenus* تک تبار نمی‌باشند. همچنین *Onobrychis* و *Hedysarum* با حمایت ضعیفی با *Ebenus* قرار گرفته‌اند. در درخت ترکیبی nrDNA ITS-*matK* *E. stellata* و *Ebenus pinnata* شاخه‌های حل نشده ای هستند که متعاقب آن زیر کلاد *E. cretica* و *E. armitagei* می‌باشد که خواهر کلاد بزرگی از گونه‌های ترکیه‌ای بعلاوه *E. sibthorpii* است، این کلاد به نوبه خود شامل دو زیر کلاد متشکل از سه گونه (*E. cappidocica*، *E. depressa* و *E. bourgaei*) و یازده گونه (*E. hirsuta* تا *E. sibthorpii*) می‌باشد. هر دو آنالیز فیلوژنی مولکولی و مورفولوژی نشان می‌دهد که *Ebenus* از مناطق مدیترانه ای (شمال آفریقا) منشا گرفته است. یک گونه، *E. stellata*، در مناطق جنوب غربی آسیا تکامل یافته است و تعداد کثیری از گونه‌ها به خوبی در نواحی مدیترانه و ایران و تورانی آناتولی (ترکیه) تنوع یافته‌اند. برخلاف فیلوژنی‌های مولکولی در درخت حاصل از مورفولوژی *E. cretica* و *E. stellata* خواهران متوالی بقیه گونه‌های *Ebenus* هستند.

کلمات کلیدی: *Ebenus*، فیلوژنی، مورفولوژی، تک تبار

فهرست مطالب

صفحه

فصل اول: مقدمه

- ۱-۱ تیره (Leguminosae) Fabaceae ۱
- ۲-۱ زیر تیره Papilionoideae ۲
- ۳-۱ قبیله Hedysareae ۳
- ۴-۱ جنس Ebenus ۵
- ۴-۱-۱ پراکنش جغرافیایی ۵
- ۴-۱-۲ ریخت شناسی ۶
- ۴-۱-۳ سیتولوژی و گرده شناسی ۶
- ۴-۱-۴ فیلوژنی ۷
- ۴-۱-۵ کاربرد Ebenus ۱۰
- ۵-۱ Taverniera ۱۰
- ۶-۱ توالی nrDNA ITS و ژن کلروپلاستی *matK* ۱۱

۶-۱-۱ فاصله انداز رونویسی شده ژن ریبوزومی هسته ای یا nrDNA ITS

- (Nuclear ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer) ۱۱
- ۶-۱-۲ ژن کلروپلاستی *matK* ۱۲
- ۷-۱ اهداف پژوهش حاضر ۱۳

فصل دوم: مواد و روشها

- ۱-۲ بازسازی فیلوژنی براساس داده های مولکولی ۱۴
- ۱-۱-۲ نمونه برداری گونه های گیاهی ۱۴

- ۲-۱-۲ استخراج DNA ۱۷
- ۳-۱-۲ تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده ۱۸
- ۴-۱-۲ واکنش زنجیره ای پلیمرز (Polymerase Chain Reaction) ۱۹
- ۵-۱-۲ الکتروفورز ۲۰
- ۶-۱-۲ تعیین توالی مناطق تکثیر شده ۲۱
- ۷-۱-۲ آنالیز فیلوژنی ۲۳
- ۱-۷-۱-۲ روش Maximum parsimony ۲۳
- ۲-۷-۱-۲ روش Bayesian ۲۳
- ۳-۷-۱-۲ آزمون ترکیب پذیری دو مجموعه اطلاعات ۲۴
- ۲-۲ بازسازی فیلوژنی براساس داده های ریخت شناسی ۲۵

فصل سوم: نتایج

- ۱-۳ آنالیز داده های nrDNA ITS ۲۸
- ۱-۱-۳ روش بیشینه صرفه جویی (Maximum Parsimony) ۲۸
- ۲-۱-۳ روش Bayesian ۲۹
- ۲-۳ آنالیز داده های ژن کلروپلاستی *matK* ۳۲
- ۱-۲-۳ روش بیشینه صرفه جویی (Maximum parsimony) ۳۲
- ۲-۲-۳ روش Bayesian ۳۳
- ۳-۳ آنالیز ترکیبی داده های nrDNA ITS و ژن کلروپلاستی *matK* ۳۶
- ۱-۳-۳ آنالیز داده های ترکیبی ۳۶
- ۲-۳-۳ روش بیشینه صرفه جویی (Maximum Parsimony) ۳۶
- ۳-۳-۳ روش Bayesian ۳۷

۴-۳	آنالیز داده های ریخت شناسی	۴۲
فصل چهارم : بحث و نتیجه گیری		
۱-۴	مقایسه نتایج حاصل از داده های توالی هسته ای nrDNA ITS و ژن کلروپلاستی	
۴۶matK	
۲-۴	مقایسه روش های آنالیزی بیشینه صرفه جویی و Bayesian	۴۷
۳-۴	فیلوژنی جنس <i>Ebenus</i> و واحدهای تحت جنسی چند گونه های آن	۴۸
۳-۴	۱-۳ فیلوژنی جنس <i>Ebenus</i> و بخشه های آن	۴۸
۲-۳-۴	مقایسه فیلوژنی گونه های ترکیه <i>Ebenus</i> در مطالعات حاصل از داده های RAPD	
۴۹	و پروفایل پروتئین دانه ها (Celebi et al. 2009) و مطالعه فیلوژنی مولکولی حاضر	۴۹
۳-۳-۴	<i>Ebenus</i> و خویشاوندانش	۵۰
۴-۳-۴	جغرافیای زیستی جنس <i>Ebenus</i>	۵۱
۴-۴	مقایسه داده های ریخت شناسی و فیلوژنی مولکولی	۵۳
۵-۴	جنس <i>Taverniera</i>	۵۳
۶-۴	استنتاج و پیشنهادات	۵۵
۵۶	منابع	۵۶
۶۲	پیوستها	۶۲

فهرست جداول

صفحه

جدول ۱-۲ لیست گونه های آنالیز شده برای توالی هسته ای **nrDNA ITS** و ژن کلروپلاستی

۱۵.....*matK*

جدول ۲-۲ توالی آغازگرهای استفاده شده برای تکثیر و تعیین توالی قطعات **nrDNAITS** و

ژن کلروپلاستی *matK*..... ۱۹

جدول ۳-۲ اجزا به کار رفته در یک واکنش **PCR**..... ۱۹

جدول ۴-۲ صفات مورد استفاده در بازسازی فیلوژنی براساس داده های ریخت شناسی..... ۲۶

جدول ۵-۲ ماتریس صفات مورد استفاده در مطالعات فیلوژنی براساس داده های ریخت

شناسی..... ۲۷

فهرست اشکال

صفحه

- شکل ۱-۱ آنالیز خوشه ای با روش UPGMA مربوط به داده های RAPD گونه های ترکیه *Ebenus* (برگرفته از Celebi et al. 2009)..... ۹
- شکل ۱-۲ آنالیز خوشه ای با روش UPGMA براساس ماتریس شباهت پروتئین های ذخیره ای گونه های ترکیه ای *Ebenus* (برگرفته از Celebi et al. 2009)..... ۹
- شکل ۱-۳ شمایی از ناحیه nrDNA ITS. زیرواحدها، جهت و موقعیت آغاز گرها نشان داده شده است (برگرفته شده از Simpson 2006)..... ۱۲
- شکل ۱-۴ نمایی از ژن *trnk* و اینترونش که ژن کلروپلاستی *matK* در درون آن قرار گرفته است (Nelson et al. 2000)..... ۱۲
- شکل ۱-۲ کروماتوگرام ناحیه nrDNA ITS گونه *Ebenus stellata*..... ۲۲
- شکل ۱-۳ درخت مطلق مرکزی حاصل از ۶۶ کوتاه ترین درخت حاصل از تجزیه و تحلیل با وزن یکسان توالی هسته ای nrDNA ITS، اعداد روی شاخه ها، طول شاخه و اعداد زیر شاخه ها، ضریب حدود اطمینان شاخه ها (Bootstap) می باشد. ارزش های کمتر از ۵۰٪ نوشته نشده اند..... ۳۰
- شکل ۲-۳ درخت حاصل از آنالیز Bayesian براساس توالی هسته ای nrDNA ITS. اعداد روی شاخه ها حمایت آماری کلادها را نشان می دهد..... ۳۱
- شکل ۳-۳ درخت مطلق مرکزی حاصل از ۱۲۳ کوتاه ترین درخت حاصل از تجزیه و تحلیل با وزن یکسان ژن کلروپلاستی *matK*، اعداد روی شاخه ها، طول شاخه و اعداد زیر شاخه ها، ضریب حدود اطمینان شاخه ها (Bootstap) می باشد. ارزش های کمتر از ۵۰٪ نوشته نشده اند..... ۳۴
- شکل ۴-۳ درخت حاصل از آنالیز Bayesian براساس ژن کلروپلاستی *matK* اعداد روی شاخه ها حمایت آماری کلادها را نشان می دهد..... ۳۵
- شکل ۵-۳ درخت مطلق مرکزی حاصل از ۱۰۰ کوتاه ترین درخت حاصل از تجزیه و تحلیل با وزن یکسان ترکیبی توالی های هسته ای nrDNA ITS و ژن کلروپلاستی *matK* اعداد

روی شاخه ها، ضریب حدود اطمینان شاخه ها (Bootstap) می باشند. ارزش های کمتر از ۵۰٪ نوشته نشده اند.....۳۹

شکل ۳-۶ درخت مطلق مرکزی حاصل از ۴ کوتاه ترین درخت حاصل از وزن دهی مجدد آنالیز ترکیبی توالی های هسته ای nrDNA ITS و ژن کلروپلاستی *matK*، اعداد روی شاخه ها، ضریب حدود اطمینان شاخه ها (Bootstap) می باشند. ارزش های کمتر از ۵۰٪ نوشته نشده اند.....۴۰

شکل ۳-۷ درخت حاصل از آنالیز Bayesian براساس توالی های هسته ای nrDNA ITS و ژن کلروپلاستی *matK* اعداد روی شاخه ها حمایت آماری کلادها را نشان می دهد.....۴۱

شکل ۳-۸ درخت مطلق مرکزی حاصل از ۳۳۹ کوتاه ترین درخت حاصل از تجزیه و تحلیل با وزن یکسان صفات، اعداد روی شاخه ها، ضریب حدود اطمینان شاخه ها (Bootstap) می باشند. ارزش های کمتر از ۵۰٪ نوشته نشده اند.....۴۴

شکل ۳-۹ درخت مطلق مرکزی حاصل از ۵۰ کوتاه ترین درخت حاصل از وزن دهی مجدد صفات. اعداد روی شاخه ها، ضریب حدود اطمینان شاخه ها (Bootstap) می باشند ارزش های کمتر از ۵۰٪ نوشته نشده اند.....۴۵

شکل ۴-۱ تصویر کلی از پراکنش و خاستگاه جغرافیایی جنس *Ebenus* براساس داده های nrDNA ITS.....۵۲

فصل اول

مقدمه

۱-۱ تیره (Leguminosae) Fabaceae

تیره حبوبات (Fabaceae) با داشتن ۱۳۸۵ گونه بزرگترین تیره فلور ایران (یوسفی ۱۳۸۶) و با ۷۳۰ جنس و بیش از ۱۹۴۰۰ گونه، با پراکنش جهانی، سومین تیره بزرگ نهاندانگان در جهان است و از نظر اهمیت کشاورزی و اقتصادی بعد از Poaceae در رتبه دوم قرار دارد. بیشترین پراکنش اعضای این تیره در مناطق معتدل تا گرم با اقلیم نیمه خشک و خشک است. تمایل آنها به زیستگاه‌های نیمه خشک تا خشک به دلیل داشتن متابولیسم تثبیت نیتروژن در آنهاست، این متابولیسم به وسیله گرهک‌های ریشه که حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن است صورت می‌گیرد (Wojciechowski et al. 2004; Lewis et al. 2005) و منابع قید شده در آن)

این تیره متشکل از گیاهان علفی تا درختان بلند می‌باشد. از نظر ریخت‌شناسی گیاهان این تیره دارای برگ‌های ساده تا مرکب می‌باشند. گل‌ها، اغلب منظم و یا نامنظم، دو جنسی با تخمدان زیرین، پنج پر هستند که به صورت منفرد یا در گل آذین خوشه، سنبله یا سرسان (کپه ای) قرار دارند. به جز چند استثنا در همه تاکسون‌ها نیام‌ها تک خانه ای، با تمکن جداری در طول درز پشتی، با ۲ تا تعداد زیادی تخمک هستند که در دو ردیف متناوب در محل جفت قرار می‌گیرند و در طول یک یا دو درز باز می‌شوند و گاهی دارای بخش‌های تک خانه ای به هم فشرده (لومن) و یا ناشکوفای می‌باشند. بررسی‌های فیلوژنی براساس توالی‌های کلروپلاستی *rbcL*، *matK* و اینترون *trnL* نشان می‌دهد که تیره حبوبات گروه تک تباری را تشکیل می‌دهد (Wojciechowski et al. 2004) و منابع قید شده در آن). از نظر صفات ریخت‌شناسی به ویژه صفات گل این تیره به سه زیر تیره

Papilionoideae (=Faboideae), Mimosoideae و Caesalpinioideae تقسیم می شود که گاهی آنها را به عنوان سه تیره جدا در نظر می گیرند (Lewis et al. 2005; Polhill 1981a).

۲-۱ زیر تیره Papilionoideae

در تیره حبوبات (Fabaceae)، زیر تیره Papilionoideae به دلیل داشتن بیشترین تعداد جنس (۴۷۶) و گونه (۱۳۶۸۰)، پراکنش بسیار گسترده و همچنین اهمیت اقتصادی فوق العاده، مورد توجه زیادی واقع شده است. خیلی از اعضای آن توانایی سنتز آلکالوئیدهای quinolizidine، ایزو فلاوینها و آمینواسیدهای غیر پروتئینی منحصربه فردی مانند canavanine را دارند (Polhill 1994). این زیر تیره شامل گیاهان علفی تا درختی است برگها شانه ای تا سه برگچه ای و گاهی اوقات تک برگچه ای، گلها نامنظم، گلبرگها در غنچه همپوش (imbricate) هستند، درفش بیرونی ترین گلبرگ است بطوریکه بقیه گلبرگها را می پوشاند و ناو پرچمها و مادگی را در برمی گیرد کاسه پیوسته است و پرچمها ۱+۹ تا به تعداد زیاد است و گردهها منفرد می باشند. گرهکهای ریشه ای تثبیت کننده ازت در این زیر تیره مشاهده می شود (Polhill 1981a; Lewis et al. 2005; Rechinger 1984). تک تباری این زیر تیره با داده های مولکولی شامل *rbcL* (Kass and Wink 1995; 1996; 1997; Doyle et al. 2001) *trnL*، (Pennington et al. 2001) و *matK* (Wojciechowski et al. 2004) تأیید می گردد. در فیلوژنی مولکولی براساس توالی های ژن *matK* Mimosoideae و Caesalpinoid crown با هم گروه خواری را برای کلاد Papilionoid تشکیل می دهند. کلاد Papilionoid از هفت زیر کلاد اصلی با حمایت بسیار بالا تشکیل شده که عبارتند از کلادهای Cladrastis s.l.، Genistoid s.l.، Dalbergioid s.l.، Mirbelioid، Milletioid، Robinoid و کلاد فاقد توالی تکرار معکوس یا IRLC (Inverted Repeat Lacking Clade). دو کلاد آخر با هم کلاد Hologalegina را تشکیل می دهند که یک کلاد تک تبار است و بزرگترین کلاد در Papilionoid می باشد (Wojciechowski 2003; Wojciechowski et al. 2000, 2004).

کلاذ IRLC بیشتر اعضای گروه علفی‌های منطقه معتدله (Temperate Herabaceuos Group) را شامل می‌شود که عبارتند از قبیله‌های *Galegeae*, *Cicereae*, *Hedysareae*, *Fabeae* (= *Vicieae*), *Trifolieae*, *Millettieae* به علاوه جنس‌های *Afgekia*, *Callerya* و *Wisteria* از قبیله خود از سه کلاذ بزرگ *Astragalean*, *Vicioid* و *Hedysaroid* تشکیل شده است (Polhill 1981a). تک تبار بودن این کلاذ در تمامی آنالیزهای فیلوژنی مولکولی تایید شده است این کلاذ خود از سه کلاذ بزرگ *Astragalean*, *Vicioid* و *Hedysaroid* تشکیل شده است (Wojciechowski et al. 2004; Ahlquist et al. 2009; امیراحمدی ۱۳۸۹) که اولی شامل قبیله چند تبار *Galegeae* و دومی شامل اعضای *Vicieae*, *Trifolieae*, *Cicereae* و جنس *Galega* (Lock and Schrier 2005) و کلاذ سوم شامل اعضای قبیله *Hedysareae* می‌باشد.

۱-۳ قبیله *Hedysareae*

گیاهان این قبیله علفی تا درختچه ای کوچک در نواحی خشک با آب وهوای گرم و مدیترانه‌ای پراکنش دارند و محدود به مناطق اوراسیا، شمال آفریقا و شاخ آفریقا می‌باشند. از نظر ریخت شناسی برگ‌ها در این قبیله شانه ای فرد یا تک برگچه ای فاقد بالشتک برگی و دارای گوشوارک می‌باشند. گل آذین اغلب خوشه و بال‌ها در ساختار گل کاهش یافته است که مشخصه ی بارز این قبیله است. پرچم‌ها ۱+۹ به صورت دیادلف (*diadelphous*)، پرچم درفشی آزاد یا در وسط متصل به بقیه می‌باشد. تخمدان دارای یک تا چندین تخمک، میوه‌ها اکثراً بندبند و تسبیحی یا مسطح و برخی یک دانه‌ای، ناشکوف، دانه کلیوی با آندوسپرم نازک یا ضخیم است (Polhill 1981c).

بنا به نظر Polhill (1981b) منشا قبیله *Hedysareae* از قسمت *Astragaloid* (زیرقبیله *Asragalinae*) از قبیله *Galegeae* است (Wojciechowski et al. 2000). فیلوژنی مولکولی با استفاده از توالی هسته‌ای nrDNA ITS نشان میدهد که قبیله *Hedysareae* مورد قبول Polhill (1981b) با دو گونه *Hedysarum boreale* Nutt. و *Onobrychis montana* DC همراه با دو گونه *Alhagi* زیرکلاذ بسیار حمایت شده‌ای را به نام *Hedysaroid clade* در کلاذ IRLC تشکیل می‌-

دهند که کلاد Hedysaroid با کلاد Vicioid رابطه خواهری دارد (Sanderson and Wojciechowski 1996). در بررسی‌های بعدی با نتایج حاصل از ژن کلروپلاستی *matK* (Wojciechowski et al. 2000,2004) و همچنین نتایج حاصل از ترکیب داده‌های *matK* و nrDNA ITS (Wojciechowski 2005)، البته با همان تعداد نمونه برداری کم، نشان می‌دهد که قبیله Hedysareae با Caragana از قبیله Galegeae رابطه خواهری دارد و کلاد Hedysaroid Caragana- با کلاد Astragalean خویشاوند است اما در ابر درخت ارائه شده (Wojciechowski et al. 2000) این کلاد خارج از دو کلاد Astragalean و Vicioid قرار می‌گیرد. مطالعه فیلوژنی آهنگریان و همکارانش (۲۰۰۷) براساس توالی‌های nrDNA ITS نیز نشان می‌دهد که Hedysaroid کلاد بسیار حمایت شده‌ای می‌باشد (ضریب حدود اطمینان ۰.۸۵) و با کلاد Astragalean رابطه خواهری دارد ولی این رابطه به طور ضعیف حمایت شده است (ضریب حدود اطمینان ۰.۵۳) و کلاد Hedysaroid-Astragalean با کلاد Chesneya-Caragana (کلاد Caraganean) خویشاوند است. موافق با مطالعات فوق، در جدیدترین بررسی‌ها براساس توالی‌های هسته‌ای nrDNA ITS (Ahlquist et al. 2009) و امیراحمدی (۱۳۸۹) و مطالعات حاصل از آنالیز ترکیبی nrDNA ITS و اینترون *trnL* قبیله Hedysareae یک گروه تک تبار می‌باشد. Lock (2005) براساس نتایج فیلوژنی مولکولی (Sanderson and Wojciechowski 1996)؛ (Wojciechowski et al. 2000,2004) و داده‌های ریخت‌شناسی (Choi and Ohashi 1996, 2003) بدون آنالیز تمامی تاکسون‌های مورد نظر، تحلیلی فرضی از تعیین حدود قبیله ارائه داد. براساس نظر وی این قبیله شامل جنس‌های *Alhagi*, *Caragana*, *Corethroedendron*, *Ebenus*, *Eversmania*, *Calophaca*, *Halimodendron*, *Hedysarum*, *Onobrychis*, *Sartoria*, *Strachya*, *Sulla* و *Taverniera* است ولی مطالعات اخیر (Ahangarian et al. 2007) و امیراحمدی (۱۳۸۹) نشان داد که *Calophaca*, *Caragana* و *Halimodendron* هیچ ارتباطی با قبیله Hedysareae ندارند و این

قبیله شامل جنس های *Hedysarum*, *Corethroedendron*, *Eversmania*, *Ebenus*, *Alhagi* و *Sulla*, *Strachya*, *Sartoria*, *Onobrychis* است.

۴-۱ جنس *Ebenus*

۴-۱-۱ پراکنش جغرافیایی

جنس *Ebenus* دارای ۲۰-۱۸ گونه می‌باشد که در مناطق ایران و تورانی، شرق مدیترانه، شمال آفریقا و ناحیه عربی - سندی پراکنده شده است (Mabberley 1990 و Aytac 2000). این جنس دارای سه بخش به نام‌های *Euebenus*, *Tragacanta* و *Ebenidium* است (Huber-Morath 1965; Aytac 2000). بیشترین پراکنش جغرافیایی این جنس در مناطق ایران و تورانی و مدیترانه‌ای ترکیه، شامل ۱۷ تاکسون (۱۴ گونه و ۳ واریته) است که همه بومی و انحصاری کشور ترکیه و متعلق به بخش *Euebenus* هستند. ۹ تاکسون از عناصر ایران و تورانی و ۸ تاکسون مربوط به شرق مدیترانه است. این گونه‌ها در آناتولی به طور عمده در مدیترانه و نواحی درونی آناتولی مانند اژه (Agean)، شرق مدیترانه و با پراکنش کمتر در ناحیه مرمره (Marmara) انتشار دارند (Huber-Morath 1970; Aytac 2000). گونه‌های دیگر بخش *Euebenus*، *Ebenus sibthorpii* و *E. cretica* هستند که گونه‌ی اول انحصاری جنوب شرق یونان و دومی در کرت می‌روید (Mitrocotsa et al. 1968; Ball 1999). بخش *Tragacanta* فقط دارای یک گونه به نام *E. stellata* است که در ایران، افغانستان، پاکستان و عربستان انتشار دارد (Rechinger 1984). سایر گونه‌های *Ebenus* متعلق به بخش *Ebenidium* به نام‌های *E. armitagei* و *E. pinnata* هستند که انحصاری شمال آفریقا می‌باشند که اولی در مصر و شرق لیبی و دومی در تونس، مراکش، الجزایر و غرب لیبی پراکنش دارد (Jafri 1980; Aytac et al. 2000).

۱-۴-۲ ریخت شناسی

اعضای این جنس عموماً علفی (به جز *E. cretica* و *E. stellata*)، چندساله و کرکدار با برگ‌هایی سه برگچه‌ای یا مرکب شانه‌ای فرد با ۳ تا ۱۵ برگچه می‌باشند. گل آذین کپه، سنبله و خوشه، کاسبرگ لوله‌ای زنگوله‌ای شکل با ۵ دندانه کرکدار، گلبرگ‌ها زرد یا ارغوانی، درفش به شکل تخم مرغ وارونه یا قلبی معکوس، بال‌ها کوتاه، ناو کوتاه شده، لب‌گرد است پرچم درفشی و متصل به بقیه می‌باشد، خامه رشته‌ای و خمیده، کلاله کوچک و انتهای است میوه‌ها کوچک، یک دانه‌ای و ناشکوفای که با کاسبرگ دربرگرفته شده‌اند (Aytac 2000). از نظر ظاهر جنس *Ebenus* با *Astragalus* (مولد کتیرا) شباهت دارد اما به آسانی از *Astragalus* تشخیص داده می‌شود به طوری که در *Ebenus* دندانه‌های کاسبرگ حداقل دو برابر طول لوله کاسبرگ است و میله‌های پرچم به شکل لوله به یکدیگر اتصال دارند (monadelphous stamens) و بال‌ها به اندازه کافی کوتاه و در لوله کاسبرگ قرار می‌گیرند؛ این جنس به علت شباهتش با *Astragalus*، استانبولی در زبان ترکی اغلب "morgeven" یا "Sarigeven" یا گون زرد نامیده می‌شود (Aytac et al. 2000 ; Celebi et al 2009)

۱-۴-۳ سیتولوژی و گرده شناسی

همه گونه‌های *Ebenus* دیپلوئید، با عدد کروموزومی $n = 7$ هستند (Aksoy et al. 2001; Aytac et al. 2000 , Goldblatt 1981) و دانه گرده آنها از نظر تقارن شعاعی، جور قطب، سه شیاره و کشیده هستند (Aytac et al. 2000 , Pinar et al. 2000 , Parveen and Qaiser 1998). از دانه‌های گونه‌های ترکیه اسیدهای چرب مهمی چون لینولئیک اسید، اولئیک اسید، پالمیک اسید، لینولئیک اسید و الایدیک اسید استخراج شده‌است که مطابق با مشخصه تیره **Leguminosae** در تولید روغن و اسیدهای چرب است و به عنوان یک نشانگر قابل اعتماد استفاده می‌شود (Azcan et al. 2001). از دانه‌های *Ebenus critica* نیز پروتئین‌های ذخیره‌ای چون آلبومین، گلوبولین، پرولامین و گلوتلین استخراج شده است (Syros et al. 2003).