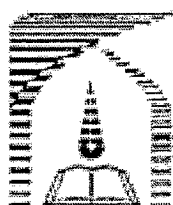


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم پایه

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد زیست شناسی (علوم گیاهی)

فیلوژنی مولکولی جنس اسپرس (*Onobrychis* (Fabaceae)
بر اساس توالی های nr DNA ITS

نگارش: سمیه آهنگریان

استاد راهنما: دکتر شاهرخ کاظم پور اوصالو

۱۳۸۶ / ۹ / ۳

استاد مشاور: دکتر علی اصغر معصومی

تیر ۱۳۸۶

معاونت اطلاعات و کتابخانه
تربیت مدرس

۷۹۸۱۶

تقدیم بہ

پدر و مادر عزیزہ

خدای خوب و مهربان را شکر می کنم که به من سلامتی بخشید و توان اندیشیدن را بر من میسر گردانید، که بی مدد و یاری او هیچ آغازی به انجام نخواهد رسید.

بی شک انجام این پروژه بدون راهنمای‌های ارزشمند جناب آقای دکتر شاهرخ کاظم پور اوصالو استاد راهنمای بزرگووارم، غیر ممکن می نمود. لذا بر خود می دانم که از زحمات دلسوزانه ایشان تشکر و قدردانی کنم.

از آقای دکتر علی اصغر معصومی که مشاوره این پایان نامه را بر عهده داشتند بسیار سپاسگزارم. از سرکار خانم دکتر قنواتی که در طی انجام پایان نامه از راهنمایی‌های بی دریغشان بهره مند بودم و همچنین زحمت مطالعه پایان نامه را عهده دار شدند، صمیمانه قدردانی می کنم. از استاد ارجمند جناب آقای دکتر مظفر شریفی که در طول این دوره تحصیلی از محضرشان بهره جستم، همچنین ارزیابی این پایان نامه را بر عهده داشتند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از زحمات و توجهات سرکار خانم خرمی شاد کارشناس آزمایشگاه علوم گیاهی و همچنین آقایان ایرج مهرگان از مؤسسه گیاهشناسی دانشگاه ماینز-آلمان، مهندس سلطانی از ایستگاه تثبیت شن شهید صدوق یزد کمال تشکر را دارم.

برای دوستان خوب هم کلاسی ام به ویژه سرکار خانم سولماز توکلی و دوستان هم دانشگاهی ام: معصومه میرزایی، اعظم عبدالله زاده، محبوبه ضیایی، نجمه احمدیان، مهدیه رضا قلی زاده، فاطمه دری، مرضیه قلاسی، زهرا مشکات، لیلا تاجیک که هر یک به نحوی یاریگر اینجانب بوده‌اند، آرزوی بهترین‌ها دارم.

و با سپاس فراوان از خانواده عزیزم که محبت‌های بی دریغشان جبران ناپذیر است.

چکیده

در پژوهش حاضر، برای بازسازی روابط فیلوژنی ۴۸ گونه درونگروه شامل ۲۶ گونه از قبیله Hedysareae، ۵ گونه از کلاد Vicioid و ۱۷ گونه از قبیله Galegeae و دو گونه *Glycyrrhiza* (از قبیله Galegeae) به عنوان برونگروه انتخاب شدند. ناحیه nrDNA ITS برای ۱۷ گونه شامل ۱۰ گونه از جنس *Onobrychis*، ۲ گونه *Hedysarum*، ۲ گونه *Taverniera*، ۱ گونه *Ebenus*، ۱ گونه *Eversmannia* و *Halimodendron* به *halodendron* برای اولین بار در این پژوهش تعیین توالی شد. تجزیه و تحلیل فیلوژنی بر اساس nrDNA ITS به روش بیشینه صرفه جویی و با وزن دهی مجدد نشان می دهد که در پایین درخت، کلاد بسیار حمایت شده Vicoide اولین شاخه می باشد و به دنبال آن کلادهای Astragalean، بعد Chesneyean (شامل *Chesneya*، *Spongiocarpella*) و سپس Caraganean (متشکل از *Caragana*، *Callophaca* و *Halimodendron*) به طور ضعیف (>۵۰٪) گروه خوهری به کلاد Hedysaroid می باشند. کلاد Hedysaroid با حمایت بالا (ضریب حدود اطمینان ۸۴٪) فقط متشکل از جنس های *Sulla*، *Onobrychis*، *Hedysarum*، *Eversmannia*، *Ebenus*، *Alhagi* می باشد و لذا طبقه بندی قبیله Hedysareae بر اساس Lock (2005) مبنی بر قرار گیری جنس های *Taverniera*، *Caragana*، *Halimodendron* و *Alhagi* تأیید نمی شود و قبیله با حضور هفت جنس فوق به علاوه دو خویشاوند *Hedysarum* یعنی *Corethroedendron* و *Sartoria* (در اینجا بررسی نشدند) تعیین حدود می شود. کلادهای Chesneyean و Caraganean دو کلاد مجزا می باشند و رابطه خویشاوندی بسیار ضعیفی با هم دارند، بنابراین قبیله جدیداً معرفی شده Caraganeae تک تبار نمی باشد. در کلاد Hedysaroid، زیرکلاد *Alhagi* اولین شاخه می باشد و به دنبال آن *Ebenus stellata* و بعد زیرکلادی متشکل از دو گونه *Taverniera* و سپس *Hedysarum papillosum* به صورت پشت سر هم به کلادی شامل بقیه گونه های *Sulla*، *Hedysarum*، *Eversmannia subspinoso* و *Onobrychis*، گروه خوهری می باشد. گونه های جنس *Sulla* به همراه *H. humille* کلاد تک تباری را تشکیل می دهند که *H. membranaceium* با آن رابطه خوهری دارد. ۱۱ گونه نمونه برداری شده *Onobrychis* همراه با دو گونه *Hedysarum* کلادی با ضریب حدود اطمینان پایین (۶۲٪) تشکیل می دهند (کلاد *Onobrychis*) که *Eversmannia subspinoso* با آن رابطه خوهری دارد. کلاد *Onobrychis* از دو زیر کلاد بسیار حمایت شده تشکیل شده است که در یکی از آنها فقط گونه های *Onobrychis* وجود دارند. ولی در کلاد دیگر دو گونه از *Hedysarum* در میان گونه های *Onobrychis* قرار می گیرند. اعضای زیر جنس *SisYROSEMA* گروه تک تباری را تشکیل می دهند (۹۶٪) ولی زیرجنس *Onobrychis* تک تبار نمی باشد. بخش *Heliobrychis* تک تبار است ولی بخش های *Onobrychis* و *Dendrobrychis* تک تبار نیستند. در تجزیه و تحلیل با وزن یکسان صفات به جزء در Vicoide، رابطه بقیه کلادها Astragalean، Chesneyean و Caraganean حل نشده است و *Ebenus* با *Taverniera* در یک کلاد قرار می گیرند. دو زیر کلاد *Onobrychis* (شامل دو گونه *Hedysarum*) همراه با *Eversmannia* کلاد سه شاخه ای تشکیل می دهند.

برای بازسازی فیلوژنی بر اساس داده های ریخت شناسی ۳۱ گونه از قبیله Hedysareae به عنوان درونگروه و گونه *Caragana grandiflora* به عنوان برونگروه انتخاب شدند. درخت مطلق مرکزی حاصل از تجزیه و تحلیل داده های ریخت شناسی نشان می دهد که در ابتدای کلاد جنس *Alhagi* اولین شاخه می باشد و به دنبال آن کلادی متشکل از دو گونه *Taverniera* و *Eversmannia subspinosa* به صورت پشت سر هم با کلاد بزرگی متشکل از *Hedysarum*، *Onobrychis* و *Sulla* رابطه خواهری دارند. موقعیت *Ebenus stellata* با توجه به نوع تجزیه و تحلیل متفاوت است به طوریکه در تجزیه و تحلیل با وزن یکسان صفات بعد از *Eversmannia* قرار می گیرد در حالیکه در تجزیه و تحلیل با وزن دهی مجدد در کلاد *Onobrychis* قرار می گیرد. همانند نتایج حاصل از داده های ITS nrDNA جنس *Onobrychis* تک تبار نیست ولی گونه های جنس *Hedysarum* به همراه گونه ای از *Sulla* گروه تک تباری را تشکیل می دهند، همچنین زیرجنس *Onobrychis* نمی باشد ولی اعضای زیرجنس *Sisyrosema* گروه تک تباری را تشکیل می دهند.

فهرست مطالب

صفحه

مقدمه

۱-۱- تیره حبوبات (Fabaceae) ۲

۱-۲- زیر تیره Papilionoideae ۴

۳-۱- کلااد IRLC ۴

۴-۱- قبیله Hedysareae ۵

اهداف پژوهش حاضر ۱۱

مواد و روشها

۱-۲- بازسازی فیلوژنی مولکولی ۱۳

۱-۱-۲- تهیه و جمع آوری نمونه های گیاهی ۱۳

۲-۱-۲- استخراج DNA ۱۸

۳-۱-۲- تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده ۲۰

۴-۱-۲- واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) ۲۰

۱-۴-۱-۲- توالی آغازگر ۲۲

۵-۱-۲- الکتروفورز ۲۲

۶-۱-۲- تعیین توالی نواحی تکثیر شده ۲۳

۷-۱-۲- تجزیه و تحلیل فیلوژنی ۲۵

۲-۲- بازسازی فیلوژنی بر اساس داده های ریخت شناسی ۲۶

نتایج

۱-۳- داده های nrDNA ITS ۳۱

۲-۳- داده های ریخت شناسی ۳۸

بحث و نتیجه گیری

۱-۴- داده های nrDnA ITS ۴۳

۴۳ Hedysareae و حدود قبیله Hedysareae ۱-۱-۴
۴۵ Hedysareae در قبیله Hedysareae ۲-۱-۴
۵۰ <i>Onobrychis</i> جنس در درون Hedysareae ۳-۱-۴
۵۱ Caraganeae جدیداً معرفی شده Caraganeae ۴-۱-۴
 مقایسه روابط فیلوژنی در قبیله Hedysareae بر اساس داده های nrDNA ITS و ریخت شناسی ۲-۴
۵۲ شناسی
۵۳ استنتاج و پیشنهادات ۳-۴
۵۵ منابع
	پیوست ها
۶۱ الف- تهیه محلولها و بافرهای مورد استفاده در استخراج DNA
۶۳ ب- توالیهای همردیف شده با برنامه Clastal W ver. 1.8

صفحه	فهرست جدول ها
	جدول ۱-۱- طبقه بندی قبیله <i>Hedysareae</i> از نظر Hutchinson(1964), Polhill (1981) و Lock 2005
۷
	جدول ۱-۲- لیست نمونه های مورد مطالعه , نام جمع آوری کننده, محل جمع آوری و شماره دسترسی در بانک ژن
۱۴
	جدول ۲-۲- اجزاء واکنش PCR، مقادیر و غلظت‌های مورد استفاده آنها برای تکثیر ناحیه ITS nrDNA
۲۱
	جدول ۲-۳- زمان بندی چرخه های حرارتی PCR برای تکثیر ناحیه nrDNA ITS
۲۱
	جدول ۲-۴- توالی آغازگرهای مورد استفاده در واکنشهای زنجیره ای پلیمرز
۲۲
	جدول ۲-۵- صفات مورد استفاده در تجزیه و تحلیل فیلوژنی
۲۷
	جدول ۲-۶- ماتریس صفات مورد استفاده در بازسازی روابط فیلوژنی
۲۹
	جدول ۳-۱- طول ناحیه nr DNA ITS در تاکسونهای مورد مطالعه
۳۲
	جدول ۳-۲- تغییرات تاکسونومیکی و نامگذاری در <i>Hedysarum</i> و جنس های خویشاوند آن (بر گرفته از Ohashi 2003 & Choi)
۴۸

شکل ۱-۱- درخت فیلوژنی تیره Fabaceae حاصل از توالی های کلروپلاستی بر گرفته از (Lewis et. al. 2005)	۳
شکل ۱-۲- دیاگرام روابط خویشاوندی در قبیله Hedysareae (برگرفته از Lock 2005)	۹
شکل ۱-۲- شمایی از ناحیه nrDNA ITS و آغازگرهای ITS4 و ITS5 استفاده شده برای PCR این ناحیه (بر گرفته از Simpson 2006)	۱۸
شکل ۲-۲- محصولات PCR شده ناحیه nr DNA ITS بر روی ژل آگارز ۱٪	۲۳
شکل ۲-۳- کروماتوگرام توالی ناحیه nr DNA ITS گونه <i>Ebenus stellata</i>	۲۴
شکل ۱-۳- درخت مطلق مرکزی حاصل از ۸۴۲۴ کوتاهترین درخت حاصل از تجزیه و تحلیل با وزن یکسان توالی ناحیه nr DNA ITS	۳۶
شکل ۲-۳- درخت مطلق مرکزی حاصل از ۹ کوتاهترین درخت حاصل از تجزیه و تحلیل توالی ناحیه nr DNA ITS با دو بار وزن دهی	۳۷
شکل ۳-۳- درخت مطلق مرکزی حاصل از ۱۳۸۲۴ تا کوتاهترین درخت حاصل از تجزیه و تحلیل با وزن یکسان صفات ریخت شناسی	۴۰
شکل ۳-۴- درخت مطلق مرکزی حاصل از ۸۴ تا کوتاهترین درخت حاصل از داده های ریخت شناسی با دو بار وزن دهی مجدد	۴۱

فصل اول

مقدمه

۱-۱- تیره حبوبات (Fabaceae)

تیره حبوبات (Fabaceae) با داشتن حدود ۷۳۰ جنس و ۱۹۴۰۰ گونه، سومین تیره گیاهان نهاندانه و دومین تیره مهم از نظر کشاورزی و اقتصادی بعد از تیره گندمیان است. این تیره متشکل از گیاهان علفی یکساله و چند ساله تا درختان بلند می‌باشد که در مناطق معتدل تا حاره ای پراکنش دارند و به دلیل داشتن متابولیسم تثبیت نیتروژن در گرهک‌های ریشه که حاوی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن هستند، به زیستگاه‌های نیمه خشک تا خشک تمایل دارند (Wojciechowski et al. 2004; Lewis et al. 2005). از نظر ریخت شناسی گیاهان این تیره دارای برگهای ساده تا مرکب می‌باشند. گلها اغلب منظم و یا نامنظم، دو جنسی با تخمدان زبرین، پنج پر هستند که به صورت منفرد یا در گل آذین خوشه، سنبله یا سرسان (کپه ای) قرار دارند (Polhill 1994). به جز چند استثناء در همه تاکسونها نیامها تک خانه ای، با تمکن جداری در طول درز پشتی، با ۲ تا تعداد زیادی تخمک که در دو ردیف متناوب در محل جفت قرار می‌گیرند و در طول یک یا دو درز باز می‌شوند، گاهی دارای بخشهای تک دانه ای به هم فشرده (لومن) و یا نامشکوف می‌باشند. بررسی های فیلوژنی مولکولی بر اساس توالی های کلروپلاستی (*rbcL*) Doyle (et al. 2000)، ایترون (*trnL*) Penington et al. 2001) و (*matK*) Wojciechowski et al. 2004). نشان می‌دهد که تیره حبوبات (Fabaceae) گروه تک تباری را تشکیل می‌دهد (Lewis et al. 2005, شکل ۱-۱). از نظر صفات ریخت شناسی بویژه صفات گل این تیره به سه زیرتیره Papilionoideae, Caesalpinioideae, Mimosoideae تقسیم می‌شود که گاهی آنها را به عنوان سه تیره جدا در نظر می‌گیرند. (Polhill 1981a; Lewis et al. 2005).



شکل ۱-۱- درخت فیلوژنی تیره Fabaceae حاصل از توالی های کلروپلاستی (بر گرفته از Lewis et. al. 2005)

۱-۲- زیر تیره Papilionoideae

در تیره حبوبات (Fabaceae)، زیرتیره 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. این زیر تیره شامل گیاهان درختی، درختچه ای تا علفی چند ساله و یکساله می باشد، برگها یک برگچه ای تا مرکب تک شانه ای فرد، در بعضی دارای پیچک و در تعداد بسیار معدودی، برگ شانه ای زوج است. گلها نامنظم، گلبرگها در غنچه همپوش (imbricate) هستند، درفش بیرونی ترین گلبرگ

می باشد بطوریکه بقیه گلبرگ ها را می پوشاند و ناو پرچم ها را در بر می گیرد. کاسه پیوسته است. جنین اغلب خمیده، پرچمها ۹+۱ تا به تعداد زیاد است و گرده ها منفرد می باشند. گرهکهای ریشه ای در این زیر تیره مشاهده می شود (Polhill 1981a; Rechinger 1984; Lewis et al. 2005). در تمام مطالعات فیلوژنی مولکولی انجام شده زیر تیره Papilionoideae گروه تک تبار با حمایت بالا را تشکیل می دهد که به ترتیب کلاد چند تبار Mimosoideae و کلاد تک تبار Caesalpinoid به آن گروه خواهری می باشد (Wojciechowski 2003; Wojciechowski et al. 2004; Lewis et al. 2005). در فیلوژنی مولکولی بر اساس توالی های ژن *matK* (Wojciechowski et al. 2004) کلاد Papilionoideae (زیر تیره Papilionoideae) از هفت زیرکلاد اصلی با حمایت بسیار بالا که عبارتند از *Cladrastis*، *Inverted IRLC* و *Robinioid*، *Mirbelioid*، *Millettoid*، *Dalbergioid s.l.*، *Genistoid s.l.* و *Repeat Lacking* (Clade) و چند کلاد فرعی با حمایت پایین تشکیل شده است.

۱-۳- کلاد IRLC

کلاد IRLC اولین بار بر اساس صفات پیشرفته مشترک مولکولی یعنی فقدان یک نسخه از توالی تکرار معکوس ۲۵ کیلو بازی در ژنوم کلروپلاستی تشخیص داده شد (Lavin et al. 1990; Liston 1995; Wojciechowski et al. 2004). غالب اعضای گروه علفی های منطقه معتدله (Temperate Herabaceuos Group; Polhill 1981a) شامل قبیله های *Galegeae*، *Trifolieae*،

Wisteria, *Callerya*, *Afgekia* های اضافه جنس های Fabeae (=Vicieae), Hedysareae, Cicereae از قبیله Millettieae, در این کلاد قرار دارند. اعضای این کلاد از نظر ریخت شناسی دارای خصوصیات مشترکند که شامل: فرم رویش غالباً علفی، برگهای مرکب و بندرت تک برگچه‌ای، بدون بالشتک برگ (epulvinate)، عدد پایه کروموزومی $x = 8$ یا $x = 7$ می باشد (Polhill 1981a; Goldblat 1981). تک تبار بودن این IRLC در تمامی آنالیزهای فیلوژنی مولکولی تأیید شده- است (Sanderson & Wojciechowski 1996; Wojciechowski et al. 2000, 2004; Hu et al. 2002). این کلاد خود از سه کلاد بزرگ Astragalean, Vicioide و Hedysaroide تشکیل شده است که اولی شامل اعضای قبیله Galegeae (Polhill 1981b), دومی شامل اعضای Cicereae, Trifolieae, Galegeae (Shrier & Lock 2005) و Fabeae و *Galega* از قبیله Galegeae (Polhill 1981b) و نهایتاً کلاد سوم شامل اعضای قبیله Hedysareae و *Alhagi* از قبیله Galegeae (Polhill 1981b) می باشد. در اینجا فقط به Hedysareae (و به تبع کلاد Hedysaroide) که موضوع پژوهش حاضر می باشد، می پردازیم.

۱-۴- قبیله Hedysareae

قبیله Hedysareae ابتدا توسط De Candolle در سال ۱۸۲۵ معرفی شد که شامل همه Papilionoide های با نیامهای بندبند بود. وی این قبیله را به شش زیر قبیله Cronilleae, Eu-Hedysareae, Aeschynimeneae, Ademieae, Stylosantheae و Desmodieae تقسیم کرد که زیر قبیله Hedysarinae (به عنوان Eu-Hedysareae) متشکل از گیاهانی با نیامهای مسطح بود. Bentham (1865) نیز این شش زیر قبیله را پذیرفت و زیر قبیله Hedysarinae (به عنوان Eu-Hedysareae) را با حذف همه جنس های حاره‌ای (tropical) و جنس های نیمکره جنوبی (southern) دوباره معرفی کرد و جنس های حذف شده را در زیر قبیله های جدا قرار داد. این زیر قبیله که Bentham معرفی کرد شامل جنس های *Alhagi* Adans., *Corethroderon* Basin., *Ebenus* L., *Eversmannia* Bunge, *Hedysarum* L., *Onobrychis* Mill., *Stracheya* Benth. و *Taverniera* DC. بود. اولین بار

Hutchinson در سال 1964 قبیله Hedysareae را به مفهوم امروزی معرفی کرد. قبیله Hedysareae بر اساس نظر Hutchinson با زیر قبیله Hedysarinae (Bentham 1865) و همچنین با قبیله Hedysareae به عقیده Polhill (1981c)، مطابقت زیادی دارد (جدول ۱-۱). Choi & Ohashi (2003) بر اساس داده های ریخت شناسی خارجی، صفات گرده شناسی و سیتولوژی *Corethroddenron* را به عنوان جنس مجزا پذیرفتند، جنس تک گونه ای *Stracheya Benth.* را در جنس *Hedysarum* بخش *Stracheya* تقلیل دادند و گونه های زیر جنس (= Sect *Spinossissima Hedysarum*) از جنس *Hedysarum* را درجنس *Sulla Medik.* قرار دادند. با انتقال گونه تیپ *Hedysarum cronarium* L. به جنس *Sulla* با نام *S. coronaria*؛ گونه *Hedysarum alpinum* به عنوان گونه تیپ جدید جنس *Hedysarum* در نظر گرفته شد (Choi & Ohashi 1998).

فیلوژنی مولکولی با استفاده از توالی nrDNA ITS نشان می دهد که قبیله Hedysareae مورد قبول Polhill(1981c) با دو گونه *Hedysarum boreale* Nutt. و *Onobrychis montana* DC. همراه با دو گونه *Alhagi* زیرکلاد بسیار حمایت شده ای را به نام Hedysaroid clade در کلاد IRLC تشکیل می دهند. در این بررسی کلاد Hedysaroid با کلاد Vicioide رابطه خواهری دارد (Sanderson & Wojciechowski 1996). بررسی های بعدی با استفاده از ژن *matK* نشان می دهد که کلاد Hedysaroid با *Caragana* (به همراه دو خویشاوندش *Halimodendron* و *Calophaca*) رابطه خواهری دارد و این کلاد (*Caragana*-Hedysaroid clade) با کلاد Astragalean گروه خواهری تشکیل می دهد (Wojciechowski et al. 2000, 2004). اما در ابر درخت ارائه شده کلاد *Caragana*-Hedysaroid clade خارج از دو کلاد Astragalean و Vicioide قرار می گیرد (Wojciechowski et al. 2000). در درخت حاصل از ترکیب داده های توالی های nrDNA ITS و *matK* نیز، *Caragana* با کلاد Hedysaroid گروه خواهری تشکیل می دهد (با حمایت پایین) و این دو با کلاد Astragalean خویشاوند نزدیک هستند (Wojciechowski 2005).

جدول ۱-۱- طبقه بندی قبیله Hedysareae از نظر Hutchinson(1964) Polhill (1981) و Lock 2005

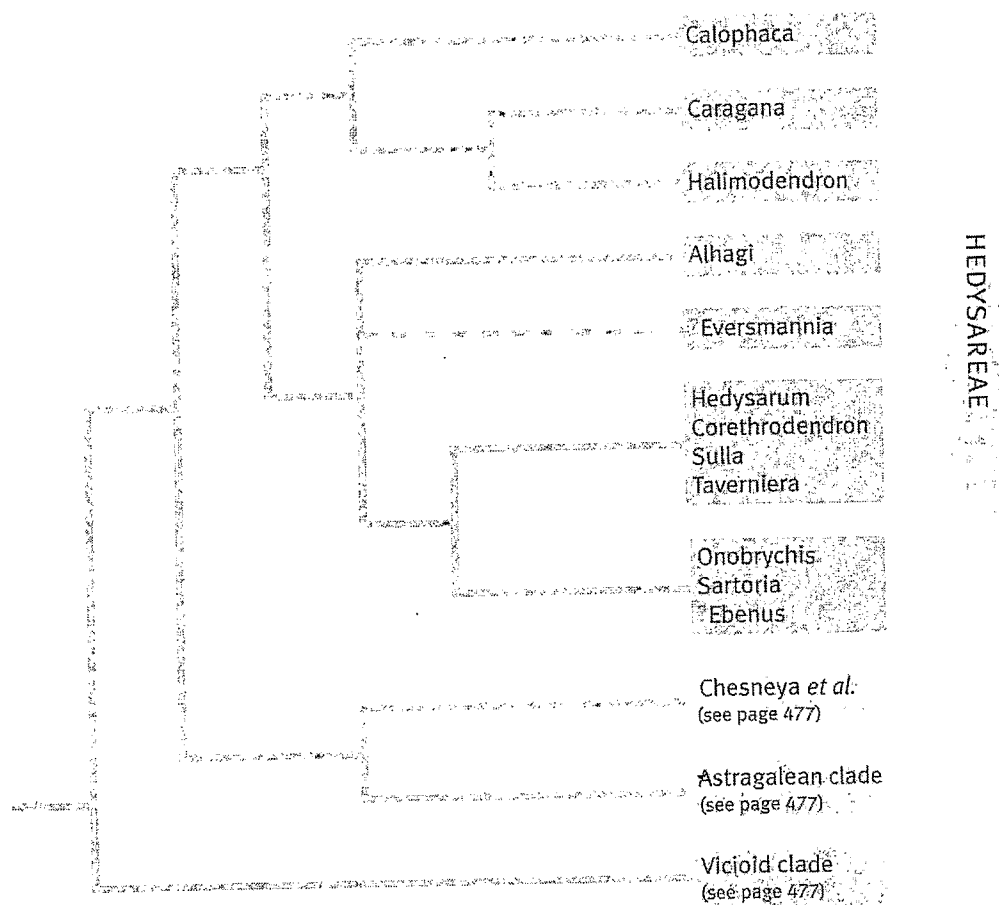
Hutchinson (1964)	Polhill (1981c)	Lock (2005)
<i>Alhagi</i> Adans	<i>Ebenus</i> L.	<i>Alhagi</i> Adans
<i>Arthroclianthus</i> Baill	<i>Eversmannia</i> Bunge	<i>Calophaca</i> Fisch ex DC
<i>Baueropsis</i>	<i>Hedysarum</i> L.	<i>Caragana</i> Fabr.
<i>Corethrodendron</i> Basin.	<i>Onobrychis</i> Mill.	<i>Corethrodendron</i> Basin.
<i>Ebenus</i> L.	<i>Stracheya</i> Benth.	<i>Halimodendron</i> Fisch ex. DC.
<i>Eversmannia</i> Bunge	<i>Sartoria</i> Boiss & Heldr.	<i>Hedysarum</i> L.
<i>Hedysarum</i> L.	<i>Taverniera</i> DC.	<i>Ebenus</i> L.
<i>Onobrychis</i> Mill.		<i>Eversmannia</i> Bunge
<i>Stracheya</i> Benth.		<i>Onobrychis</i> Mill.
<i>Taverniera</i> DC.		<i>Sartoria</i> Boiss & Heldr.
		<i>Sulla</i> Medik
		<i>Taverniera</i> DC.

Lock در سال ۲۰۰۵ بر اساس نتایج فیلوژنی مولکولی (Sanderson & Wojciechowski 1996; Polhill 1981d; Choi & Ohashi 2000, 2004) و داده های ریخت شناسی (Wojciechowski et al. 2000, 2004) بدون آنالیز تمامی تاکسونهای مورد نظر تحلیلی فرضی از تعیین حدود قبیله ارائه داد. وی همه اعضای قبیله Hedysareae مورد قبول Polhill (1981c) و همچنین جنس های *Caragana*، *Calophaca*، *Halimodendron* و *Alhagi* از قبیله Galegeae Polhill (1981b) به اضافه جنس های جدا شده از *Hedysarum* بر اساس مطالعات (Choi & Ohashi 2003) را به عنوان قبیله Hedysareae معرفی کرد ولی شرح جدیدی از قبیله ارائه نداد. بنابراین بر اساس نظر Lock (2005) این قبیله شامل جنس های *Alhagi*، *Caragana*، *Corethrodendron*، *Ebenus*، *Eversmannia*، *Calophaca*، *Halimodendron*، *Hedysarum*، *Onobrychis*، *Sartoria*، *Sulla* و *Taverniera* می باشد (شکل ۱-۲). از طرفی دیگر (Ranjbar & Karamian 2003) با توجه به صفات ریخت شناسی جنس های *Caragana*، *Calophaca*، *Chesneya* Lindl. Ex Endl.، *Gueldenstaedtia* Fisch.

Halimodendron Fisch ex. DC. (جنس *Spongicarpella* مد نظر نبوده است) را از زیر قبیله Astragalineae، قبیله Galegeae جدا و در قبیله ای جدید به نام Caraganeae قرار دادند.

قبیله Hedysareae شامل گیاهان علفی یا درختچه ای کوچک با برگهای شانه ای فرد یا تک برگچه ای فاقد بالشتک برگی (epulvinate) و دارای گوشوارک، گل آذین اغلب خوشه است؛ یکی از مشخصه های بارز این گروه وجود بالهای کاهش یافته در ساختار گل می باشد. پرچم درفشی آزاد یا در وسط متصل به بقیه، خامه بی کرک. تخمدان ۱-۱۰ تخمکی و میوه بندبندی یا یک دانه ای، ناشکوفه، دانه کلیوی با آندوسپرم نازک یا ضخیم است (Polhill 1981c). عدد پایه کروموزومی متداول در این گروه $x = 8$ است که در جنس های *Onobrychis*، *Hedysarum*، *Taverniera*، *Eversmannia* گزارش شده است اما پایه کروموزومی $x = 7$ نیز در جنس های *Hedysarum*، *Onobrychis* و *Ebenus* گزارش شده است. علاوه بر این پلی پلوئیدها و آنیوپلوئیدیایی نیز در جنس های *Hedysarum* و *Onobrychis* (Abou-El-Enan 2002; Goldblatt 1981) گزارش شده است. از لحاظ تیپ گرده ای، دانه های گرده این قبیله از نوع سه شیاره *tricolpate*، سه شیاره روزندار (*tricolporate*)، شبه سه شیاره روزندار (*tricolporoidate*) می باشد که تیپ سه شیاره بسیار متداول می باشد (Choi & Ohashi 1996). تکتوم در اعضای این قبیله تنوع کمی دارد ولی منفذ درونی (*endoapertur*) و همچنین لایه بندی دیواره متنوع است و دارای انواع خاص این قبیله می باشد به طوریکه این ویژگی ها با آنچه در قبیله های *Loteae* و *Coronilleae* وجود دارد، کاملاً متفاوت است (Ferguson & Skvarla 1981).

گیاهان این قبیله اغلب در نواحی خشک با آب و هوای گرم و مدیترانه ای پراکنش دارند و محدود به مناطق اوراسیا، شمال آمریکا و شاخ آفریقا می باشند. *Onobrychis* و *Hedysarum* به ترتیب با داشتن ۱۶۰ و ۱۳۰ گونه (Lock 2005; Mabberley 1990) بزرگترین جنس های این قبیله می باشند.



شکل ۱-۲- دیاگرام روابط خویشاوندی در قبیله Hedysareae (برگرفته از Lock 2005)

Hedysarum در مناطق مدیترانه ای، نواحی معتدل و قاره ای اوراسیا و شمال آمریکا (۴ گونه با چندین زیر گونه و واریته) پراکنش دارد. و *Onobrychis* (اسپرس) فقط در اوراسیا و شمال شرقی آفریقا پراکنش دارد و مرکز تنوع آن نواحی معتدل قاره ای و معتدل-گرم منطقه ایران-تورانی می باشد (Rechinger 1984; Lock 2005). این جنس از دو زیر جنس *Onobrychis* و *Sisyrosema* تشکیل شده است. زیر جنس *Onobrychis* دارای ۴ بخش *Onobrychis*, *Dendrobrychis*, *Lophobrychis* و *Laxiflora* است. در این زیر جنس تخمدان یا نیام راست، گلبرگها بدون کرک، ریزان، اپیدرم کاسبرگ ها دارای کریستال، گلها یا میوه ها تا حدودی کوچک می باشند. زیر جنس *Sisyrosema* شامل ۵ بخش: *Anthyllium*, *Afghanica*, *Heliobrychis*, *Hymenobrychis* و *Insignes* می باشد. صفات

مشترک اعضای این زیر جنس شامل گلها بزرگ و پایا ، میوه های بزرگ هلالی شکل یا کلیوی، اپیدرم کاسه بدون کریستال و گلبرگ درفش کرکدار می باشد (Rechinger 1984; Yildiz et al. 1999). تعدادی از گونه های این جنس و *Hedysarum* دارای ارزش علوفه ای می باشند و همچنین در کنترل فرسایش و یا به عنوان گیاهان زنبور پسند کاربرد دارند. تعدادی از گونه ها نیز به عنوان گیاهان زیتتی کشت می شوند. در ایران *Onobrychis* با ۵۶ گونه گیاه علفی یکساله و چند ساله بزرگترین جنس قبیله می باشد و بیش از ۲۷ گونه آن انحصاری ایران است (مظفریان ۱۳۷۷، Rechinger 1984). تا کنون مطالعات فیلوژنی بسیار محدودی درباره برخی از اعضای قبیله از جمله *Hedysarum* (برخی از گونه های شمال آفریقا) با استفاده از توالی nrDNA ITS (Chennaoui et al. 2007) و *Onobrychis* (زیرجنس ها و بخش ها) بر اساس صفات میوه (Yildiz et al. 1999) انجام شده است.