



دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

سیستماتیک گیاهی

بررسی فیلوژنی مولکولی طایفه **Rhinantheae** (تیره گل میمونی) در

ایران

از

نیوشا جعفرزاده

اساتید راهنما

دکتر شهریار سعیدی مهرورز

دکتر شاهرخ کاظم پور اوصالو

شهریور ۱۳۸۹

تقدیم به پدر و مادر نازنینم

به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است

و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

سپاس مخصوص خداوند است که هر آنچه در آسمانها و زمین است همه ملک اوست. از استاد گرامی‌ام، جناب آقای دکتر شهریار سعیدی مهرورز بخاطر تمامی زحمات و کمک های بی دریغشان، سپاسگزارم. سپاسگزار و مدیون استاد فرزانه و مهربانم جناب آقای دکتر شاهرخ کاظم پور اوصالو می‌باشم که با کمک ها و راهنمایی های ارزشمندشان در طی مراحل مختلف این پایان نامه یاریگرم بودند. از جناب آقای دکتر اکبر نورسته نیا داور داخلی این پایان نامه بخاطر پذیرفتن زحمت داوری این پایان‌نامه کمال تشکر را دارم. از جناب آقای دکتر جمیل واعظی داور خارجی این پایان نامه بخاطر تقبل زحمت داوری این پایان‌نامه صمیمانه تشکر می‌کنم. از سرکار خانم دکتر فریده عطار که امکان استفاده از نمونه های هرباریوم دانشگاه تهران را فراهم نمودند، سپاسگزارم. از جناب آقای راعی به خاطر همراهی و مساعدت در طی این مسیر دشوار، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم. از دوستان خوب و مهربانم در دانشگاه تربیت مدرس خانم ها امیراحمدی، کاوه، حسینی، نادری، اسکوییان، جعفری و معین که در این مسیر از هیچ کمکی به اینجانب دریغ ننموده‌اند و در کنار آنها بودن تمامی سختی‌ها را آسان می‌کرد، تشکر می‌کنم. از آقای زمانی که زحمت تهیه و جمع آوری تعدادی از نمونه‌های طبیعی را متقبل شدند، سپاسگزارم. از دوستان عزیزم در دانشگاه تهران خانم‌ها صمدی و سلمکی که همواره باعث دلگرمی اینجانب بودند قدردانی می‌کنم. از دوستان خوبم در دانشگاه گیلان خانم ها یوسفی، شاهی، هدایی و مختاری کمال تشکر را دارم. از خواهران عزیز و مهربانم که همواره در زندگی پشتیبان من هستند و خواهرزاده عزیزم رونیکا کوچولو بی نهایت سپاسگزارم. و در پایان از پدر و مادر عزیزم که تجلی مهربانی خداوند برایم هستند قدردانی میکنم.

عنوان	صفحه
فصل اول : مقدمه	
۱-۱ راسته Lamiales	۲
۲-۱ تیره Scrophulariaceae	۵
۱-۲-۱ ویژگی های ریخت شناسی Scrophulariaceae	۱۲
۲-۲-۱ اختصاصات تشریحی تیره Scrophulariaceae	۱۳
۳-۲-۱ مصارف اقتصادی و دارویی تیره Scrophulariaceae	۱۳
۴-۲-۱ پراکنش جغرافیایی تیره Scrophulariaceae	۱۴
۳-۱ تیره Orobanchaceae	۱۴
۱-۳-۱ ویژگی های ریخت شناسی تیره Orobanchaceae	۲۳
۲-۳-۱ مصارف اقتصادی تیره Orobanchaceae	۲۳
۳-۳-۱ پراکنش تیره Orobanchaceae	۲۳
۴-۱ طبقه بندی و فیلوژنی قبیله Rhinanthae	۲۴
۱-۴-۱ پراکنش جغرافیایی قبیله Rhinanthae	۲۵
۲-۴-۱ مطالعات انجام شده در قبیله Rhinanthae	۲۵
۱-۲-۴-۱ مطالعات مولکولی	۲۵
۲-۲-۴-۱ مطالعات ریخت شناسی	۲۶
۳-۲-۴-۱ مطالعات ریخت شناسی و مولکولی سرده های قبیله Rhinanthae	۳۲
۵-۱ توالی های DNA مورد استفاده در سیستماتیک مولکولی	۳۵
۱-۵-۱ توالی های DNA هسته ای	۳۶
۲-۵-۱ توالی های DNA کلروپلاستی	۳۷
۶-۱ اهداف	۳۹

فصل دوم : مواد و روش ها

۴۱.....	۱-۲ مطالعات فیلوژنی مولکولی
۴۱.....	۱-۱-۲ تهیه و جمع آوری نمونه های گیاهی
۴۹.....	۲-۱-۲ استخراج DNA
۵۰.....	۳-۱-۲ تعیین غلظت و خلوص DNA
۵۰.....	۴-۱-۲ واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)
۵۱.....	۱-۴-۱-۲ آغازگر های مورد استفاده
۵۱.....	۲-۴-۱-۲ مراحل اصلی یک برنامه PCR
۵۱.....	۳-۴-۱-۲ دستورالعمل یک واکنش استاندارد PCR
۵۲.....	۴-۴-۱-۲ برنامه دمایی واکنش PCR برای تکثیر قطعات nrDNA ITS
۵۳.....	۵-۴-۱-۲ برنامه دمایی واکنش PCR برای تکثیر قطعات cpDNA <i>rps2</i>
۵۳.....	۵-۱-۲ الکتروفورز ژل آگاروز
۵۴.....	۶-۱-۲ تعیین توالی مناطق تکثیر شده
۵۴.....	۷-۱-۲ همردیف سازی توالی ها
۵۴.....	۲-۲ آنالیز فیلوژنی
۵۵.....	۱-۲-۲ روش ماکسیمم پارسیمونی (بیشینه صرفه جویی)
۵۵.....	۲-۲-۲ روش Bayesian
۵۶.....	۳-۲-۲ آزمون ترکیب پذیری دو مجموعه اطلاعات
۵۶.....	۴-۲-۲ مقایسه دو روش آنالیزی ماکسیمم پارسیمونی و Bayesian
۵۷.....	۳-۲ مطالعه تشریحی برگ
۵۷.....	۱-۳-۲ تثبیت نمونه ها و برش گیری
۵۷.....	۱-۱-۳-۲ آماده سازی نمونه ها
۵۷.....	۲-۱-۳-۲ برش گیری

۵۷.....	۳-۱-۳-۲ رنگ آمیزی
۵۸.....	۴-۱-۳-۲ رنگ بری نمونه ها
۵۸.....	۲-۳-۲ تهیه رنگ و رنگ آمیزی
۵۸.....	۳-۳-۲ بررسی صفات تشریحی پهنک

فصل سوم : نتایج

۶۰.....	۱-۳ آنالیز داده های nrDNA ITS
۶۰.....	۱-۱-۳ روش ماکسیمم پارسیمونی
۶۴.....	۲-۱-۳ روش Bayesian
۶۶.....	۲-۳ آنالیز داده های cpDNA <i>rps2</i>
۶۶.....	۱-۲-۳ روش ماکسیمم پارسیمونی
۶۹.....	۲-۲-۳ روش Bayesian
۷۱.....	۳-۳ آنالیز داده های ترکیبی nrDNA ITS و cpDNA <i>rps2</i>
۷۱.....	۱-۳-۳ روش ماکسیمم پارسیمونی
۷۵.....	۲-۳-۳ روش Bayesian
۸۳.....	۴-۳ نتایج حاصل از ریز ریخت شناسی صفات تشریحی
۸۳.....	۱-۴-۳ رگبرگ میانی
۸۴.....	۲-۴-۳ پهنک

فصل چهارم : بحث و نتیجه گیری

۹۱.....	۱-۴ فیلوژنی قبیله Rhinanthae و سرده های درون آن
۹۳.....	۲-۴ مقایسه نتایج حاصل از داده های هسته ای nrDNA ITS و کلروپلاستی cpDNA <i>rps2</i>
۹۶.....	۳-۴ مقایسه روش های آنالیز ماکسیمم پارسیمونی و Bayesian

۹۶.....	۴-۴ موقعیت شاخه قاعده ای تیره Orobanchaceae
۹۷.....	۵-۴ جغرافیای زیستی قبیله Rhinanteae
۹۸.....	۶-۴ صفات تشریحی
۹۹.....	۱-۶-۴ ارزیابی صفات تشریحی در چارچوب فیلوژنی مولکولی
۱۰۰.....	۷-۴ نتیجه گیری نهایی
۱۰۱.....	۸-۴ پیشنهادات

فصل پنجم : منابع

۱۰۳.....	منابع
۱۰۹.....	پیوست

جدول ۱-۲ لیست گونه های جمع آوری شده جهت مطالعات مولکولی و تشریحی برگ ۴۲

جدول ۲-۲ لیست گونه های آنالیز شده برای توالی هسته ای ITS و کلروپلاستی *rps2* ۴۴

جدول ۳-۲ توالی آغازگرهای مورد استفاده جهت PCR ۵۱

جدول ۴-۲ ترکیب یک واکنش PCR ۵۲

جدول ۱-۳ دامنه برخی از صفات تشریحی اندازه گیری شده در گونه های مورد مطالعه قبیله Rhinanthae ۸۶

- شکل ۱-۱ کلاودوگرام حاصل از توالی *rbcL* و توالی *ndhF* ۲
- شکل ۱-۲ درخت مطلق مرکزی حاصل از توالی *ndhF* ۴
- شکل ۱-۳ درخت مطلق مرکزی حاصل از توالی های *ndhF*، *rbcL* و *rps2* ۱۰
- شکل ۱-۴ درخت مطلق مرکزی حاصل از توالی های *ndhF*، *rbcL* و *rps16* ۱۲
- شکل ۱-۵ نقشه پراکنش تیره Scrophulariaceae ۱۴
- شکل ۱-۶ درخت ماکسیمم پارسیمونی حاصل از توالی ITS به همراه پراکنش جغرافیایی تاکسونها ۱۷
- شکل ۱-۷ الف-بخش قاعده ای درخت maximum likelihood حاصل از توالی PHYA ۱۸
- شکل ۱-۷ ب-بخش انتهایی درخت maximum likelihood حاصل از توالی PHYA ۱۹
- شکل ۱-۸ درخت مطلق مرکزی حاصل از توالی *rps2* و *matK* ۲۲
- شکل ۱-۹ نقشه پراکنش تیره Orobanchaceae ۲۴
- شکل ۱-۱۰ الف-تصاویر دانه گرده نوع retipilate I ۲۸
- شکل ۱-۱۰ ب-تصاویر دانه گرده نوع retipilate I ۲۹
- شکل ۱-۱۰ ج-تصاویر دانه گرده نوع verrucate II، reti-rugulate III و granulate IV ۳۰
- شکل ۱-۱۰ د-تصاویر دانه گرده نوع micro-reticulate v ۳۱
- شکل ۱-۱۱ درخت مرکزی ۱۳ تا کوتاهترین درخت حاصل از دو بار وزن دهی با شاخص RC ۳۲
- شکل ۱-۱۲ نقشه پراکنش سرده *Euphrasia* به همراه فرضیه های پراکنش ۳۵
- شکل ۱-۱۳ ناحیه فاصله گذار رونویسی شونده داخلی nrDNA ITS ۳۶
- شکل ۱-۱۴ تصویری از ژنوم کلروپلاستی *Epifagus virginiana* ۳۸
- شکل ۱-۲ نمونه ای از باندهای nrDNA ITS در ژل آگاروز الکتروفورز شده ۵۳

- شکل ۲-۲ نمونه ای از کروماتوگرام پس از تعیین توالی ۵۴
- شکل ۱-۳ درخت مطلق مرکزی حاصل از آنالیز nrDNA ITS با استفاده از روش ماکسیمم پارسیمونی ۶۱
- شکل ۲-۳ درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز nrDNA ITS با استفاده از روش Bayesian ۶۵
- شکل ۳-۳ درخت مطلق مرکزی حاصل از آنالیز cpDNA *rps2* با استفاده از روش ماکسیمم پارسیمونی ۶۷
- شکل ۴-۳ درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز cpDNA *rps2* با استفاده از روش Bayesian ۷۰
- شکل ۵-۳ درخت مطلق مرکزی حاصل از آنالیز ترکیبی داده های nrDNA ITS و cpDNA *rps2* با استفاده از روش ماکسیمم پارسیمونی ۷۲
- شکل ۶-۳ درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز داده های ترکیبی nrDNA ITS و cpDNA *rps2* با استفاده از روش Bayesian ۷۶
- شکل ۷-۳ تصویر *Lathraea squamaria* ۷۷
- شکل ۸-۳ تصویر *Lathraea squamaria* ۷۷
- شکل ۹-۳ تصویر *Odontites aucheri* ۷۸
- شکل ۱۰-۳ تصویر *Odontites aucheri* ۷۸
- شکل ۱۱-۳ تصویر *Bungea trifida* ۷۹
- شکل ۱۲-۳ تصویر *Bungea trifida* ۷۹
- شکل ۱۳-۳ تصویر *Pedicularis sp.* ۸۰
- شکل ۱۴-۳ تصویر *Euphrasia sp.* ۸۰
- شکل ۱۵-۳ تصویر *Rhynchosorys maxima* ۸۱
- شکل ۱۶-۳ تصویر *Melampyrum caucasicum* ۸۱
- شکل ۱۷-۳ تصویر *Bellardia trixago* ۸۲

- ۸۲..... *Odontites verna* شکل ۱۸-۳ تصویر
- ۸۳..... *Rhinanthus vernalis* شکل ۱۹-۳ تصویر
- ۸۵..... *Odontites aucheri* شکل ۲۰-۳ تصویری از برش عرضی رگبرگ میانی
- ۸۷..... Rhinanthaeae شکل ۲۱-۳ الف برش های تشریحی گونه های قبیله
- ۸۸..... Rhinanthaeae شکل ۲۱-۳ ب برش های تشریحی گونه های قبیله
- ۸۹..... Rhinanthaeae شکل ۲۱-۳ ج برش های تشریحی گونه های قبیله

بررسی فیلوژنی مولکولی طایفه *Rhinantheae* (تیره گل میمونی) در ایران

نیوشا جعفرزاده

قبیله *Rhinantheae* دارای ۲۴ گونه (نه سرده نیمه انگل و سرده انگل کامل *Lathraea*) در ایران است. اغلب گونه های این قبیله در شمال و غرب ایران پراکنده شده اند. در این مطالعه ۹۴ تاکسون (۸۷ گونه در آنالیز nrDNA ITS و ۷۷ گونه در آنالیز cpDNA *rps2* و ۶۸ گونه در آنالیز ترکیبی) شامل ۴۸ تاکسون از *Rhinantheae*، ۱۳ تاکسون از *Buchnereae* و ۲۹ تاکسون از تیره *Orobanchaceae* به عنوان درون گروه و *Paulownia tomentosa* به همراه *Verbascum speciosum* از *Scrophulariaceae* بعنوان برون گروه به منظور بازسازی روابط فیلوژنی مورد بررسی قرار گرفتند. روش ماکسیمم پارسیمونی تعبیه شده در نرم افزار PAUP* و روش Bayesian در نرم افزار MrBayes برای آنالیزهای فیلوژنی استفاده شد. نتایج ما نشان می دهند که *Rhinantheae* پیراتبار است. *Bungea trifida* در قاعده درخت قرار می گیرد و با سایر اعضا خویشاوند دور است. *Pedicularis* با حمایت بالایی تک تبار است. دو گونه ایرانی بررسی شده در اینجا با گونه های اروپایی *Pedicularis* خواهر هستند و همگی با حمایت بالایی با سرده های مربوط به آمریکای شمالی و جنوبی *Triphysaria* و *Orthocarpus* خویشاوندند. *Melampyrum* تک تبار است و برای سایر اعضای *Rhinanthoid* خواهر محسوب می شود. آنالیزهای فیلوژنی نشان میدهد که *Lathraea Rhynchocorys* و *Rhinanthus* تک تبار هستند و همگی با یکدیگر یک کلاد را تشکیل می دهند. *Bellardia* و *Parentucellia* در یک کلاد تک تبار قرار می گیرند. *Odontites* بطور ضعیفی با کلاد شامل گونه های *Euphrasia* خویشاوند است. در مطالعات تشریحی برگ، ۱۱ گونه از ده سرده قبیله مزبور در ایران مورد بررسی قرار گرفت. صفات ریخت شناسی و تشریحی اندازه گیری شد و مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان می دهد که قبیله *Rhinantheae* یک گروه *heterogeneous* است و صفات مذکور از گونه ای به گونه دیگر متمایز می باشد.

کلید واژه: فیلوژنی مولکولی، قبیله *Rhinantheae*، ژن هسته ای ITS، ژن کلروپلاستی *rps2*، مطالعات تشریحی، ایران.

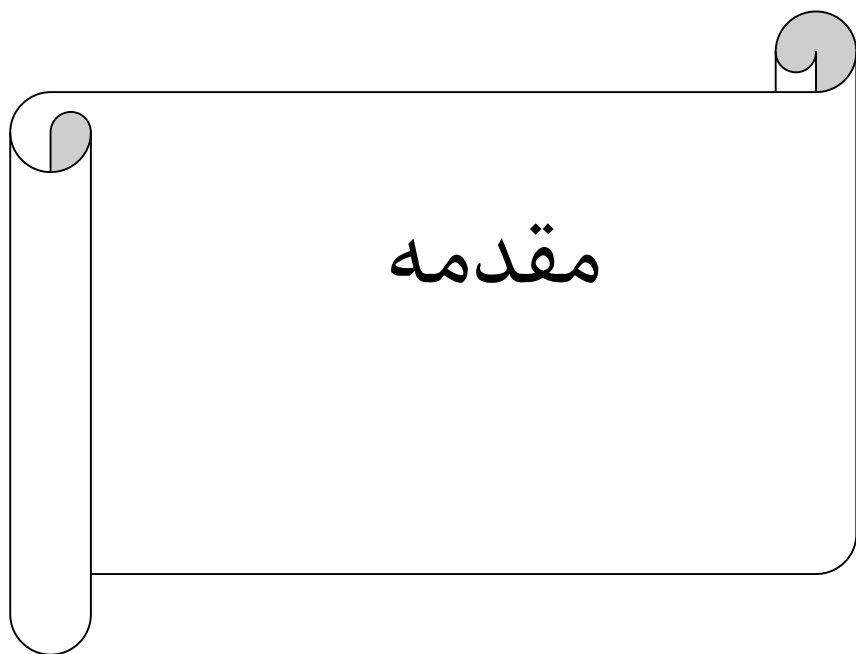
Abstract

Molecular phylogeny of the tribe Rhinanthae (Scrophulariaceae) in Iran

Niousha Jafarzadeh

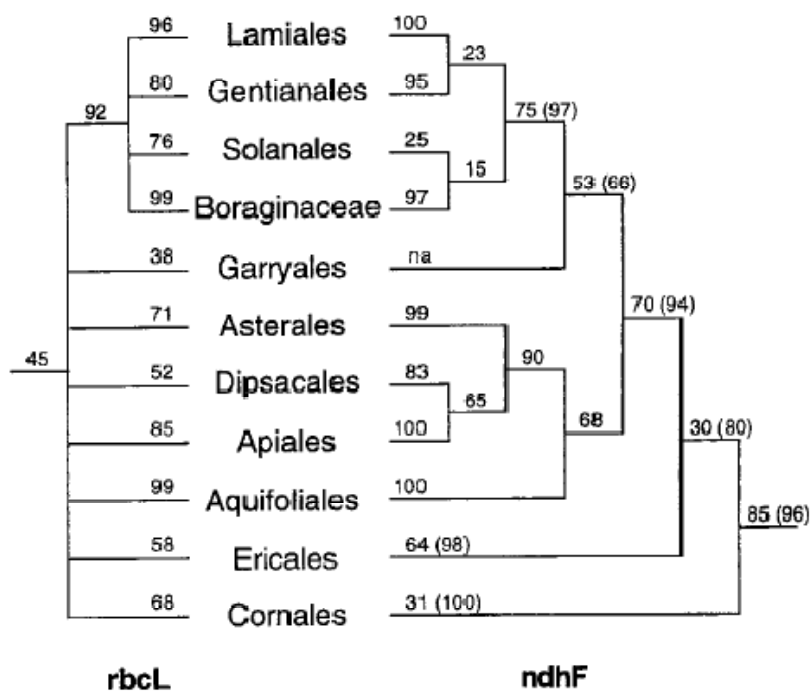
The tribe Rhinanthae comprises 24 species (nine hemiparasitic genera plus the holoparasitic genus *Lathraea*) in Iran. The majority of the species are distributed in north and west of Iran. In this study 94 species (87 species for nrDNA ITS, 77 species for cpDNA *rps2* and 68 species for combined sequence data) including 48 taxa of Rhinanthae, 13 taxa of Buchnereae and 29 taxa of Orobanchaceae as ingroups plus *Paulownia tomentosa* as well as *Verbascum speciosum* of Scrophulariaceae as outgroups for reconstructing phylogenetic relationships were studied. Maximum parsimony approach implemented in PAUP* and Bayesian method using MrBayes used for phylogenetic analysis. Our results showed that Rhinanthae is polyphyletic. *Bungea trifida* is placed at the base of the tree and distantly related with other genera. *Pedicularis* is well supported monophyletic group. The two Iranian species analyzed here are sister to the European *Pedicularis* species, which altogether well allied with North and South American genera *Triphysaria* and *Orthocarpus*. *Melampyrum* is monophyletic and sister to the bulk of other rhinanthoid genera. The phylogenetic analyses revealed that *Rhynchocorys*, *Lathraea* and *Rhinanthus* are each monophyletic and altogether form a clade. *Parentucellia* and *Bellardia* form a clade together. *Odontites* is weakly allied with a clade of *Euphrasia* species. The leaf anatomy and morphology of 11 species belonging to 10 genera of the Iranian Rhinanthae were investigated. The morphological and anatomical features determined and compared. Our results showed that the Rhinanthae tribe is a heterogeneous group and their leaf anatomical and morphological characteristics vary from species to species.

Key words: Molecular phylogeny, Tribe Rhinanthae, nrDNA ITS, cpDNA *rps2*, Leaf anatomy, Iran.



۱-۱ راسته Lamiales

شاخه asteridae نماینده گروه‌هایی کوچک از پیوسته گلبرگها است که عمدتاً توسط جام گل پیوسته مشخص می‌شوند (Olmstead et al., 1993). تک تباری این شاخه توسط مطالعات مولکولی بر اساس توالی های *rbcL* (Olmstead et al., 1993) و *ndhF* (Olmstead et al., 1999) حمایت می‌شود. بر اساس نتایج حاصل از توالی *rbcL* ۱۱ کلاد درون شاخه asteridae تشخیص داده شده است. همانگونه که در (شکل ۱-۱) مشاهده می‌شود روابط در شاخه asteridae بر اساس توالی *ndhF* با نتایج قبلی حاصل از توالی *rbcL* سازگار است، با این تفاوت که در توالی *ndhF* بسیاری از روابط به خوبی حل شده و همچنین حمایت شاخه‌ها در کلادها افزایش یافته است.



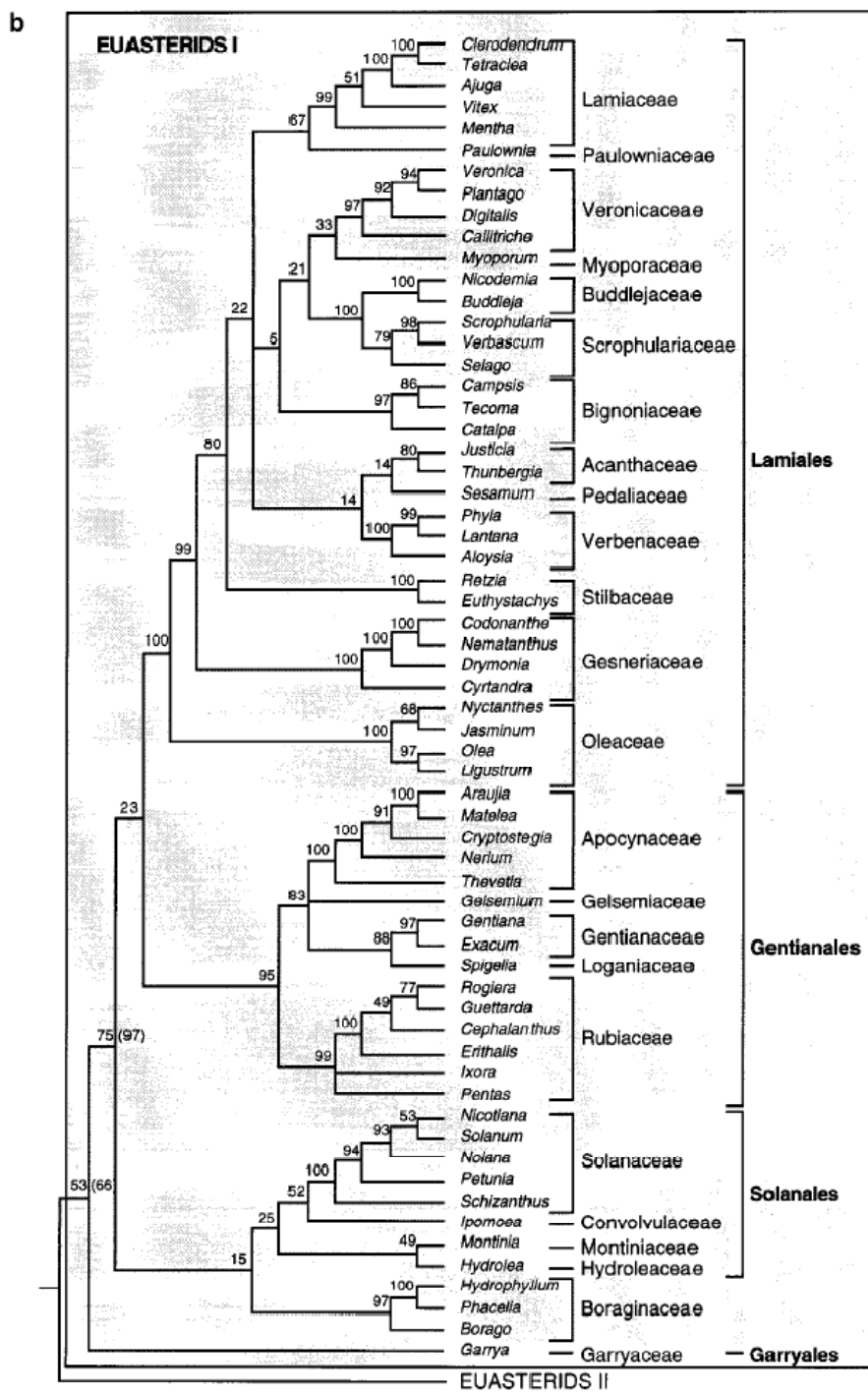
شکل ۱-۱ کلادوگرام حاصل از توالی *rbcL* توسط Olmstead et al. (1993) و توالی *ndhF* توسط Olmstead et al. (1999)

شاخه asteridae همانگونه که در (شکل ۱-۲) مشاهده می شود به دو بخش Euasterid I و Euasterid II تقسیم می شود، که راسته Lamiales با حمایت بسیار خوبی (۱۰۰ درصد) متعلق به کلاد Euasterid I است و با Gentianales، Solanales و Boraginaceae خویشاوند می باشد. (Olmstead et al., 1999).

در میان نهادانگان راسته Lamiales شامل تیره های بزرگ مختلف شناخته شده ای است که با هر دو پراکنش گرمسیری و معتدله هستند (Olmstead et al., 2001). این راسته بر اساس APG I¹ (2003) شامل یک کلاد اصلی از گیاهان گلدار در حدود ۱۷۸۰۰ گونه و ۲۳ تیره می باشد که ۳/۱۲٪ از تنوع دولپه ایها را نشان می دهد. تک تباری^۲ راسته توسط مطالعات مولکولی همچون (Backlund et al., 1998, Oxelman et al., 1999, Albach et al., 2001, Bremer et al., 2002) و داده های فیتوشیمیایی به خوبی حمایت می شود. از لحاظ صفات ریخت شناسی این راسته توسط برگ های متقابل، گل‌های نامنظم پیوسته گلبرگ، الیگوساکارید ها، فرآورده غالب فلاونهای اکسیژنه، جنین نوع onagrad و میوه به شکل کپسول مشخص می شوند (Oxelman et al., 2005).

¹Angiosperm Phylogeny Group II

²Monophyletic



شکل ۱-۲ درخت مطلق مرکزی حاصل از توالی *ndhF* توسط Olmstead et al. (1999)

۲-۱ تیره Scrophulariaceae

همانطور که در طبقه بندی سنتی مشخص شده Scrophulariaceae بزرگترین تیره در راسته Lamiales همراه با پراکنش جهانی است. این تیره از سایر خویشاوندش به راحتی تشخیص داده می شود. گل‌های دو لبه متقارن که اغلب غده ای هستند، تخمدانهایی با تمکن محوری و تعداد زیادی تخمک، میوه ها به شکل کپسول صفات ویژه این تیره هستند، که هر یک از آنها با یک یا چندین تیره خویشاوند مشترک است. این شرح توسط مطالعات فیلوژنتیکی مولکولی مختلف تیره های راسته Lamiales تایید می شود، که تک تباری بسیاری از تیره های های بیان شده را تعیین کرده اند، در نتیجه پیشنهاد شده که ویژگی های ذکر شده بیانگر صفات پیشرفته برای آن تیره ها هستند. عدم حضور ویژگی های مذکور به طور منحصر به فردی احتمال پیراتبار^۱ بودن این تیره را بالا می برد (Olmstead et al., 2001). اگر چه سابقا تردیدهایی مبنی بر اینکه Scrophulariaceae یک تیره غیرطبیعی است و مفهوم Scrophulariaceae به یک تجدید نظر تکاملی نیاز دارد وجود داشت، اما این موضوع توسط (Reeves و Olmstead (1995 بر اساس توالیهای ژنهای کلروپلاستی *rbcL* و *ndhF* مورد بررسی قرار گرفت که نهایتا دو کلاد مشخص از اعضای تیره، شامل ("scroph I") متشکل از *Buddleja* L. *Selago* L. *Verbasum* L. و سرده *Scrophularia* L. و ("scroph II") متشکل از *Antirrhinum* L. *Callitriche* L. و *Hippuris* L. *Plantago* L. *Veronica* L. *Digitalis* L. همچنین سرده چوبی *Paulownia* که قبلا در تیره Scrophulariaceae طبقه بندی شده بود به Bignoniaceae منتقل شد. تمامی گیاهان انگلی^۲ که قبلا در Scrophulariaceae و Orobanchaceae قرار داده شده بودند در یک کلاد تک تبار قرار گرفتند و پیشنهاد شد که تیره Scrophulariaceae پیراتبار است. تیره Scrophulariaceae بر اساس (APGII (2003 تقریبا متشکل از کلادی است که (Reeves و Olmstead (1995 به عنوان "scroph I" معرفی کرده بودند و شامل Buddlejaceae، Manuleeae، دو سرده بزرگ *Scrophularia* و *Verbasum*، قبیله Hemimerideae و Myoporaceae و سرده *Androya* می باشد (Oxelmam et al., 2005).

نمونه برداری محدود از تیره Scrophulariaceae s.l.(sensu lato) امکان اینکه کلادهای مجزای دیگری علاوه بر سه کلاد مشخص شده توسط (Reeves و Olmstead (1995 وجود داشته باشد را می دهد. در این مطالعه نشان داده شد که زیر تیره Antirrhinoideae پیرا تبار است، Rhinanthoideae که شامل دو قبیله غیر انگلی Digitaleae و Veroniceae و دو قبیله انگلی Buchnereae و Rhinanthae (=Euphrasieae Benth.) می باشد تنها با دو

¹ Polyphyletic

² Parasitic plants

نماینده غیر انگلی *Digitalis* و *Veronica* نشان داده شد، بنابراین هیچ یک از موقعیت انگلی ها و تک تباری زیر تیره Rhinanthoideae مشخص نشد (Young et al., 1999).

همانند سایر تیره ها تاریخ طبقه بندی Scrophulariaceae شامل محدوده های مختلفی است (Olmstead et al., 2001). بهترین طبقه بندی های این تیره در قرن نوزدهم توسط Bentham (1846) که تیره Selaginaceae را به طور مجزا معرفی کرد، (1895) Wettstein که تیره های Lentibulariaceae، Plantaginaceae و Orobanchaceae را به عنوان تیره های جداگانه تشخیص داد و (1903) Hallier که بزرگترین محدوده تیره را مشخص کرد، ارائه شده است (Oxelmann et al., 2005).

بیش از همه طبقه بندی تیره مستقیماً از کارهای Bentham (1846,1876) نتیجه شده است. وی سه زیر تیره Pseudosolaneae، Antirrhinoideae و Rhinanthoideae را تشخیص داد. Pseudosolaneae با توجه به ویژگی های پایه ای که نشان می دهد یک حلقه اتصالی با Solanaceae دارد (گلپای متقارن، آرایش برگي متناوب و حضور پنج پرچم همانند *Verbascum*) در دو زیر تیره دیگر از نظر ویژگی های جام گل، لوبهای عقبی جام گل به سمت خارج لوبهای جانبی در Antirrhinoideae و بر عکس در Rhinanthoideae قرار دارد (Pseudosolaneae شبیه Antirrhinoideae است). Pennell (1935) با توجه به کارهای Robertson (1891) و Robyns (1931) پیشنهاد کرد که شباهت های ذکر شده با Solanaceae در حقیقت از Scrophulariaceae مشتق شده است. بنابر این Pennell زیر تیره Pseudosolaneae را حذف کرد و سرده های آن را در Antirrhinoideae قرار داد. متعاقب کارهای Bentham تیره های Orobanchaceae، Globulariaceae، Selaginaceae، Plantaginaceae و Lentibulariaceae همگی توسط تعدادی از مؤلفین به عنوان بخشی از Scrophulariaceae لحاظ شده بودند (همچون Bellini 1903; Hallier, 1903; Buddlejaceae. Bentham (1846); Melchior, 1964; Barringer, 1993; 1907). بر اساس تعریف ابتدایی (1846) Bentham و اعضای نامتقارن Solanaceae را هم شامل می شدند. مطالعات مولکولی اخیر شواهدی را فراهم کرد که Myoporaceae و تیره های آبی Callitrichaceae و Hippuridaceae و تیره های Buddlejaceae، Globulariaceae، Plantaginaceae و Selaginaceae به کلادهای بزرگ Scrophulariaceae متعلقند (Olmstead et al., 2001). بر اساس صفات ریخت شناسی طبقه بندی های مختلفی از تیره Scrophulariaceae وجود دارد که مجموعه های متنوعی از زیر تیره ها و قبیله ها را شامل می شود. به عنوان مثال Van Tieghem بر اساس تعداد پرچم و (1907) Bellini بر اساس صفات و ویژگی های غدد ترشحي شهد دان تقسیم بندی هایی در سطح زیر تیره و قبیله برای این تیره بیان کردند. بر اساس طبقه بندی (1915) Bessey تقسیم بندی به صورت Phylum Angiospermae، Classis Oppositifoliae، Subclass Strobiloideae، syn: Dicotyledonae، Dicarpellatae _ Superorder Sympetallae می باشد.