

Homoplasy Patterns of Morphological Characters of sects. *Acanthoprason* and *Asteroprason* in the Genus *Allium* L. based on Phylogeny of nrDNA ITS Sequences

Azadeh Akhavan Roofigar^{1*}, Hojatollah Saeidi²

¹ Assistant Professor, Research Department of Natural Resources, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran

* a.akhavan@areeo.ac.ir

² Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Abstract

In this study, the evolutionary trend of the morphological characters of the sects. *Acanthoprason* and *Asteroprason* from the genus *Allium*, on the basis of nrDNA ITS sequences data, was investigated. For this purpose, 33 species include 30 species from sects. *Acanthoprason* and *Asteroprason* as in-group as well as 3 species belonging to adjacent sections as out-group were selected. For tracing patterns of character evolution, 6 vegetative and reproductive characters includes leaf morphology and its margin, tepals morphology, length and color of filament and color of anther were selected. ITS sequences of the species were assessed and phylogenetic trees were constructed by Bayesian analysis and along with list of the species and code of the characters entered to Mesquite and the respective tree was obtained. Generally, regarding to mapping morphological characters on the evolutionary tree, the characters have great homoplasy. The present analysis revealed that the most studied morphological characters were not in agreement with the results of molecular data and their role in the classification and separation of the species is uncertain.

Key words: *Allium* Subgenus *Melanocrommyum*; Iran; Phylogeny; Evolutionary Trend; Nuclear Marker.

الگوهای هموپلازی صفت‌های ریخت‌شناسی در بخش‌های *Acanthoprason* و *Asteroprason* از سردهٔ پیاز (*Allium L.*) در قالب تبارزایی حاصل از توالی هسته‌ای ITS

آزاده اخوان روفیگر^{۱*}، حجت اله سعیدی^۲

^۱ استادیار بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

^۲ دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

در مطالعه حاضر، روند تکاملی تعدادی از صفت‌های ریخت‌شناسی گونه‌های بخش‌های *Acanthoprason* و *Asteroprason* متعلق به سردهٔ *Allium* بر اساس توالی‌های هسته‌ای ITS بررسی شد. به این منظور، ۳۳ گونه شامل ۳۰ گونهٔ درون‌گروه از بخش‌های *Acanthoprason* و *Asteroprason* و ۳ گونهٔ برون‌گروه از بخش‌های مجاور انتخاب شدند. برای پیگیری الگوهای تکاملی صفت‌ها، شش صفت رویشی و زایشی شامل شکل و حاشیه برگ، شکل پوشبرگ، طول میلهٔ پرچم و رنگ آن و رنگ بساک انتخاب شدند. توالی‌های مربوط به ناحیهٔ ITS متعلق به گونه‌های مدنظر استخراج و درخت تبارزایی با استفاده از تحلیل بایزین رسم و همراه با لیست نام گونه‌ها و کد مربوط به صفت‌های رویشی و زایشی به نرم‌افزار Mesquite وارد و درخت مربوطه حاصل شد. با توجه به ردیابی صفت‌ها روی درخت تکاملی، این صفت‌ها هموپلازی زیادی دارند. این تحلیل مشخص کرد بیشتر صفت‌های ریخت‌شناسی مطالعه‌شده با نتایج مولکولی هماهنگی ندارند و دربارهٔ نقش آنها در طبقه‌بندی و جدایی گونه‌ها تردید وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: *Allium* زیرسردهٔ *Melanocrommyum*، ایران، تبارزایی، روند تکاملی، نشانگر هسته‌ای.

مقدمه

سرده و محصولات کشاورزی مهمی هستند که مصارف خوراکی و دارویی دارند. این سرده پراکنش گسترده‌ای در ناحیهٔ هولارکتیک (آمریکای شمالی، اروپا و آسیا) دارد که دربرگیرندهٔ نواحی گرمسیری خشک تا نواحی شمالی است. حوزهٔ مدیترانه تا آسیای مرکزی و پاکستان، ناحیه‌ای با تنوع گونه‌ای زیاد برای

Allium L. یکی از بزرگ‌ترین گیاهان چندسالهٔ تک‌لپه‌ای و بومی نیمکرهٔ شمالی است که حدود ۹۰۰ گونه را در کل دنیا شامل می‌شود (Akhavan et al., 2015). موسیر (*A. hirtifolium* Boiss.)، پیاز (*A. cepa* L.) و سیر (*A. sativum* L.) از گیاهان این

* a.akhavan@areeo.ac.ir

۱۵ زیرسرده، ۵۷ بخشه و ۹۰۰ گونه طبقه‌بندی شده است (Gurushidze et al., 2010). زیرسرده *Melanocrommyum* Webb & Berthel. با داشتن ۱۷۰ گونه و زیرگونه، دومین زیرسرده بزرگ *Allium* است که ۲۰ بخشه دارد و هر بخشه به چندین اتحادیه تقسیم شده است (Fritsch, 2012).

گروه مدنظر در مطالعه حاضر، بخشه‌های *Acanthoprason* Wendelbo و *Asteroprason* R. M. از زیرسرده *Melanocrommyum* هستند که گروه گونه‌ای *Allium akaka* S.G.Gmel. ex Schult. f. & Schult. f. (والک) را نیز شامل می‌شوند. این بخشه‌ها یکی از پرابهام‌ترین گروه‌ها در سرده *Allium* و زیرسرده *Melanocrommyum* محسوب می‌شوند، به طوری که مرز دقیق گونه‌های متعلق به آنها مشخص نیست.

بخشه *Acanthoprason* پس از معرفی و ارائه شرح تاکسونومیک توسط Wendelbo (1969) تاکنون دستخوش تغییرات و جابه‌جایی شده است؛ از جمله مهم‌ترین مطالعه‌ها درباره این سرده به شرح جدول (۱) هستند:

سرده *Allium* محسوب می‌شود و مرکز تنوع دیگر آن در غرب آمریکای شمالی قرار دارد (Khassanov and Fritsch, 1994; Gurushidze et al., 2010).

درباره موقعیت آرایه‌شناسی سرده *Allium*، اختلاف نظر وجود داشته و در طبقه‌بندی‌های متفاوت، این سرده در خانواده‌های *Liliaceae* (Melchior, 1964) و *Alliaceae* (Takhtajan, 1997) قرار گرفته است. در جدیدترین رده‌بندی بر اساس نشانگرهای مولکولی، سرده پیاز به خانواده *Amaryllidaceae* تعلق و در زیرتیره *Allioideae* قرار گرفته است (Bremer et al., 2009). تاریخچه طبقه‌بندی زیرسرده‌ای *Allium* به Linnaeus (۱۷۵۳) برمی‌گردد که ۳۰ گونه را در ۳ اتحادیه طبقه‌بندی کرده است. گیاهشناسان بعدی، تعداد بیشتری از گروه‌های پایین‌تر از سطح سرده را با تعداد گونه بیشتری در نظر گرفتند. طبقه‌بندی به نسبت جدیدتری برای سرده *Allium* را Friesen و همکاران (۲۰۰۶) بر اساس توالی‌های ریبوزوم هسته‌ای پیشنهاد کردند که گونه‌های این سرده را به ۱۵ زیرسرده و ۷۲ بخشه تقسیم کرده و ۷۸۰ گونه را برای آن در نظر گرفته است. بر اساس آخرین مطالعه‌ها، این سرده به

جدول ۱- خلاصه‌ای از مطالعه‌های آرایه‌شناسی انجام شده در بخش‌های مطالعه شده

توضیحات	سال	گیاه‌شناس
بخشه <i>Acanthoprason</i> را برای نخستین بار معرفی و گونه <i>A. akaka</i> را نمونه تیپ برای این بخشه انتخاب کرد.	1969	Wendelbo
در فلورا ایرانیکا، ۱۳ گونه برای این بخشه معرفی کرد.	1971	Wendelbo
در طول سال‌های اخیر، تعدادی گونه جدید برای این بخشه معرفی و توصیف کردند.	2009/2010/2014	Fritsch and Abbasi; Fritsch and Maroofi; Akhavan et al.
مرور موقعیت آرایه‌شناسی، ارائه کلید شناسایی گونه‌های متعلق به این بخشه، معرفی ۵ آرایه جدید برای این بخشه و افزایش تعداد گونه‌های آن به ۲۴ گونه و ۷ اتحادیه، همچنین معرفی بخشه جدیدی به نام <i>Asteroprason</i> و قراردادن تعدادی از گونه‌های بخشه <i>Acanthoprason</i> در آن	2013	Fritsch and Abbasi

جمع‌آوری کنندگان پنهان می‌مانند و در بسیاری از مجموعه‌ها گزارش نمی‌شوند. تعداد کم ویژگی‌های قابل شناسایی در نمونه‌های هرباریومی *Allium*، مشکل دیگری در آرایه‌شناسی این سرده است. گیاهان در یک مرحله‌ی نموی جمع‌آوری و خشک می‌شوند و زمانی که خصوصیات ویژه ظاهر نشده یا گل‌ها، برگ‌ها و غیره پژمرده باشند، امکان شناسایی وجود ندارد؛ بنابراین آرایه‌های بسیار نادر یا توصیف‌نشده در میان این نمونه‌های خشک از نظر علمی ناشناخته باقی می‌مانند و فقط زمانی خصوصیات ویژه آنها تعیین می‌شوند که چنین آرایه‌هایی در حالت زنده (در طبیعت) مطالعه شوند و گاهی ممکن است این گیاهان، گونه‌ی جدیدی شناسایی شوند (Fritsch and Friesen, 2002).

کشور ایران با داشتن ۱۲۶ گونه از سرده *Allium* یکی از مراکز مهم تنوع آن به شمار می‌آید و این سرده در ایران شامل ۷ زیرسرده و ۳۱ بخشه است (Friesen et al., 2006; Fritsch and Gurushidze, 2009; Fritsch et al., 2010). یکی از مهم‌ترین علت‌های انتخاب بخشه‌های *Acanthoprason* و *Asteroprason*، پراکنش جغرافیایی آنهاست، زیرا از انحصاری‌ترین بخشه‌های پیاز در ایران هستند که مطابق جدیدترین بررسی آرایه‌شناسی (Fritsch and Abbasi, 2013; Akhavan et al., 2014) تعداد ۲۵ آرایه برای بخشه *Acanthoprason* و تعداد ۹ آرایه برای بخشه *Asteroprason* در نظر گرفته شده است. از سوی دیگر، گونه‌های بخشه *Acanthoprason*، یکی از مشکل‌ترین گروه‌های پیاز را از نظر آرایه‌شناسی در ایران تشکیل می‌دهند، به طوری که مرز دقیق بین گونه‌ها مشخص نیست و ویژگی‌های ریخت‌شناختی برای جداکردن گونه‌ها در این گروه کفایت نمی‌کنند. تنوع

بخشه *Acanthoprason* گروه یکنواختی از نظر ریخت‌شناسی تشکیل می‌دهد و از بخشه‌های کوچک این سرده است؛ با وجود این، مطالعه‌هایی که درباره آن انجام شده، همواره با مشکلات آرایه‌شناسی همراه بوده است. از جمله صفت‌های ریخت‌شناختی که در بین گونه‌های متعلق به این بخشه دیده می‌شوند، عبارتند از: تیرک به نسبت کوتاه؛ گل‌آذین (حداقل در ابتدا) متراکم، قیفی‌شکل تا نیمه‌کروی؛ پوشش‌های سرنیزه‌ای بسیار باریک تا مثلثی، در حالت خشک سخت و گاهی خارمانند و میله پرچم هم‌اندازه یا کوتاه‌تر از پوشش‌ها (Fritsch and Abbasi, 2013). صفت‌های ریخت‌شناختی، کاربردی‌ترین داده‌ها در سیستماتیک گیاهی محسوب می‌شوند و بهتر از صفت‌های مولکولی امکان تفکیک آرایه‌ها را فراهم می‌کنند. در علم آرایه‌شناسی، هیچ کدام از روش‌های جدید بر ریخت‌شناسی برتری ندارند (Stace, 1989). متخصصان آرایه‌شناسی همچنان به صفت‌های ریخت‌شناختی اعتماد دارند، زیرا به راحتی دیده می‌شوند و در طبقه‌بندی به کار می‌روند. *Allium* گروهی بسیار متنوع و از نظر آرایه‌شناسی پیچیده است. در نواحی پراکنش آن، آرایه‌ها همانند گیاهان بومی محلی پراکنش یافته‌اند. همه آنها کوتاهزی هستند و بازشدن جوانه برگ تا ریختن دانه در گیاه فقط ۴ ماه طول می‌کشد. طول دوره گل‌دهی حدود یک هفته و گاهی کمتر است. به طور متداول قابل شناسایی‌ترین آنها، آرایه‌های مشخصی هستند (از روی برگ یا رنگ گل، اندازه و غیره) که به آسانی شناسایی می‌شوند و در بسیاری از هرباریوم‌ها یافت می‌شوند. در مقابل، سایر گونه‌های کوچک و نامشخص اغلب از دید

صفت‌ها ناشی و احتمالاً با استفاده از ابزارهای جدید بیوسیستماتیک برطرف می‌شوند. همچنین، باتوجه به همپلازی در صفت‌های ریخت‌شناختی، احتمالاً روش‌های مولکولی ثابت خواهند کرد کدام دسته از صفت‌های ریخت‌شناسی قابل اعتمادتر هستند.

زیاد درون‌گونه‌ای، برخی گیاهشناسان را بر آن داشته است که گونه‌های مستقل بسیاری را در بخشه *Acanthoprason* قرار دهند. در سال‌های اخیر، تعدادی گونه جدید به این مجموعه اضافه شده است. اختلاف نظرها درباره تعداد گونه‌ها و محدوده قطعی آنها، از اهمیت دادن به یک صفت یا گروهی از

جدول ۲- اطلاعات جغرافیایی و هرباریومی گونه‌های *Allium* مطالعه شده

شماره هرباریومی	ارتفاع (m)	طول و عرض جغرافیایی	محل جمع آوری، جمع آوری کننده	گونه	بخشه
(HUD)۱۹۴۴۹	۱۹۰۰	N 37° 34,945' E 48° 34,363'	اردبیل: خلخال، چشمه ازناو، سعیدی و اخوان	<i>A. akaka</i> S.G.Gmel. ex Schult. & Schult.f. subsp. <i>akaka</i>	
(HUD)۱۹۴۵۲	۳۰۰۰	N 33° 11,414' E 50° 17,142'	اصفهان: خوانسار، کوه سنگ‌انداز، سعیدی و اخوان	<i>A. austroiranicum</i> R.M.Fritsch	
(HUD)۱۹۴۵۴	۲۴۵۰	N 34° 45,562' E 48° 26,011'	همدان: گنج‌نامه، سعیدی و اخوان	<i>A. breviscapum</i> Stapf	
(HUD)۱۹۴۵۵	۲۹۰۰	N 33° 12,541' E 50° 15,340'	اصفهان: خوانسار، کوه سنگ‌انداز، سعیدی و اخوان	<i>A. chlorotepalum</i> R.M.Fritsch	
(HUD)۱۹۴۹۱	۲۴۰۰	N 38° 38,238' E 45° 54,820'	آذربایجان شرقی: مرند، زوز، کوه کمر، سعیدی و اخوان	<i>A. egorovae</i> M.V. Agab. & Ogan	
(HUD)۱۹۴۵۷	۱۸۶۰	N 34° 15,731' E 49° 45,525'	مرکزی: اراک، ویسمه، سعیدی و اخوان	<i>A. graveolens</i> (R.M.Fritsch) R.M.Fritsch	
(HUD)۱۹۴۵۸	۲۴۵۰	N 34° 45,562' E 48° 26,011'	همدان: سد اکباتان، سعیدی و اخوان	<i>A. hamedanense</i> R.M.Fritsch	
(HUD)۱۹۴۵۹	۲۲۵۱	N 36° 03,290' E 45° 59,127'	کردستان: سقز، سعیدی و اخوان	<i>A. kurdistanicum</i> Marooft & R.M.Fritsch	
TAX6903, 6887 (GAT)	۱۹۵۰	N 38° 19 E 45° 48	آذربایجان شرقی: مرند، پیام (پام)، زارع	<i>A. materculae</i> Bordz.	
(HUD)۱۹۴۶۲	۱۸۸۰	N 37° 10,788' E 44° 53,788'	آذربایجان غربی: اشنویه، کوه دالامپر، سعیدی و اخوان	<i>A. subakaka</i> Razifard & Zarre	
(HUD)۱۹۴۹۶	۲۲۰۰	N 30° 20,204' E 47° 08,072'	کردستان: سنندج، صلوات‌آباد، سعیدی و اخوان	<i>A. ubipetrense</i> R.M.Fritsch	<i>Acanthoprason</i>
(HUD)۱۹۵۵۱	۲۷۲۰	N 36° 09,793' E 51° 18,334'	البرز: مرزن‌آباد به کرج، جاده فرعی تونل کندوان، سعیدی و اخوان	<i>A. derderianum</i> Regel	
(HUD)۱۹۴۹۹	۲۵۵۰	N 34° 28,743' E 48° 28,139'	لرستان: خرم‌آباد، کاکاوند، سعیدی و اخوان	<i>A. zagricum</i> R.M.Fritsch	

(TARI) ۱۲۲۳	۲۲۰۰	N 32° 39, 379' E 51° 19,708'	اصفهان: قمیشلو، یوسفی	<i>A. minutiflorum</i> Regel
TAX6866 (GAT)	۱۷۰۰	N 36° 20 E 50° 12	قزوین: الموت، کنار دریاچه اوان، راضی فرد	<i>A. alamutense</i> Razifard, Zarre & R.M.Fritsch
TAX6821 (GAT)	۵۷۰	N 38° 54' 47" E 46° 26' 47"	ارمنستان، -	<i>A. alekii</i> R.M.Fritsch & M.V.Agab
TAX6648 (GAT)	۱۶۷۰	N 35° 00' 53" E 46° 21' 33"	کرمانشاه: کوه شاهو، نزدیک پاوه، -	<i>A. haemanthoides</i> Boiss. ex Regel
TAX 6879 (GAT)	۲۵۲۰	N 37° 46' 50" E 47° 28' 06"	آذربایجان شرقی: شیب‌های شمالی کوه‌های بزقوش، -	<i>A. akaka</i> subsp. <i>bozgushense</i> R.M.Fritsch
TAX6882 (GAT)	۲۵۰۰	N 38° 07' 34" E 47° 32' 38"	آذربایجان شرقی: کوه‌های سبلان، شمال سراب، -	<i>A. sabalense</i> R.M.Fritsch
TAX6889 (GAT)	۲۷۶۰	N 37° 46' 46" E 46° 30' 36"	آذربایجان شرقی: شیب‌های شمالی کوه‌های سهند، ارتق، -	<i>A. sahandicum</i> R.M.Fritsch
TAX6894 (GAT)	۱۳۵۰	N 37° 28' 57" E 45° 49' 24"	آذربایجان شرقی: دریاچه ارومیه، -	<i>A. shelkovnikovii</i> Grossh.
۶۴۸۵۵ (TARI)	۲۹۰۰	N 36° 45,160' E 47° 40,331'	زنجان: ماهنشان، انگوران، معصومی	<i>A. mahmehshense</i> Razifard, Zarre & R.M.Fritsch
(HUD)۱۹۵۰۱	۱۶۵۰	N 35° 47,836' E 59° 18,657'	خراسان رضوی: تربت حیدریه، سعیدی و اخوان	<i>A. cristophii</i> Trautv.
(HUD)۱۹۵۴۷	۲۸۰۰	N 36° 08,816' E 51° 18,068'	البرز: ورودی تونل کندوان، از گچسر به دیزین، سعیدی و اخوان	<i>A. elburzense</i> Wendelbo
(HUD)۱۹۵۰۵	۲۱۰۰	N 36° 02,945' E 51° 12,171'	البرز: کرج، روستای آسارا، سعیدی و اخوان	<i>A. aff. derderianum</i> Regel
(HUD)۱۹۵۰۳	۱۸۰۰	N 36° 57,550' E 59° 01,887'	خراسان رضوی: چناران، سعیدی و اخوان	<i>A. ellisii</i> Hook.f.
(HUD)۱۹۵۰۴	۲۰۵۰	N 35° 26,839' E 59° 19,715'	خراسان رضوی: تربت حیدریه، سعیدی و اخوان	<i>A. kuhshense</i> R.M.Fritsch & Joharchi
(HUD)۳۸۰۹۶ TUH	۱۵۰۰	N 36° 79,101' E 59° 70,898'	خراسان رضوی: کوه‌های هزارمسجد، زارع	<i>A. monophyllum</i> Vved. ex Czerniak.
TAX6934 (GAT)	۱۶۹۰	N 37° 12' 59" E 57° 30' 27"	خراسان شمالی: کوه‌های آلاداغ، -	<i>A. aladaghense</i> Memariani & Joharchi

Asteroprason

HUI: هرباریوم دانشگاه اصفهان، TARI: هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، GAT: هرباریوم مؤسسه تحقیقاتی IPK آلمان

گونه‌ها بر این اساس، الگوی هموپلازی تعدادی از صفت‌های ریخت‌شناسی به‌ویژه صفت‌هایی بررسی شود که در رده‌بندی‌ها استفاده شده‌اند.

باتوجه به اینکه تاکنون هیچ مطالعه‌ای درباره روابط تبارزایی گونه‌های مختلف *Allium* بر اساس صفت‌های ریخت‌شناسی انجام نشده، در پژوهش حاضر تلاش شده است با انجام مطالعه‌های مولکولی و تعیین روابط

مواد و روش‌ها

دمگل‌ها، میله پرچم، تخمدان، مادگی و کپسول مطالعه و اندازه‌گیری شدند. از میان این صفت‌ها، صفت‌هایی انتخاب و بیشتر بررسی شدند که در طبقه‌بندی‌های پیشین، بیشتر استفاده شده بودند و نقش مهم‌تری در جدایی گونه‌ها و شناسایی آنها داشتند. صفت‌های یادشده شامل شکل برگ، حاشیه برگ، شکل پوشبرگ، طول میله پرچم، رنگ میله پرچم و رنگ بساک بودند. صفت‌های انتخابی بر اساس حالت صفت کدگذاری شدند. فهرست و حالت صفت‌ها در جدول (۳) دیده می‌شوند. قطیت صفت‌ها با توجه به روش برون‌گروه مشخص شد (Maddison et al. 1984). گونه‌های *A. jesdianum*، *A. brachyscapum* و *A. bakhtiaricum* که بر اساس مطالعه‌های پیشین، گونه‌هایی با صفت‌های ابتدایی‌تر تشخیص داده شده بودند، برون‌گروه انتخاب شدند (Fritsch and Abbasi, 2013). جدول (۴)، کدهای صفت‌های ریخت‌شناسی را در گونه‌های مطالعه‌شده نشان می‌دهد.

جدول ۳- صفت‌ها و حالت صفت‌های ریخت‌شناختی گونه‌های *Allium* به کار رفته در بررسی روند تکاملی صفت‌ها

RI	CI	حالت‌های صفت	صفت
۰/۴۴	۰/۱۶	خطی سرنیزه‌ای تا مستطیلی (۰)، تخم‌مرغی تا بیضوی (۱)	۱- شکل برگ
۰/۷۰	۰/۲۵	صاف (۰)، دندانه‌دار (۱)	۲- حاشیه برگ
۰/۸۰	۰/۲۵	خطی سرنیزه‌ای (۰)، سرنیزه‌ای مثلثی (۱)، تخم‌مرغی بیضوی (۲)	۳- شکل پوشبرگ
۰/۶۶	۰/۲۰	تقریباً مساوی با طول پوشبرگ (۰)، بیشتر از نصف آن (۱)، نصف و کمتر از نصف طول آن (۲)	۴- طول پرچم
۰/۲۸	۰/۰۹	تک‌رنگ (۰)، در قاعده یا رأس تیره‌تر، دورنگی (۱)	۵- رنگ میله پرچم
۰/۳۰	۰/۱۰	زرد (۰)، صورتی یا بنفش (۱)	۶- رنگ بساک

تبارزایی انتخاب شد. پس از انجام واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز، نمونه‌ها خالص‌سازی و به شکل رفت‌وبرگشتی توالی‌یابی شدند. الکتروفورگرام‌های حاصل با نرم‌افزارهای Bioedit (Hall, 1999) و ChromasPro

نمونه‌های گیاهی از بخش‌های مختلف کشور برای انجام مطالعه‌های مولکولی جمع‌آوری شدند. جزئیات اطلاعات نمونه‌ها در جدول (۲) دیده می‌شود. با توجه به تغییر ویژگی‌های ریخت‌شناختی نمونه‌های خشک‌شده، ویژگی‌هایی مانند رنگ گل، نوع پوشش پیاز، گل‌آذین، شکل پوشبرگ و غیره بررسی شدند. تصاویر دیجیتالی از تمام گونه‌ها و بخش‌های گیاه به‌ویژه گل و پیاز تهیه شدند. نمونه‌های هرباریومی پس از کددهی و تهیه شناسنامه در هرباریوم دانشگاه اصفهان (HUI) نگهداری شدند.

صفت‌های ریخت‌شناسی به‌طور دقیق در نمونه‌های هرباریومی اندازه‌گیری شدند. در مجموع، ۳۳ گونه (۳۰ گونه درون‌گروه و ۳ گونه برون‌گروه) از نظر ۵۸ صفت (۱۲ صفت کمی و ۴۶ صفت کیفی) در این تحلیل بررسی شدند. جدولی برای اندازه‌گیری و بررسی صفت‌های کمی و کیفی تهیه شد. صفت‌های مربوط به وضعیت پیاز، تیرک، برگ‌ها، چمچه، گل‌آذین،

برای مطالعه‌های تبارزایی، پس از شناسایی و تعیین گونه‌ها، استخراج DNA از آنها با استفاده از روش CTAB انجام (Gawel and Jarret, 1991) و قطعه‌هسته‌ای ITS (ITS1-5.8s rDNA-ITS2) برای مطالعه

بررسی و پس از آماده‌شدن مجموعه اطلاعات ژنی از تمام گونه‌ها، به شکل چشمی با یکدیگر هم‌تراز شدند. جدول ۴- ماتریس صفت‌های بررسی شده در مطالعه روند تکاملی صفت‌های ریخت‌شناسی در گونه‌های مختلف

نام گونه	کد صفت	نام گونه	کد صفت
<i>A. jerdianum</i>	001000	<i>A. alekii</i>	010101
<i>A. bakhtiaricum</i>	001000	<i>A. subakaka</i>	111110
<i>A. brachyscapum</i>	000000	<i>A. kurdistanicum</i>	111211
<i>A. aladaghense</i>	111011	<i>A. ubipetrense</i>	011200
<i>A. kuhshorkhense</i>	111011	<i>A. haemanthoides</i>	011200
<i>A. helicophyllum</i>	011101	<i>A. breviscapum</i>	010211
<i>A. cristophii</i>	011101	<i>A. derderianum</i>	010211
<i>A. ellisii</i>	011111	<i>A. alamutense</i>	010210
<i>A. elburzense</i>	000111	<i>A. egorovae</i>	011111
<i>A. pseudobodeanum</i>	001111	<i>A. graveolense</i>	011000
<i>A. monophyllum</i>	000100	<i>A. chlorotepalum</i>	110201
<i>A. akaka</i> subsp. <i>akaka</i>	002200	<i>A. hamedanense</i>	111201
<i>A. akaka</i> subsp. <i>bozghushense</i>	001210	<i>A. mahneshanense</i>	011200
<i>A. sabalense</i>	001200	<i>A. minutiflorum</i>	011111
<i>A. sahandicum</i>	000100	<i>A. austroiranicum</i>	000211
<i>A. materculae</i>	010001	<i>A. zagricum</i>	011201
<i>A. shelkovnikovii</i>	010210	-	-

(RI) برای هر یک از صفت‌های ریخت‌شناسی محاسبه شدند (جدول ۳).

نتایج

در تحلیل حاضر، ۳۳ گونه بررسی شدند که ۳ نمونه آنها برون‌گروه و ۳۰ گونه از بخش‌های *Acanthoprason* و *Asteroprason* در تحلیل قرار گرفته بودند. شکل‌های (۱) تا (۳)، نمایش انطباق چندین صفت پرکاربرد در آرایه‌شناسی بخش‌های *Acanthoprason* و *Asteroprason* بر درخت تکاملی حاصل از نشانگر ITS را نشان می‌دهند. صفت‌های یادشده شامل شکل برگ، حاشیه برگ، شکل پوشبرگ، طول میله پرچم، رنگ بساک و رنگ میله پرچم هستند. کمترین شاخص‌های بقا و ثبات به صفت رنگ میله پرچم تعلق دارد که بیشترین میزان هموپلازی را نشان می‌دهد. همچنین بیشترین شاخص‌های بقا و

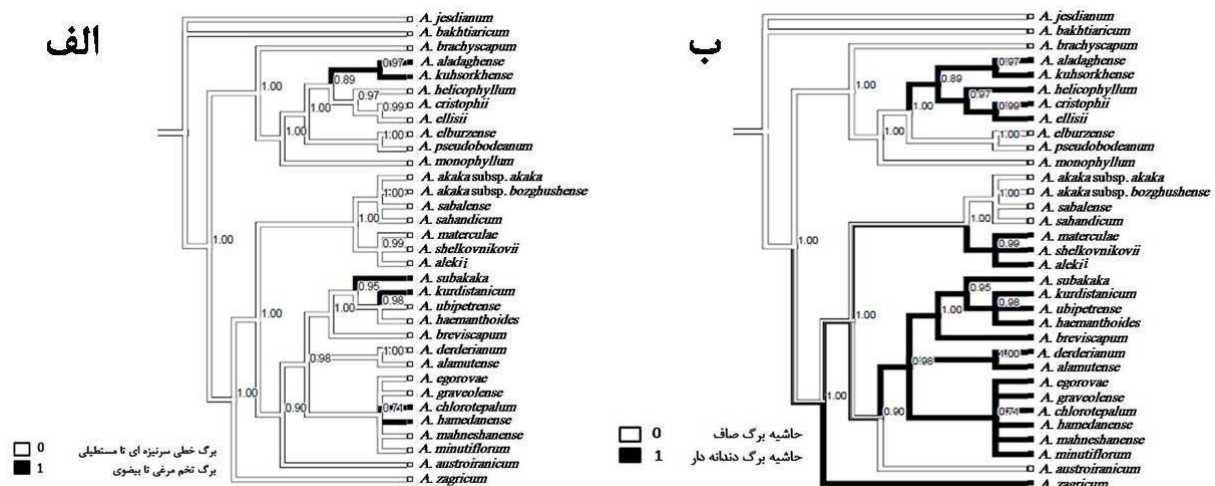
به‌منظور بررسی توالی هسته‌ای ITS استنباط بیزی با نرم‌افزار (MrBayes v.3.1.4 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) بر مبنای الگوریتم MCMC برای ۲ میلیون نسل و بازسازی روابط تبارشناختی داده‌های توالی ITS بر اساس روش Bayesian و الگوی تکاملی GTR+G انجام شد (نتایج منتشر نشده). توالی گونه *A. helicophyllum* و سه گونه برون‌گروه از بانک ژن استخراج و سپس با نرم‌افزار Mesquite version 2.74 (Maddison and Maddison, 2006) ماتریس داده‌های ریخت‌شناسی بر درخت مولکولی نقشه‌بندی و روند تکاملی صفت‌های ریخت‌شناسی منتخب بر اساس انطباق بر درخت تکاملی حاصل از توالی‌های نوکلئوتیدی ITS بررسی شد. در ضمن شاخص‌های ثبات (CI) و بقا

برگ برخی گروههای گونه‌ای به شکل تک‌نیا تکامل یافته است. حالت نیایی این صفت، صاف‌بودن حاشیه برگ است که در برون‌گروه‌ها و برخی گونه‌ها در هر دو بخش دیده می‌شود. دندانداربودن برگ چندین بار به‌طور مستقل تکامل یافته است و به‌طور کلی حالت هم‌سونیا دارد (شکل ۱ ب).

شکل (۲ الف) روند تکامل شکل پوشبرگ را در گونه‌های مختلف نشان می‌دهد. معمولاً پوشبرگ‌های خطی سرنیزه‌ای، حالت نیایی دارند که در برخی گونه‌ها حفظ شده و در برخی دیگر، چندین بار به‌طور جداگانه تکامل یافته است. شکل پوشبرگ حتی در بین گونه‌های یک بخش نیز متفاوت است و در نیای مشترک آنها حالت مبهم دارد.

صفت مهم دیگری که در جدایی گونه‌ها در این سرده بسیار استفاده می‌شود، نسبت طول میله پرچم به طول پوشبرگ است. یکسان‌بودن طول میله پرچم با طول پوشبرگ، صفتی نیایی است و در برخی گونه‌های

ثبات به صفت شکل پوشبرگ مربوط است که کمترین میزان هموپلازی را نشان می‌دهد (جدول ۳). در شکل (۱)، روند تکامل صفت ریخت‌شناسی برگ (شکل برگ و حاشیه آن) نشان داده شده است؛ شکل برگ یکی از صفت‌های مهم در تشخیص گونه‌ها محسوب می‌شود (شکل ۱ الف). حالت صفتی برگ خطی سرنیزه‌ای تا مستطیلی تقریباً حالتی تک‌نیاست که در نیای مشترک بخشه *Acanthoprason* ایجاد شده است. به‌طور کلی برگ مستطیلی باریک، صفتی نیایی است که در برون‌گروه‌ها و نیای مشترک بخشه *Asteroprason* وجود دارد. برگ تخم‌مرغی تا بیضوی تنها در *A. kurdistanicum*، *A. subakaka*، *A. chlorotepalum* و *A. hamedanense* دیده و صفتی آت‌آپومورف (autapomorph) برای این گونه‌ها محسوب می‌شود. همچنین *A. kusorkhense* و *A. aladaghense* از بخشه *Asteroprason* دارای برگ بیضوی-تخم‌مرغی هستند. حاشیه دنداندار در

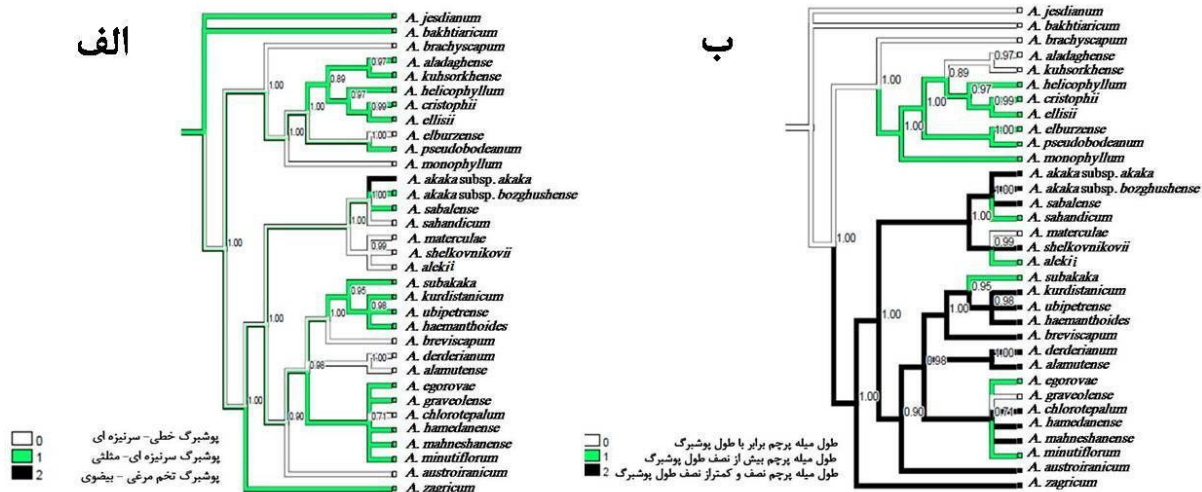


شکل ۱- روند تکامل صفت‌ها در چارچوب تبارشناسی حاصل از ردیف‌خوانی توالی ITS. الف: شکل برگ؛ ب: حاشیه برگ. اعداد روی شاخه‌ها نشان‌دهنده مقدار احتمال پسین بایزی (posterior probability: pp) هستند.

Archive of SID

صفت حفظ شده است. افزایش طول میله پرچم به بیش از نصف طول پوشبرگ در بیشتر گونه‌های بخشه Asteroprason و در برخی گونه‌های متعلق به بخشه Acanthoprason نیز به طور مستقل تکامل یافته است (شکل ۲ ب).

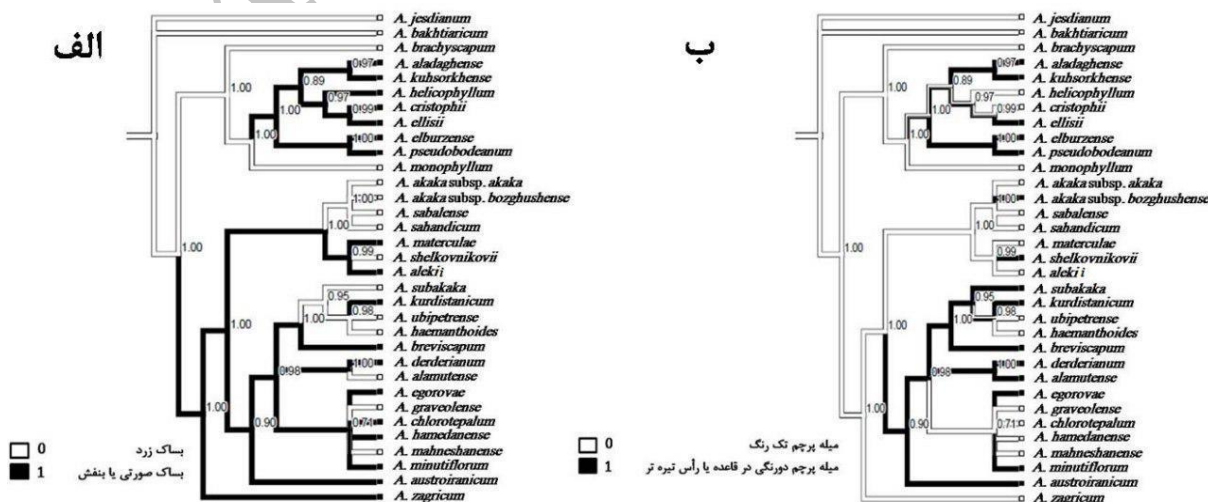
بخشه‌های Asteroprason و Acanthoprason حفظ شده است. کاهش طول میله پرچم به اندازه نصف و کمتر از نصف طول پوشبرگ، صفتی تک‌نیا در بخشه Acanthoprason است و در گونه‌های A. materculae و A. graveolens حالت ابتدایی این



شکل ۲- روند تکامل صفت‌ها در چارچوب تبارشناسی حاصل از ردیف‌خوانی توالی ITS الف: شکل پوشبرگ، ب: طول میله پرچم. اعداد روی شاخه‌ها نشان‌دهنده مقدار احتمال پسین بایزی (posterior probability: pp) هستند.

A. monophyllum حفظ شده است. بساک صورتی یا بنفش در بیشتر گونه‌ها در هر دو بخشه به شکل مستقل ایجاد شده است (شکل ۳ الف).

در شکل (۳)، صفت مربوط به رنگ بساک و میله پرچم دیده می‌شود. رنگ زرد بساک در برون‌گروه‌ها دیده و حالتی نیایی در نظر گرفته می‌شود. این حالت در تعدادی از گونه‌های بخشه Acanthoprason و گونه



شکل ۳- روند تکامل صفت‌ها در چارچوب تبارشناسی حاصل از ردیف‌خوانی توالی ITS. الف: رنگ بساک، ب: رنگ میلهٔ پرچم. اعداد روی شاخه‌ها نشان‌دهندهٔ مقدار احتمال پسین بایزی (posterior probability: pp) هستند.

برخی موارد برای مرزبندی گونه‌ها تعیین‌کننده هستند. به علت تنوع این صفت در یک گونه و یا مشابه بودن آن در گونه‌های مختلف به علت شرایط محیطی و متفاوت بودن آن در ارتفاعات مختلف، این صفت هموپلازی زیادی نشان می‌دهد. از سوی دیگر، سایر صفت‌های رویشی و زایشی مانند طول تیرک، رنگ برگ‌ها در ابتدای جوانه‌زنی و شکل گل‌آذین نیز نتوانستند ما را به گروه‌بندی نهایی برسانند و تنها نزدیکی برخی گونه‌ها را نشان دادند. همچنین با توجه به ردیابی صفت‌ها روی درخت تکاملی، این صفت‌ها هموپلازی زیادی دارند. همان‌طور که در جدول (۳) مشاهده می‌شود، بیشتر صفت‌های مطالعه‌شده، شاخص CI و RI زیادی ندارند و به علت هموپلازی زیاد، ارزش رده‌بندی کمی در این بخش‌ها دارند. چنانچه تبارنمای حاصل از توالی‌های ITS، گروه‌بندی و موقعیت صحیحی از گونه‌ها نمایش دهد، تطبیق صفت شکل پوشبرگ بر این تبارنما نشان می‌دهد این صفت نمی‌تواند صفت مناسبی برای آرایه‌شناسی باشد. این صفت چندین بار به طور مستقل تکامل یافته و صفتی همسونیا است. صفت‌های دیگری که بر درخت تکاملی منطبق شدند، به شکل برگ و حاشیهٔ آن، اندازه و رنگ میلهٔ پرچم و رنگ بساک مربوط هستند که تقریباً حالت تک‌نیا دارند ولی با وجود تفکیک مناسبی که در برخی گونه‌ها ایجاد می‌کنند، در تعدادی از گونه‌ها هموپلازی نشان می‌دهند. بیشتر صفت‌های ریخت‌شناسی به شرایط محیطی و آب‌وهوایی وابسته هستند و تحت تأثیر شرایط اکولوژیک قرار دارند؛ علاوه بر این، این

تک‌رنگ بودن میلهٔ پرچم در برون‌گروه‌ها و تعداد زیادی از گونه‌ها در هر دو بخش مشاهده می‌شود. حالت پیشرفتهٔ این صفت، دو رنگ بودن میلهٔ پرچم است که در برخی گونه‌ها در قاعده، سفید و رأس آن تیره‌تر است (میلهٔ پرچم دو رنگ) و در تعدادی از گونه‌ها در قاعده تیره‌تر به نظر می‌رسد. وجود حالت‌های مختلف این صفت در گونه‌ها با گروه‌بندی‌های ایجادشده در تبارشناسی حاصل از توالی ITS مطابقت ندارد (شکل ۳ ب).

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مطالعهٔ حاضر، بیشتر صفت‌های ریخت‌شناسی استفاده‌شده برای تقسیم‌بندی گونه‌ها به علت تنوع‌پذیری پیوسته و همپوشانی آنها، قادر به ایجاد گروه‌های آرایه‌شناسی ایده‌آل نیستند و این در حالیست که پیش از این، مطالعه‌های بسیاری بر پایهٔ چنین صفت‌هایی انجام شده‌اند؛ بنابراین، استفاده از صفت‌های ریخت‌شناسی به روش‌های مختلف همراه با تفاسیر آرایه‌شناسی متفاوت، دلیلی بر اخلاص مرزهای توصیف‌شدهٔ این گونه‌ها در نظر گرفته می‌شود. تاکنون در گروه بررسی‌شده، مطالعه‌ای در این راستا انجام نشده است و مقالهٔ حاضر، نخستین مرحله برای شناخت حد و مرز بین گونه‌ها بر اساس تکامل صفت‌های ریخت‌شناختی این بخش‌ها محسوب می‌شود.

صفت‌های ریخت‌شناسی که در منابع برای گروه‌بندی گونه‌ها استفاده می‌شوند، به تنهایی نمی‌توانند به گروه‌بندی مطمئنی دربارهٔ گونه‌های این بخش برسانند. رنگ پوشبرگ و میلهٔ پرچم، تنها در

ایجاد شده است. درکل، داده‌های مولکولی با طبقه‌بندی‌ها و افزایش گونه‌ها بر اساس داده‌های ریخت‌شناسی مطابقت ندارد. بر مبنای نتایج مطالعه حاضر، تنوعات ریخت‌شناسی و وجود فرم‌های مختلف دلیلی بر وجود گونه‌های جدید نیست و تعدادی از گونه‌ها را می‌توان مترادف در نظر گرفت.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله حاضر از سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی مرکز اصفهان و نیز معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه اصفهان برای همکاری در این طرح تشکر می‌کنند. همچنین از مؤسسه IPK آلمان و پروفیسور Blattner سپاسگزاری می‌شود که حمایت مالی مطالعه حاضر را بر عهده داشتند و امکانات لازم برای این پژوهش را در اختیار گذاشتند.

ویژگی‌ها در طول دوران گل‌دهی به‌طور درخور توجهی تغییر می‌کنند و بنابراین، تنوع‌های مشاهده‌شده در صفت‌های ریخت‌شناسی به‌تنهایی دلیلی بر وجود گونه جدید در این گروه نیستند. همان‌طور که در بررسی‌های انجام‌شده مشاهده شد، هیچ‌یک از صفت‌های مطالعه‌شده دارای ضریب سازگاری زیاد و ارزش زیاد در رده‌بندی درون‌سرده‌ای نیستند. بیشتر صفت‌ها سازشی و حاصل شرایط بوم‌شناختی هستند و به دلیل هموپلازی زیاد، اهمیت چندانی در جدایی گونه‌ها ندارند. تعدادی از این صفت‌ها، برخی شاخه‌های تبارزایی حاصل از داده‌های ITS را حمایت می‌کنند، اما در کل گروه، صفت پیشرفته مشترکی محسوب نمی‌شوند. همچنین با توجه به شباهت و یکنواختی در ساختار و عدد کروموزومی این گروه نتیجه گرفته می‌شود تنوع‌یابی در این گروه به‌تازگی انجام و گونه‌زایی احتمالاً با تغییر در سطح DNA

منابع

- Akhavan, A., Saeidi, H. and Fritsch, R. M. (2014) *Allium kuhrangense* (Amaryllidaceae) a new species of *Allium* sect. *Acanthoprason* from Iran. *Phytotaxa* 170(3): 213-218.
- Akhavan, A., Saeidi, H., Rahiminejad, M. R., Zarre, SH. and Blattner, F. R. (2015) Interspecific Relationships in *Allium* subgenus *Melanocrommyum* sections *Acanthoprason* and *Asteroprason* (Amaryllidaceae) Revealed Using ISSR Markers. *Systematic Botany* 49(3): 706-715.
- Bremer, B., Bremer, K., Chase, M., Fay, M., Reveal, J., Soltis, D., Soltis, P. and Stevens, P. (2009) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105-121.
- Friesen, N., Fritsch, R. M. and Blattner, F. R. (2006) Phylogeny and new intrageneric classification of *Allium L.* (Alliaceae) based on nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *Aliso* 22: 372-395.
- Fritsch, R. M. and Gurushidze, M. (2009) Phylogenetic relationships of ornamental species in *Allium L.* subg. *Melanocrommyum* (Webb et Berthel.) Rouy (Alliaceae). *Israel Journal of Plant Sciences* 57: 287-295.
- Fritsch, R. M. (2012) Illustrated key to the sections and subsections and brief general circumscription of *Allium* subg. *Melanocrommyum*. *Phyton* 52: 1-37.
- Fritsch, R. M. and Abbasi, M. (2009) New taxa and other contributions to the taxonomy of *Allium L.* (Alliaceae) in Iran. *Rostaniha* 9(2): 1-73.

- Fritsch, R. M. and Abbasi, M. (2013) A taxonomic review of *Allium* subgen. *Melanocrommyum* in Iran. IPK, Gatersleben.
- Fritsch, R. M. and Friesen, N. (2002) Evolution, domestication and taxonomy. In: *Allium* Crop Science: Recent Advances (Eds. Rabinowitch, H. D. and Currah, L.) 5-30. CABI Publishing, Wallingford.
- Fritsch, R. M. and Maroofi, H. (2010) New species and new records of *Allium* L. (Aliaceae) from Iran. *Phyton* 50: 1-26.
- Fritsch, R. M., Blattner, F. R. and Gurushidze, M. (2010) New classification of *Allium* L. subg. *Melanocrommyum* (Webb & Berthel.) Rouy (Alliaceae) based on molecular and morphological characters. *Phyton* 49: 145-220.
- Gawel, N. J. and Jarret, R. L. (1991) A modified CTAB extraction procedure for *Musa* and *Ipomoea*. *Plant Molecular Biology Reporter* 9: 262-266.
- Gurushidze, M., Fritsch, R. M. and Blattner, F. R. (2010) Species-level phylogeny of *Allium* subgenus *Melanocrommyum*: Incomplete lineage sorting, hybridization and *trnF* gene duplication. *Taxon* 59(3): 829-840.
- Hall, T. A. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor analysis program for Windows 95/98/ NT. *Nucleic Acid Symposium Series* 41: 95-98.
- Khassanov, F. O. and Fritsch, R. M. (1994) New taxa in *Allium* L. subg. *Melanocrommyum* (Webb & Berth.) Rouy from Central Asia. *Linzer Biologische Beitrage* 26: 965-990.
- Linnaeus, C. (1753) *Species Plantarum* 1. Laurentius Salvius, Stockholm.
- Maddison, D. R. and Maddison, W. P. (2006) Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Retrieved from <http://mesquiteproject.org/mesquite/mesquite.html>. Swofford, 2003. On 1 April 2010.
- Maddison, W. P., Donoghue, M. J. and Maddison, D. R. (1984) Outgroup analysis and parsimony. *Systematic Zoology* 33: 83-103.
- Melchior, H. (1964) Reihe Liliiflorae (Liliales). In: Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien (Ed. Melchior, H.) 12: 513-543. Auflage, Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- Ronquist, F. and Huelsenbeck, J. P. (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 19: 1572-1574.
- Stace, C. A. (1989) *Plant taxonomy and biosystematics* (2nd ed). Cambridge University Press, London.
- Takhtajan, A. (1997) *Diversity and Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press, New York.
- Wendelbo, P. (1969) New subgenera, sections and species of *Allium*. *Botaniska Notiser* 122: 25-37.
- Wendelbo, P. (1971) Alliaceae. In: *Flora Iranica* (Ed. Rechinger, K. H.) 76: 1-96. Akademische Druck-U Verlagsanstalt, Graz.