

مطالعه فیلوژنتیکی جنس *Rumex* L. (Polygonaceae) در ایران بر اساس توالی ITS از DNA هسته‌ای

سولماز شهلا^{۱*} (نویسنده مسئول: sz_shahla@yahoo.com)، علی اصغر معصومی^۲، سید محمد مهدی حمدی^۳، ایرج مهرگان^۱، طاهر نژادستاری^۱
۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران، ۲- موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، ایران، ۳-
گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

Phylogenetic study of the genus *Rumex* L. (Polygonaceae) in Iran based on nrDNA ITS sequences

Solmaz Shahla^{1,*}, Ali Asghar Maassoumi², Seyed Mohammad Mahdi Hamdi³, Iraj Mehregan¹, Taher Nejadstari¹

¹ Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

³ Department of Biology, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

* Corresponding author. Email: sz_shahla@yahoo.com

Abstract

The genus *Rumex* L. with more than 200 species, is one of the largest genus of the family Polygonaceae. This genus has 24 species and a wide range of distribution in Iran. In this study, we used the nuclear ribosomal internal transcribed spacer (nrDNA ITS) sequences to present the phylogeny of the species of the genus *Rumex* in Iran. The results show that *Rumex* is most likely a monophyletic genus. In cladograms, species of *R.* subgenus *Rumex* form a monophyletic clade. Species of *R.* subgenus *Acetosella* do not form a monophyletic clade and the species are located within the species of *R.* subgenus *Acetosa*. So the current classification of the genus *Rumex* is not correct and needs further studies.

Key Words: Phylogeny, *Rumex*, nrDNA ITS, Iran

چکیده

جنس *Rumex* L. با بیش از ۲۰۰ گونه در جهان، یکی از جنس‌های بزرگ خانواده Polygonaceae است. این جنس در ایران دارای ۲۴ گونه بوده که پراکنش جغرافیایی وسیعی در کشور دارند. در این تحقیق به منظور بررسی فیلوژنی گونه‌های جنس *Rumex* در ایران از توالی ITS nrDNA استفاده شد. بر اساس داده‌های حاصل، جنس *Rumex* به احتمال زیاد مونوفیلتیک است. همچنین در کلادوگرام‌های حاصل، گونه‌های زیرجنس *Rumex* یک کلاد مجزا را تشکیل می‌دهند. ولی زیرجنس *Acetosella* به صورت یک کلاد مجزا مشاهده نمی‌شود و گونه‌های آن در بین گونه‌های زیرجنس *Acetosa* قرار می‌گیرند. بنابراین رده بندی کنونی جنس *Rumex* دقیق نیست و نیاز به بازبینی و مطالعات بیشتری دارد.

کلمات کلیدی: فیلوژنی، *Rumex*، nrDNA ITS، ایران

مقدمه

جنس *Rumex* متعلق به تیره *Polygonaceae*. زیر تیره *Polygonoideae*. طایفه *Rumiceae* می‌باشد. این جنس با حدود ۲۰۰ گونه، دومین جنس بزرگ تیره *Polygonaceae* است (۱۱). این جنس پراکنش وسیعی در جهان دارد و به ویژه در مناطق معتدل در هر دو نیمکره انتشار یافته است. گونه‌های این جنس علاوه بر ایران در قفقاز، آسیای مرکزی، عراق، آناتولی و ارمنستان می‌رویند. جنس *Rumex* طیف رویشی وسیعی در ایران دارد و گونه‌های مختلف آن در شمال، شمال غرب، شمال شرق، غرب، جنوب، جنوب شرق و جنوب غرب ایران می‌رویند (۱۱).

در فلورا ایرانیکا ۲۶ گونه از جنس *Rumex* معرفی شده است در صورتیکه در مورد ۴ گونه از این جنس هیچ محل پراکنشی از ایران ذکر نشده است. بنابراین برطبق این فلور ۲۲ گونه از این جنس در ایران وجود دارد (۱۱). مظفریان (۱۹۸۸) گونه *R. pictus* را برای اولین بار از ایران معرفی کرد (۶). گونه *R. caucasicus* توسط آخانی برای ایران گزارش شد (۱). بنابراین در حال حاضر ۲۴ گونه از این جنس در ایران وجود دارد.

در فلورهای مختلف تقسیم بندی‌های متفاوتی برای جنس *Rumex* پیشنهاد شده است که عمدتاً بر اساس صفات ریخت شناسی هستند. در فلور اروپا ۴ زیرجنس، در فلور فلسطین ۳ زیرجنس و در فلور ترکیه ۳ زیرجنس برای جنس *Rumex* پیشنهاد شده است (۲، ۱۰ و ۱۲). در فلورا ایرانیکا گونه‌های این جنس در ۳ زیرجنس گروه بندی شده اند: زیرجنس *Acetosella*، زیرجنس *Acetosa* و زیرجنس *Rumex* Rechinger در سال ۱۹۴۹ تقسیم بندی‌هایی برای بخش‌ها و زیربخش‌ها نیز ارائه کرده است (۹).

مطالعات مولکولی صورت گرفته بر روی جنس *Rumex* محدود است. در تحقیقی که توسط Navajas-Perez و همکارانش (۲۰۰۵) صورت گرفت، جهت بررسی تکامل سیستم‌های تولیدمثلی و مکانیسم‌های تعیین جنسیت در

این جنس از داده‌های حاصل از توالی‌های هسته‌ای و کلروپلاستی استفاده شد (۷). هدف از این تحقیق بررسی فیلوژنی و تعیین روابط خویشاوندی گونه‌های جنس *Rumex* در ایران می‌باشد.

مواد و روش کار

انتخاب نمونه‌ها

جهت انجام این تحقیق از نمونه‌های موجود در هرباریوم موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور استفاده شد. تعداد ۴۲ گونه متعلق به جنس *Rumex* مورد مطالعه قرار گرفتند. در این مطالعه، ۲۰ گونه از جنس *Rumex* برای اولین بار از ایران تعیین توالی شده‌اند (جدول ۱). همچنین جهت مقایسه، توالی‌های ژنی ۳۳ گونه از جنس *Rumex* و ۲۳ گونه از جنس‌های نزدیک از بانک ژن تهیه شد (جدول ۲). گونه *Fallopia convolvulus* به عنوان برون گروه انتخاب شد (۷).

استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) و توالی یابی

به منظور استخراج DNA از برگ نمونه‌های گیاهی، از کیت استخراج Nucleo Spin mini prep (Machery Nagel, Duren, Germany) و Plant genomic DNA extraction kit (Mini-Prep) استفاده شد. سپس قطعه مورد نظر به روش PCR تکثیر شد. جهت تکثیر قطعه ITS از آغازگر (پرایمر)های ITS1R ITS1F، ITS2R و ITS2F استفاده گردید (۷). این پرایمرها قطعه ITS1 و قطعه ITS2 را به طور مجزا تکثیر می‌کنند. در ادامه به منظور دریافت نتیجه بهتر از پرایمرهای AB101 و AB102 استفاده شد (۳). این پرایمرها کل قطعه ITS شامل ITS1 + 5.8S + ITS2 را تکثیر می‌کنند. توالی آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۳ ارائه شده است.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از برنامه بهینه شده با آغازگر مورد نظر و دستگاه ترموسایکلر انجام شد. برنامه PCR پس از بهینه سازی شرایط واکنش بدین شرح است:

نتایج

توالی‌های هم‌ردیف‌سازی شده ITS nrDNA مربوط به گونه‌های مورد آنالیز، ماتریسی به طول ۵۷۰ جایگاه نوکلئوتیدی ایجاد نمود. از این میان ۱۰۳ جایگاه از نظر پارسیمونی غیراطلاعاتی و ۳۴۷ جایگاه از نظر پارسیمونی اطلاعاتی بودند. تعداد ۱۲۰ جایگاه نیز ثابت بود. در مجموع از ترکیب نتایج حاصل از کوتاه‌ترین درخت‌ها، درخت مطلق مرکزی با طول ۲۱۱۴ گام، شاخص ثبات (CI) برابر با ۰/۴۵۵ و شاخص پایداری (RI) برابر با ۰/۶۸۸ حاصل شد (شکل ۱). در این کلادوگرام، کلاد A با حدود اطمینان ۹۰ درصد کلیه گونه‌های جنس *Rumex* را دربر می‌گیرد. این کلاد شامل ۴ زیرکلاد است. زیرکلاد B با حدود اطمینان ۱۰۰ درصد شامل ۲۶ نمونه است که ۲۰ گونه را نشان می‌دهند. تمامی گونه‌ها در این زیرکلاد به زیرجنس *Rumex* تعلق دارند. زیرکلاد C با ۱۸ نمونه، ۱۳ گونه از جنس *Rumex* و نیز گونه *Emex spinosa* را شامل می‌شود. تمامی این گونه‌ها متعلق به زیرجنس *Acetosa* هستند. گونه *R. bucephalophorus* متعلق به زیرجنس *Platypodium* نیز در این کلاد قرار گرفته است. این گونه در ایران وجود ندارد. زیرکلاد D شامل ۶ نمونه است. دو گونه *R. Acetosella* و *R. graminifolius* (هر دو متعلق به به زیرجنس *Acetosella*) با حدود اطمینان ۹۰ درصد در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. گونه *R. hastatulus* (زیرجنس *Acetosa*) همراه با این دو گونه زیرکلادی را با حمایت پایین (۵۶ درصد) تشکیل می‌دهد. دو گونه دیگر این زیرکلاد (*R. paucifolius* و *R. suffruticosus*) نیز به زیرجنس *Acetosa* تعلق دارند. زیرکلاد E با ۷ نمونه، شامل ۶ گونه است که تمامی این گونه‌ها نیز به زیرجنس *Acetosa* تعلق دارند.

آنالیز داده‌های مربوط به توالی ITS nrDNA به روش Bayesian، یک درخت فیلوژنی با دو کلاد اصلی ایجاد کرد (شکل ۲، ۳ و ۴). تمامی گونه‌های جنس *Rumex* در یک کلاد کوچکتر درون یکی از این کلادهای اصلی قرار

برای تکثیر قطعه ITS با استفاده از آغازگرهای AB101 و AB102: واسرشتگی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل حرارتی (واسرشتگی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۵۱/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، بسط اولیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه)؛ و در پایان بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد.

برای تکثیر قطعه ITS با استفاده از آغازگرهای ITS1F، ITS1R، ITS2F و ITS2R: واسرشتگی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و ۳۰ ثانیه، ۳۸ سیکل حرارتی (واسرشتگی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۵۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، بسط اولیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ ثانیه)؛ و در پایان بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. پس از انجام PCR، جهت مشاهده فرآورده حاصل از آن و اطمینان از وجود DNA تکثیر شده، از روش الکتروفورز افقی یا ژل آگارز یک درصد استفاده گردید. تک باندهای قوی و فاقد باند اضافی به منظور تعیین توالی به کشور کره ارسال شد.

آنالیزهای فیلوژنتیک

کروماتوگرام‌های حاصل از تعیین توالی نمونه‌ها، با استفاده از نرم افزار Sequencher مورد بررسی قرار گرفت. سپس این داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MacClade نسخه ۴ (۴) و Mesquite نسخه ۲/۷۵ (۵) هم‌ردیف‌سازی گردید. ماتریس داده‌های هم‌ردیف‌سازی شده با استفاده از روش بیشینه صرفه جویی (Maximum Parsimony) در نرم افزار PAUP نسخه ۴ (۱۴) و نیز با روش Bayesian با استفاده از برنامه MrBayes نسخه ۳/۱۲ (۱۳) آنالیز شدند. به منظور انتخاب بهترین مدل تکاملی از برنامه Modeltest نسخه ۳/۷ استفاده شد (۸). طبق این آزمون مدل GTR+I+G برای توالی nrDNA ITS انتخاب گردید.

می‌گیرند (کلاد A با احتمال پسین ۱). این کلاد شامل دو زیرکلاد است. زیرکلاد B با احتمال پسین ۰/۹۷ شامل ۲۰ گونه است. تمامی گونه‌های این زیرکلاد به زیرجنس *Rumex* تعلق دارند. زیرکلاد C به واحدهای کوچکتری تقسیم می‌شود. زیرکلاد C1 با احتمال پسین ۱ شامل ۶ گونه است که همگی متعلق به زیرجنس *Acetosa* هستند. زیرکلاد C2 با احتمال پسین ۱ دارای ۵ گونه است. دو گونه *R. graminifolius* و *R. Acetosella* به زیرجنس *Acetosella* تعلق دارند. گونه *R. hastatulus* به زیرجنس *Acetosella* تعلق دارند. گونه *R. bucephalophorus* که متعلق به زیرجنس *Platypodium* بوده و در ایران وجود ندارد.

که در زیرجنس *Acetosa* قرار دارد، همراه با این دو گونه زیرکلادی را با احتمال پسین ۰/۹۹ تشکیل می‌دهد. دو گونه دیگر در این زیرکلاد (C2) متعلق به زیرجنس *Acetosa* هستند. زیرکلاد C3 با احتمال پسین ۰/۶۳ شامل ۱۳ گونه است که تمامی این گونه‌ها به زیرجنس *Acetosa* تعلق دارند. در زیرکلاد C دو گونه مشاهده می‌شوند. گونه *Emex spinosa* بصورت یک شاخه منفرد و گونه *R. bucephalophorus* که متعلق به زیرجنس *Platypodium* بوده و در ایران وجود ندارد.

جدول ۱: فهرست گونه‌های مورد مطالعه

نام گونه	نام زیرجنس	نام بخش	شماره ثبت توالی در بانک ژن	نام جمع آوری کننده و کد هرباریومی
<i>R. Acetosella</i>	<i>Acetosella</i>	-----	-----	فروغی ۷۸۳۵ (TARI)
<i>R. ephedroides</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Hastati</i>	KT438755	فتاحی، لشکرپلوکی و حمزه‌ای ۳۸ (TARI)
<i>R. scutatus</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Scutati</i>	KT438761	امین و بازرگان ۱۳۳۴۶ (TARI)
<i>R. Acetosa</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Euacetosa</i>	KT438744, KT438747	دینی و بازرگان ۸۴۶۶ (TARI)
<i>R. cyprius</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Vesicarii</i>	KT438745	اسدی و ابوحمزه ۳۸۴۴۹ (TARI)
<i>R. vesicarius</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Vesicarii</i>	KT438763	بخاری و ندلیو ۲۰۳ (TARI)
<i>R. pictus</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Vesicarii</i>	KT438746, KT438748	مظفریان ۵۳۳۳۷ (TARI)
<i>R. kandavanicus</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438756	فتوت ۱۰۱۲۲ (TARI)
<i>R. thjanschanicus</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438762	اسدی و مظفریان ۳۵۶۰۳ (TARI)
<i>R. patientia</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438758	زهزاد، جمزاد، طاهری و ایزدینا ۷۰۳۲۵ (TARI)
<i>R. ponticus</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438759	مظفریان ۵۷۷۲۷ (TARI)
<i>R. elbursensis</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438754	رونه مارک و معصومی ۲۱۶۸۶ (TARI)
<i>R. crispus</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438753	صنّیعی و اسدی ۱۴۱۵۰ (TARI)
<i>R. angustifolius</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438750	فتاحی، توکلی و حاتمی ۲۴۰۵ (TARI)
<i>R. conglomeratus</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438752	رونه مارک و لازاری، ۲۶۳۵۱ (TARI)
<i>R. sanguineus</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	-----	رونه مارک و مظفریان ۲۵۹۰۱ (TARI)
<i>R. pulcher</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438760	مظفریان و نوروزی ۳۴۸۵۲ (TARI)
<i>R. alveolatus</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438749	وندلیو و فروغی ۱۳۰۵۵ (TARI)
<i>R. chalapensis</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438751	صنّیعی و اسدی ۱۱۳۲۷ (TARI)
<i>R. nepalensis</i>	<i>Rumex</i>	<i>Simplices</i>	KT438757	اسدی و مظفریان ۳۳۰۹۲ (TARI)

جدول ۲: فهرست نمونه‌های انتخاب شده از بانک ژن

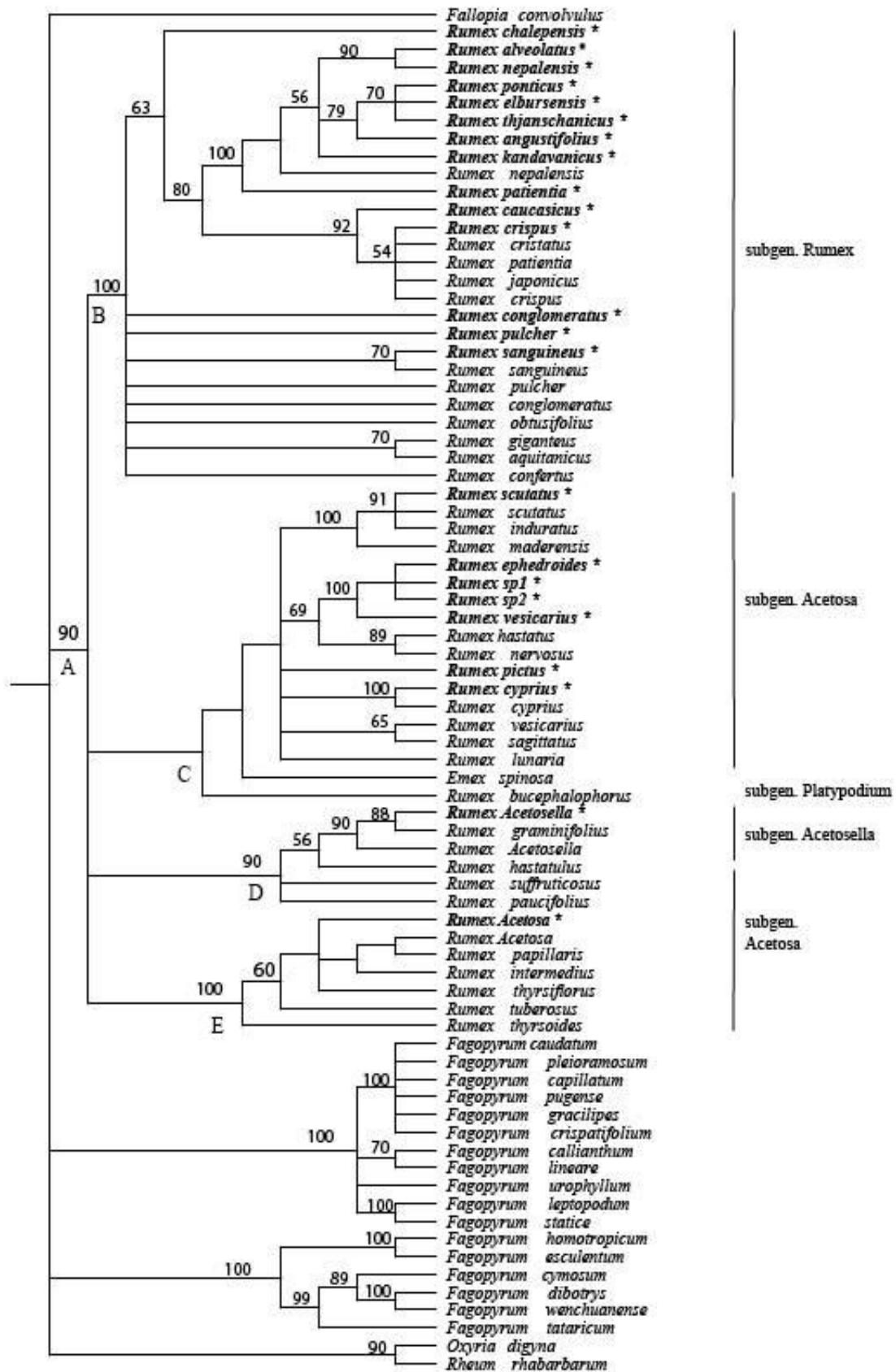
نام گونه	نام زیرجنس	نام بخش	کد GenBank
<i>R. Acetosa</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Euacetosa</i>	AJ580774, AJ580790
<i>R. cyprius</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Vesicarii</i>	AJ810981, AJ810991
<i>R. hastatulus</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Americanae</i>	AJ810979, AJ810989
<i>R. hastatus</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Hastati</i>	AF338218
<i>R. induratus</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Scutati</i>	AJ580778, AJ580794
<i>R. intermedius</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Euacetosa</i>	AJ580781, AJ580797
<i>R. lunaria</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Hastati</i>	AJ580779, AJ580795
<i>R. maderensis</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Hastati</i>	AJ810980, AJ810990
<i>R. nervosus</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Hastati</i>	JX026929
<i>R. papillaris</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Euacetosa</i>	AJ580775, AJ580791
<i>R. pausifolius</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Americanae</i>	AJ890454, AJ890455
<i>R. sagittatus</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Afroacetosa</i>	AJ889014, AJ889015
<i>R. scutatus</i>	<i>Acetosa</i>	<i>Scutati</i>	AJ580777, AJ580793

مطالعه فیلوژنتیکی جنس *Rumex L.* (Polygonaceae) ... ۱۷

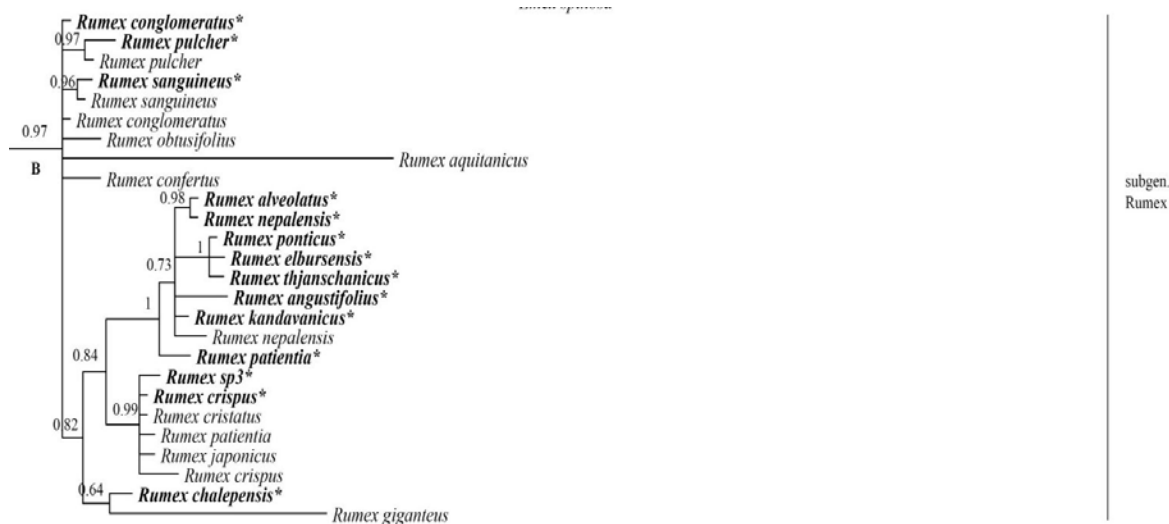
AJ580782, AJ580786	<i>Scutati</i>	<i>Acetosa</i>	<i>R. suffruticosus</i>
JQ288760	<i>Euacetosa</i>	<i>Acetosa</i>	<i>R. thyrsiflorus</i>
AJ580780, AJ580796	<i>Euacetosa</i>	<i>Acetosa</i>	<i>R. thyrsoides</i>
AJ810978, AJ810988	<i>Euacetosa</i>	<i>Acetosa</i>	<i>R. tuberosus</i>
AJ889016, AJ889017	<i>Vesicarii</i>	<i>Acetosa</i>	<i>R. vesicarius</i>
AJ580776, AJ580792	-----	<i>Acetosella</i>	<i>R. Acetosella</i>
AJ831539, AJ844277	-----	<i>Acetosella</i>	<i>R. graminifolius</i>
AJ580783, AJ580787	-----	<i>Platypodium</i>	<i>R. bucephalaphorus</i>
AJ810986, AJ810996	?	<i>Rumex</i>	<i>R. aquitanicus</i>
JQ288758	<i>Simplices</i>	<i>Rumex</i>	<i>R. confertus</i>
AJ580785, AJ580789	<i>Simplices</i>	<i>Rumex</i>	<i>R. conglomeratus</i>
AJ580784, AJ580788	<i>Simplices</i>	<i>Rumex</i>	<i>R. crispus</i>
AJ844272, AJ844273	<i>Simplices</i>	<i>Rumex</i>	<i>R. cristatus</i>
AJ810982, AJ810992	?	<i>Rumex</i>	<i>R. giganteus</i>
AF338220	<i>Simplices</i>	<i>Rumex</i>	<i>R. japonicas</i>
AF338219	<i>Simplices</i>	<i>Rumex</i>	<i>R. nepalensis</i>
AJ810985, AJ810995	<i>Simplices</i>	<i>Rumex</i>	<i>R. obtusifolius</i>
AJ810984, AJ810994	<i>Simplices</i>	<i>Rumex</i>	<i>R. patientia</i>
AJ810983, AJ810993	<i>Simplices</i>	<i>Rumex</i>	<i>R. pulcher</i>
AJ810987, AJ810997	<i>Simplices</i>	<i>Rumex</i>	<i>R. sanguineus</i>
FJ154471	<i>Emex spinosa</i>		
HQ843130	<i>Fagopyrum caudatum</i>		
AB000336	<i>F. pleioramosum</i>		
AB000323	<i>F. capillatum</i>		
JF829991	<i>F. pugense</i>		
AB000332	<i>F. gracilipes</i>		
JF829987	<i>F. crispatifolium</i>		
AB000322	<i>F. callianthum</i>		
AB000335	<i>F. lineare</i>		
AB000341	<i>F. urophyllum</i>		
AB000334	<i>F. leptopodium</i>		
AB000338	<i>F. stalice</i>		
AB000333	<i>F. homotropicum</i>		
AB000330	<i>F. esculentum</i>		
AB000325	<i>F. cymosum</i>		
FJ503008	<i>F. dibotrys</i>		
JF829996	<i>F. wenchuanense</i>		
AB000339	<i>F. tataricum</i>		
FJ154474	<i>Oxyria digyna</i>		
JQ288756	<i>Rh. rhabarbarum</i>		
AF040064	<i>Fallopia convolvulus</i>		

جدول ۳: نام پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر قطعه ITS به همراه توالی آنها.

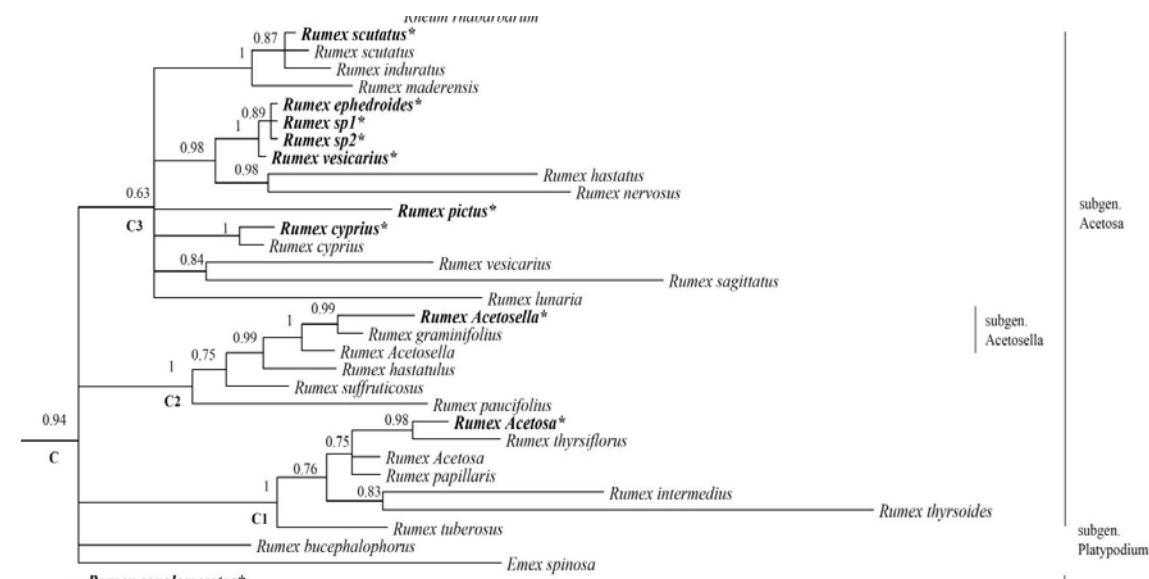
نام پرایمر	نوع پرایمر	توالی پرایمر (3' → 5')
ITS1F	رفت	AAGGTTTCCGTAGGTGAACC
ITS1R	برگشت	AGATATCCGTTGCCGAGAGT
ITS2F	رفت	AGTCTTTGAACGCAAGTTGC
ITS2R	برگشت	CCTCCGCTTATTGATATGCT
AB 101	رفت	ACGAATTCATGGTCCGGTGAAGTGTTCG
AB102	برگشت	TAGAATCCCCGGTTCGCTCGCCGTTAC



شکل ۱- درخت مطلق مرکزی حاصل از آنالیز داده‌های nrDNAITS به روش ماکزیمم پارسیمونی. اعداد روی شاخه‌ها نشان دهنده ضریب حدود اطمینان شاخه‌ها (bootstrap) هستند. نمونه‌های ایران با ستاره مشخص شده‌اند.



شکل ۳- درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز داده‌های nrDNAITS به روش Bayesian. (زیرکلاد B با بزرگنمایی بیشتر)



شکل ۴- درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز داده‌های nrDNAITS به روش Bayesian. (زیرکلاد C با بزرگنمایی بیشتر)

بحث و نتیجه گیری

در فلورا ایرانیکا گونه‌های جنس *Rumex* در سه زیرجنس گروه بندی شده اند: زیرجنس *Acetosella*، زیرجنس *Acetosa* و زیرجنس *Rumex*. زیرجنس *Acetosella* شامل گیاهان دوپایه (به ندرت پلی گام) و چندساله است. برگها در قاعده پیکانی باز یا پیکانی هستند. قطعات داخلی گلپوش (والوها) پس از تشکیل میوه معمولاً رشد نمی‌کنند و فاقد غده هستند. زیرجنس *Acetosa* شامل گیاهان دوپایه یا پلی گام و به ندرت تک پایه، یکساله یا چندساله است. برگها در قاعده پیکانی باز یا پیکانی

هستند. قطعات داخلی گلپوش (والوها) پس از تشکیل میوه رشد یافته و آکن را احاطه می‌کنند. والوها ممکن است دارای غده یا فاقد غده باشند. زیرجنس *Rumex* شامل گیاهانی است که اکثراً دارای گل‌های هرمافرودیت هستند. برگها در قاعده گوه‌ای شکل، گرد یا قلبی هستند (برگها هرگز پیکانی یا پیکانی باز نیستند). قطعات داخلی گلپوش (والوها) پس از تشکیل میوه کاملاً رشد یافته و دارای غده یا فاقد غده می‌باشند. همانطور که از شرح زیرجنس‌ها نیز مشخص است، گونه‌های موجود در زیرجنس *Rumex* به دلیل متفاوت بودن شکل قاعده برگ

۰/۹۷ تشکیل می‌دهند. گونه‌های زیرجنس *Acetosa* کلاد C را با احتمال پسین ۰/۹۴ تشکیل می‌دهند. البته این کلاد شامل سه زیرکلاد می‌باشد. در زیرکلاد C2 گونه‌های زیرجنس *Acetosella* در کنار گونه‌های زیرجنس *Acetosa* قرار گرفته اند و این کلاد دارای احتمال پسین ۱ می‌باشد.

نتایج حاصل از آنالیزهای مولکولی نشان می‌دهد که جنس *Rumex* به احتمال زیاد مونوفیلیک است. در کلادوگرام‌های حاصل از این آنالیزها گونه *R. Acetosella* کلاد مجزایی تشکیل نمی‌دهد و همراه با تعدادی از گونه‌های زیرجنس *Acetosa* در یک کلاد قرار می‌گیرد. گونه‌های زیرجنس *Rumex* یک کلاد مجزا را تشکیل می‌دهند.

بطور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که طبقه بندی کنونی جنس *Rumex* چندان واضح و کامل نیست بطوریکه نتایج حاصل از داده‌های مولکولی، رده بندی‌های ریخت شناسی را تایید نمی‌کند. بنابراین برای تعیین دقیق حدود گونه‌ها و زیر جنسها نیاز به مطالعات بیشتر و استفاده از توالی‌های ترکیبی می‌باشد.

منابع

- 1- Akhani, H. (1999) Studies on the flora and vegetation of the Golestan National Park, NE Iran. III. Three new species, one new subspecies and fifteen new records for Iran. *Edinburgh Journal of Botany* **56**: 1-31.
- 2- Cullen, J. (1967). *Rumex L.* In: Davis, P. H., Cullen, J. and Coode, M. J. E., editors. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 2. Edinburgh, UK: Edinburgh University Press, pp. 281-293.
- 3- Douzery, E.J.P., Pridgeon, A.M., Kores, P., Linder, H.P., Kurzweil, H., Chase, M.W. (1999) Molecular phylogenetics of Diseae (Orchidaceae): A contribution from nuclear ribosomal ITS sequences. *American Journal of Botany* **86**: 887-899.
- 4- Maddison, D. R. and Maddison, W. P. (2005). MacClade 4: Analysis of phylogeny and character evolution. Version 4.08a. Website: <http://macclade.org> [accessed 23.09.2013].

کاملاً متفاوت از گونه‌های زیرجنس‌های *Acetosella* و *Acetosa* می‌باشند. ولی گونه‌های زیرجنس *Acetosella* و *Acetosa* از لحاظ شکل قاعده برگ مشابه بوده و تنها تفاوت آنها آن است که قطعات داخلی گلپوش در گیاهان زیرجنس *Acetosella* رشد نمی‌یابند ولی در زیرجنس *Acetosa* والوها کاملاً رشد یافته و مشخص هستند. بنابراین زیرجنس *Rumex* به عنوان یک زیرجنس مجزا قابل قبول بوده و گونه‌های این زیرجنس بخوبی قابل تشخیص و تفکیک هستند. ولی زیرجنس *Acetosella* و زیرجنس *Acetosa* به دلیل ویژگی‌های مشترک از یکدیگر قابل تفکیک نیستند (۱۱).

مطالعات مولکولی محدودی بر روی جنس *Rumex* صورت گرفته است. مهمترین تحقیق توسط Navajas-Perez و همکارانش (۲۰۰۵) صورت گرفت. یکی از نتایج این تحقیق لزوم بازنگری در رده بندی جنس *Rumex* بود. در این تحقیق گونه‌های زیرجنس *Rumex* یک کلاد با حمایت بالا (حدود اطمینان ۱۰۰ درصد) تشکیل می‌دهد ولی گونه‌های زیرجنس *Acetosella* به صورت یک کلاد مجزا قابل تفکیک نبوده و در کلادی همراه با گونه‌های زیرجنس *Acetosa* قرار گرفته اند (۷).

در تحقیق حاضر، به منظور بررسی فیلوژنی و تعیین روابط خویشاوندی گونه‌های جنس *Rumex* در ایران از داده‌های مولکولی استفاده شد.

در کلادوگرام به دست آمده از آنالیز داده‌های nrDNAITS به روش بیشینه صرفه جویی (شکل ۱) گونه‌های زیرجنس *Rumex* کلادی با حدود اطمینان ۱۰۰ درصد (کلاد B) را تشکیل می‌دهند. گونه‌های زیرجنس *Acetosa* در سه کلاد مجزا (کلاد C، D و E) قرار گرفته اند. گونه‌های زیرجنس *Acetosella* در کنار تعدادی از گونه‌های زیرجنس *Acetosa* در کلاد D با حدود اطمینان ۹۰ درصد جای دارند.

در کلادوگرام به دست آمده از آنالیز داده‌های nrDNAITS به روش Bayesian (شکل ۲، ۳ و ۴)، گونه‌های زیرجنس *Rumex* کلاد B را با احتمال پسین

- 5- Maddison, W. P. and Maddison, D. R. (2011). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75. Website: [http:// mesquiteproject. org](http://mesquiteproject.org) [accessed 15.10.2013].
- 6- Mozaffarian, V. (1988). New species and new plant records from Iran. *The Iranian Journal of Botany*, **4**: 61-70.
- 7- Navajas-Perez, R., de la Herran, R., Gonzalez, G. L., Jamilena, M., Lozano, R., Rejon, C. R., Rejon, M. R. and Garrido-Ramos, M. A. (2005). The evolution of reproductive systems and sex-determining mechanisms within *Rumex* (Polygonaceae) inferred from nuclear and chloroplastial sequence data. *Molecular Boilogy and Evolution*, **22**: 1929-1939.
- 8- Posada, D., Buckley, T.R. (2004) Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology* **53**: 793-808.
- 9- Rechinger, K.H. (1949). *Rumices asiatici* Vorarbeiten zu einer Monographie der Gattung *Rumex*. VII. *Rumices asiatici*. *Candollea* **12**: 9-152.
- 10- Rechinger, K. H. and Akeroyd, J. R. (1964). *Rumex* L. In: Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Valentine, D. H., Walters, S. M., Webb, D. A., Ball, P. W. and Chater, A. O., editors. *Flora Europaeae*. **Vol. 1**. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 82-89.
- 11- Rechinger, K. H. (1968). *Rumex* L. (Polygonaceae). In: Rechinger, K. H., editor. *Flora Iranica*. **Vol. 56**. Graz, Austria: akademische Druck und Verlagsanstalt, pp. 2-24.
- 12- Rechinger, K. H. (1981). *Rumex* L. In: Zohary, M., editor. *Flora Palaestina*. **Vol. 1**. Jerusalem Academic Press, Israel, pp. 59-66.
- 13- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P. (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* **19**: 1572-1574.
- 14- Swofford, D.L. (2002) Phylogenetic analysis using parsimony (PAUP) Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.