# بررسی تنوع درون گونه ای .*Carduus pycnocephalus* L بر اساس نشانگر فلورستیک، اکولوژیک و پروتئین های ذخیره ای بذر در استان همدان

**مهدی حیدریان[1*]، عبدالکریم چهرگانی راد[2] و سید محمد معصومی[3]**

[1] **ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی**

[2] **ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی**

[3] **ایران، کرمانشاه، دانشگاه رازی، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی**

تاریخ دریافت: ۹۷/۸/۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۱۳

## چکیده

تیره کاسنی یا مرکبان (Asteraceae) یکی از تیره‌های بزرگ گیاهی است که بسیاری از گیاهان آن با شرایط آب و هوایی ایران بخوبی سازش یافته و بطور وسیع در ایران پراکندگی دارند. این پژوهش با هدف بررسی وجود تنوع درون گونه‌ای *Carduus pycnocephalus* در استان همدان با روش تعیین زیستگاه ویژه (D.S.S ) (Determination of Special Station) صورت پذیرفت. بر این اساس ۱۴ زیستگاه ویژه برای این گونه انتخاب گردید. در بررسی این زیستگاه های ویژه، ۵۹ گونه به عنوان گونه های همباش شناسایی شدند. تجزیه وتحلیل داده های اکولوژیکی و فلورستیکی (ترکیب رستنی‌های زیستگاه ویژه) منجر به تشخیص ۷ گروه بر اساس این نشانگرها گردید که معرف وجود تنوع درون گونه ای است. به منظور تأیید تنوع درون گونه ای گروه های حاصل از بررسی فوق، از مطالعات الکتروفورز پروتئین های بذر استفاده شد،که نتایج به دست آمده از گروه‌بندی الکتروفورز در همخوانی با گروه بندی به دست آمده از نشانگرهای فلوریستیک – اکولوژیک بود. یافته های این پژوهش نشان داد می توان از روش D.S.S در تعیین سطح ونوع تنوع گونه‌های گیاهی از جمله گونه های مهاجم که دارای نقش مهمی در کشاورزی و محیط زیست می باشند، استفاده کرد و اطلاعات مفیدی ارائه داد.

**واژه های کلیدی** : تنوع درون گونه ای، زیستگاه ویژه، پروتئین های ذخیره ای بذر، علف هرز، Asteraceae

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳۵۶۸۴۱۲۶۳ ، پست الکترونیکی: mft.heidarian@gmail.com

## مقدمه

رفتار رقابتی گیاهانی با رشد زیاد باعث نابودی گیاهان دیگری که خصوصیات با ارزش تری دارند، می‌شوند (۵). علف های هرز با استواری و مقاومت در برابر کنترل، تسلط و لجاجت خود را نشان می‌دهند (۱۱). رویش این گیاهان شرایطی طبیعی را می‌طلبد ولی اغلب در زمین‌های زراعی یافت می‌شود (۲۱). در سرتاسر جهان حدود ۲۵۰ گونه علف هرز وجود دارد و تقریبا ۴۰ درصد از این گونه ها در خانواده Gramineae و Asteraceae هستند (۱۴). گونه‌های جنس *Carduus* با تشکیل کلنی‌های فشرده جایگزین گونه‌های گیاهی بومی می‌شوند و با پوشش گیاهی بومی برای نور، تغذیه و رطوبت می‌توانند رقابت کنند (۲۳). این گیاهان خاردار با ایجاد کلنی رشد گیاهان یک منطقه را مختل می‌کنند (۱۸). گونه*C. pycnocephalus* مانند دیگر گونه‌های جنس *Carduus* به عنوان گیاهان مهاجم در مناطق طبیعی یافت می‌شود. برای مبارزه با گونه‌های این جنس از روش‌های مختلفی شامل مبارزات بیولوژیکی– شیمیایی– مکانیکی استفاده می‌شود (۴ و ۲۲). با توجه به اینکه هر زیستگاهی دارای ترکیبی از عوامل بوم

شناختی ویژه خود است از این رو عوامل اکولوژیک خاص حاکم بر آن، ترکیب گونه ای ویژه ای را فراهم می‌آورد. به این ترتیب نقش و اهمیت عوامل اکولوژیک بر ترکیب رستنی‌ها و روابط دو جانبه آنها، در یک زیستگاه مشخص می‌شود. پس تنوع و تغییر عوامل اکولوژیک و تاثیر پدیده-هایی چون بر هم کنش و جایگزینی عوامل اکولوژیک، باعث به وجود آمدن شرایط اکولوژیک مختلف و در نتیجه ایجاد زیستگاه‌های متفاوت در یک منطقه می‌شود (۱). توسعه ژنوتیپ ها و فنوتیپ های مختلف ویژگی برجسته-ای در گسترش گیاهان و توانایی خوپذیری با تغییرات زمانی و مکانی محیط است. کلیه موجودات زنده در محیط زیست خود تحت تاثیر همزمان عوامل مختلفی قرار می-گیرند و هیچ موجودی بدون وابستگی به محیط اطراف خود و به شکل مجزا زندگی نمی‌کند. محیط‌های طبیعی که محیط زیست گیاه و اجتماعات گیاهی را به وجود می آورند، انواع گوناگونی از عوامل اکولوژیک متنوع را به نمایش می گذارند. بنابراین، شرایط محیطی زیستگاه منعکس کننده ی ویژگی‌های یک فرد است، زیرا این ویژگی‌ها به شرایط محیطی وابسته‌اند (۱۵). بر همین مبنا در بررسی تنوع درون گونه ای و برای درک بهتر موفقیت در پراکنش این گونه مهاجم از روش D.S.S (Determination of Special Station) که روشی الهام گرفته شده از جامعه شناسی گیاهی است، استفاده شده است (۲) . مطالعه پروتئین‌های بذر به روش الکتروفورز، در تاکسونومی مقایسه‌ای درون جمعیت‌ها، بین جمعیت‌ها و بین گونه‌ها انجام می‌شود (۹). روش SDS-PAGE با موفقیت در روشن کردن ارتباطات بین تاکسون‌های معین و همچنین در مشخص نمودن گونه‌ها، جنس‌ها، بخش-ها و تیره‌های مختلف مانند Asteraceae بکار رفته است (۸، ۱۶ و ۱۹). علت استفاده از این روش این است که پروتئین-های بذر پایدار هستند و کمتر تحت تأثیر عوامل محیطی تغییر می‌یابند (۱۲) و به عنوان نشانگری مکمل در بررسی تنوع درون گونه‌ای کاربرد دارد (۹). بنابراین در این پژوهش علاوه بر نشانگرهای فلورستیک و اکولوژیک از نشانگر پروتئینهای بذر برای تعیین بهتر تنوع درون گونه‌ای استفاده گردید.

## مواد و روشها

بر اساس روش D.S.S Determination of Special (Station) داده‌های مورد نظر در سه مرحله فراهم گردید (۲): در مرحله اول انتخاب گونه چند زیستگاهه که در شرایط مختلف اکولوژیک رشد کند و گونه *C. pycnocephalus* نیز به همین صورت می‌باشد. سپس «زیستگاه عمومی» و «زیستگاه ویژه» مشخص شد.«زیستگاه عمومی» با توجه به محل‌های پراکنش گونه مورد نظر تعیین گردید. «زیستگاه ویژه»، با محور قرار دادن فرد گونه مورد بررسی و با استفاده از روش سطح-گونه وCain انجام گرفت (۷). در مرحله دوم جمع آوری داده‌های اکولوژیکی و فلوریستیکی ( گونه‌های همباش با گونه مورد بررسی) از «زیستگاه‌های ویژه» و کد گذاری و تحلیل داده-های فوق با استفاده از نرم افزارهای مختلف صورت گرفت. نمونه‌های جمع آوری شده خشک، پرس و شناسایی شدند و در هرباریوم‌های دانشگاه بو علی سینا ( گونه مورد بررسی) و دانشگاه رازی (گونه‌های همباش) شماره گذاری و نگهداری شدند. گروه بندی «زیستگاه‌های ویژه» بر اساس نشانگر فلورستیک (داده‌های فلورستیک) از روش F.C.A (Factorial Correspondence Analysis) و با استفاده از نرم افزار Anaphyto مشخص گردید و نیز داده های اکولوژیک با روش C.C.A ( Canonical Correspondence Analysis) به‌کمک نرم افزار MVSP(Multi Variante Statistical Package) مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت (۶). در نهایت با تعیین گونه یا گونه‌های تشخیصی هر «زیستگاه ویژه»، که در این مرحله با تهیه جدول مربوط به زیستگاه‌های ویژه مورد بررسی و گونه‌های حاضر در هر یک از آنها، می توان گونه‌هایی که تنها در یک زیستگاه یا یک گروه از زیستگاه‌های معین

حضور دارند را به عنوان گونه‌های تشخیصی هر یک از آنها معرفی نمود. در مرحله آخر پس از تعیین و اثبات وجود تنوع درون گونه‌ای با استفاده از نشانگرهای فلورستیک، به تعیین و تشخیص نوع تنوع درون گونه‌ای از نظر محتوی پروتئینی پرداخته شد. بر این مبنا از الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر استفاده شد. الکتروفورز با استفاده از ژل «پلی اکریلامید» در حضور «سدیم دودسیل سولفات» (SDS-PAGE) انجام شد (۱۵). برای استخراج پروتئین از بذرها، یک گرم از بذر گیاهان جمعیت هر زیستگاه ویژه، خرد گردید تا پودر یکنواختی به دست آید. پودر بذر به دست آمده از گیاهان هر جمعیت به صورت جداگانه با نسبت یک به شش با بافر فسفات سدیم مخلوط گردید. به منظور جلوگیری از فعالیت آنزیم فنل اکسیداز و اثرات سو آن در سنجش پروتئین و در نتیجه پایدار کردن پروتئین‌ها، مقدار۰/۰۲ گرم پلی وینیل پیرولیدن (PVP) اضافه شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد تا انحلال و آزاد سازی پروتئینها صورت گیرد. مخلوطهای فوق در سانتریفوژ یخچال دار به مدت ۲۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ شد. با پایان یافتن عمل سانتریفوژ، محلول شفاف رویی جدا و در ویال های کوچک استریل در دمای ۲۰ – درجه سانتی گراد نگهداری گردید تا در الکتروفورز مورد استفاده قرار گیرند. عصاره پروتئینی استخراج شده به نسبت مساوی یک به یک با بافر نمونه مخلوط گردید. مخلوط حاصله در حمام آب گرم (۹۵ درجه سانتی گراد) به مدت ۳ دقیقه حرارت داده شد. ژل اکریل آمید ۱۲ درصد تهیه شد و مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه در چاهک ها و در یکی از چاهک‌ها مارکر پروتئینی تزریق گردید. برای انجام الکتروفورز از دستگاه الکتروفورز عمودی با اندازه x۲۰ ۲۰ شرکت Bio-Rad (آمریکا) با ولتاژ ثابت ۶۰ استفاده گردید. پس از اتمام الکتروفورز، ژل با مخلوط اسید استیک و اتانول تثبیت گردید. سپس با آب مقطر شسته، به محلول رنگ منتقل شده و رنگ آمیزی با رنگ «کوماسی بلو بریلیانتR۲۵۰» انجام گرفت. سپس موقعیت هر باند روی ژل به صورت کدهای یک و صفر که نشان دهنده وجود و عدم وجود باند مربوطه است، مشخص گردید. کدهای به دست آمده با نرم افزار NTSYS، روش Complete Lonkage و ضریب J برای ساخت دندوگرام مورد استفاده قرار گرفت.

## نتایج

**نتایج بررسی فلورستیک:** برای گونه مورد نظر در استان همدان ۱۴ زیستگاه ویژه تعیین و ۵۹ گونه همباش جمع آوری و شناسایی شد ( جداول ۱و۲). بر اساس نتایج به دست آمده از ترکیب رستنی‌ها با استفاده از نرم افزار Anaphyto و با روش F.C.A زیستگاه‌های ویژه گونه مورد مطالعه در ۷ گروه قرار گرفتند (شکل ۱) که عبارتند از : گروه A: شامل زیستگاه ویژه ۱۱، گروه B: شامل زیستگاه های ویژه۱۲،۷،۴،۲،۱ و۱۴، گروه C: شامل زیستگاه ویژه ۳، گروه D: شامل زیستگاه های ویژه ۶ و۱۳، گروه E: شامل زیستگاه های ویژه ۵و ۸، گروهF: شامل زیستگاه ویژه ۱۰، گروهG: شامل زیستگاه ویژه ۹ است.

در روش D.S.S هر یک از گروه‌های فلوریستیک حاصله دارای گونه‌های گیاهی منحصر به فردی هستند که این گونه ها فقط در همان گروه حضور دارند و در گروه های دیگر مشاهده نمی‌شوند که آن ها را گونه‌های تشخیصی (distinguished) می‌نامیم (۳). گونه یا گونه‌های تشخیصی برای هر گروه به همان گروه اختصاص دارد.گونه‌های تشخیصی گروه‌های به دست آمده از آنالیز ترکیب رستنی‌ها به صورت زیر می باشد:

گروه A: شامل زیستگاه ویژه ۱۱ با گونه‌های تشخیصی:

*Astregalus gossypinus* Fish., *Senecio vulgaris* L., *Ephorbia heteradena* Jaub et Spech., *Stachys inflate* Benth., *Hulthmia persica* (Mich.) Bornm., *Cousinia cylindracea* Boiss.

جدول ۱- محل جمع آوری گونه *Carduus pycnocephalus*

| شماره زیستگاه | محل جمع آوری | تاریخ جمع آوری | نام جمع آوری کننده | مختصات جغرافیایی | شماره هرباریوم (BASU) |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | همدان،جاده به طرف سراب کیان، روستای برزول | ۸۹/۳/۱۴ | حیدریان | N: 34° 12'49.74" E: 48° 15'32.84" | ۳۱۶۸۳ |
| ۲ | همدان، کبودرآهنگ، روستای قلی آباد | ۸۹/۳/۱۱ | حیدریان | N: 35° 14'56.47" E: 48° 50'26.64" | ۳۱۶۸۴ |
| ۳ | همدان، سراب گیان،کوههای اطراف | ۸۹/۳/۱۴ | حیدریان | N: 34° 11'59.70" E: 48° 21'15.04" | ۳۱۶۸۵ |
| ۴ | همدان، گردنه اسد اباد | ۸۹/۳/۱۴ | حیدریان | N: 34°48'15.13" E: 48° 09'17.61" | ۳۱۶۸۶ |
| ۵ | همدان، جاده فیروزان به طرف نهاوند، مسجد قمر بنی هاشم | ۸۹/۳/۱۴ | حیدریان | N: 34° 22'46.27" E: 48°05'19.87" | ۳۱۶۸۷ |
| ۶ | همدان، جاده نهاوند به طرف ملایر، ۲۰کیلومتر بعد ازنهاوند | ۸۹/۳/۱۴ | حیدریان | N: 34°12'56.97" E: 48°25'16.98" | ۳۱۶۸۸ |
| ۷ | همدان به طرف قهاوند ،روستای فرخله | ۸۹/۳/۱۵ | حیدریان | N: 34° 58'16.42" E: 48° 59'20.10" | ۳۱۶۸۹ |
| ۸ | همدان، تویسرکان،میدان اول شهر | ۸۹/۳/۱۴ | حیدریان | N: 34°32'29.00" E: 48°27'20.62" | ۳۱۶۹۰ |
| ۹ | همدان،گنج نامه | ۸۹/۳/۱۲ | حیدریان | N: 34°45'46.31" E: 48° 26'24.23" | ۳۱۶۹۱ |
| ۱۰ | همدان، حیدره، بالاتر از دانشکده کشاورزی | ۸۹/۳/۱۳ | حیدریان | N: 34° 48'18.82" E: 48° 29'00.25" | ۳۱۶۹۲ |
| ۱۱ | همدان، لشکر در | ۸۹/۳/۱۴ | حیدریان | N: 34° 14'17.51" E: 48° 53'26.36" | ۳۱۶۹۳ |
| ۱۲ | همدان،جاده نهاوند به طرف ملایر ،قبل از روستای آورزان | ۸۹/۳/۱۴ | حیدریان | N: 34°16'04.66" E: 48° 30'31.90" | ۳۱۶۹۴ |
| ۱۳ | همدان، حیدره، کوه‌های اطراف | ۸۹/۳/۱۳ | حیدریان | N: 34° 48'19.79" E: 48° 28'52.95" | ۳۱۶۹۵ |
| ۱۴ | همدان، جاده کنگاور به همدان، بعد از تابلوی ورود به همدان روستای رسول آباد | ۸۹/۳/۱۴ | حیدریان | N: 34° 44'19.35" E: 48° 05'24.61" | ۳۱۶۹۶ |

گروه B: شامل زیستگاه‌های ویژه۱،۲،۴،۷،۱۲و۱۴ با گونه-های تشخیصی:

*Bromus danthoniae* Trin., *Turgenia latifolia* (L.) Hoffm., *Heteranthelium piliferum* (Banks et Soland.) Hochst., *Trichodesma aucheri* DC., *Echinops robustus* Bge., *Alyssum bracteatum* Boiss. and Bushe., *Rosa persica* Michx. ex. Juss., *Helianthemum salicifolium* (L.) Miller., *Carthamus oxyacantha* M.B.,*Alhagi camelorum* Fish., *Triticum aestivum*L., *Glycyrrhiza glabra*L., *Centaurea iberica* Trex. ex. Spreng.

گروه C: شامل زیستگاه‌ویژه ۳ با گونه‌های تشخیصی:

*Lamium ampliexicaule* L., *Zoegea durpurea* Fresen., *Medicago polymorpha* L.

گروه D: شامل زیستگاه‌های ویژه ۶ و۱۳ با گونه‌های تشخیصی:

*Galium aparine*L., *Vicia sativa* L. , *Centaurea depressa* M.B. , *Centaurea solstitialis* L. , *Callipeltis cucullaria* Stev., *Trigonella arcuata* C. A. Mey., *Anchusa iranica* Rech. f. & Esfand. , *Glaucium corniculatum* L., *Viola odorata* L., *Adonis aestivalis* L., *Ranunculus arvensis* L.

گروه E: شامل زیستگاه‌های ویژه ۵ و ۸ با گونه‌های تشخیصی:

*Nonea persica* Boiss. , *Poa bulbosa* L.

جدول ۲ – فهرست فلورستیک وگونه های همباش زیستگاه های ویژه گونه*Carduus pycnocephalus*

| شماره زیستگاه | ترکیب گونه ای |
|---|---|
| 1 | *Carduus pycnocephalus* L., *Bromus danthoniae* Trin., *Hordeum glaucum* Steud., *Aegilops triuncialis* L., *Turgenia latifolia* (L.) Hoffm., *Heteranthelium peliferum* (Sol.) Hochst., *Trichodesma aucheri* DC., *Scariola orientalis* (Boiss) Sodjak. , *Echinops robustus* Bge., *Alyssum bracteatum* Boiss and Bushe. |
| 2 | *Carduus pycnocephalus* L., *Rosa persica* Michx.ex.Juss., *Anthemis altissima* L., *Heteranthelium peliferum* (Sol.) Hochst., *Scariola orientalis*(Boiss.) Sodjak., *Helianthemum ledifolium* (L.) Mill., *Carthamus oxyacantha* M.B. |
| 3 | *Carduus pycnocephalus* L., *Aegilops triuncialis* L., *Lamium amplexicaule* L., *Zoega purpurea* Fresen., *Medicago polymorpha* L. |
| 4 | *Carduus pycnocephalus* L., *Carthamus oxyacantha* M.B., *Taeniatherum crinitum* (Schreb.) Nevski . |
| 5 | *Carduus pycnocephalus* L., *Achillea Wilhelmsii* C. Koch , *Cardaria draba*(L.) Desv. , *Hordeum glaucum* Steud. *Nonea persica* Boiss., *Poa bulbosa* L. |
| 6 | *Carduus pycnocephalus* L., *Galium aparine* L., *Vicia sativa* L. , *Bromus tectorum*L., *Centaurea depressa* L., *Centaurea solstitialis* L., *Aegilops triuncialis*L. |
| 7 | *Carduus pycnocephalus* L., *Scariola orientalis*(Boiss.) Sodjak., *Carthamus oxyacantha* M.B., *Bromus danthoniae* Trin., *Polygonum aviculare* L., *Achillea Wilhelmsii* C. Koch. |
| 8 | *Carduus pycnocephalus* L., *Capsella bursa-pastoris*L., *Alyssum strigosum* Bank & Soland. , *Hordeum glaucum* Steud., *Anthemis altissima* L., *Achillea Wilhelmsii* C. Koch. |
| 9 | *Carduus pycnocephalus* L., *Cardaria draba* (L.) Desv.,*Urtica dioica*L.,*Dactylis glomerata*L., *Bromus scoparius* L., *Asperugo procumbens* L., *Neslia apiculata* Fish.et Mey. ,*Rumex crispus* L., *Capsella borsa-pastoris* L., *Fraxinus rotundifolia* Miller. , *Cirsium congestum* Fisch. & Mey. ex DC. , *Alyssum strigosum* Bank &Soland, *Sisymbrium ganbae* Rech .f. & Bornm. |
| 10 | *Carduus pycnocephalus* L., *Descarainia Sophia* (L.) Schur., *Hordeum glaucum* Steud., *Galium verum* L., *Capsella borsa-pastori* L.,*Canvolvulus arvensis* L., *Bromus sterilis*L.,*Papaver rhoeas* L.,*Veronica persica* Poir., *Sisymbrium ganbae* Rech .f. & Bornm.*Plantago lanceolata* L., *Alyssum strigosum* Bank & Soland. |
| 11 | *Carduus pycnocephalus* L., *Astragalus gossypinus* Fish., *Senecio vulgaris* L.,*Euphorbia heteradena* Jaub et Spech., *Scariola orientalis*(Boiss)Sodjak., *Taeniatherum crinitum* (Schreb.)Neveski., *Stachys inflata*Benth., *Hulthemia persica* (Mich.) Bornm. *Cousinia cylindrica* Boiss. |
| 12 | *Carduus pycnocephalus* L., *Aegilops triuncialis* L., *Achillea Wilhelmsii* C. Koch., *Scariola orientalis*(Boiss.)Sodjak. , *Bromus tectorum*L., *Alhagi camelorum* Fish. |
| 13 | *Carduus pycnocephalus* L., *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl., *Callipeltis cucullaria* Stev., *Hordum glaucum* Steud., *Trigonella arcuata* C.A.Mey., *Anchusa iranica* Rech.f.&Esfand., *Bromus tectorum* L., *Centaurea solstitialis* L., *Aegilops triuncialis* L., *Vicia sativa* L., *Glaucium corniculatum* L., *Viola odorata* L., *Adonis aestivalis* L., *Ranunculus arvensis* L. |
| 14 | *Carduus pycnocephalus* L., *Hordeum glaucum* Steud., *Triticum aestivum* L., *Aegilops triuncialis* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Centaurea iberica* Trex.ex.Spreng., *Achillea Wilhelmsii* C. Koch. |

گروهF: شامل زیستگاه ویژه ۱۰ با گونه‌های تشخیصی:

*Galium verum* L., *Capsella borsa-pastoris* L. ,*Canvolvulus arvensis* L. , *Bromus sterilis* L. ,*Papaver rhoeas*L.,*Veronica persica* Poir., *Plantago laceolata* L.

گروهG: شامل زیستگاه ویژه ۹ با گونه‌های تشخیصی:

*Urtica dioica* L., *Dactylis glomerata* L., *Bromus scoparius* L.,*Asperugo procumbens* L.,*Arum conophalloidex* Ky.exSchett.,*Neslia apiculata* Fish. et Mey., *Rumex crispus* L., *Fraxinus rotundifolia* Miller., *Cirsium congestum* Fish. et C. A. Mey .

**نتایج بررسی‌های اکولوژیک:** تنوع و تغییر عوامل اکولوژیک و تأثیر پدیده‌هایی چون برهمکنش و جایگزینی

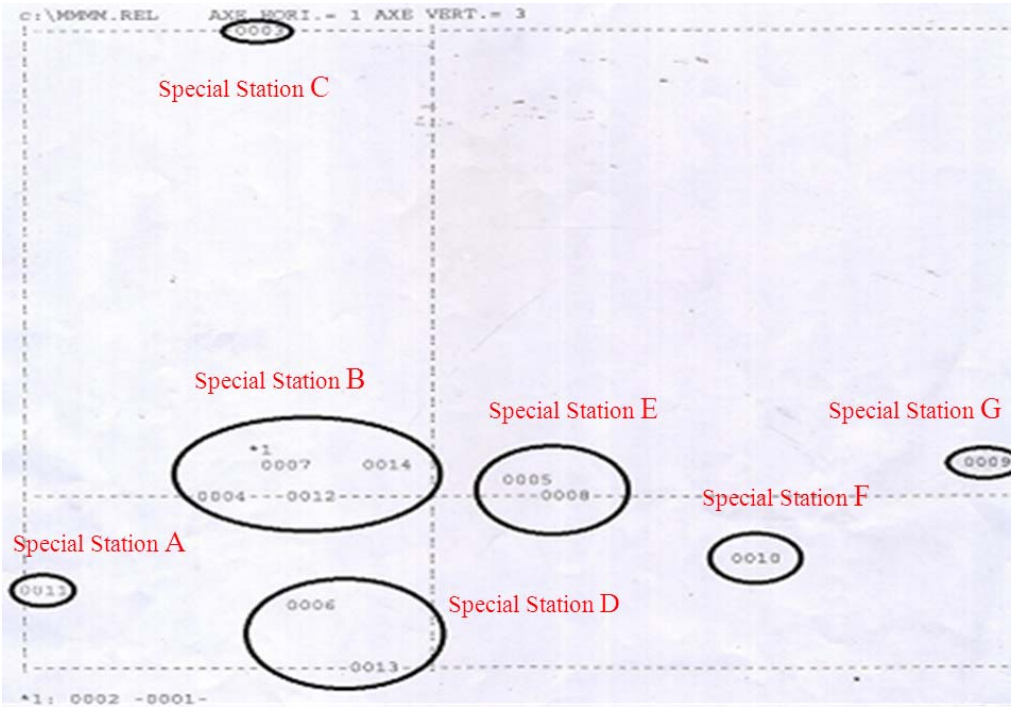
عوامل اکولوژیکی، باعث به وجود آمدن شرایط اکولوژیک مختلف و در نتیجه ایجاد زیستگاه‌های متفاوت در یک منطقه می‌شود، در نتیجه علاوه بر ترکیب گونه‌ای زیستگاه-های ویژه به عنوان نشانگر فلوریستیک، عوامل اکولوژیک (ارتفاع، شیب و نوع بستر) در هر زیستگاه نیز مورد آنالیز و بررسی قرار گرفت (جدول۳).

جدول ۳- داده‌های اکولوژیک مربوط به زیستگاه‌های ویژه *Carduus pycnocephalus*

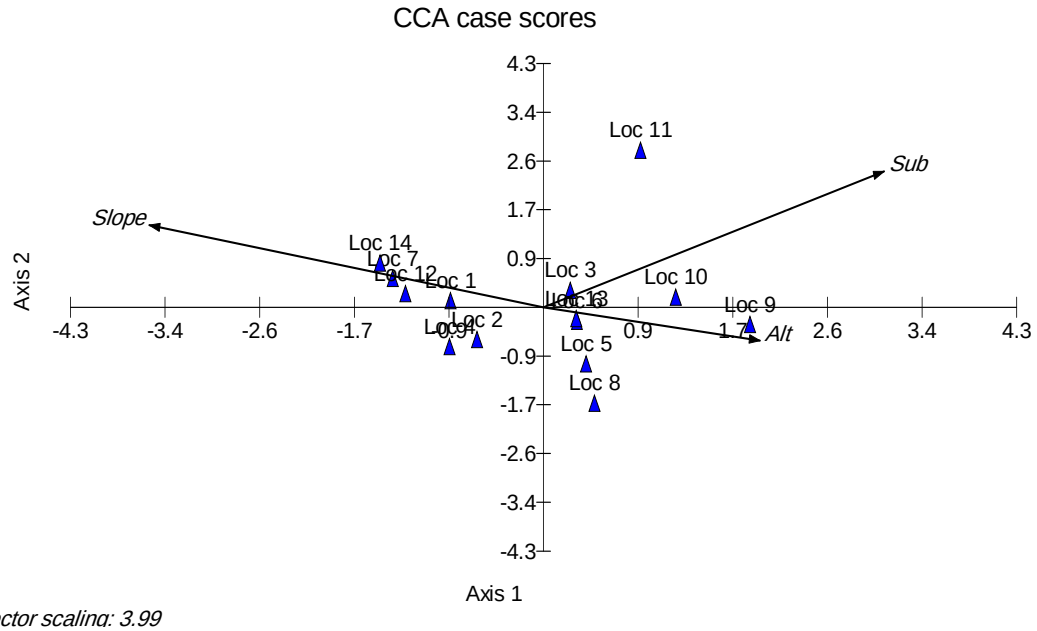
| کد زیستگاه ویژه | ارتفاع | جهت شیب | درصد پوشش | بستر |
|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۱۵۴۴ | جنوب غربی | ٪۵۰ | سنگلاخ- صخره ای |
| ۲ | ۱۸۱۷ | جنوب غربی | ٪۴۰ | سنگلاخ -صخره ای |
| ۳ | ۱۶۲۹ | شمالی | ٪۴۰ | سنگریزه- سنگلاخ |
| ۴ | ۲۱۳۰ | غربی | ٪۲۰ | سنگلاخ -صخره ای |
| ۵ | ۱۴۹۱ | جنوبی | ٪۴۰ | سنگلاخ -صخره ای |
| ۶ | ۱۸۳۸ | شمالی | ٪۲۰ | سنگریزه- سنگلاخ |
| ۷ | ۱۶۱۵ | غربی | ٪۳۰ | سنگلاخ- صخره ای |
| ۸ | ۱۸۶۳ | جنوبی | ٪۲۰ | سنگلاخ- صخره ای |
| ۹ | ۲۱۸۷ | شرقی | ٪۵۰ | خاک-سنگریزه |
| ۱۰ | ۱۸۱۴ | جنوبی | ٪۷۰ | سنگریزه |
| ۱۱ | ۱۸۷۸ | جنوب غربی | ٪۴۰ | خاک رس |
| ۱۲ | ۱۷۰۷ | غربی | ٪۴۰ | سنگلاخ- صخره ای |
| ۱۳ | ۱۸۱۸ | شمالی | ٪۵۰ | سنگریزه -سنگلاخ |
| ۱۴ | ۱۵۳۱ | غربی | ٪۵۰ | سنگلاخ -صخره ای |

جدول ۴- الکترو فورگرام SDS-PAGE جمعیت های گونه *Carduus pycnocephalus*

| زیستگاه ویژه / شماره باند | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | ۹ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ | ۱۳ | ۱۴ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۰ | ۱ | ۱ | ۱ |
| ۲ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۱ | ۰ | ۱ | ۱ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| ۳ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۰ | ۱ | ۱ | ۱ |
| ۴ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ |
| ۵ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ |
| ۶ | ۰ | ۰ | ۱ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | | ۰ | ۱ | ۱ | ۱ | ۰ | ۱ |
| ۷ | ۱ | ۱ | ۰ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ |
| ۸ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۰ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ |
| ۹ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۰ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۰ | ۱ |




شکل ۱- نتایج آنالیز ۱۴ زیستگاه ویژه *Carduus pycnocephalus* بر اساس ترکیب رستنی ها با روش F.C.A




Slope: شیب Sub: نوع خاک Alt: ارتفاع

شکل ۲- گروه بندی زیستگاه های ویژه *Carduus pycnocephalus* بر اساس عوامل اکولوژیک با روش C.C.A

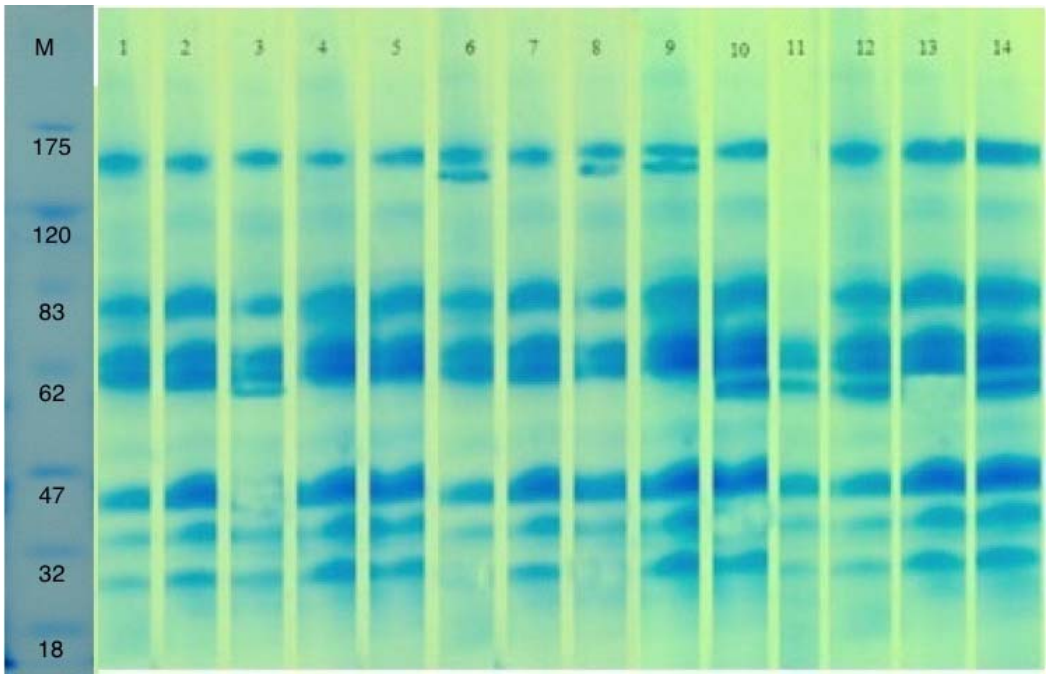
آنالیز عوامل اکولوژیک زیستگاه‌های ویژه گونه مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار MVSP به روش C.C.A صورت گرفت (شکل ۲). با توجه به این شکل، از بین عوامل اکولوژیکی مطالعه شده، عامل مؤثر بر زیستگاه‌های ویژه۳،۵،۶،۸،۹،۱۰،۱۱و۱۳ ارتفاع و نوع بستر می‌باشد . عامل موثر بر زیستگاه‌های ویژه ۱،۲،۴،۷،۱۲و۱۴نیز جهت شیب می‌باشد.

**نتایج حاصل از الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر:**

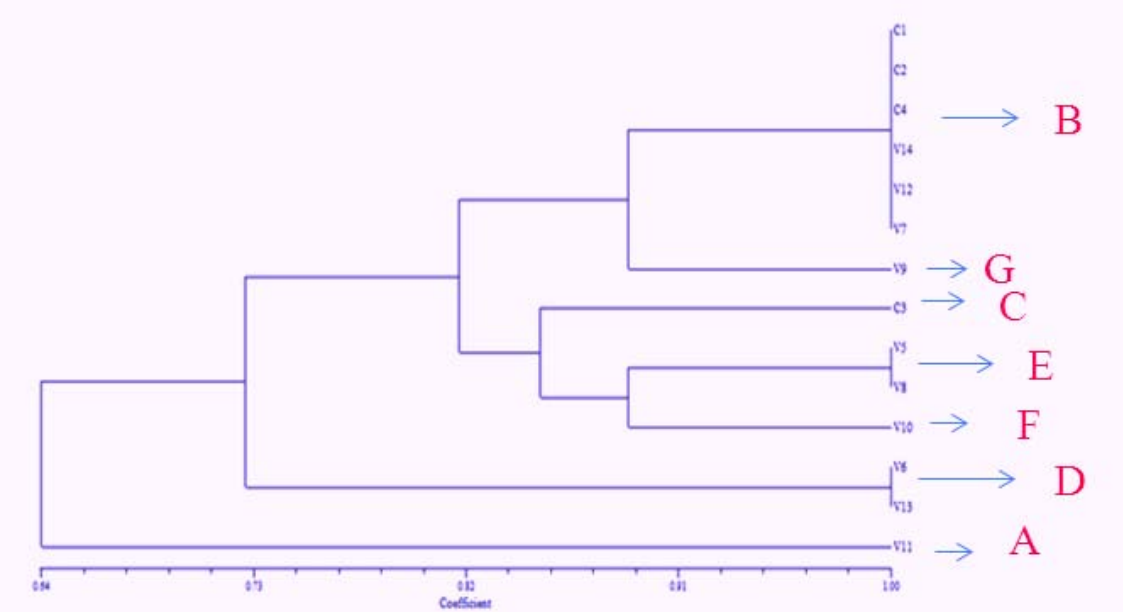
پس از تعیین وجود تنوع در گونه مورد بررسی با استفاده از روش D.S.S ، برای بررسی تنوع درون گونه‌ای در این پژوهش از روش الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر نیز استفاده شد (شکل ۳). جهت انجام آنالیزهای آماری صفات حاصل از الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره ای بذر، هر باند پروتئینی به عنوان یک صفت کیفی در نظر گرفته شد و وجود آن برای هر نمونه با کد ۱ و عدم وجود آن با کد صفر مشخص گردید. این داده‌ها با نرم افزار NTSYS به روش Complete با ضریب RT آنالیز شدند. بر اساس شکل۴ و جدول ۳، گروه بندی، به صورت زیر حاصل شد: گروه A شامل: زیستگاه‌ویژه ۱۱ ، گروه B شامل: زیستگاه های‌ویژه ۶و۱۳ ، گروه C شامل: زیستگاه‌ویژه ۱۰ ، گروه D شامل : زیستگاه‌های‌ویژه ۵ و۸، گروه E شامل: زیستگاه‌ویژه ۳، گروه F شامل: زیستگاه‌ویژه ۹، گروه G شامل : زیستگاه های‌ویژه۱،۲،۴،۷،۱۲و۱۴.

## بحث

با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش و مقایسه نشانگرهای مورد استفاده در این بررسی تنوع درون گونه-ای بالایی در گونه مورد نظر مشاهده شد و کلیه نشانگر-های فوق در انطباق با یکدیگر بودند. این تطابق نشان‌دهنده کارایی روش D.S.S با بهره‌گیری از نشانگر فلورستیک است که تاییدی بر پژوهش‌های پیشین است (۳، ۸ و ۱۰).




شکل ۳- الگوی الکتروفورز پروتئین های بذر *Carduus pycnocephalus* در جمعیت ها ی مورد بررسی. M، مارکر پروتئینی شماره های ۱۴-۱ جمعیت های مورد مطالعه.




شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه و تحلیل داده های الکتروفورز جمعیت ها ی گونه *Carduus pycnocephalus* با نرم افزار NTSYS و روش Complete Linkage

علاوه بر این یکی از دلایل تنوع گونه‌ای بالا هیبریداسیون بین گونه‌های این جنس است که باعث افزایش توان آنها در محیط‌های مختلف می‌شود (۱۷،۲۴). تنوع درون گونه-ای بالا سبب شده گونه *C. pycnocephalus* رقابت تنگاتنگی با گونه‌های دیگر در زیستگاه مورد بررسی داشته باشد، که یکی از خصوصیات عمده علف‌های هرز می‌باشد (۲۳). در این پژوهش از نرم افزار Anaphyto به روش F.C.A جهت گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه مورد مطالعه *C.pycnocephalus* بر اساس مارکر فلوریستیک استفاده شد و منجر به ایجاد ۷ گروه گردید.گروه‌های به دست آمده از این آنالیز بررسی شدند و نشان داده شد که این گروه‌ها شرایط اکولوژیکی خاص خود را دارند و تفاوت در ترکیب فلوریستیکی، سبب شده است که هر یک از این گروه‌ها دارای مجموعه گونه‌های نشان‌ویژه خود باشند که برخی از آن‌ها می توانند به عنوان گونه‌های تشخیصی محسوب شوند.این تفاوت در ترکیب فلوریستیکی نتیجه تفاوت در شرایط اکولوژیک زیستگاه‌های ویژه است و گونه یا گونه‌های تشخیصی یک گروه، به زیستگاه‌های ویژه همان گروه اختصاص دارد.از لحاظ فرم زیستی ، غالب گونه‌های همباش Hemichryptophyte وTherophyte بودند(۱۳). همچنین آنالیز داده‌های اکولوژیکی با نرم افزار MVSP به روش C.C.A مؤثرترین عامل یا عوامل اکولوژیکی را از بین عوامل اکولوژیکی مورد مطالعه، در هر یک از زیستگاه‌های ویژه مورد بررسی مشخص نمود.

داده‌های الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر ۱۴ زیستگاه‌ویژه *C.pycnocephalus* مطالعه شد ، به طوری که ۷ گروه پروتئینی مشخص شد که در تطابق با نشانگر فلورستیک بود ، بنابراین درستی و میزان دقت روش D.S.S برای تعیین وجود تنوع و تشخیص نوع تنوع را آشکار می‌سازد و این روش را کارآمد نشان می‌دهد.

گونه *C. pycnocephalus* در زیستگاه‌های مختلف در استان همدان تحت شرایط اکولوژیک متفاوت با توجه به نشانگر–های بررسی شده تنوع بالایی را نشان داد. یافته-های پژوهش نشان داد که این گیاه، با خوپذیری و یا شاید سازش پذیری، تنوع چشمگیری را به نمایش می‌گذارد

وتوانسته است در زیستگاه‌های گوناگونی حضور یابد. توسعه ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌های مختلف ویژگی برجسته‌ای در گسترش گیاهان و توانایی خوپذیری با تغییرات زمانی و مکانی محیط است. کلیه موجودات زنده در محیط زیست خود تحت تاثیر همزمان عوامل مختلفی قرار می‌گیرند و هیچ موجودی بدون وابستگی به محیط اطراف خود و به شکل مجزا زندگی نمی‌کند. یافته‌های این پژوهش نشان داد که محیط های طبیعی که محیط زیست گیاه و اجتماعات گیاهی را به وجود می‌آورند، انواع گوناگونی از عوامل اکولوژیک متنوع را به نمایش می‌گذارند. بنابراین، شرایط محیطی زیستگاه منعکس کننده‌ی ویژگی‌های یک فرد (ازجمله گیاه مورد مطالعه در این پژوهش) است، زیرا این ویژگی‌ها به شرایط محیطی وابسته‌اند. یافته‌های ما با برخی پژوهش‌های پیشین همسویی دارد (۱۵).

## نتیجه‌گیری

مطالعه تنوع درون گونه‌ای در گونه مورد مطالعه نشان داد که این گونه دارای تنوع درون گونه‌ای است و می توان جمعیت‌های مورد مطالعه را براساس نشانگرهای مورد استفاده در این مطالعه به ۷ گروه تقسیم نمود. تکنیک‌ها و روش‌های مورد استفاده در این پژوهش همگی یکدیگر را تأیید نمود. علاوه بر این پژوهش حاضر نشان داد روش D.S.S می‌تواند به عنوان روشی کارآمد برای بررسی آسان تر، سریع تر، دقیق تر و مطمئن تر تنوع درون گونه‌ای در گونه مورد مطالعه و سایر تاکسون‌های گیاهی به کار رود.

## تقدیر و قدردانی

از جناب آقای دکتر مرتضی عطری استاد اکولوژی دانشگاه بوعلی سینا که معرف روش D.S.S هستند به خاطر ارایه این روش، آموزش روش کار و در اختیار قرار دادن نرم افزارهای مربوطه کمال تشکر را داریم. از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا برای حمایت‌های مالی این پژوهش تشکر می‌کنیم.

## منابع

1- Atri, M. (1999). A new concept of ecological factors and their division in vegetation studies. J IJB. 8:61-73.

2- Atri, M. (2006) Study on interspecific variation using D.S.S method. 1st National Congress of Plant Systematic, Tehran, Iran (in Persian).

3- Atri, M,. Chehregani, A. and Yousefi, S. ( 2012). Study of floristic-ecologic diversity and electrophoresis pattern of seed storage proteins in *Artemisia spicigera* L. in the North-West of Iran using D.S.S. method. Journal of Plant Biology. 12:37-50.

4- Bendall, G.M. ( 1973 ). The control of slender thistle, *Carduus pycnocephalus* L. and *C. tenuiflorus* Curt. (Compositae), in pasture by grazing management. Australian Journal of Agricultural Research 24:327-332.

5- Brenchley,W.E., and Warington K.(1945).The influence of periodic following on prevalence of viable weed seeds in arable soil .An .Appl.Biol.32:285-296.

6- Briane, J.P. (1995). Cours Et TP Du Traitment Des Donnees Phytosociologique Sur Microordinateures Compatibles IBM-PC. Laboratory System Ecology Veg. Irsay University, Paris, France.

7- Cain, S.A.O. and Castro, G.M. (1959). Manual of vegetation analysis. Harper and Brothers, New York.

8- Chehregani Rad, A., Atri, M. and Yousefi, S. (2011). Study of intraspecific diversity of *Artemisia incana* (L.) Druce in East Azerbaijan. Journal of Cell and Tissue 2(3): 245-256 (in Persian).

9- Crawford, D. J. (1983) Phylogenetic and systematic inferences from electerophoresis studies. In: Isozymes in plant genetics and breeding, Part A. (Eds. Tanksley, S. D. and Orton, T. J.) 23: 257-287. Elsevier, Amsterdam.

10- Eshghi Malayeri, B. Jalali Moghim, F. and Chehregani Rad, A. ( 2015 ) . A study of floristic-ecologic diversity and electrophoresis pattern of seed storage proteins in *Verbascum speciosum* in the West and North-West of Iran . Taxonomy and Biosystematics . No. 25, 69-82.

11- Gray ,A. (1879).The predominance and pertinacity of weeds.Am.F.Sci.118:161-167.

12- Harborn, J.B. and Turner, B. L. (1984). Plant Chemosystematic. Academic Press, London. pp: 562.

13- Heidarian, M,. Masoumi, S.M. and Atri, M. (2015).Ecological Study of *Carduus pycnocephalus* L.Weed and Associated Species in Hamedan Province, Iran. Journal of Advances in Biology & Biotechnology. JABB. 2(1): 71-78.

14- Holm, L. G. (1978). Some characteristic of weed problems in two worlds .Proc.West.Soc.Weed sci.,pp.3-12.

15- Hussain, A. and Mahmood, S. (2004).Response Flexibility in Trifolium alexandrinum L. A Phenomenon of Adaptation to Spatial and Temporal Disturbed Habitet. Journal of Biological Sciences, 4(3): 380-385.

16- Moazen, F. (2009). Intraspesific diversity study of *Tanacetum parthenium* Schultz Bip. L. In Hamedan Province by D.S.S Method. M.Sc. Thesis. Bu-Ali Sina University. Faculty of Science.Hamedan .Iran.

17- Olivieri, I. ( 1985 ) . Comparative electrophoretic studies of *Carduus pycnocephalus* L., *C. tenuiflorus* Curt. (Asteraceae), and their hybrids. American of Botany .72:715-718

18- Remaley, T. (2004). Musk thistle *Carduus nutans* L. Aster family (Asteraceae). The Plant Conservation Alliance's Alien Plant Working Group. Available: http://www.nps.gov/plants/ alien/fact/canu1.html .

19- Salehi, H . Chehragani Rad, A . Atri, M. and Mohsenzadeh F. (2013 ) . A study of biodiversity using DSS method and seed storage protein comparison of populations in two species of *Achillea* L. in the west of Iran. Taxonomy and Biosystematics . No. 16, 55- 68.

20- Sarmadi, J. (2008). Intraspesific diversity study of *Tanacetum polycephalum* L. In Hamedan Province by D.S.S Method. M.Sc. Thesis. Bu-Ali Sina University. Faculty of Science. Hamedan. Iran.

21- Thomas, L.D. (1956). Mans role in changing the face of the earth.An international symposium under the co-chairmanship of C.sauer,M .Bates, and L. Mumford. Sponsored by the Wenner – Gren foundation for anthropological research.University of Chicago press ,Chicago.

22- USDA. (2010). The Plants Database. National Plant Data Center, Natural Resources Conservation Service, United States Department of Agriculture. Baton Rouge, LA. http://plants.usda.gov.

23- Wardle, D.A., Nicholson, K.S. and Rahman,A. (1993). Influence of plant age on the allelopathic potential of nodding thistle (*Carduus nutans* L.) against pasture grasses and legumes. Weed Research 33: 69-78.

24- Warwick, S.I., Bain, J.F., Wheatcroft, R. and Thompson, B.K. ( 1989) . Hybridization and introgression in *Carduus nutans* and *C. acanthoides* reexamined. Systematic botany . 14: 476 – 94.

# The Intraspesific Diversity Study Of *Carduus pycnocephalus* L. (Asteraceae) In Hamedan province(west of Iran) Based on floristic, ecologic and seed storage proteins markers

**Heidarian M.[1], Chehregani Rad A.K.[2] and Masoumi S.M.[3]**

**[1] Dept. of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, I.R. of Iran**

**[2] Dept. of Biology, Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran**

**[3] Dept. of Biology, Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, I.R. of Iran**

## Abstract

Composite family (Asteraceae) is one of the most diverse plant families adapted to the climatic conditions of Iran and widely dispersed so that some of them are known as weed. The aim of this investigation was the study of existing intraspecific diversity in the species *Carduus pycnocephalus* L. in Hamedan province using D.S.S (Determination of Special Station) method. In this order, 14 special stations were selected for *C. pycnocephalus*. The study of these stations showed the presence of 59 plant species as Associated species. Analysis of floristic (florisitic marker) and ecologic data cause to determination of 7 groups for this species, therefore showed the existence of intraspecific diversity in this species. Seed storage proteins electrophoresis was used for confirmation of intraspecific diversity in determined groups. Results were also in accordance with floristic and ecological groupments. The results of this study clearly showed that D.S.S method were able to determine level and and kind of intraspecific diversity in the plant species, including aggressive plants, that are important in the agriculture and environment.

**Key words:** Intraspecific Diversity, Special Station, Seed storage proteins, Weeds, Asteraceae