

مطالعه تاکسونومیکی هفت گونه از جنس *Verbascum L.* (Scrophulariaceae) بر

## اساس داده‌های مولکولی و ریخت‌شناسی در ایران

نیره اولنج<sup>۱\*</sup>، ثمینه نوری<sup>۱</sup>، فاطمه حیدری<sup>۲</sup> و زینب شریعتمداری<sup>۲</sup><sup>۱</sup> ایران، همدان، دانشگاه ملایر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی<sup>۲</sup> ایران، تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فناوری زیستی

تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۲۷

تاریخ دریافت: ۹۹/۳/۸

## چکیده

بمنظور ارزیابی سیستماتیک برپایه داده‌های ریخت‌شناسی کمی و کیفی، ۱۵ جمعیت از هفت گونه‌ی جنس *Verbascum L.* (Scrophulariaceae) در ایران، انتخاب و بازسازی روابط خویشاوندی بر اساس داده‌های مولکولی (nrDNA ITS) انجام شد. نتایج ریخت‌شناسی، پلی‌مورفیسم بالایی را درون و بین جمعیت‌های هر گونه و بین گونه‌های این جنس نشان داد. داده‌های مولکولی نیز تنها توانست جدایی گونه‌های با پراکنش محدود را مشخص کند. حضور جمعیت‌های مختلف *V. pseudodigitalis* با دامنه پراکنش وسیع (استان کرمانشاه تا استان فارس) در قسمت‌های مختلف درخت فیلوژنی و ما بین سایر گونه‌های جنس نشان‌دهنده تغییر پذیری صفات و سازگاری گیاه با شرایط اکولوژیکی مختلف است. لازم به ذکر است که طبقه‌بندی‌هایی که تاکنون ارائه شده است، قادر به جداسازی گونه‌های این جنس از یکدیگر نبوده است، که علت این پدیده را می‌توان در فراوانی آنیوپلوئیدی، پلی‌پلوئیدی، درصد بالای پلی‌مورفیسم و دورگ‌گیری گونه‌های جنس مورد مطالعه دانست.

واژه‌های کلیدی: پلی‌مورفیسم، دورگ‌گیری، ریخت‌شناسی، *Verbascum L.*, nrDNA ITS

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱۳۲۳۵۵۳۳۸، پست الکترونیکی: n.olanj60@gmail.com

## مقدمه

در گذشته دو جنس *Verbascum* و *Celsia* به‌همراه چند جنس کوچک دیگر بر اساس ویژگی‌هایی نظیر تعداد پرچم و پوشش کرکی از یکدیگر جدا شده بودند، اما امروزه این جنس‌ها با یکدیگر ادغام شده‌اند و در قالب جنسی واحد با عنوان *Verbascum* در نظر گرفته شده‌اند. مرکز اصلی تنوع این جنس کشور ترکیه است [11، 16، 24] و در کشور-های ایران، عراق و پاکستان نیز تنوع چشم‌گیری دارد [17، 18، 37]. گل ماهور (*Verbascum*) در ایران دارای ۴۵ گونه است که اخیراً نیز گونه‌های جدیدی از آن به تاکسون‌های معرفی شده پیشین افزوده شده است [33، 38]. از میان گونه‌های گزارش شده از کشور ایران، ۲۰ گونه (۴۷/۷٪)

بر اساس سیستم APG IV، تیره Scrophulariaceae با بیش از ۵۸۵۱ گونه و 316 جنس، پرگونه‌ترین تیره راسته Lamiales بشمار می‌آید. تاکنون دانشمندان زیادی به بررسی مشکلات سیستماتیک این تیره پرداخته‌اند و بر اساس تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک مولکولی با کمک مارکرهایی نظیر *rbcL* و *ndhF* چندنیایی بودن این تیره را تأیید نموده‌اند [4، 15، 30، 42]. گیاهان این تیره در اغلب نواحی کره زمین پراکنش دارند. البته جنس‌های بزرگ این تیره نظیر *Verbascum L.* و *Scrophularia L.* که کلاد خواهری یکدیگر نیز در نظر گرفته می‌شوند، بیشتر در نواحی سرد و معتدل شمالی پراکنده‌اند [5، 30].

متعلق به گونه‌های دارای گل‌های منفرد است و نمونه‌های اکتباس شده از بانک ژن متعلق به گونه‌های پنج پرچمی از زیربخش *Fasciculata* (*V. dentifolium*, *V. gossypinum*) و چهار پرچمی تیپ سلزیایی (*V. arcturus*) از گروه *Mesantherea* می‌باشند.

بررسی‌های ریخت‌شناسی و فیلوژنتیک: بمنظور مطالعه ریخت‌شناسی حدود ۱۲۰ نمونه از ۶ گونه متعلق به جنس گل‌ماهور (نمونه‌های جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی و نمونه‌های هرباریومی) مورد بررسی قرار گرفتند و با استفاده از مجموعه‌های فلورها، کار شناسایی گونه‌ها بصورت دقیق انجام شد. ۱۲۳ ویژگی ریخت‌شناسی رویشی و زایشی انتخاب و آنالیزها بر پایه مهم‌ترین ویژگی‌های متغیر که شامل ۹۳ ویژگی بود، انجام شد. بمنظور انجام آنالیزهای آماری چندمتغیره، ویژگی‌های کیفی بصورت دو یا چندحالتی کدگذاری شدند و برای ویژگی‌های کمی، میانگین اندازه‌گیری‌ها در افراد استفاده شد. در نهایت داده‌ها در نرم‌افزار Xcell وارد و سپس آنالیز خوشه‌ای با نرم‌افزار PAST 3.14 انجام گرفت. برای تعیین قرابت گونه‌ها نمودار PCOA (با ضرایب Average Distance or Euclidean) ارائه‌گردید و در نهایت از میان دندروگرام‌های حاصل، بهترین دندروگرام انتخاب و تحلیل نهایی صورت گرفت.

امروزه بررسی و مشخص کردن توالی DNA از ابزارهای مهم مطالعات فیلوژنتیک بشمار می‌آید. داده‌های توالی ITS ژنوم هسته‌ای برای بررسی روابط بین جنس و همچنین روابط درون جنس در نهاندانگان بسیار مفید است [3]. در این بررسی مطالعه فیلوژنی مولکولی گونه‌هایی از جنس *Verbascum* بر اساس توالی‌های DNA ناحیه ژنی ITS، با هدف تعیین حدود گونه‌ها صورت گرفت (شکل ۱). به این منظور، ماتریس داده‌ها با تعداد ۲۲ درون گروه از جنس *Verbascum*، که ۱۵ جمعیت از آنها متعلق به این مطالعه و مابقی از توالی‌های ITS موجود در بانک ژن

اندیمیک بوده و در اغلب نقاط، به جز منطقه رویشی نوبو-سندی، و بویژه در استان‌های شمال غربی (۴۸٪ گونه‌ها) پراکنش دارد [36]. دورگ‌گیری در این جنس بوفور مشاهده می‌شود، بطوری‌که چهار گونه‌ی دورگ در ایران [17] و بالغ بر ۱۲۹ گونه در ترکیه شناسایی شده و اخیراً حدوداً ۸ گونه جدید، ۶ گونه دورگ و ۵ گونه گزارش جدید به این لیست افزوده شده است [10، 16، 19، 20، 31، 40، 43].

بدلیل ارائه طبقه‌بندی‌های متفاوت برای جنس *Verbascum* و مشخص نبودن محدوده دقیق گونه‌ها در این جنس، پژوهش حاضر با اهدافی نظیر شناسایی دقیق‌تر گونه‌ها، تعیین محدوده گونه‌ها و روشن شدن برخی ابهامات تاکسونومیک و کمک به ارائه سیستم طبقه‌بندی کارآمدتر انجام شد. در این مطالعه با اکتباس از کار موربک [25، 26، 27، 28] (بدلیل کامل بودن تقسیم‌بندی وی در بین رده‌بندی‌های فلورستیک ارائه شده) برخی جمعیت‌های گونه‌های گل منفرد گل‌ماهور بررسی شد، و بمنظور نشان دادن دامنه وسیع تنوع صفات بین جمعیت‌های یک گونه (با پراکنش وسیع) بررسی فیلوژنتیک درون گونه‌ای *V. pseudodigitalis* صورت گرفت. همچنین با استفاده از نشانگر مولکولی nrITS روابط فیلوژنی جنس مطالعه شد و نتایج حاصل با نتایج حاصل از مطالعات مولکولی و ریخت‌شناسی انجام شده توسط سایر محققین مقایسه شد.

## مواد و روشها

بمنظور تدوین سیستم‌های رده‌بندی و پیگیری خطوط خویشاوندی جنس *Verbascum*، ۱۵ جمعیت از هفت گونه متعلق به این جنس پس از شناسایی با استفاده از خصوصیات ریخت‌شناسی مورد مطالعه قرار گرفتند (جدول ۱). لازم به ذکر است که در این مطالعه، شناسایی ریخت‌شناسی تاکسون‌ها با استفاده از فلورها [7، 11، 12، 17، 32] و کتاب‌های مرجع مرتبط [23، 25، 26، 27، 28] انجام گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده در این مطالعه

NCBI است، به‌همراه 7 گروه خواهری از جنس

*Scrophularia* و ۲ گروه خواهری از جنس *Manulea*

در نظر گرفته شدند.

جدول ۱- اطلاعات مربوط به نمونه‌های مطالعه‌شده (BASU: هرباریوم دانشگاه بوعلی سینا)

تاریخ	آدرس	ارتفاع (متر)	جمع آوری کننده	شماره محل جمع آوری	شماره هرباریومی	گونه
۲۰۱۴/۰۴/۰۴	مازندران: رامسر، ۲۰ کیلومتر به جواهرده	۱۱۹۹	رنجبر-نوری	۲۷	۳۷۱۶۹	<i>V. punalense</i>
۲۰۱۴/۰۵/۱۲	آذربایجان: شرقی: کلپیر	۱۶۴۸	رنجبر-نوری	۳۵	۳۴۲۰۶	<i>V. oreophilum</i>
۲۰۱۵/۰۳/۱۴	کرمانشاه: سومار به طرف سرتنگ بیجار	۴۲۵	رنجبر-نوری	۸	۳۷۵۰۶	<i>V. assurense</i>
۲۰۱۴/۰۴/۱۸	کرمانشاه: نفت شهر	۳۴۰	رنجبر-نوری	۳۸	۳۵۳۸۸	<i>V. alepense</i>
۲۰۱۳/۰۱/۰۹	مرکزی: مسیر جاده همدان بطرف ساوه	۲۰۱۰	رنجبر-نوری	۵	۳۳۳۴۴	<i>V. sp</i>
۲۰۱۴/۰۳/۲۹	همدان: روستای دره مراد بیگ	۲۱۳۰	نوری	۱۶	۳۶۹۳۰	<i>V. nudicaule</i>
۲۰۱۳	کرمانشاه: در ۴۸ کیلومتری شهر سومار	۱۰۰۰	رنجبر-نوری	۴۱	۳۴۴۴۸	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>
۲۰۱۳/۰۵/۲۷	لرستان: دورود به سپید دشت، ۲۵ کیلومتر به بیشه	۱۸۱۸	رنجبر-نوری	۲۹	۳۳۶۷۹	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>
۲۰۱۴/۰۵/۰۳	خوزستان: اندیمشک، اطراف دریاچه کرخه (چم‌شلان)	۷۳۰	رنجبر-نوری	۳۲	۳۶۰۲۱	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>
۲۰۱۴/۰۵/۰۱	خوزستان: منطقه حفاظت شده شیم بار	۸۲۲	رنجبر-نوری	۱	۳۷۱۸۴	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>
۲۰۱۴/۰۵/۰۱	خوزستان: قلعه خواجه به شهرکرد، اطراف قلعه خواجه	۸۰۰	رنجبر-نوری	۱۱	۳۷۲۱۱	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>
۲۰۱۴/۰۳/۲۹	فارس: شیراز، پاسارگاد، سعادت شهر	۱۷۳۰	رنجبر-نوری	۳۶	۳۵۷۷۹	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>
۲۰۱۴/۰۳/۲۹	فارس: شیراز، پاسارگاد، سعادت شهر	۱۷۳۰	رنجبر-نوری	۳۳	۳۷۲۲۱	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>pseudodigitalis</i>
۲۰۱۲/۰۵/۰۳	کرمانشاه: پاوه به باینگان ۵ کیلومتر به باینگان	۱۵۲۵	رنجبر-نوری	۴۲	۲۹۹۴۱	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>pseudodigitalis</i>
۲۰۱۵	کرمانشاه: نوسود-پاوه	۷۱۹	رنجبر-نوری	۳۹	۳۷۵۰۹	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>pseudodigitalis</i>

Applex (France) و با ولتاژ ۸۰ ولت بمدت ۳۰ دقیقه انجام شد. در نهایت بررسی و عکس‌برداری از ژل با کمک دستگاه ژل داگ (Bio) Gel Documentation System (Rad) صورت گرفت و محصولات PCR تک باند قوی، جهت تعیین توالی مورد استفاده قرار گرفتند. تعیین توالی محصولات‌های واکنش، توسط شرکت پیشگام انجام شد و توالی‌های ژنی بدست آمده در بانک ژن ثبت گردید (جدول ۲). توالی‌های حاصل توسط برنامه BioEdit ویرایش و با کمک MUSCLE هم‌ردیف‌سازی شدند. بمنظور آنالیز داده‌های مولکولی، ماتریس داده‌های هم‌ردیف‌سازی شده، به سه روش بیشینه صرفه‌جویی Maximum Parsimony-MP، با استفاده از نرم‌افزار PAUP\* 4.b10 [35]، بیشینه درست‌نمایی (Maximum Likelihood-ML)، با استفاده از نرم‌افزار raxmlGUI، و روش استنباطی بیزین (Bayesian-BI)، با کمک نرم‌افزار MrBayes ver. 3.12 [41] و با الگوریتم متروپولیس

جهت استخراج DNA از نمونه‌های هرباریومی، ازکیت استخراج ژنوم گیاهی شرکت کیاژن آلمان (DNeasy Plant mini kit) استفاده شد. به این منظور، حدود ۲۰ میلی‌گرم از برگ خشک هر نمونه توسط ازت مایع بخوبی آسیاب و پس از اضافه نمودن RNase به هر نمونه و لیز شدن سلول‌ها، نمونه‌ها سانتریفیوژ شدند. سپس بافرهای تعیین شده به آن اضافه شده و چندین بار سانتریفیوژ گردید. پس از طی مراحل استخراج، DNA استخراج شده برای ادامه آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت. سپس واکنش‌های تکثیر PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و توسط دستگاه ترموسایکلر مدل TECHNE TC-3000 انجام شد. کلیه بافرها و محلول‌های استفاده شده در واکنش تکثیر PCR از شرکت سینازن تهیه گردید. برای اطمینان از کیفیت محصول واکنش، محصول PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز ۰/۸ درصد مورد بررسی قرار گرفت. الکتروفورز محصول با استفاده از دستگاه الکتروفورز مدل

کاپلد مارکوف چین مونت کارلو (MCMCMC) آنالیز اساس سه روش مختلف بوده و درخت اصلی بر اساس شدند. درخت حاضر انعکاس دهنده میزان وابستگی بر روش Bayesian رسم شده است.

جدول ۲- لیست گونه‌های استفاده شده در آنالیزها و کد ثبت ژن مربوط به آنها در بانک ژن

کد بانک ژن	نام گونه	شماره محل جمع آوری
MT303959	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>	1
MT303957	<i>V. sp</i>	5
MT303960	<i>V. assurense</i>	8
MT303958	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>	11
MT303961	<i>V. nudicaule</i>	16
MT303971	<i>V. punalense</i>	27
MT303970	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>	29
MT303969	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>	32
MT303968	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>pseudodigitalis</i>	33
MT303967	<i>V. oreophilum</i>	35
MT303966	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>	36
MT303965	<i>V. alepense</i>	38
MT303964	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>pseudodigitalis</i>	39
MT303963	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>phoenicandrum</i>	41
MT303962	<i>V. pseudodigitalis</i> var. <i>pseudodigitalis</i>	42

### بحث و نتیجه گیری

*V. alepense*، *V. oreophilum*، *V. laetum arbelense*  
*V. punalense*، *V. saccatum aureiforme*  
*V. pyramidatum*، *V. alceoides pseudodigitalis*  
*aureum* در ایران پراکنش دارند که در مطالعه حاضر، به بررسی پنج گونه (۱۵ جمعیت) از آنها پرداخته شد.

بررسی مولکولی نه جمعیت از واریته‌های گونه *V. pseudodigitalis* شامل سه جمعیت متعلق به *V. pseudodigitalis* var. *pseudodigitalis* Murb. (استان-های کرمانشاه و فارس) و شش جمعیت متعلق به *V. pseudodigitalis* var. *phoenicandrum* Murb. (استان-های کرمانشاه، لرستان، خوزستان و فارس) انجام گرفت و درخت فیلوژنتیکی حاصل از آنالیز داده‌های توالی‌های nrDNA ITS رسم شد (شکل ۱). تعداد کارکترها مورد آنالیز ۴۴۲ عدد می‌باشد،  $CI = 0.684$ ،  $HI = 0.315$ ،  $RI = 0.852$  و  $CI = 0.315$ ،  $HI = 0.852$  و  $RI = 0.315$  است. گونه *V. pseudodigitalis* توسط نابلیک (۱۹۱۰)، از منطقه ریجاب، در نزدیکی قصر شیرین جمع شده بود و شرح کاملی بر آن نگاشته شده بود، سپس موربیک [27] در تک‌نگاره گل‌ماهور شرح کاملی

برای اولین بار لینه [23] دو جنس *Verbascum* (با ۵ پرچم) و *Celsia* (با چهار پرچم) را معرفی کرد. سپس کونتز [22] با تأکید بر ناپایداری صفت تعداد پرچم، این دو جنس را با یکدیگر ادغام نمود و در نهایت موربیک [27] با تبعیت از کونتز، ادغام دو جنس را انجام داد و بعدها سایر محققین از جمله فرگوسن [13] و هوبرمرات [16، 17] از این ایده پیروی کردند. موربیک بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی دانه، جنس *Verbascum* را به دو بخش *Buthrospermae* Murb. و *Aulacospermae* Murb. تقسیم‌بندی نمود. وی برای بخش *Butrospermae* دو زیر-بخش *Singuliflora* Murb. (با گل‌های منفرد و اغلب با دمگل بلند) و *Fasciculata* Murb. (با گل‌های دسته‌ای و مجتمع در محور هر براکته و اغلب با دمگل‌های کوتاه) را معرفی کرد و زیربخش *Singuliflora* بر اساس نوع کرک به سه گروه *Adenotrichae*، *Cladotrichae* و *Holotricha* تقسیم‌بندی شد. از گروه *Cladotricha* (دارای گل‌های منفرد در محل گره همراه با کرک ستاره‌ای و خوشه‌ای منشعب) گونه‌های *V. kochiiforme*، *V.*

نام خودکار *V. pseudodigitalis* var. *pseudodigitalis* را برای واریته *chrysandrum* در نظر گرفت. بهرحال هوپر-مرات نیز، *V. alceoides* را مختص به عراق تا حداکثر مناطق غربی استان‌های کرمانشاه و کردستان در نظر گرفت و سایر جمعیت‌های دارای کرک پرچم ارغوانی-بنفش در ایران را واریته *phoenicandrum* نامید. در این مطالعه *V. pseudodigitalis* بعنوان نماینده‌ی جنس، جهت نشان دادن درصد چشم‌گیر تنوع (بعلت پراکندگی وسیع جمعیت‌های این گونه)، حضور پدیده پلی‌مورفیسم، دورگ‌گیری، ناپایداری صفات، تنوع گونه‌ای بسیار چشم‌گیر و تغییرپذیری شدید صفات در این جنس انتخاب شد. استان خوزستان متنوع‌ترین استان مورد بررسی از نظر تیپ‌های مختلف واریته *phoenicandrum* شناخته شد. تنوع میان افراد جمعیت بحدی است که تصمیم‌گیری درباره اینکه آیا تفاوت ظاهری افراد، شکل‌های مختلف این واریته است یا خود به تنهایی واریته مجزایی را تشکیل می‌دهد، دشوار می‌سازد. در استان خوزستان سه جمعیت (۳۲، او ۱۱) از واریته *phoenicandrum* مطالعه شد. افراد جمعیت شماره ۳۲ دارای دو فرم برگی: شامل برگ‌های پهن، ضخیم، تیره و بزرگ و دیگری نازک، روشن و کوچک می‌باشند. تنوع در سایر ویژگی‌ها نیز بحدی است که حتی با اغماض نتوان آن‌ها را در یک گروه قرار داد. افراد جمعیت شماره ۱ (جدول ۱)، با داشتن برگ‌های پهن و نازک و ساقه استولون مانند، از نمونه تیپ این واریته متمایز می‌شوند. هم‌چنین افراد جمعیت شماره ۱۱ (جدول ۱) با داشتن برگ‌های کرک سفید، نازک، کوچک و با حاشیه کنگره‌ای ریز هم‌چنان تفاوت‌هایی با نمونه تیپ دارند. از طرفی اعداد پایه کروموزومی (۹، ۸ و ۱۷)، تعداد کروموزوم هاپلوئید (۲۷، ۲۴، ۱۸، ۱۷، ۱۶،  $n$ ) و سطوح پلوئیدی (دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید) مختلف در مطالعات نوری و رنجبر [29] از این استان گزارش شده است. صفات مشابه (بخصوص در مورد برگ) در میان جمعیت‌های تتراپلوئید و یا جمعیت‌های هگزاپلوئیدی که

برای *V. alceoides* (که اولین بار توسط بواسیه و هاسکنخت [7] در فلور مشرق زمین، از عراق معرفی شده و شرحی بر آن نگاشته شده بود) نوشت و گونه *V. pseudodigitalis* را ذیل توضیحات آن ذکر کرد ولی شرحی بر آن نوشت و تنها به این جمله بسنده کرد که شباهت ریختی این دو گونه کاملاً واضح و تنها کرک‌های زرد متمایل به سفید پرچم برای جدایی گونه *V. pseudodigitalis* ارزشمند است. ویژگی تشخیصی گونه *V. alceoides* کرک ارغوانی-بنفش است، پرچم و اتصال بساک‌ها به میله بصورت میان‌چسب و نیمه‌مورب (suboblique) است. بعدها موربک [27] نوشته خود را اصلاح نمود و تنها گونه‌های واجد کرک ارغوانی-بنفش پرچم، که دارای اتصال بساک‌های جلویی به میله بصورت ممتد (یراق‌ساز) می‌باشند را بعنوان *V. alceoides* معرفی کرد. وی تمام مکان‌های جمع‌آوری در ایران که برای این گونه در تک‌نگاره خود [26] ذکر شده بود حذف و تنها گونه‌های عراق را بعنوان *V. alceoides* حفظ کرد و سایر مکان‌های جمع‌آوری در ایران را با اتصال بساک‌های جلویی به میله بصورت میان‌چسب و رنگ پرچم ارغوانی-بنفش تا زرد را تحت عنوان *V. pseudodigitalis* نام‌گذاری نمود. موربک [27] هم‌چنین شرح کاملی برای *V. pseudodigitalis* نوشت و آن را با رنگ کرک پرچم زرد-طلایی تا بنفش-ارغوانی و پنج پرچم همسان کلیوی و میان‌چسب معرفی نمود. وی برای این جنس، دو واریته *V. pseudodigitalis* var. *chrysandrum* Murb. (با رنگ پرچم زرد-طلایی، محدود به غرب ایران (کرمانشاه)) و *V. pseudodigitalis* var. *phoenicandrum* Murb. (با رنگ کرک پرچم ارغوانی-بنفش، بساک‌های کلیوی شکل بصورت میان‌چسب (medifix) که پراکنش آن از کرمانشاه تا فارس ادامه دارد) را معرفی کرد. در نهایت هوپرمرات [17] *V. alceoides* را با داشتن بساک‌های ممتد از *V. pseudodigitalis* مجزا ساخت و برای *V. pseudodigitalis*، هر دو واریته موربک را ذکر نمود و

فلورها از جمله فلورا ایرانیکا، تک‌نگاره‌های موربک و حتی فلور ترکیه به رنگ زرد مایل به سفید (ochroleucous) ذکر شده، اما در فلور ایران [37] به رنگ اخرازی گزارش شده است. بنظر می‌رسد اختلاف موجود، نتیجه اشکال در ترجمه واژه بوده و این مسئله نیاز به بررسی مجدد دارد. شاید بتوان گفت که نداشتن براکتول ویژگی ثابت و پایداری نبوده معیار مناسبی جهت جدایی این گونه نمی‌باشد، و احتمال دارد حالت‌های استثنا در نتیجه دورگیری حاصل شده باشند. مورد دیگر در جمعیت شماره ۴۱ (جدول ۱) از واریته *phoenicandrum* است که دارای براکتول می‌باشد و در ویژگی‌های شکل حاشیه برگ‌ها و نداشتن دمگل با گونه *V. saccatum* تفاوت دارد. بنابراین با توجه به فاصله جغرافیایی میان این جمعیت‌ها، حضور و عدم حضور براکتول ویژگی ناپایداری است. با توجه به این نکته بنظر می‌رسد جدایی *V. saccatum* و *V. pseudodigitalis* بر اساس کلیدهای ارائه شده توسط موربک [26]، هوبرمات [17] و شریف-نیا [37]، تنها با صفت داشتن و نداشتن براکتول قابل تامل است. نکته قابل توجه این است که باوجود نزدیکی محل پراکنش دو واریته در استان کرمانشاه، در محدوده واریته *pseudodigitalis* هیچ نمونه‌ی دارای رنگ کرک پرچم ارغوانی-بنفشی دیده نشد، در حالی که عکس این حالت در جمعیتی از استان فارس مشاهده شد. جمعیت‌هایی ۳۶ و ۳۳ در استان فارس با دو فرم مختلف (جدول ۱) (یکی با رنگ پرچم زرد و دیگری با رنگ پرچم ارغوانی-بنفش) کنار یکدیگر و در یک محل قرار گرفته‌اند و این مسئله تا حدودی نگاه ما را در ارتباط با معیار جدایی این دو واریته بر اساس رنگ کرک پرچم دچار تردید می‌کند. جمعیت شماره ۳۶ با داشتن رنگ کرک پرچم ارغوانی-بنفش و اتصال بساک‌ها بصورت مورب و پشت‌چسب، حالت حدواسطی را بین گونه‌های *V. pseudodigitalis* و *V. alceoides* به نمایش گذاشته، که البته بیشتر متمایل به حالت میان‌چسب بودند و بعلا

دارای اعداد پایه کروموزومی مختلف و تعداد کروموزوم-های هاپلوئید متفاوتند، مشاهده شد. با این توضیح می‌توان چنین نتیجه گرفت که سطوح پلوئیدی و آنیوپلوئیدی همیشه باعث تغییر اشکال رویشی نمی‌شوند و علت این اختلاف‌ها می‌تواند در پدیده‌هایی مانند موتاسیون‌ها یا تغییرات فنوتیپی باشد [۴۴].

در استان کرمانشاه هر دو واریته *V. pseudodigitalis* مشاهده شد. بر اساس مطالعه انجام شده بر ۶۰ جمعیت از گونه *V. pseudodigitalis* در ایران [29]، محدوده پراکنش *V. pseudodigitalis* var. *pseudodigitalis* تنها در غرب و شمال غرب کرمانشاه (در شهر پاوه و اطراف آن) است، که گاهی تا مناطق غربی کردستان نیز ادامه یافته و واریته *phoenicandrum* در سایر قسمت‌های استان پراکنش دارند. در این مطالعه ۳ جمعیت از این گونه در استان کرمانشاه بررسی شد. جمعیت شماره ۴۲ (جدول ۱) واریته *pseudodigitalis* از موارد تأمل‌برانگیز این گونه می‌باشد که از نظر کلی شباهت زیادی به سایر جمعیت‌های این محدوده دارد، با این تفاوت که دارای برگ‌های ظریف و یک تا دو عدد براکتول در پای هر گل است. بر اساس نظر موربک، افراد گونه *V. alceoides* و *V. pseudodigitalis* براکتول ندارند و افراد دارای این ویژگی گونه‌ای جدید به نام *V. saccatum* Koch. را بوجود می‌آورند. در واقع ویژگی حضور براکتول بقدری مهم است که در کارهای موربک [26]، بعنوان یک دندانه کلیدی در جدایی گونه‌های گروه *Cladotricha* بکار رفته است. تنها گونه براکتول‌دار موجود در ایران نیز گونه‌ی *V. saccatum* می‌باشد. تیپ این گونه از کشور ارمنستان جمع‌آوری شده و در ایران در استان آذربایجان، شهرهای خوی، سلماس و ارومیه پراکنش دارد. *V. saccatum* ویژگی‌های طول گیاه و دمبرگ، شکل حاشیه و نوک برگ-ها، طول گل‌آذین و دمگل و محل پراکنش جغرافیایی، با جمعیت مورد مطالعه ما تفاوت نشان می‌دهد. نکته دیگر رنگ کرک پرچم در گونه *V. saccatum* است، که در تمام

با استفاده از نشانگر مولکولی مشخص شد، هیچ نظمی در قرارگیری جمعیت‌های یک وارپته در کنار هم وجود ندارد، که این موضوع دور از ذهن نبود. اگر چه تا حدودی می‌توان نزدیکی جمعیت‌های کرمانشاه به یکدیگر و جمعیت‌های خوزستان به یکدیگر را در درخت فیلوژنی حاصل مشاهده نمود، با این حال جدایی جغرافیایی مطلق بر اساس محل رویش آن‌ها و حتی جدایی گونه *V. pseudodigitalis* از سایر گونه‌ها وجود ندارد. این آشفتگی تا بحدی است که حتی افراد موجود در یک محل، که در قالب دو وارپته مختلف معرفی شده‌اند، در درخت ارائه شده نیز در دو کلاد مجزا و با فاصله از یکدیگر قرار گرفته‌اند (جمعیت ۳۶ و جمعیت ۳۳) (شکل ۱). این اغتشاش را می‌توان بدلیل بالا بودن سرعت تغییرپذیری صفات دانست. در نهایت با توجه به شباهت‌های موجود بین دو گونه *V. pseudodigitalis* و *V. alceoides* باید اظهار داشت که بر اساس سایر مطالعات مولکولی این دو گونه در کلادهای مجاور یکدیگر و گونه *V. saccatum* نیز در کلاد مجاور این دو گونه قرار می‌گیرد، که بیانگر شباهت این گونه‌ها به یکدیگر است [۱، ۱۴، 39].

در ارتباط با سایر گونه‌های بررسی شده نیز، همان‌طور که پیش از این ذکر شد زیربخش *Singuliflora* بر اساس نوع و آرایش کرک، به سه گروه *Cladotrichae*، *Adenotrichae* (*V. macrocarpum*, *V. blattaria*) و *Holotrichae* (*V. phoeniceum*) تقسیم شدند. گروه‌هایی نیز بر اساس شکل بساک توسط موربک در زیربخش *Fasciculata* تعریف شد (*V. sinuatum*, *V. gossypinum*, *V. sublobatum*, *V. erianthum*، *V. dentifolium*)، وی هم‌چنین گونه‌های دارای چهار پرچم (*Celsia*) را به دو بخش (موازی مشابه پنج پرچمی‌ها) تقسیم‌بندی نمود و دو زیربخش *Nefflea* Murb. (با بساک‌های کلیوی و عرضی) و *Arcturus* Murb. (با بساک‌های جلویی مستطیلی تا خطی و تقریباً ممتد) را برای بخش *Bothrospermeae* در نظر گرفت. موربک زیربخش *Nefflea* را براساس نوع و

نزدیکی به محل تیپ وارپته *phoenicandrum* به این نام در نظر گرفته شد. اما نکته جالب توجه در مورد افراد جمعیت شماره ۳۳ است که با ظاهری زرد فام، دارای رنگ پرچم زرد-طلایی نیز بودند، این رنگ پرچم در این محل با فاصله بیشتر از ۱۰۰۰ کیلومتر با وارپته *pseudodigitalis* قابل انتظار نبود، چرا که تاکنون دامنه گسترش وارپته در استان کرمانشاه حداکثر تا مناطق جنوبی کردستان گزارش شده‌است. همچنین این دو جمعیت با ویژگی‌هایی نظیر رنگ قاعده ساقه، حاشیه برگ‌ها، طول براکته، قطر جام و رنگ کرک پرچم و میله از یکدیگر متمایز شده‌اند. در نتیجه می‌توان گفت که با توجه به توانایی این گیاه جهت سازش و تغییرپذیری، صفت رنگ کرک پرچم نیز می‌تواند تغییر کند، که این امر مشکلاتی را برای جدایی دو وارپته بوجود می‌آورد. شاید بهتر باشد در این جنس (مشابه کاری که در فلور ترکیه صورت گرفته)، بجای معرفی گونه‌ها و وارپته‌های مختلف، به دنبال معرفی دورگ‌ها و یا فرم‌های مختلف بود. از طرفی با توجه به وجود تنها یک استثناء در بین ۶۰ جمعیت [29]، شاید بتوان جدایی دو وارپته براساس رنگ کرک پرچم و پایداری این صفت را بپذیریم. این پایداری در ویژگی نحوه اتصال بساک به میله، که صفت جداکننده دو گونه *V. alceoides* و *V. pseudodigitalis* بود، مشاهده نمی‌شود و حالات حد-واسط اتصال بساک به میله بطور بی‌نظم در بین جمعیت‌ها مشاهده می‌شود. این مسئله، این تصور را ایجاد می‌کند که یا اغلب جمعیت‌های ایران دورگ‌هایی از دو گونه *V. pseudodigitalis* و *V. alceoides* می‌باشند و یا شکل اتصال بساک‌ها، ویژگی ثابت و پایداری جهت جدایی دو گونه نبوده است و همانند ویژگی رنگ و اندازه برگ، اشکال مختلف دانه و ویژگی دانه گرده دستخوش تغییر شده‌است [۲۹]. در نهایت به غیر از تفاوت در رنگ کرک پرچم، هیچ‌گونه جدایی ریختی مشخصی میان جمعیت‌های دو وارپته مشاهده نشد و تمامی ویژگی‌های رویشی مطالعه شده در این گونه دامنه‌ای از تغییرات را نشان دادند.

دانه و آناتومی نیز نتوانسته رده‌بندی مناسبی برای این جنس ارائه دهد [۲، ۹، ۲۱]. قهرمانی‌نژاد بیان کرد تاکنون هیچ‌یک از طبقه‌بندی‌های ارائه شده با مطالعه انجام شده توسط وی هم‌خوانی نداشته و نبود طبقه‌بندی طبیعی برای این جنس هم‌چنان پابرجاست. بنظر می‌رسد عدم هم‌خوانی مطالعات مولکولی انجام شده بدلیل استفاده از تعداد نمونه‌های اندک، تفاوت‌های شدید درون گونه‌ای و تنوع و تغییرپذیری صفات در جمعیت‌های این جنس می‌باشد، بطوری‌که بسته به انتخاب مکان جمعیت‌ها و گاه افراد یک جمعیت درخت‌های مختلفی خواهیم داشت، که این امر در مورد گونه‌هایی با پراکنش وسیع محسوس‌تر است.

قرارگیری *V. punalense* (با پنج پرچم) در کنار *V. oreophilum* (با چهار پرچم) در این مطالعه هم‌خوان با نتایج مولکولی ارائه شده توسط ستوده و همکاران [۳۹] است (شکل ۱). نزدیکی این دو گونه به یکدیگر بر اساس دو مطالعه انجام شده، می‌تواند بدلیل جمع‌آوری نمونه‌ها از مناطق نزدیک به هم باشد. لازم به ذکر است که *V. punalense* در این مطالعه از رامسر و در بررسی ستوده از تنکابن (شهرسوار) و هر دو جمعیت *V. oreophilum* در این دو مطالعه از کلیبر جمع‌آوری شده است. این نکته لازم به ذکر است که محدودده پراکنش این گونه‌ها منطقه هیرکانی می‌باشد و بدلیل وابستگی آن‌ها به شرایط آب و هوایی مرطوب فرصت زیادی برای خوپذیری و سازش با محیط‌های دیگر حاصل نشده است، به همین علت در جمعیت‌های مختلف آن‌ها مانند گونه *V. pseudodigitalis* تنوع درون گونه‌ای دیده نمی‌شود.

برعکس حالت فوق، با وجود اینکه گونه‌های *V. alepense* و *V. assurense* در این تحقیق و در مطالعات مولکولی دیگر [۱، ۳۹] از محدوده مرزی کرمانشاه- ایلام جمع‌آوری شده بودند (جدول ۱)، لکن در درخت فیلوژنی حاصل از این بررسی، این دو گونه با فاصله و در خوشه‌هایی متمایز قرار گرفتند (شکل ۱). این امر نشانگر آنست که اگرچه

آرایش کرک به دو گروه *Holotrichae* ( *V. suworowianum*, *V. farsistanicum*, *V. lyprocarpum*, *V. austroiranicum*, *V. straussii*, *V. nudicaule*, *V. agrimoniifolium*, *V. orientalis* ) و *Cladotrichae* و زیربخش *Arcturus* را بر اساس اندازه بساک، جام و تزئینات گل‌گاه جام به دو گروه *Mesanthrae* (*V. Arcturus*) و *Macrantherae* تقسیم‌بندی کرد.

بررسی این نکته که آیا گونه‌های دارای چهار پرچم (*Celsia*) از گونه‌های دارای پنج پرچم (*Verbascum*) مجزا هستند یا خیر، یکی از اهداف بررسی صورت گرفته است. امروزه دانشمندان با مشاهده متغیر بودن تعداد پرچم در این تاکسون‌ها به این باور رسیده‌اند که صفت چهار پرچمی هموپلازی است و ادغام این دو جنس توسط کونتر [22] صحیح می‌باشد. این نکته در این مطالعه نیز دیده شد، بطوری‌که مرز جداکننده‌ای بین گونه‌های دارای چهار پرچم (*V. gabrielea*, *V. oreophilum*, *V. arcturus*), با *V. kermanense*, *V. nudicaule*, *V. agrimoniifolium* گونه‌های دارای پنج پرچم (*V. alepense*, *V. dentifolium*) *punalense*, *V. pseudodigitalis*, *V. alceoides*, *V. gossypinum*, در درخت فیلوژنتیک وجود نداشت و حتی بر روی یک فرد حالات مختلف تعداد پرچم مشاهده شد.

امروزه محققین بمنظور ارائه طبقه‌بندی‌های طبیعی، به بررسی توالی‌های DNA در این جنس پرداخته و *Verbascum* را پارافیلتیک دانسته‌اند [۱۴، ۳۹]. با این حال بعلت پیچیدگی‌های موجود هم‌چنان حدود روابط بین گونه‌ای جنس در هاله‌ای از ابهام باقی مانده و نیاز به بررسی‌های بیشتر است. نقش درخت فیلوژنی بدست آمده ترسیم شده برپایه اطلاعات DNA تخمین صحیح هموپلازی صفات ریخت‌شناسی است، چراکه برخی صفات ریخت‌شناسی در سطوح بین گونه‌ای تکرارپذیر و مستقل هستند. تطابق صفات ریخت‌شناسی با درخت‌های فیلوژنی مشخص کرد، سیر تکامل *Verbascum* شامل بازگشت‌های تکرارشدنی، هم‌سویی و هم‌گرایی‌های تکاملی بوده است؛ بطوری‌که مطالعات ریزریخت‌شناسی



مثل *V. punalense* و *V. oreophilum*، *V. phoeniceum* با دارا بودن یک گل در محور براکته در بین چندگل‌ها قرار گرفتند، هم‌چنین گونه‌های تک‌گل *V. blattaria* و *V. orientalis* جدا از سایر تک‌گل‌ها و بعنوان کلاد خواهری سایر گونه‌های این جنس قرار گرفتند. در نهایت الهداتی و همکاران [۱] چندگل‌ها را در یک کلاد مجزا و مابین کلادهای تک‌گل قرار دادند. از آن‌جا که با مطالعات مولکولی که تاکنون انجام گرفته و با توجه به جدایی گونه‌ها توسط محققین پیشین [۱۱، ۱۳، ۱۷، ۲۷، ۳۷] با معیارهایی نظیر چندگل و تک‌گل بودن، نوع کرک، تعداد پرچم، شکل اتصال بساک‌ها و ظاهر کلی گیاه نمی‌توان به نتایج مشابهی رسید، بمنظور ارائه نظر قطعی در مورد جایگاه گونه‌های جنس نیازمند آنالیزهای مولکولی بیشتری می‌باشیم.

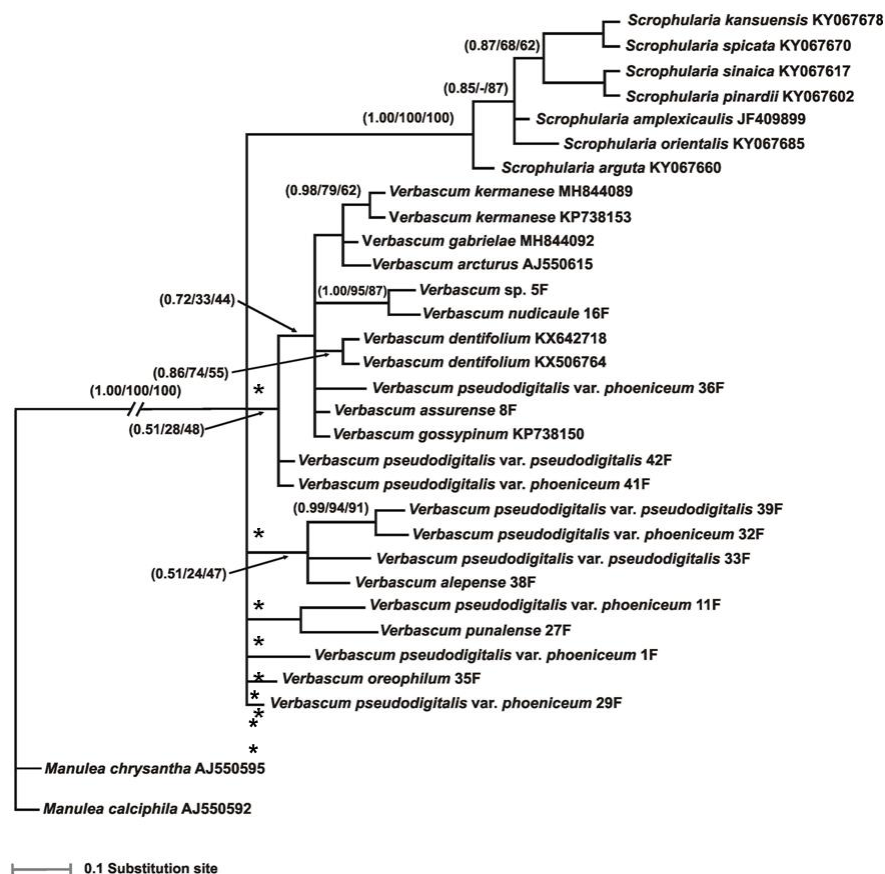
از جمله گونه‌های تیپ سلزیایی (دارای چهار پرچم بارور) که در تقسیم‌بندی‌های اولیه بعنوان جنسی مستقل در نظر گرفته می‌شدند، می‌توان به *V. suworowianum*، *V. arcturus*، *V. farsistanicum*، *V. lyprocarpum*، *V. straussii*، *V. nudicaule*، *V. austroiranicum*، *agrimoniifolium* اشاره کرد، که اغلب دارای بساک‌های کلیوی، کرک‌های ساده-فاقد کرک و گاه همراه با کرک‌های غده‌ای می‌باشند. در آنالیز مولکولی حاضر (شکل ۱) گونه *V. nudicaulis* (تک‌گل، فاقد کرک ستاره‌ای و دارای کرک غده‌ای با دارای چهار پرچم) متعلق به تیپ سلزیایی از بخش *Bothrospermae* زیر بخش *Nefflea* گروه *Holotricha* در کنار گونه جدید *V. sp.* (تک‌گل، دارای کرک ستاره‌ای منشعب، با چهار پرچم و یک گل در محور هر براکته) از بخش *Bothrospermae* زیربخش *Singuliflora* گروه *Adenotricha*، با بوت استراپ صد در یک کلاد قرار گرفتند. در این بررسی گونه‌های *V. arcturus* و *V. nudicaule* مابین گونه‌های چهار پرچمی تیپ ورباسکومی از گروه *Cladotricha* و پنج پرچمی تیپ ورباسکومی از بخش *Fasciculata* قرار گرفته‌اند (شکل

معیار جدایی جغرافیایی عامل مهمی در بروز تغییرات جدید در جمعیت‌های این جنس است، ولی دامنه تغییرات بحدی می‌باشد که بدون حضور جدایی جغرافیایی نیز می‌توان شاهد جدایی جمعیت‌ها در درخت فیلوژنی بود. نکته دیگر در مورد گونه‌های *V. assurense* و *V. oreophilum* تغییرپذیری و وجود صفاتی در آنهاست که متعلق به گروه‌های دیگر این جنس می‌باشد و سبب شده ویژگی‌های ظاهری آن‌ها آمیخته‌ای از صفات بین گروه‌های مختلف باشد و جایگاه مشخصی در رده‌بندی‌ها پیدا نکنند. برای مثال در صفت کرک مشابه گروه *Cladotricha* (از اعضاء تیپ ورباسکومی) ولی دارای چهار پرچم و گاه پیکره رویشی با ابعاد و اندازه‌های کوچک مشابه اعضاء تیپ سلزیایی گل‌ماهور دارند. آمیختگی این گونه‌ها بحدی است که موربک نیز نتوانست جایگاه مشخصی را در رده‌بندی برای آن‌ها بیابد و آن‌ها جزء هیچ گروهی قرار نگرفتند (مجموعه *Species excludendae*) [۲۷]. این تنوع صفات در درخت فیلوژنی نیز تأثیر گذاشت، بطوری‌که در مجموع مطالعات فیلوژنی که تاکنون انجام گرفته و در این مطالعه، *V. assurense* گاه در کنار اعضاء گروه *Cladotricha*، گاه *Fasciculata* و گاه *Nefflea* مشاهده می‌شود، هم‌چنین گونه *V. oreophilum* در کنار اعضاء گروه *Cladotricha* و *Fasciculata* مشاهده می‌شود و جایگاه ثابتی را به‌خود اختصاص نداده است (شکل ۱).

دو گونه دارای چند گل *V. gossypinum* و *V. dentifolium* در بین گونه‌های تک‌گل قرار گرفتند (شکل ۱)، که حاکی از مناسب نبودن انتخاب معیار تعداد گل در محور هر براکته جهت جدایی گونه‌ها توسط موربک [۲۶] است. این ادعا هم‌چنین در نتایج مطالعات سایر محققین نیز به چشم می‌خورد، بطوری‌که در مطالعه‌ای که توسط قهرمانی‌نژاد و همکاران [۱۴] صورت گرفت چندگل‌ها و تک‌گل‌ها بصورت پارافیلیتیک در چندین کلاد مجزا قرار گرفته‌اند. داده‌های مولکولی ستوده و همکاران [۳۹] نیز جدایی بین تک‌گل‌ها و چندگل‌های گل‌ماهور را نشان نداد و گونه‌هایی

بطورکلی باوجود آنیوپلوئیدی، پلی‌پلوئیدی، درصد بالای پلی‌مورفیسم و دورگ‌گیری‌های فراوان و بسته به این که محقق از کدام جمعیت پلی‌مورف و گاه دورگ در مطالعات مولکولی استفاده کرده باشد، نتایج مولکولی مختلفی حاصل می‌شود که اغلب یکدیگر را تایید نمی‌کنند [۱، ۹، ۲۰، ۳۴، ۳۹]. داده‌های حاصل از فیلوژنی با نتایج ریخت‌شناسی و ریزریخت‌شناسی کرک و دانه‌گرده نوری و رنجبر [۲۹] نیز مقایسه شد و مشخص گردید، *Verbascum* یک جنس ناهمگن بوده و بمنظور پی‌بردن به روابط تکاملی نیازمند بازنگری‌های دقیق‌تر، استفاده از داده‌های کلروپلاستی (داده‌های ژن کلروپلاستی IGS) و دیگر ژن‌های هسته‌ای می‌باشیم.

۱). با توجه به درخت فیلوژنی حاصل می‌توان گفت جدایی بر اساس معیار تعداد پرچم، نوع کرک و تیپ سلزیایی-ورباسکومی در این مجموعه مشاهده نشد. در مطالعات مولکولی دیگر نیز اغلب این گونه‌ها در کنار تک-گل‌های تیپ ورباسکومی گروه *Cladotricha* قرار گرفتند [۱۴، ۳۹] که در آنالیز ما نیز نزدیکی آن‌ها مشاهده گردید (شکل ۱). آنالیز ریخت‌شناسی نوری و رنجبر [۲۹] هم-چنین گونه *V. agrimoniifolium* را بر مبنای معیار کرک، حدواسط تیپ سلزیایی و ورباسکومی دانست. در مجموع، بر اساس آنالیز مولکولی حاضر شش کلاد عمده بدست آمد (شکل ۱، با ستاره مشخص شده است) و محدوده گونه‌های جنس هم‌چنان مبهم و نا مشخص باقی ماند.



شکل ۱- درخت فیلوژنتیکی حاصل از آنالیز داده‌های توالی‌های nrDNA ITS جنس *Verbascum* و برخی خویشاوندانش؛ اعداد روی شاخه‌ها بترتیب نشان‌دهنده Maximum Parsimony، Maximum Likelihood و Bayesian (BI/ML/MP) است؛ (درخت اصلی بر اساس روش Bayesian رسم شده است). نمونه‌های ژن بانک با شماره کد دسترسی در ژن بانک و نمونه‌های مطالعه شده با کد محل جمع‌آوری مشخص شده است.

## سپاسگزاری

دانشگاه ملایر برای حمایت مالی از پژوهش حاضر  
قدردانی می‌کند

نگارندگان مقاله حاضر از معاونت پژوهشی و فناوری

## منابع

- 1- Al-Hadeethy, M., Manthipha, K., AL-Mshhdani, A., Pimwadee, P., AL-Khesraji, T., Sahapat, B. & AL-Jewari, H. 2014. Anatomical study of some characters in certain species of genus *Verbascum* L. in North and middle of Iraq. *Reserch J.* 1: 1-13.
- 2- Attar, F., Keshvari A., Ghahreman A., Zarre, S. & Aghabeigi F. 2007. Micromorphological studies on *Verbascum* (Scrophulariaceae) in Iran with emphasis on seed surface, capsule ornamentation and trichomes. *Flora* 202: 169-175.
- 3- Baldwin, B. G., Sanderson, M. J., Porter, J. M. 1995. Wojciechowski, M. F, Campbell, C. S. & Donoghue, M. J. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 82: 247 - 277.
- 4- Barringer, K. 1993. Five new tribes in the Scrophulariaceae. *Novon* 3: 15-17.
- 5- Bell, C.D., Soltis, D.E., & Soltis, P.S. 2010. The age and diversification of the angiosperms revisited. *American Journal of Botany* 97: 1296-1303 .
- 6- Bigazzi, M. 1993. A survey on the intranuclear inclusions in the Scrophulariaceae and their systematic significance. *Nordic Journal of Botany* 13: 19-31.
- 7- Boissier, E. 1879. *Flora orientalis*. vol. 4. H. Georg, Basel. Switzerland.
- 8- Cabi, E., Baser, B., Yavru, A., Polat, F., Toprak, U. & Karaveliogullari, F.A. 2011. Scanning Electron Microscope (SEM) and Light Microscope (LM) Studies on the Seed Morphology of *Verbascum* Taxa (Scrophulariaceae) and Their Systematic Implications. *Australian Journal of crop science* 50(6),660.
- 9- Çelebi, A., Karaveliogullari, F.A., Açık, L. & Celep, F. 2009. Taxonomic relationships in Turkish *Verbascum* L. Group A (Scrophulariaceae): Evidence from SDS-Page of Seed Proteins and a numerical taxonomic study. *Turk J Biochem* 34(4): 234-241.
- 10- Dane, F. & Yılmaz, G. 2009. A new natural hybrid of *Verbascum* (Scrophulariaceae) from European Turkey. *Phytologia Balcanica*. 15: 159-162.
- 11- Davis, P.H. 1965-1985. "*Flora of Turkey And The East Aegean Islands*", Edinburgh University Press, Vol. 1-10, Edinburgh.
- 12- Fedtschenko, B.A., 1997. *Verbascum* L. In: Schischkin, B.K. & Bobrow, E.G. (Eds.) *Flora of U.S.S.R.* 22: 132-197.
- 13- Ferguson, I.K. 1972. *Verbascum* L. In: Tutin, T.G. & al. (eds), *Flora Europaea*. Cambridge Univ. Pres, Cambridge. 3: 205-216.
- 14- Ghahremani-nejad F., Riahi M., Babaei M., Attar F., Behcet L. and Sonboli A. 2015. Monophyly of *Verbascum* (Scrophulariaeae : Scrophulariaceae): evidence from nuclear and plastid phylogenetic analyses *Australian Journal of Botany*, 62: 638-646.
- 15- Hilliard, O.M. 1994. The Manuleae a tribe of Scrophulariaceae. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- 16- Huber-Morath, A. 1978. *Verbascum* L. In: Davis. P.H. (Ed.). *Flora of the Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press. 6: 461-603.
- 17- Huber-Morath, A. 1981. *Verbascum* L. In: Rechinger, K.H. (Ed.) *Flora Iranica* 147: 1-51.
- 18- Judd, W.S., Campbell, C.S. & Kellogg, E.A.P., Stevens, F. 1999. *Plant Systematics. A phylogenetic approach*. Sunderland, massachusetts: sinauer associates, inc. 2016.
- 19- Karaveliogullari, F.A. & Aytac, Z. 2008b. Revision of the genus *Verbascum* L. (Group A) in Turkey. *Botany Research Journal* 1: 9-32.
- 20- Karaveliogullari, F.A., Celik, S. & Isik, G. 2016. The altitudinal, climatical and phenological classification of *Verbascum* L. species from different phytogeographical regions of Turkey . *Applied Ecology and Environmental research*. 14(4). 15-27.
- 21- Kheiri, S., Khayami, M. & Mahmoudzadeh, A. 2009. Micromorphological and Anatomical Studies of Certain Species of *Verbascum*

- (Scrophulariaceae) in West Azerbaijan, Iran. *Iranian Journal of Botany*. 15: 105-113.
- 22- Kuntze O 1891 'Revisio generum plantarum. Vol. 48.' (Arthur Felix: Leipzig, Germany)
- 23- Linnaeus, C. 1753. *Species plantarum*. L. Salvius, Stockholm, 1200 pp.
- 24- Mabberley, D.J., 2008. *Mabberley's Plant-Book*. Third edition, Cambridge University Press.
- 25- Murbeck, S. 1925. Monographie der Gattung *Celsia*, Lunds Univ. Arssk 22: 1-241.
- 26- Murbeck, S. 1933. Monographie der Gattung *Verbascum*, Lunds Univ. Arssk 29: 1-630.
- 27- Murbeck, S 1936. Nachträge zur Monographie der Gattung *Verbascum*. Lunds Universitets årsskrift. n. f.. avd. 2.
- 28- Murbeck, S. 1939. *Weitere Studien über die Gattungen Verbascum und Celsia* (Vol. 50, No. 1). CWK Gleerup. Natural History Museum website: *Verbascum Thapsus*. *Linnaean Plant Name Typification Project*. Retrieved 2015.
- 29- Nouri, S. & Ranjbar, M. 2017 Systematic studies on some species of the genus *Verbascum* L. (Scrophulariaceae) in Iran Department Biology. Bu- Ali Sina University. M. Sc. Thesis.
- 30- Olmstead, R.G., & Reeves, P.A. 1995. Evidence for the polyphyly of the Scrophulariaceae based on chloroplast rbcL and ndhF sequences. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 176-193.
- 31- Parolly, G. & Tan, K. 2007. *Verbascum lindae* (Scrophulariaceae), a new species from SW Anatolia. *Willdenowia* 37: 277-282.
- 32- Parsa, A., 1952. *Verbascum* L. and *Celsia* L. In: *Flore de l'Iran* 4: 232-361.
- 33- Ranjbar, M. & Nouri, S. 2015. *Verbascum albidiflorum* (Scrophulariaceae), a new species from W Iran. *Willdenowia* 45: 147-155.
- 34- Rémal, S. 2014. Approche morphologique et moléculaire du genre *Verbascum* L., Université Paul Sabatier, Toulouse, France. PhD thesis.
- 35- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19: 1572-1574.
- 36- Sharifnia, F. 2007. Notes on the distribution and taxonomy of *Verbascum* in Iran. *Iranian Journal of Botany*. 3: 30-32.
- 37- Sharifnia, F. 2011. *Verbascum* L. In: Assadi, M. (Ed.) *Scrophulariaceae* (in Persian). *Flora of Iran* 68: 7-74.
- 38- Sotoodeh, A., Civeyrel, L., Attar, F. & Zamani, A. 2014. *Verbascum oreophilum* var. *oreophilum* and *Verbascum cheiranthifolium* var. *asperulum* (Scrophulariaceae) two new records for the flora of Iran. *Phytotaxa*. 178: 205-210.
- 39- Sotoodeh, A., Civeyrel, L., Attar, F., Nadot S. & Gauquelin T. 2015, histoire biogéographique et évolutive des genres *Verbascum* et *Artemisia* en Iran à l'aide de la phylogénie moléculaire. Université Toulouse 3 Paul Sabatier.
- 40- Sutory, K. 2001. Two new hybrids of *Verbascum* from Turkey and Spain. *Bocconea* 13: 457-460.
- 41- Swofford, D. L. 2002. PAUP\*: Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods), ver. 4.0b10. – Sinauer.
- 42- Thieret, J. W. 1967. Supraspecific classification in the Scrophulariaceae: a review. *Sida* 3: 87-106.
- 43- Vural, M. & Aydogdu, M. 1993. A new species from central Anatolia *Verbascum gypsicola* (Scrophulariaceae). *The Karaca Arboretum Magazine*. 2(2).
- 44- Yildiz M. 2016. Plant Responses at Different Ploidy Levels. current progress in biological research Chapter 16. 8-30

## **Taxonomic study of seven species of *Verbascum* L. (Scrophulariaceae) based on molecular and morphological data in Iran.**

**Olanj N.,<sup>1</sup> Nouri S.,<sup>1</sup> Heidari F.<sup>2</sup> and Shariatmadari Z.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Dept. of Biology, Faculty of Basic Science, Malayer University, Hamedan, I.R. of Iran.

<sup>2</sup> Faculty of life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. of Iran.

### **Abstract**

In order to evaluate the taxonomy of seven species of the genus *Verbascum* L. (Scrophulariaceae) morphological data (quantitative and qualitative) of 15 populations from Iran, were selected to reconstruct their relationships based on molecular data (nrDNA ITS). The morphological results showed high polymorphism intra and inter the populations of species and inter species and molecular data could only show the separation of species with limited distribution. The presence of different populations of *V. pseudodigitalis* with wide distribution range (Kermanshah Provinceto Fars Province) in different parts of the phylogenetic tree and inter other species of the genus indicated the variety of characters and adaptation of the plant in different ecological conditions The presented data was not able to separate the species of this genus without overlapping, which might be due to an aneuploidy, polyploidy, high percentage of polymorphism and hybridization of species.

**Key words:** Polymorphism, hybridization, morphology, *Verbascum* L., nrDNA ITS.