تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال هفتم، شماره بیست و پنجم، زمستان ۱۳۹۴، صفحه ۶۹-۸۲
دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۰۴ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۹/۲۴

بررسی تنوع فلوریستیک-اکولوژیک و الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در گیاه *Verbascum speciosum* در غرب و شمال‌غرب ایران

بهروز عشقی ملایری، فاطمه جلالی مقیم، عبدالکریم چهرگانی راد *
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

چکیده

کشور ایران یکی از مراکز مهم تنوع جنس *Verbascum* به شمار می‌آید و بررسی حاضر به منظور بررسی تنوع درون‌گونه‌ای در جمعیت‌های گونه *Verbascum speciosum* در استان‌های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، کردستان، کرمانشاه و همدان انجام شد. در بررسی حاضر، از روش تعیین زیستگاه ویژه (D.S.S.) استفاده شد که معیارهای فلوریستیک-اکولوژیک را باهم مد نظر قرار می‌دهد. با استفاده از این روش، ۱۷ زیستگاه ویژه برای این گیاه تعیین و داده‌های فلوریستیک-اکولوژیک مورد نظر به همراه بذر جمعیت‌های این گونه از هر زیستگاه جمع‌آوری گردید. پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر استخراج و با استفاده از روش الکتروفورز SDS-PAGE مطالعه شد. در بررسی زیستگاه‌های ویژه در مناطق مورد مطالعه، ۱۰۹ گونه گیاهی برای *V. speciosum* به عنوان گونه‌های همباش شناسایی شدند. تحلیل داده‌های فلوریستیک و اکولوژیک حاصل از زیستگاه‌ها، به ترتیب به تشخیص ۴ و ۴ گروه متمایز منجر شد. همچنین، برای نشان دادن وجود تنوع، الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در جمعیت‌ها بررسی شد و چهار گروه پروتئینی به دست آمد. گروه‌بندی داده‌های فلوریستیک و وجود تفاوت در تعداد و نوع باندهای پروتئینی در جمعیت‌های مورد بررسی نشان‌دهنده وجود تنوع درون‌گونه‌ای در *V. speciosum* است. بنابراین، در این گونه، گروه‌بندی با استفاده از نشانگر فلوریستیک توسط نشانگرهای اکولوژیک و الگوی الکتروفورزی نیز تا حدود زیادی مورد تأیید قرار گرفت که نشان می‌دهد گروه‌بندی فلوریستیک می‌تواند به عنوان یک روش کارآمد برای بررسی تنوع درون‌گونه‌ای به کار رود.

واژه‌های کلیدی: پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، تنوع درون‌گونه‌ای، زیستگاه ویژه، الکتروفورز، گل ماهور

مقدمه

تیره Scrophulariaceae با حدود ۱۹۰ جنس و ۴۰۰۰ گونه در منطق معتدله پراکنش دارد (Cronquist, 1981). جنس *Verbascum* L. با داشتن حدود ۳۶۰ گونه در سرتاسر جهان (Judd *et al.*, 2002) از بزرگترین جنس‌های این تیره به شمار می‌آید و متعلق به

* chehregani@basu.ac.ir
Copyright©2015, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

طایفه Verbasceae است (Valdes, 1987). این جنس ۴۲ گونه در ایران دارد که ۱۵ گونه از آن بوم‌زاد و در سرتاسر ایران پراکنده هستند (Assadi *et al*., 1988-2003؛ Sharifnia, 2007). بسیاری از گونه‌های این جنس به علت دارا بودن ترکیبات فعال زیستی دارای ارزش اقتصادی (استفاده دارویی و صنعتی) هستند (Tatli and Akdemri, 2004). علاوه بر ترکیه و پاکستان، کشور ایران نیز به علت بهره‌مندی از اقلیم متنوع یکی از مراکز تنوع جنس گل ماهور (*Verbascum*) به شمار می‌آید و گونه‌های مختلف این جنس در زیستگاه‌های متفاوتی پراکنش دارند (Huber-Morath, 1978؛ Zohary, 1973).

گونه *V. speciosum* Schrad. که با نام گل ماهور تماشایی و علف هرز کنار جاده شناخته می‌شود، از گیاهان بومی اروپای شرقی و آسیای غربی است (Mahvan, 2002). پژوهش‌ها نشان می‌دهد گونه‌های گیاهی که توانایی انعطاف‌پذیری فنوتیپی (خوپذیری) یا تطابق بالا نسبت به شرایط مختلف محیطی و تغییرات زمانی و مکانی آن دارند، دامنه انتشار وسیعی دارند و در زیستگاه هایی با شرایط اکولوژیک و فلوریستیک متفاوت حضور دارند (Asgari Nematian *et al*., 2007). با توجه به این که هر زیستگاهی دارای ترکیبی از عوامل بوم‌شناختی ویژه خود است، بر اثر عوامل اکولوژیک خاص حاکم بر آن، ترکیب گونه‌ای ویژه‌ای را می‌پذیرد وهر گروه گیاهی با ترکیب فلوریستیک خاص، مسلماً تحت تأثیر عوامل اکولوژیک خاص به وجود آمده است که با عوامل اکولوژیک موجود در گروه گیاهی دیگر متفاوت است (Atri, 1999). بنابراین، نقش و اهمیت عوامل اکولوژیک بر ترکیب رُستنی‌ها و روابط دو جانبه آنها، در یک زیستگاه مشخص می‌شود. پس تنوع و تغییر عوامل اکولوژیک و تأثیر پدیده‌هایی همچون بر هم‌کنش و جایگزینی عوامل اکولوژیک، باعث به وجود آمدن شرایط اکولوژیک مختلف و در نتیجه ایجاد زیستگاه‌های متفاوت در یک منطقه می‌شود (Atri, 1999). بنابراین، مطالعه معیارهای اکولوژیک در ایجاد تنوع در زیستگاه‌های متفاوت یک منطقه امری ضروری است. بررسی ترکیب فلوریستیک به عنوان یکی از معرف های اکولوژیک یک روش کارآمد برای تعیین جایگاه تاکسونومیک نمونه های گیاهی و همچنین تنوع درون‌گونه‌ای است (Magurran and McGill, 2011). بر همین اساس، روش D.S.S. (Determination of Special Station) (Atri, 2006) که از جامعه‌شناسی الهام گرفته شده است، در بررسی‌های اکولوژیک کاربرد دارد.

یکی از روش‌های تشخیص وجود تنوع در جمعیت های گیاهی، مطالعه الگوی پروتئینی با روش الکتروفورز است (Crawford, 1983). بررسی الگوی باندهای پروتئینی در مطالعات سیستماتیک، تکاملی و روابط خویشاوندی گونه ها مفید بوده است. همچنین، روش الکتروفورز در تشخیص تنوع درون‌گونه‌ای و شناسایی نمونه‌های هیبرید بین گونه‌ها کارآیی خود را نشان داده است (Boulter *et al*., 1966؛ Ladizinsky and Hymowitz, 1979؛ Crawford, 1983). در بررسی حاضر، به منظور ارزیابی صحت و دقت نتایج حاصل از تحلیل داده‌های فلوریستیک-اکولوژیک و تعیین نوع و سطح تنوع درون‌گونه‌ای، از بررسی پروتئین های ذخیره‌ای بذر با روش الکتروفورز استفاده شد و نتایج این بررسی با گروه‌بندی‌های مبتنی بر نشانگر فلوریستیک مقایسه شد. هدف از پژوهش

حاضر، تشخیص وجود تنوع درون‌گونه‌ای در افراد گونه *V. speciosum* در زیستگاه‌های مختلف و تحت شرایط اکولوژیک متفاوت در برخی از استان‌های غرب و شمال‌غرب ایران بود.

مواد و روش‌ها

در بررسی تنوع درون‌گونه‌ای گونه *V. speciosum* در استان‌های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، کردستان، کرمانشاه و همدان از روش D.S.S. (Atri, 2006) استفاده شد که هر دو معیار فلوریستیک و اکولوژیک را در مرحله جمع‌آوری داده‌ها مد نظر قرار می‌دهد. بر اساس این روش جمع‌آوری داده‌های فلوریستیک-اکولوژیک به ترتیب مراحل زیر انجام می‌گیرد:

۱- انتخاب گونه چندزیستگاهه (ubiquiste): در این مرحله باید گونه‌ای را انتخاب کرد که افراد آن تحت شرایط اکولوژیک متفاوت حضور دارد. در پژوهش حاضر گونه *V. speciosum* انتخاب شد (شکل ۱).

۲- تعیین محل‌های پراکنش (localities) گونه مورد بررسی: با مراجعه به فلورها، منابع و متخصصان، محل‌های پراکنش و رویش گونه مورد بررسی در منطقه مورد مطالعه تعیین شد.

۳- تعیین زیستگاه‌های عمومی گونه مورد بررسی: در این مرحله با مراجعه به هر یک از محل‌های پراکنش تعیین شده، زیستگاه یا زیستگاه‌های عمومی گونه مورد بررسی مشخص شد.

٤- تعیین زیستگاه ویژه: در هر یک از زیستگاه‌های عمومی با محور قرار دادن فرد گونه مورد بررسی و با استفاده از روش سطح حداقل مبتنی بر روش سطح-گونه یا روش Cain (Cain and Castro, 1959)، زیستگاه ویژه فرد یا افراد گونه مورد بررسی تعیین شد. لازم به ذکر است در روش D.S.S.، زیستگاه ویژه عبارت است از سطحی از پوشش گیاهی که بر اساس حضور فرد گونه مورد بررسی و سطح حداقل تعیین می‌شود و از نظر فلوریستیک-اکولوژیک یکنواخت است. در این بررسی، پس از تعیین محل‌های پراکنش گونه *V. speciosum* در شمال‌غرب و غرب کشور، ۱۷ زیستگاه ویژه برای این گونه تعیین گردید (جدول ۱).

۵- جمع‌آوری داده‌های فلوریستیک-اکولوژیک از زیستگاه‌های ویژه: در این مرحله، کلیه گونه‌های همباش با فرد گونه مورد بررسی هر یک از زیستگاه‌های ویژه جمع‌آوری و کدگذاری شد. همچنین، ضریب فراوانی براون بلانکه برای هر یک از گونه‌ها مشخص شد. در این راستا، علاوه بر ذکر گونه مورد بررسی و گونه‌های همباش در فرم مخصوص، به همراه داده‌های اکولوژیک (از جمله اقلیم بر اساس ضریب خشکی دومارتن، متوسط بارندگی سالانه بر حسب میلی‌متر، متوسط دمای سالانه بر حسب سانتی‌گراد، ارتفاع، درصد شیب، جهت شیب، نوع بستر و موقعیت جغرافیایی) و نمونه‌ای از خاک هر زیستگاه ویژه نیز جمع‌آوری شد.

٦- شناسایی نمونه‌های گیاهی و آنالیز خاک: در این مرحله، با مراجعه به فلورها، پس از شناسایی اولیه گونه‌های گیاهی، شناسایی آنها توسط جناب آقای دکتر رنجبر (دانشگاه بوعلی سینا) قطعی و تأیید گردید. نمونه‌های خاک به آزمایشگاه خاک‌شناسی منتقل و از نظر نوع بافت، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، هدایت الکتریکی، کربن آلی و اسیدیته بررسی شد.

۷- کدگذاری و تحلیل داده‌های فلوریستیک-اکولوژیک: در این مرحله، گونه مورد

بررسی و گونه‌های همباش کدگذاری شد و تحلیل داده‌ها بر اساس ترکیب گونه‌ای (به عنوان نشانگر فلوریستیک) هر یک از زیستگاه‌های ویژه با استفاده از نرم‌افزارهای مناسب انجام شد. در این بررسی، تحلیل داده‌های فلوریستیک با نرم‌افزار Anaphyto نسخه ۹۵ با روش‌های Factorial Correspondence Analysis (FCA) و Hierarchic Ascendant Classification (HAC) انجام شد. همچنین، عوامل اکولوژیک مورد بررسی زیستگاه‌های ویژه با نرم‌افزار MVSP نسخه ۳/۱ با روش Principal Components Analysis (PCA) و ضریب فاصله اقلیدسی تحلیل شد.

۸- گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه بر اساس نشانگر فلوریستیک: بررسی و مقایسه نتایج حاصل از تحلیل داده‌ها با روش FCA روی محورهای مختصات چندگانه و روش HAC به تعیین گروه‌های حاصل از آنالیز بر اساس نشانگر فلوریستیک منجر شد که مبین وجود تنوع درون‌گونه‌ای در گونه مورد بررسی خواهد بود.

۹- تعیین گونه یا گونه‌های تشخیصی (distinguished): در این مرحله، با تهیه جدول مربوط به زیستگاه‌های ویژه مورد بررسی و گونه‌های حاضر در هر یک از آنها، گونه‌ای که تنها در یک زیستگاه یا یک گروه از زیستگاه های معین حضور داشتند به عنوان گونه‌های تشخیصی هر یک از آنها معرفی شدند.

۱۰- تعیین و تشخیص سطح و نوع تنوع درون‌گونه‌ای: پس از تعیین و اثبات وجود تنوع درون‌گونه‌ای، برای تعیین سطح و نوع تنوع درون‌گونه‌ای *V. speciosum* از الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر روی ژل پلی اکریلامید در حضور سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) استفاده شد (Hames and Rickwood, 1990). برای استخراج پروتئین، بذر پایه‌های مختلف هر یک از جمعیت‌ها با هم مخلوط شد تا یک گرم بذر به دست آید، سپس بذرها به خوبی خرد و پودر شد. پودر بذر به دست آمده از گیاهان هر جمعیت به صورت جداگانه با نسبت یک به شش با بافر فسفات سدیم (اسیدیته برابر با ۷) مخلوط گردید. به منظور جلوگیری از فعالیت آنزیم فنل اکسیداز و آثار سوء آن در سنجش پروتئین و در نتیجه پایدار کردن پروتئین‌ها، مقدار ۰/۰۲ گرم پلی وینیل پیرولیدن (PVP) اضافه شد. سپس، مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد تا انحلال و آزادسازی پروتئین‌ها صورت گیرد. مخلوط‌های فوق در سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل RM45، شرکت Ependorf، آلمان) به مدت ۲۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. با پایان یافتن عمل سانتریفیوژ، محلول شفاف رویی جدا و در ویال‌های کوچک استریل در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد تا در الکتروفورز مورد استفاده قرار گیرند. عصاره پروتئینی استخراج شده به نسبت مساوی یک به یک با بافر نمونه مخلوط گردید. مخلوط حاصل در حمام آب گرم (۹۵ درجه سانتیگراد) به مدت ۳ دقیقه حرارت داده شد. ژل اکریلامید ۱۲ درصد تهیه شد و مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه در چاهک‌ها تزریق گردید. برای انجام الکتروفورز از دستگاه الکتروفورز عمودی (شرکت Bio-Rad، آمریکا) استفاده شد. الکتروفورز با ولتاژ ثابت ۱۰۰ ولت انجام گرفت. پس از اتمام الکتروفورز، ژل با مخلوط استیک اسید و اتانول تثبیت گردید. سپس ژل با آب مقطر شسته، به محلول رنگ منتقل و رنگ‌آمیزی با رنگ کوماسی بلو بریلیانت R_{250} انجام شد. پس از رنگ‌بری ژل، تصویر آن تهیه و باندهای تشکیل شده روی ژل

آنالیز شد. موقعیت هر باند روی ژل به صورت کدهای یک و فقدان باندها با کد صفر که نشان‌دهنده وجود و عدم وجود باند مربوط است، مشخص گردید. کدهای به دست آمده با نرم‌افزار NTSYS نسخه ۲/۰۲ روش Complete Linkage و ضریب RT تحلیل شد.

نتایج

نتایج بررسی‌های فلوریستیک: کلیه زیستگاه‌های ویژه مورد مطالعه از نظر نوع پوشش بر اساس شکل زیستی، علفی-بوته‌ای بوده و در مجموع، از ۱۷ زیستگاه‌ها ویژه برای *V. speciosum* در مناطق مورد بررسی، تعداد ۱۰۹ گونه گیاهی به عنوان گونه‌های همباش شناسایی گردید که در هرباریوم دانشگاه بوعلی سینای همدان (BASU) نگهداری می‌شوند. فهرست ترکیب گونه‌ای هر یک از این زیستگاه‌ها در جدول ۲ آورده شده است. همچنین، در این جدول ضریب فراوانی هر یک از گونه ها در پرانتز و در گونه(های) غالب با زیرخط مشخص شده است.

بر اساس نتایج به دست آمده از آنالیز ترکیب رُستنی‌های زیستگاه ها با استفاده از نرم‌افزار Anaphyto با دو روش FCA و HAC، زیستگاه‌های ویژه این گونه در در چهار گروه قرار گرفتند (شکل ۲) که عبارتند از: گروه A شامل: زیستگاه های ویژه ۲، ۹، ۱۲، ۱۴ و ۱۵، گروه B شامل: زیستگاه های ویژه ۳، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱ و ۱۳، گروه C شامل: زیستگاه‌های ویژه ۱، ۴، ۵ و ۶، و گروه D شامل: زیستگاه‌های ویژه ۱۶ و ۱۷.

شکل ۱- تصویر گونه *Verbascum speciosum*

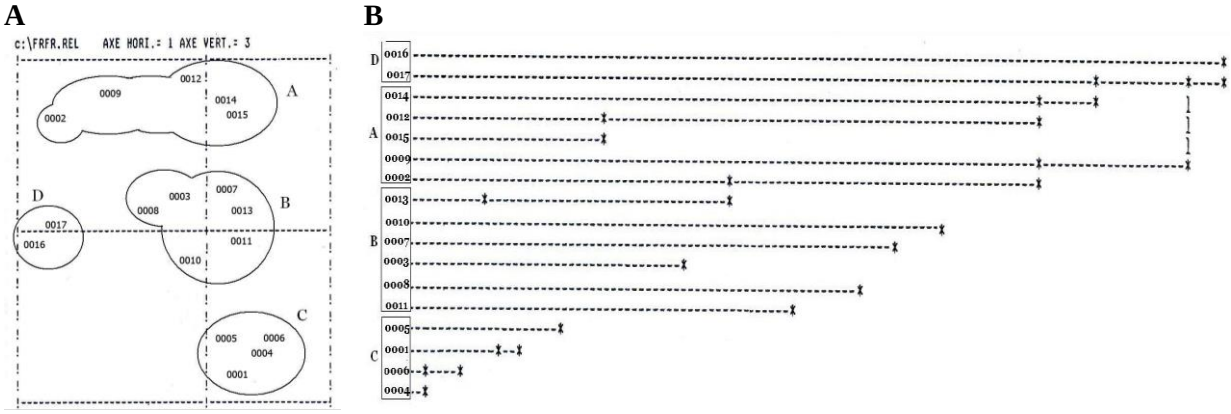
جدول ۱- محل‌های جمع‌آوری گیاه *V. speciosum*

شماره زیستگاه	محل جمع‌آوری	مختصات جغرافیایی	شماره هرباریومی	نام جمع‌آوری کننده
۱	آذربایجان شرقی-۱۵ کیلومتری مراغه	N: 37^0 46 42 E: 45^0 27 03	۱۷۸۰۰	جلالی-دانشیار
۲	کردستان-کامیاران	N 34° 47 42 E 46° 49 37	۱۷۸۰۱	جلالی-دانشیار
۳	آذربایجان غربی -نقده به اشنویه	N 37° 03 13 E 45° 19 52	۱۷۸۰۲	جلالی-دانشیار
۴	آذربایجان شرقی-ایستگاه جهاد کشاورزی	N: 37^0 52 34 E: 45^0 24 54	۱۷۸۰۳	جلالی-محمودی
۵	آذربایجان شرقی- مرند به صوفیان	N: 38^0 44 53 E: 45^0 36 24	۱۷۸۰۴	جلالی-محمودی
۶	آذربایجان شرقی- کنار جاده جلفا	N: 38^0 59 06 E: 45^0 23 07	۱۷۸۰۵	جلالی-محمودی
۷	آذربایجان غربی- اشنویه	N 37° 00 18 E 45° 07 02	۱۷۸۰۶	جلالی-دانشیار
۸	آذربایجان غربی- ارومیه	N 37° 07 04 E 45° 08 87	۱۷۸۰۷	جلالی-دانشیار
۹	کرمانشاه -جوانرود	N 34° 44 86 E 46° 16. 26	۱۷۸۰۸	جلالی-دانشیار
۱۰	آذبایجان غربی-نرسیده روستای سکانی	N 37° 16 01 E 45° 07. 32	۱۷۸۰۹	جلالی-دانشیار
۱۱	آذربایجان غربی - روستای سکانی	N 37° 12 08 E 45° 07 80	۱۷۸۱۰	جلالی-دانشیار
۱۲	کردستان - سنندج	N 35° 21 56 E 46° 40 89	۱۷۸۱۱	جلالی-دانشیار
۱۳	آذربایجان غربی -روستای ژارآباد	N 37° 13 42 E 45° 01 53	۱۷۸۱۲	جلالی-دانشیار
۱۴	کردستان -۲۰ کیلومتری مریوان	N 35° 45 14 E 46° 26 71	۱۷۸۱۳	جلالی-جلیلی
۱۵	کردستان -مریوان	N 35° 46 93 E 46° 25 73	۱۷۸۱۴	جلالی-جلیلی
۱۶	همدان - روستای حیدره قاضی خان	N 34° 49 65 E 48° 20 04	۱۷۸۱۵	جلالی-نوری
۱۷	همدان - روستای یلفان	N 35° 11 58 E 48° 16 99	۱۷۸۱۶	جلالی-نوری

جدول ۲- فهرست فلوریستیک زیستگاه‌های ویژه مورد بررسی *Verbascum speciosum*

شماره زیستگاه	ترکیب گونه‌ای
۱	*Verbascum speciosum* Schrad. *(1)*, *Hordeum marinum* Huds. *(2)*, *Ceratocephalus falcatus* (L.) Pers. *(1)*, *Xeranthemum longipapposum* Fisch. & C.A.Mey. *(1)*, *Salvia spinosa* L. *(1)*, *Noaea mucronata* (Forssk.) Asch. & Schweinf. *(1)*, *Allium* sp. *(+)*, *Centaurea virgata* Lam. subsp. *squarrosa* (Boiss.) Gugler *(2)*, *Achillea vermicularis* Trin. *(1)*, *Chardinia orientalis* (L.) Kuntze. *(1)*, *Alyssum minus* (L.) Rothm. *(1)*, *Vulpia hirtiglumis* Boiss. & Hausskn. *(1)*, *Chenopodium album* L. *(1)*, *Alhagi camelorum* Fisch. *(1)*, *Salsola kali* L. *(+)*.
۲	*Verbascum speciosum* Schrad. *(2)*, *Hordeum bulbosum* L. *(1)*, *Galium aparine* L. *(1)*, *Carthamus oxyacanthus* M.Bieb. *(+)*, *Alyssum desertorum* Stapf *(1)*, *Sanguisorba minor* Scop. *(1)*, *Neslia apiculata* Fisch., C.A.Mey. & Avé-Lall. *(1)*, *Crupina crupinastrum* (Moris) Vis. *(1)*, *Scandix stellata* Banks & Sol. *(+)*, *Phlomis olivieri* Benth. *(+)*.
۳	*Verbascum speciosum* Schrad. *(1)*, *Gundelia tournefortii* L. *(1)*, *Hordeum bulbosum* L. *(1)*, *Centaurea behen* L. *(1)*, *Onobrychis megataphros* Boiss. *(2)*, *Smyrniopsis aucheri* Boiss. *(1)*, *Astragalus alavaanus* Podlech *(1)*, *Astragalus effusus* Bunge *(1)*, *Heteranthelium piliferum* (Sol.) Hochst. ex Jaub. & Spach *(1)*, *Falcaria vulgaris* Bernh. *(+)*, *Scorzonera luristanica* Rech.f. *(1)*, *Silene morganae* Freyn*(1)*, *Lepidium draba* L. *(1)*.
۴	*Verbascum speciosum* Schrad. *(1)*, *Chardinia orientalis* (L.) Kuntze. *(1)*, *Ziziphora tenuior* L. *(1)*, *Minuartia meyeri* (Boiss.) Bornm. *(1)*, *Bromus tectorum* L. *(1)*, *Allium* sp. *(1)*, *Alhagi camelorum* Fisch. *(1)*, *Stipa barbata* Desf. *(1)*, *Salvia spinosa* L. *(1)*, *Noaea mucronata* (Forssk.) Asch. & Schweinf. *(1)*, *Pimpinella orientalis* Gouan. *(1)*, *Arrhenatherum kotschyi* Boiss. *(1)*, *Centaurea virgata* Lam. subsp. *squarrosa* (Boiss.) Gugler *(3)*, *Chenopodium album* L. *(1)*, *Alyssum lanigerum* DC. *(1)*, *Hordeum marinum* Huds. *(+)*, *Achillea vermicularis* Trin. *(1)*, *Nardurus subulatus* (Banks & Sol.) Bor *(1)*.
۵	*Verbascum speciosum* Schrad. *(1)*, *Atriplex* sp. *(1)*, *Xeranthemum longipapposum* Fisch. & C.A.Mey. *(1)*, *Salsola kali* L. *(1)*, *Scabiosa flavida* Boiss. & Hausskn. *(1)*, *Echinops orientalis* Trautv. *(1)*, *Noaea mucronata* (Forssk.) Asch. & Schweinf. *(1)*, *Centaurea virgata* Lam. subsp. *squarrosa* (Boiss.) Gugler *(2)*, *Salsola dendroides* Pall. *(+)*, *Picris strigosa* M.Bieb.*(1)*, *Erysimum* sp. *(1)*, *Alyssum minus* (L.) Rothm. *(1)*, *Chenopodium album* L. *(1)*, *Consolida* sp. *(1)*.

شماره زیستگاه	ترکیب گونه‌ای
۶	*Verbascum speciosum* Schrad. *(1)*, *Hordeum marinum* Huds. *(3)*, *Bromus* sp. *(1)*, *Cousinia* sp. *(1)*, *Alopecurus arundinaceus* Poir. *(1)*, *Lactuca serriola* L. *(1)*, *Picris strigosa* M.Bieb. *(+)*, *Noaea mucronata* (Forssk.) Asch. & Schweinf. *(1)*, *Ceratocephalus falcatus* (L.) Pers. *(1)*, *Artemisia fragrans* Willd. *(1)*, *Vulpia hirtiglumis* Boiss. & Hausskn. *(1)*, *Vaccaria pyramidata* Medik. *(1)*, *Alhagi camelorum* Fisch. *(1)*, *Chenopodium album* L. *(+)*.
۷	*Verbascum speciosum* Schrad. *(1)*, *Centaurea virgata* Lam. subsp. *squarrosa* (Boiss.) Gugler *(+)*, *Chaerophyllum macropodum* Boiss. *(2)*, *Erysimum crassipes* Fisch. & C.A.Mey. *(1)*, *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják. *(1)*, *Tanacetum polycephalum* Schultz-Bip.*(3)*, *Scariola orientalis* (Boiss.) Soják. *(1)*, *Achillea millefolium* L. *(+)*, *Scorzonera luristanica* Rech.f. (1), *Silene morganae* Freyn (1), *Falcaria vulgaris* Bernh. *(1)*, *Nonea persica* Boiss. *(1)*.
۸	*Verbascum speciosum* Schrad. *(2)*, *Chaerophyllum macropodum* Boiss. *(1)*, *Bromus tectorum* L .*(1)*, *Centaurea behen* L. *(1)*, *Echinops tenuisectus* Rech.f. *(+)*, *Nonea persica* Boiss. *(+)*, *Lepidium draba* (L.) Desf. *(1)*, *Centaurea pseudoscabiosa* Boiss. & Buhse subsp. *pseudoscabiosa (1)*, *Silene morganae* Freyn (1), *Taeniatherum crinitum* (Schreb.) Nevski *(1)*, *Falcaria vulgaris* Bernh. *(1)*, *Erysimum crassipes* Fisch. & C.A.Mey. *(1)*, *Centaurea behen* L. *(+)*.
۹	*Verbascum speciosum* Schrad. *(2)*, *Gundelia tournefortii* L. *(1)*, *Chardinia orientalis* (L.) Kuntze *(+)*, *Garhadiolus angulosus* Jaub. & Spach *(1)*, *Hordeum bulbosum* L. *(2)*, *Heteranthelium piliferum* (Sol.) Hochst. ex Jaub. & Spach*(1)*, *Phlomis olivieri* Benth. *(+)*, *Hippocrepis unisiliquosa* L. *(1)*, *Coronilla scorpioides* (L.) W.D.J.Koch. *(+)*, *Crupina crupinastrum* (Moris) Vis. *(+)*, *Falcaria vulgaris* Bernh. *(1)*.
۱۰	*Verbascum speciosum* Schrad. *(1)*, *Hordeum bulbosum L. (+)*, *Heteranthelium piliferum* (Sol.) Hochst. ex Jaub. & Spach *(1)*, *Asperula glomerata* (M.Bieb.) Griseb. *(1)*, *Salvia limbata* C.A.Mey. *(+)*, *Tanacetum polycephalum* (L.) Schultz-Bip. *(2)*, *Falcaria vulgaris* Bernh. *(1)*, *Salvia atropatana* Bunge *(1)*, *Astragalus iranicus* Bunge *(1)*, *Astragalus effusus* Bunge *(1)*, *Medicago sativa* L. *(1)*, *Echium italicum* L. *(1)*.
۱۱	*Verbascum speciosum* Schrad. *(1)*, *Eryngium thyrsoideum* Boiss. *(+)*, *Bromus tectorum* L. *(1)*, *Trifolium pratense* L. *(1)*, *Echium italicum* L. *(+)*, *Muscari racemosum* (L.) Mill. (+), *Falcaria vulgaris* Bernh. *(1)*, *Onobrychis altissima* Grossh. *(1)*, *Scabiosa argentea* L. *(1)*, *Astragalus effusus* Bunge *(1)*, *Silene morganae* Freyn *(1)*, *Achillea millefolium* L. *(1)*, *Tanacetum polycephalum* (L.) Schultz. Bip. *(2)*, *Nonea persica* Boiss. *(+)*.
۱۲	*Verbascum speciosum* Schrad. *(+)*, *Chardinia orientalis* (L.) Kuntze *(1)*, *Garhadiolus angulosus* Jaub. & Spach *(1)*, *Phlomis olivieri* Benth. *(2)*, *Zoegea leptaurea* L. subsp. *mianensis* (Boiss.) Rech.f. *(1)*, *Cerastium dichotomum* L. *(1)*, *Gundelia tournefortii* L. *(1)*, *Glaucium refractum* Stev. in DC. *(1)*, *Pterocephalus incanus* Raf. *(1)*, *Salvia aristata* Aucher ex Benth. *(1)*, *Teucrium orientale* L. *(1)*, *Helianthemum ledifolium* (L.) Mill. *(+)*, *Valerianella vesicaria* (L.) Moench *(+)*
۱۳	*Verbascum speciosum* Schrad. *(1)*, *Glycyrrhiza glabra* L. *(+)*, *Crucianella gilanica* Trin. *(1)*, *Erysimum crassipes* Fisch. & C.A.Mey. *(+)*, *Camelina rumelica* Velen. *(1)*, *Medicago sativa* L. *(1)*, *Falcaria vulgaris* Bernh. *(1)*, *Silene morganae* Freyn *(1)*, *Poa bulbosa* L. *(1)*, *Bromus danthoniae* Trinius*(+)*, *Eryngium thyrsoideum* Boiss.*(1)*, *Tanacetum polycephalum* (L.) Schultz-Bip. *(2)*, *Centaurea behen* L. *(1)*, *Nonea persica* Boiss. *(1)*.
۱۴	*Verbascum speciosum* Schrad. *(2)*, *Chardinia orientalis* (L.) Kuntze *(1)*, *Garhadiolus angulosus* Jaub. & Spach *(1)*, *Poa bulbosa* L. *(+)*, *Turgenia latifolia* (L.) Hoffm. *(+)*, *Bromus danthoniae* Trin.*(1)*, *Astragalus daghdaghabadensis* Maassoumi.*(1)*, *Phlomis olivieri* Benth. *(1)*, *Zoegea leptaurea* L.*(+)*, *Astragalus curvirostris* Boiss. *(1)*, *Ziziphora capitata* L. *(1)*, *Cerastium dichotomum* L.*(1)*, *Eremopoa persica* (Trin.) Roshev.*(1)*, *Hordeum bulbosum* L. *(+)*.
۱۵	*Verbascum speciosum* Schrad. *(2)*, *Chardinia orientalis (L.) Kuntze.(+)*, *Garhadiolus angulosus* Jaub. & Spach. *(1)*, *Phlomis olivieri Benth.(2)*, *Zoegea leptaurea* L. subsp. *mianensis* (Boiss.) Rech.f. *(1)*, *Cerastium dichotomum* L. *(+)*, *Gundelia tournefortii* L. *(+)*, *Coronilla varia* L. *(+)*, *Tragopogon graminifolius* DC. *(+)*, *Tragopogon stroterocarpus* Rech.f. *(+)*, *Helianthemum piliferum* Boiss. *(1)*, *Teucrium polium* L. *(1)*, *Hypericum hyssopifolium* Chaix *(+)*.
۱۶	*Verbascum speciosum* Schrad. *(+)*, *Sanguisorba minor* Scop. *(1)*, *Bromus danthoniae* Trin. *(1)*, *Dactylis glomerata* L. *(+)*, *Galium verum* L. *(1)*, *Medicago sativa* L. *(2)*, *Melilotus officinalis* (L.) Lam. *(1)*, *Lepidium draba* L. *(1)*, *Onobrychis viciifolia* Scop. *(1)*, *Coronilla varia* L. (1), *Euphorbia boissieriana* (Woronow) Prokh. *(1)*, *Cyanus depressus* (M.Bieb) Soják (2), *Trifolium pratense* L. *(+)*, *Sophora alopecuroides* L. *(+)*, *Achillea biebersteinii* Afan. *(1)*, *Thalictrum minus* L. *(1)*.
۱۷	*Verbascum speciosum* Schrad. *(+)*, *Lotus corniculatus* L. *(1)*, *Bromus danthoniae* Trin. *(1)*, *Achillea biebersteinii* Afan. *(1)*, *Thalictrum minus* L. *(+)*, *Achillea millefolium* L. *(1)*, *Melilotus officinalis* (L.) Lam. *(2)*, *Onobrychis viciifolia* Scop. *(1)*, *Coronilla varia* L. *(1)*, *Elymus hispidus* (Opiz) Melderis *(1)*, *Erigeron acer* L. *(1)*, *Ononis spinosa* L. (+), *Pedicularis sibthorpii* Boiss. *(1)*, *Lepidium draba* L. *(1)*.



شکل ۲- نتایج حاصل از آنالیز ۱۷ زیستگاه ویژه و گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه *Verbascum speciosum* بر اساس ترکیب رُستنی‌ها با روش FCA (شکل A) و HAC (شکل B).

نتایج

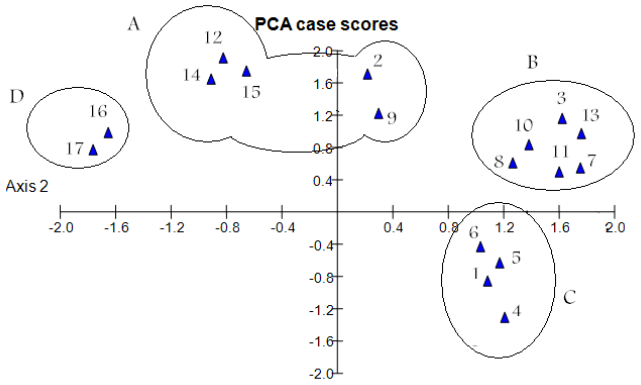
بررسی‌های اکولوژیک: با توجه به این که تنوع ویژگی‌های اکولوژیک در یک منطقه به ایجاد زیستگاه‌های متفاوت در آن منطقه منجر می‌گردد، به بررسی عوامل اکولوژی حاکم بر هر زیستگاه ویژه پرداخته شد. جدول ۳ نشان‌دهنده عوامل اکولوژیک بررسی شده و برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک زیستگاه‌های ویژه است. تحلیل داده‌های اکولوژیک با نرم‌افزار MVSP با روش PCA (شکل ۳)، زیستگاه‌های ویژه این گیاه را در چهار گروه متمایز قرار داد که عبارتند از: گروه A شامل: زیستگاه‌های ویژه ۲، ۹، ۱۲، ۱۴ و ۱۵، گروه B شامل: زیستگاه‌های ویژه ۳، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱ و ۱۳، گروه C شامل: زیستگاه‌های ویژه ۱، ۴، ۵ و ۶ و گروه D شامل: زیستگاه‌های ویژه ۱۶ و ۱۷.

بررسی‌های الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره بذر: به منظور تعیین سطح و نوع تنوع درون گونه‌ای، بذر، جمعیت‌های مختلف در شهریور ماه ۱۳۹۲ جمع‌آوری شد و از بررسی پروتئین‌های ذخیره بذر با روش الکتروفورز استفاده گردید. پس از استخراج پروتئین‌های ذخیره‌ای محلول بذر، از عصاره‌های پروتئینی برای مطالعه الکتروفورزی با روش SDS-PAGE استفاده شد. باندهای پروتئینی بررسی و در بین جمعیت‌ها مقایسه شد (شکل ۴). با توجه به نتایج ارایه شده در شکل ۴ و جدول ۴، به طورکلی ۱۵ ردیف باند پروتئینی در این گونه مشاهده شد. باندهای ۲، ۵، ۱۱، ۱۳ و ۱۵ در همه جمعیت‌های بررسی شده این گونه مشترک هستند که به عنوان باندهای اختصاصی این گونه در نظر گرفته می‌شوند و نشان‌دهنده پروتئین‌های مشابه در این گونه هستند. برای انجام تحلیل‌های آماری، هر باند پروتئینی به عنوان یک صفت کیفی در نظر گرفته شد و وجود آن برای هر نمونه با کد ۱ و نبود آن با کد ۰ مشخص گردید (جدول ۴). در دندروگرام حاصل از نرم‌افزار NTSYS با روش Complete Linkage (شکل ۵)، که بر اساس داده‌های الکتروفورزی حاصل شده است. زیستگاه‌های ویژه این گیاه در چهار گروه قرار می‌گیرند که عبارتند از: گروه A شامل: زیستگاه‌های ویژه ۲، ۱۲، ۱۴، ۱۵، ۱۶ و ۱۷ گروه B شامل: زیستگاه‌های ویژه ۳، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱ و ۱۳، گروه C شامل: زیستگاه‌های ویژه ۱، ۴، ۵ و ۶ و گروه D شامل: زیستگاه ویژه ۹.

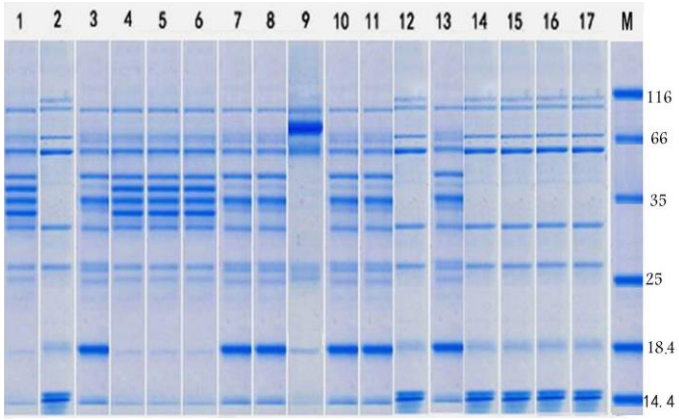
جدول ۳- عوامل اکولوژیک بررسی شده در زیستگاه‌های ویژه *Verbascum speciosum*

شماره زیستگاه	متوسط بارندگی سالانه (میلی‌متر)	متوسط دمای سالانه (سانتیگراد)	ضریب دمارتن (IA)	طبقه‌بندی اقلیمی دمارتن	ارتفاع (متر)	جهت شیب	درصد شیب	نوع بستر
۱	۳۲۲/۵	۱۲/۴	۱۴/۳۹	نیمه خشک	۱۶۵۳	شمالی	۱۰	خاکی
۲	۴۴۶/۲	۱۴/۸	۱۷/۹۹	نیمه خشک	۱۶۶۳	جنوبی	۴۰	خاکی
۳	۳۴۱/۷	۱۲/۳	۱۵/۳۲	نیمه خشک	۱۵۳۲	مسطح	۰	خاکی-سنگلاخ
۴	۲۷۵/۶	۱۲/۷	۱۲/۱۴	نیمه خشک	۱۶۰۹	غربی	۱۵	خاکی-سنگلاخ
۵	۳۱۸/۳	۱۲/۸	۱۳/۹۶	نیمه خشک	۱۶۹۲	شمالی	۳۵	خاکی
۶	۲۷۵/۱	۱۲/۹	۱۲/۰۱	نیمه خشک	۱۷۱۸	مسطح	۰	خاکی-سنگلاخ
۷	۳۴۹/۵	۱۲/۱	۱۵/۸۱	نیمه خشک	۱۵۰۸	مسطح	۰	خاکی
۸	۳۳۹/۷	۱۱/۷	۱۵/۶۵	نیمه خشک	۱۶۶۸	مسطح	۰	خاکی-سنگلاخ
۹	۴۸۳/۱	۱۵/۱	۱۹/۲۴	نیمه خشک	۱۴۲۱	شمالی	۱۵	خاکی-رسی
۱۰	۳۸۱/۲	۱۲/۱	۱۷/۲۴	نیمه خشک	۱۶۷۳	مسطح	۰	خاکی-سنگلاخ
۱۱	۳۸۱/۲	۱۲/۱	۱۷/۲۴	نیمه خشک	۱۶۲۹	مسطح	۰	خاکی
۱۲	۴۱۳/۷	۱۳/۱	۱۷/۹۰	نیمه خشک	۱۶۸۴	جنوبی	۳۵	خاکی
۱۳	۳۴۱/۳	۱۲/۴	۱۵/۲۳	نیمه خشک	۱۷۳۰	مسطح	۰	سنگلاخ
۱۴	۴۲۷/۶	۱۲/۹	۱۸/۶۷	نیمه خشک	۱۶۱۳	مسطح	۰	خاکی-سنگلاخ
۱۵	۴۲۷/۶	۱۲/۹	۱۸/۶۷	نیمه خشک	۱۶۵۹	جنوبی	۲۵	خاکی
۱۶	۳۳۴/۷	۱۱/۳	۱۵/۷۱	نیمه خشک	۲۰۵۳	مسطح	۰	سنگلاخ-سنگریزه
۱۷	۳۳۴/۷	۱۱/۳	۱۵/۷۱	نیمه خشک	۲۰۱۲	مسطح	۰	سنگلاخ-سنگریزه

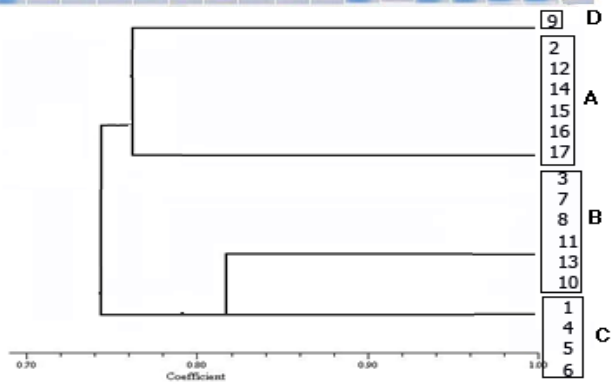
شماره زیستگاه	اسیدیته خاک	هدایت الکتریکی خاک	کربن آلی/ خاک	درصد سیلیس خاک	درصد رس خاک	درصد شن خاک	بافت خاک
۱	۷/۲۲	۰/۴۴	۲/۸۸	۳۲	۴۸	۲۰	شنی-لومی
۲	۷/۲۹	۰/۲۱	۲/۸۱	۳۷	۴۱	۲۲	ماسه‌ای-رسی
۳	۷/۴۶	۰/۳۶	۱/۱۷	۲۵	۱۳	۵۷	شنی-لومی
۴	۷/۲۱	۰/۶۳	۲/۱۲	۳۶	۳۲	۳۲	شنی-لومی
۵	۷/۱۱	۰/۲۳	۲/۰۹	۳۱	۳۰	۳۹	لومی-شنی
۶	۷/۴۰	۰/۴۷	۲/۵۷	۲۵	۴۶	۲۹	شنی-لومی
۷	۷/۵۲	۰/۳۷	۱/۶۲	۳۱	۱۸	۵۱	لومی-شنی
۸	۷/۵۹	۰/۳۱	۱/۲۶	۴۰	۱۰	۵۰	شنی-لومی
۹	۷/۲۳	۰/۱۴	۲/۴۱	۳۰	۴۲	۲۸	رسی-ماسه‌ای
۱۰	۷/۴۸	۰/۳۵	۱/۴۶	۳۷	۱۵	۴۸	شنی-لومی
۱۱	۷/۵۳	۰/۳۹	۱/۲۶	۲۶	۱۲	۶۲	لومی-شنی
۱۲	۷/۱۶	۰/۰۹	۲/۰۹	۳۲	۴۵	۲۳	ماسه‌ای-رسی
۱۳	۷/۵۱	۰/۴۱	۱/۳۱	۲۲	۲۵	۵۳	شنی-لومی
۱۴	۷/۳۲	۰/۱۳	۲/۰۲	۲۸	۳۸	۳۴	ماسه‌ای-رسی
۱۵	۷/۴۱	۰/۱۸	۲/۳۱	۲۳	۴۰	۳۷	ماسه‌ای-رسی
۱۶	۷/۵۴	۰/۳۱	۰/۰۷۱	۲۴	۵	۷۱	ماسه‌ای-رسی
۱۷	۷/۴۸	۰/۲۹	۰/۰۸۹	۲۷	۴	۶۹	ماسه‌ای-رسی



شکل ۳- گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه *Verbascum speciosum* بر اساس عوامل اکولوژیک با روش PCA



شکل ۴- الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های بذر در جمعیت‌های بررسی شده *Verbascum speciosum*،
M: نشانگر



شکل ۵- تجزیه خوشه‌ای داده‌های الکتروفورزی جمعیت‌های *Verbascum speciosum* با نرم‌افزار NTSYS با روش Complete Linkage.

جدول ۴- الکتروفورگرام SDS-PAGE در جمعیت‌های بررسی شده گیاه *Verbascum speciosum*

کد زیستگاه / شماره باند	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷
۱	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۱	۱	۱	۱
۲	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۴	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۵	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۶	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۰	۱	۰	۰	۰	۰
۷	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۰	۱	۰	۰	۰	۰

کد زیستگاه / شماره باند	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷
۸	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۰	۱	۰	۰	۰	۰
۹	۱	۰	۰	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱۲	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۰	۰	۰	۰
۱۳	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱۴	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۱	۱	۱	۱
۱۵	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱

بحث

در پژوهش حاضر برای تعیین تنوع درون‌گونه‌ای در *V. speciosum* از روش D.S.S. مبتنی بر نشانگر فلوریستیک استفاده شد. سپس، تحلیل داده‌های اکولوژیک و بررسی و مقایسه آنها با گروه‌بندی‌های حاصل از تحلیل بر اساس نشانگر فلوریستیک صورت گرفت. در نهایت، تحلیل و بررسی الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر، وجود تنوع در سطح باندهای پروتئینی هر یک از گروه‌های تعیین شده را مشخص نمود. بر اساس نتایج این پژوهش، نشانگرهای فلوریستیک، اکولوژیک و الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر توانستند تنوع بالایی را در جمعیت‌ها نشان دهند. به بیان دیگر، گروه‌های جمعیتی تعیین شده با نشانگر فلوریستیک توسط نشانگرهای اکولوژیک و الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر تا حدود زیادی تأیید شد. این تأیید به معنای آن است که گروه‌بندی فلوریستیک با بهره‌گیری از روش D.S.S. در مواردی به تنهایی می‌تواند به عنوان یک روش کم هزینه و کارآمد برای بررسی وجود تنوع جمعیت‌ها (تنوع درون‌گونه‌ای) به کار رود. در مورد استفاده از روش D.S.S. در تشخیص تنوع درون‌گونه‌ای و بین گونه‌ای گزارش‌هایی در دسترس است (Atri, 1999؛ Asgari Nematian *et al*, 2010؛ Yousefi, 2010؛ Sarmadi, 2010؛ Ghasemkhani, 2012؛ Ahmadi, 2012؛ Kalvandi, 2012؛ Toluei, 2012؛ Salehi *et al*., 2013) و نتایج حاصل از پژوهش‌های پیشین با یافته‌های پژوهش حاضر در مورد کارآیی روش D.S.S.، به عنوان یک روش کارآمد و کم هزینه همسو و در تطابق است. این روش بر این اصل استوار است که ترکیب رُستنی‌ها در همبستگی تنگاتنگ با ترکیب عوامل اکولوژیک (نوع محیط زیست) است؛ بنابراین، بهترین معیار برای تشخیص عوامل اکولوژیک، ترکیب گونه‌ای آن سطح است (Guinochet, 1973). تحلیل داده‌های فلوریستیک با استفاده از روش‌های FCA و HAC برای گونه *V. speciosum* در مناطق بررسی شده، چهار گروه را نشان داد. همچنین، تحلیل داده‌های اکولوژیک مورد بررسی با استفاده از روش PCA، چهار گروه به دست آمده را تأیید کرد. بر همین اساس می‌توان گفت که هر یک از گروه‌ها دارای شرایط اکولوژیک خاص خود هستند و ترکیب فلوریستیک هر یک از گروه‌ها به علت تفاوت در شرایط اکولوژیک زیستگاه‌های ویژه مربوط

بـه آنهـا، متفـاوت اسـت. بنـابراین، در هـر گـروه زیستگاه‌های مشابهی جای دارند که ترکیب گونه‌ای و شرایط اکولوژیک آنها به هم نزدیک‌تر است. در نهایت، بررسی و آنالیز نیم رخ باندهای الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر نیز به تشخیص گروه‌هایی منجر شد که این گروه‌بندی مبین وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف این گونه است و تا حدودی با گروه‌بندی‌های مبتنی بر نشانگر فلوریستیک و اکولوژیک مطابقت و همخوانی دارد. بنابراین، بر اساس این نتایج، گروه‌های به دست آمده از تحلیل داده‌های الکتروفورز در استان‌های آذربایجان شرقی (گروه C)، آذربایجان غربی (گروه B) با گروه‌های حاصل از تحلیل داده‌های فلوریستیک و اکولوژیک مطابقت کامل دارد و آن را تأیید می‌کند. اما زیستگاه‌های ویژه مربوط به استان‌های همدان و کردستان در گروه A و زیستگاه مربوط به استان کرمانشاه (زیستگاه ۹) در گروه مستقلی جای گرفت (گروه D). پژوهش حاضر، مطالعات الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره بذر را در بررسی تنوع درون‌گونه‌ای (بین جمعیتی) گونه *V. speciosum* مفید و کارآمد نشان داد. در پژوهش‌های متعددی (Nadernejad and Pourseyedi, 2003؛ Sheidai *et al*., 2008؛ Vural *et al*., 2009؛ Çelebi *et al*., 2009؛ Chehregani Rad *et al*., 2011؛ Salehi *et al*., 2013). از الگوی نیم‌رخ پروتئینی در جدا نمودن تاکسون‌ها، روابط خویشاوندی، بررسی تنوع درون و بین گونه‌ای، مطالعات سیستماتیک و کمک به رده‌بندی‌های جدید استفاده شده و نشان داده شده است که مطالعه الگوی‌های پروتئینی می‌تواند در کنار سایر روش‌ها ابزاری سودمند در تشخیص تنوع درون گونه‌ای باشد که با نتایج پژوهش حاضر همسویی دارد. با توجه به مجموع مطالعات فلوریستیک، اکولوژیک و الکتروفورزی و گروه‌بندی‌های مربوط به آنها و وجود تنوع درون‌گونه‌ای در *V. speciosum*، نشان داده شد که می‌تواند در بررسی‌های سیستماتیک و رده‌بندی‌های جدید استفاده شود.

جمع‌بندی

نتایج این بررسی نشان داد که در شرایط مختلف اکولوژیک، وجود ترکیب اکولوژیک متفاوت باعث حضور ترکیب گونه‌ای متفاوتی می‌شود و در نتیجه جمعیت‌های مختلف یک گونه در شرایط اکولوژیک متفاوت با سرشت اکولوژیک خود، پاسخ‌های متفاوت ژنوتیپیک دارند، به طوری که افراد گونه *V. speciosum* در مناطق مورد بررسی تحت شرایط اکولوژیک متفاوت، چهار گروه پروتئینی مختلف از نظر باندهای پروتئینی را از خود نشان دادند. وجود تفاوت و تنوع در باندهای پروتئینی جمعیت‌های مشخص شده گیاه *V. speciosum* مبین وجود تنوع درون‌گونه‌ای در مناطق مورد بررسی است. همچنین، نتایج حاصل از نشانگرهای فلوریستیک، اکولوژیک و الگوی الکتروفورزی پروتئینی بذر نشان می‌دهد که هر سه نوع نشانگر یاد شده، توانایی تعیین تنوع درون‌گونه‌ای را در جمعیت‌های مورد بررسی گونه *V. speciosum* دارند، با توجه به زمان، هزینه، ضرورت‌های پیش روی و امکانات موجود یکی از این سه نوع نشانگر را برای نیل به هدف تحقیقی مناسب آن انتخاب کرد. از آن جا که روش D.S.S.، با صرف وقت و هزینه‌های کمتر، دسترسی به نتایج متعدد را فراهم می‌سازد می‌تواند به عنوان روشی کارآمد برای بررسی آسان‌تر، سریع‌تر، دقیق‌تر و مطمئن‌تر تعیین تنوع درون‌گونه‌ای و در مجموع در

سیستماتیک به کار رود.

سپاسگزاری

نگارندگان از جناب آقای دکتر مرتضی عطری استاد دانشگاه بوعلی سینا همدان به عنوان ارایه کننده روش D.S.S. به خاطر آموزش این روش و در اختیار قرار دادن نرم‌افزار مربوط کمال تشکر را دارند. ازآقایان دکتر کلوندی، مهندس عظیمی و مهندس اسکندری در اداره منابع طبیعی استان همدان و آزمایشگاه خاک‌شناسی و کشاورزی شهرستان بهار به خاطر راهنمایی‌ها و مساعدت‌های علمی در این پژوهش، تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

Ahmadi, M. (2012) Study of biosystematic and biodiversity of the species of *Tanacetum pinnatum* Boiss. and *Tanacetum polycephalum* Schultz Bip. in Hamedan state. MSc thesis, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran (in Persian).

Asgari Nematian, M., Atri, A. and Chehregani Rad, A. (2010) Chemical variation of *Astragalus verus* Olivier (Fabaceae) according to flavonoid pattern in the West of Iran. Iranian Journal of Plant Biology 2(4): 67-80 (in Persian).

Asgari Nematian, M., Atri, M. and Nazem, H. (2007) Flavonoid components variability of *Astragalus gossypinus* as a medicinal species in the west of Iran. Peyke Noor Journal Science 1(4): 50-61 (in Persian).

Assadi, M.,Maassoumi, A. A., Khatamsaz, M. and Mozaffarian, V. (eds). (1988-2003) Flora of Iran, vol. 68, Research Institute of Forests and Rangelands Publication, Tehran (in Persian).

Atri, M. (1999) A new concept of ecological factors and their division in vegetation studies. Iranian Journal of Plant Biology 8: 61-73 (in Persian).

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

Boulter, D., Thurman, D. A. and Turner, B. L. (1966) The use of disc electrophoresis of plant proteins in systematic. Taxon 15(4): 135-143.

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

Çelebi, A., Karavelioğulları, F., Açık, L. and Celep, F. (2009) Taxonomic relationships in Turkish *Verbascum* L. group A (Scrophulariaceae): evidence from SDS-PAGE of seed proteins and a numerical taxonomic study. Turkish Journal of Biochemistry 34(4): 234-241.

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).

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.

Cronquist, A. (1981) An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.

Ghasemkhani, T. (2012) Systematic study on the genus *Tanacetum* L.. MSc thesis, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran (in Persian).

A study of floristic-ecologic diversity and electrophoresis pattern of seed storage proteins in *Verbascum speciosum* in the West and North-West of Iran

Behrooz Eshghi Malayeri, Fatemeh Jalali Moghim and Abdolkarim Chehregani Rad *
Department of Biology, Faculty of Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Abstract
The country Iran is one of the most important centers for diversity of the genus *Verbascum*. This study was carried out to determinate intraspecific diversity of the *V. speciosum* populations collected from East Azerbaijan, West Azerbaijan, Kordestan, Kermanshah and Hamedan provinces. With using the D.S.S. method seventeen special habitats were determined for *V. speciosum* and floristic-ecologic data collected from each special habitat. Seed storage proteins were subjected for electrophoresis studies. In the survey of all special stations, 109 plant species were distinguished as associated species. As the result of analysis of floristic data, as floristic marker, four groups were determined that this grouping is distinguished the existence of intraspecific diversity in *V. speciosum*. Analysis of ecologic data was also confirmed the above mentioned grouping. The analysis of seed storage protein banding pattern showed four quite obvious groups. In the survey of electrophoresis pattern, existence of differences regarding number and density of the protein bands indicating existence of intraspecific diversity in the populations of *V. speciosum*. Therefore in this species, the grouping that introduced with floristic marker, mostly confirmed also with ecological and electrophoresis markers. This means that floristic grouping can only be used as a cost-effective and efficient method for studying of intraspecific diversity.
Key words: Seed storage proteins, Intraspecific diversity, Spatial station, Electrophoresis, *Verbascum speciosum*

* chehregani@basu.ac.ir

Copyright©2015, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

Guinochet M. (1973) Phytosociology. Masson, Paris.

Hames, B. D and Rickwood, D. (1990) Gel electrophoresis of proteins: A practical approach, 3rd edition. Oxford University Press, New York.

Huber-Morath, A. (1978) *Verbascum* L.. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Ed. Davis, P. H.) 6: 461-600. Edinburgh University Press, Edinburgh.

Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A. and Stevens, P. (2002) Plant systematics: a phylogenetic Approach, 2rd edition. Sinauer, Sunderland.

Kalvandi, R. (2012) Biosystematical study of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas population in Iran. PhD thesis, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran (in Persian).

Ladizinsky, G. and Hymowitz, D. (1979) Seed protein electrophoresis in taxonomic and evolutionary studies. Theoretical and Applied Genetics 54(4): 145-151.

Magurran, A. E. and McGill, B. J. (2011) Biological diversity: frontiers in measurement and assessment. Oxford University Press, Oxford.

Mahvan, A. (2002) Iran Flora Dictionary. Mahnashr, Mashhad, Iran (in Persian).

Nadernejad, N. and Pourseyedi, S. (2003) Numerical taxonomy of some populations of Iranian cumingenus *Cuminum*, *Bunium* and *Carum* based on morphological and cytological traits. Pajouhesh va Sazandegi 16(1): 10-15 (in Persian).

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 5(16): 68-55 (in Persian).

Sarmadi, J. (2010) Study of intraspecific diversity of *Tanacetum polycephalum* Schultz Bip. in Hamedan state. MSc thesis, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran (in Persian).

Sharifnia, F. (2007) Notes on the distribution and taxonomy of *Verbascum* in Iran. Iranian Journal of Botany 31(1): 30-32.

Sheidai, M., Saeidi, S. and Atri, M. (2008) Taxonomic applications of seed proteins in the genus *Bromus* L. (Poaceae). Iranian Journal of Botany 14(2): 126-131.

Tatli, I., and Akdemri, Z. S. (2004) Chemical constituents of *Verbascum* L. species. Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences 31: 85-96.

Toluei, Z. (2012) Systematic study on the genus *Onobrychis* Mill. sect. *Onobrychis* in Iran. PhD thesis, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran (in Persian).

Valdes, B. (1987) Scrophulariaceae. In: Flora vascular De Andalucia Occidental (Eds. Valdes, B., Talvera, S. and Fernandez-Galiano, E.) 2: 486-547. Ketres, Barcelona.

Vural, C., Servet, O. and Mikail, A. (2009) New combination in *Veronica* (Scrophulariaceae) based on morphological characters and the seed storage protein polymorphism. Journal of Systematics and Evolution 47(2): 168-172.

Yousefi, S. (2010) Intraspecific and interspecific diversity study of *Artemisia incana* and *Artemisia spicigera* in Iran, using D.S.S. method. MSc thesis, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran (in Persian).

Zohary, M. (1973) Geobotanical foundations of Middle East. 2 vols., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.