



تاکسونومی و سیستماتیک

تاکسونومی و سیستماتیک

علمی-پژوهشی

Taxonomy and Biosystematics

5th Year, No. 16

Autumn 2013

ISSN: 2008-8906

مجله علمی پژوهشی دانشگاه اصفهان

سال پنجم - شماره شانزدهم - پاییز ۱۳۹۲

شماره: ۸۹۰۶-۲۰۰۸

- فون سوسماران شهرستان سبزوار با تأکید بر گونه‌های هم‌زیستگاه به همراه ارائه چارچوبی برای تهیه نقشه‌های پراکنش خزندگان ایران ۱-۱۶
مسعود یوسفی، علی خانی، صیاد شیخی بیلائلو و اسکندر رستگار پویانی
- بررسی دو شکلی جنسی در ویژگی‌های ریخت‌شناختی جمجمه خرس قهوه‌ای (*Ursus arctos*) Linnaeus, 1758 در ایران با روش ریخت‌سنجی هندسی ۱۷-۲۶
فرزانه قنبری، محمد کابلی، سهیل ایگدري و باقر نظامی بلوچی
- معرفی شاخص اجتماع‌پذیری بذر در ارزیابی پایداری بانک بذر خاک ۲۷-۴۰
اعظم نورایی، امید اسماعیل‌زاده، سید غلامعلی جلالی و حامد اسدی
- استفاده از نشانگرهای اینترون-اگزون برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در دو زیرگونه آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) ۴۱-۵۴
احمد اسماعیلی، فرزانه مجیری و سیده زهرا حسینی
- بررسی تنوع زیستی با روش تعیین زیستگاه ویژه و مقایسه الکتروفورزی پروتئین‌های بذر جمعیت‌های دو گونه بومادران (*Achillea* L.) در غرب ایران ۵۵-۶۸
هاجر صالحی، عبدالکریم چهارگانی راد، مرتضی عطری و فریبا محسن‌زاده
- مطالعه تاکسونومی زیرجنس *Schedonorus* (P. Beauv.) Peterm. از جنس *Festuca* L. در ایران ۶۹-۷۴
سید ذبیح‌اله حسینی، محمدرضا رحیمی‌نژاد رنجبر، حجت‌اله سعیدی و مصطفی اسدی
- استفاده از الگوهای پروتئینی در بررسی تنوع ژنتیکی برخی ارقام منتخب کلزا ۷۵-۸۴
رؤیا رضوی‌زاده و فاطمه رستمی
- فلور، شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی گیاهان منطقه حفاظت شده هلالی در استان خراسان رضوی ۸۵-۱۰۰
فاطمه سخنور، حمید اجتهادی، جمیل واعظی، فرشید معاریانی، محمدرضا جوهرچی و زهرا رنجبر
- جداسازی و شناسایی آرکی‌های نمک‌دوست اجباری قابل کشت تالاب پر شور اینچه‌برون، استان گلستان ۱۰۱-۱۱۶
مهرنوش رسولی، محمد علی آموزگار و عباس اخوان سبهی

سال پنجم - شماره شانزدهم - پاییز ۱۳۹۲

- Lizard's fauna of the Sabzevar with particular emphasis on the syntopic lizard and presentation of a framework for reptile distribution of Iran 1
Masoud Yousefi, Ali Khani, Sayyad Shaykhi Ilanloo and Eskandar Rastegar Pouyani
- Sexual dimorphism in skull morphology of the brown bear (*Ursus arctos* Linnaeus, 1758) in Iran using geometric morphometric technique 2
Farzaneh Ghanbari, Mohammad Kaboli, Soheil Eagderi and Bagher Nezami Balouchi
- Introduction of Seed Accumulation Index as new approach in soil seed bank classification 3
Azam Noraiy, Omid Esmacilzadeh, Seyed Gholamali Jalali and Hamed Asadi
- Use of intron-exonic marker in assessment of genetic diversity of two subspecies of *Thymus daenensis* 4
Ahmad Ismaili, Farzaneh Mojiri and Seyedeh Zahra Hosseini
- 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 5
Hajar Salehi, Abdolkarim Chehragani Rad, Morteza Atri and Fariba Mohsenzadeh
- Taxonomic study of *Festuca* L. subgenus *Schedonorus* (P. Beauv.) Peterm. in Iran 6
Sayed Zabihollah Hosseini, Mohammad Reza Rahiminejad Ranjbar, Hojatollah Saeidi and Mostafa Assadi
- The use of protein patterns in genetic diversity analysis in some *Brassica napus* cultivars 7
Roya Razavizadeh and Fatemeh Rostami
- Flora, life form and chorology of plants of the Helali protected area in Khorasan-e Razavi province 8
Fatemeh Sokhanvar, Hamid Ejtehadi, Jamil Vaezi, Farshid Memariani, Mohammad Reza Joharchi and Zahra Ranjbar
- Isolation and identification of culturable extremely halophilic archaea of Inche-Boroun wetland 9
Mehrnosh Rasooli, Mohammad Ali Amoozegar and Abbas Akhavan Sepahy

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مجله کسب و کار و مدیریت

علمی-پژوهشی

سال پنجم - شماره شانزدهم - پاییز ۱۳۹۲

مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک بر اساس ابلاغیه شماره ۳/۱۱/۹۵۵ مورخ ۱۳۸۸/۰۶/۳۱ کمیسیون بررسی نشریات علمی وزارت علوم تحقیقات و فناوری، دارای درجه علمی-پژوهشی و شماره استاندارد بین‌المللی (شاپا) ۸۹۰۶-۲۰۰۸ (نسخه چاپی) و شماره استاندارد بین‌المللی ۲۱۹۰-۲۳۲۲ (نسخه الکترونیک) از سازمان اسناد و کتابخانه ملی جمهوری اسلامی ایران می‌باشد.

متن کامل مجله در پایگاه‌های زیر نمایه و فهرست می‌شود:

http://uijs.ui.ac.ir/tbj	پایگاه اختصاصی مجله
http://www.magiran.com	بانک اطلاعات نشریات کشور
http://www.ISC.gov.ir	پایگاه استنادی علوم جهان اسلام
http://www.sid.ir	پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی
http://www.ebscohost.com	ابسکو: میزبان پایگاه‌های اطلاعاتی
http://ulrichsweb.serialssolutions.com	اولریخ: راهنمای بین‌المللی نشریات ادواری
http://journals.indexcopernicus.com	ایندکس کوپرنیکوس (فهرست مجلات برتر)
http://www.doaj.org	دوآج: فهرست مجلات پژوهشی با دسترسی آزاد

چاپ و لیتوگرافی: انتشارات دانشگاه اصفهان

ناشر: دانشگاه اصفهان

انتشار: پاییز ۱۳۹۲

تاکسونومی و بیوسیستماتیک

سال پنجم - شماره شانزدهم - پاییز ۱۳۹۲

شماره استاندارد بین‌المللی (نسخه چاپی): ۸۹۰۶-۲۰۰۸

شماره استاندارد بین‌المللی (نسخه الکترونیک): ۲۱۹۰-۲۳۲۲

علمی-پژوهشی

صاحب امتیاز: معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه اصفهان

سر دبیر: دکتر محمدرضا رحیمی‌نژاد رنجبر

استاد - دانشگاه اصفهان

اعضای هیأت تحریریه

دکتر حمید اجتهادی	استاد - دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر علی اکبر احسانپور	استاد - دانشگاه اصفهان
دکتر جمشید درویش	استاد - دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر هما رجایی	دانشیار - دانشگاه شیراز
دکتر محمدرضا رحیمی‌نژاد رنجبر	استاد - دانشگاه اصفهان
دکتر بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی	استاد - دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر مهرداد عباسی	دانشیار - مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور
دکتر حسین فتح‌پور	دانشیار - دانشگاه اصفهان
دکتر علی اصغر معصومی	استاد - مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
دکتر ایرج نحوی	استاد - دانشگاه اصفهان
دکتر صادق ولیان بروجنی	دانشیار - دانشگاه اصفهان

مدیر اجرایی: فریبا هادیان (کارشناس ارشد)

ویراستار انگلیسی علمی-تخصصی: فریدون پرویزیان

ویراستار تخصصی: فریبا هادیان

صفحه‌آرای تخصصی: فریبا هادیان

ناشر: انتشارات دانشگاه اصفهان

نشانی: اصفهان - خیابان هزار جریب - دانشگاه اصفهان - ساختمان کتابخانه مرکزی - معاونت پژوهش و فناوری

طبقه دوم - اداره چاپ، انتشارات و مجلات - کد پستی: ۸۱۷۴۶۷۳۴۴۱ - دفتر مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک

نشانی پست الکترونیک: TBJ@ui.ac.ir

پایگاه اختصاصی مجله: <http://uijs.ui.ac.ir/tbj>

شماره تماس: ۷۹۳۴۲۵۵-۳۱۱-۹۸+

شماره دورنگار: ۷۹۳۲۱۷۷-۳۱۱-۹۸+

هدف

دانشگاه اصفهان با هدف معرفی و نشر آخرین یافته‌های علمی پژوهشگران دانشگاه‌ها و مؤسسات علمی در زمینه تاکسونومی و بیوسیستماتیک با تأکید بر خزانه وراثتی جانداران (یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها)، مجله علمی-پژوهشی **تاکسونومی و بیوسیستماتیک** با عنوان انگلیسی **Taxonomy and Biosystematics** را به صورت فصلنامه منتشر می‌نماید.

محورهای موضوعی مجله

مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک، مقاله‌های اصیل پژوهشی در زمینه‌های: معرفی تاکسون‌های جدید، مرور نامگذاری تاکسون‌ها، طبقه‌بندی تاکسون‌ها، معرفی روش‌های نوین ایجاد و تحلیل داده‌ها، ژن اکولوژی، ژنتیک جمعیت‌ها و تنوع وراثتی، تنوع زیستی و فیلوژنی تاکسون‌ها را پس از داوری دقیق به صورت مقاله کامل (full paper) و مقاله کوتاه (short paper) به چاپ می‌رساند.

قوانین حق نشر

۱. مقالاتی که برای چاپ در این مجله ارسال می‌گردد نباید قبلاً چاپ شده باشد و نباید به طور همزمان برای بررسی به مجلات دیگر ارائه شده باشد. همچنین، نایستی نتایج آن در گردهمایی‌ها مشابهت داشته باشد.
۲. مسئولیت صحت مطالب مقاله بر عهده نویسنده مسئول مقاله است.
۳. تعداد و ترتیب اسامی نویسندگان بر اساس توافق بین نویسندگان و با مسئولیت نویسنده مسئول مقاله صورت می‌گیرد.
۴. عدم رعایت دستورالعمل نگارش مقاله باعث عدم پذیرش یا کندی مراحل پذیرش مقاله خواهد شد.
۵. مجله در پذیرش، رد و اصلاح مقاله بر اساس قوانین مصوب این مجله عمل می‌نماید.
۶. مقاله‌های دریافت شده توسط داوران متخصص بررسی می‌شود و پس از پذیرش علمی در هیأت تحریریه با رعایت نوبت به چاپ می‌رسد.

تدوین مقاله در یک نگاه

متن مقاله بایستی به زبان فارسی باشد، رعایت قواعد دستور زبان فارسی و رسا بودن جملات مورد توجه است.

مقاله کامل (full paper) به ترتیب شامل: عنوان، نام نگارندگان، وابستگی سازمانی نگارندگان، چکیده فارسی، واژه‌های کلیدی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج، بحث، جمع‌بندی، سپاسگزاری، منابع، Title، Author(s) Name(s)، Author(s) Affiliation(s)، Abstract و Key words باشد و حداکثر در ۱۵ صفحه در فرمت نهایی مجله تنظیم شود.

مقاله کوتاه (short paper) کاملاً شبیه مقاله کامل است به طوری که دارای: عنوان، نام نگارندگان، وابستگی سازمانی نگارندگان، چکیده فارسی، واژه‌های کلیدی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج، بحث، جمع‌بندی، سپاسگزاری، منابع، Title، Author(s) Name(s)، Author(s) Affiliation(s)، Abstract و Key words است، با این تفاوت که بدون بخش‌بندی و حداکثر در ۴ صفحه تنظیم می‌شود.

تدوین مقاله با شرح جزئیات (رعایت ترتیب در متن)

فایل مقاله با نرم افزار Microsoft Office Word در فرمت ذخیره 2003، در کاغذ A4، با حاشیه های ۳ سانتی متر از چهار سوی، فاصله خطوط ۱ (single) و به صورت یک ستونی تهیه شود.

عنوان: فارسی: 16 B Zar Bold، انگلیسی: 14 Times New Roman Bold

نام نگارندگان: فارسی: 11 B Zar، انگلیسی: 9 Times New Roman

درج شماره مربوط به وابستگی سازمانی هر نگارنده پس از نام نگارنده به صورت superscript

درج ستاره (*) برای نویسنده مسؤول (Corresponding Author)

وابستگی سازمانی نگارندگان: فارسی: 10 B Zar و انگلیسی: 8 Times New Roman

درج شماره مربوط به وابستگی سازمانی هر نگارنده پیش از نشانی به صورت superscript

نشانی پست الکترونیک نگارنده مسؤول: 10 Times New Roman

چکیده: فارسی: 11 B Zar، انگلیسی: 9 Times New Roman

حداقل ۱۰۰ و حداکثر ۲۵۰ واژه، از به کار بردن واژه های اختصاری اجتناب شود.

واژه های کلیدی: حداکثر ۷ واژه مرتبط و مرتب شده بر اساس حروف الفبا

متن مقاله: به ترتیب شامل: مقدمه، مواد و روش ها، نتایج، بحث، جمع بندی و سپاسگزاری است. فارسی: 13 B Zar، انگلیسی:

11 Times New Roman

از درج پاورقی برای بیان توضیحات انگلیسی و فارسی و بالعکس خودداری شود و در صورت نیاز، در درون پرانتز و در متن مقاله آورده شود.

جدول ها

جدول ها به همراه توضیحات آنها در متن مقاله آورده شود.

شماره گذاری و توضیحات جدول ها به صورت بالانویس باشد. فارسی: 11 B Zar، انگلیسی: 9 Times New Roman

فرمت جدول ها در بخش Text wrapping، به صورت None انتخاب شود.

جدول های طولانی به صورت جدولی یکپارچه طراحی شود.

شکل ها

شکل ها به همراه توضیحات آنها در متن مقاله آورده شود.

شماره گذاری و توضیحات شکل ها به صورت زیرنویس باشد. فارسی: 11 B Zar، انگلیسی: 9 Times New Roman

فرمت شکل ها در بخش Layout، به صورت In line with text انتخاب شود.

شکل ها از حالت گروه بندی (group) خارج شود و به صورت یکپارچه باشد.

شکل هایی که از جنس نمودار هستند به صورت دو بعدی، سیاه و سفید، بدون سایه، با بافت ساده طراحی شوند.

شکل هایی که از جنس تصویر هستند به صورت دو بعدی، بدون سایه، با کیفیت بسیار بالا ارسال شوند.

زیرنویس شکل‌ها و بالانویس جدول‌ها به یکی از دو صورت زیر تنظیم شود:

مقادیر، میانگین ... تکرار $\pm SE$ (یا $\pm StD$ یا انحراف معیار یا خطای معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون (دانکن یا توکی یا ...) است.

مقادیر، میانگین ... تکرار $\pm SE$ (یا $\pm StD$ یا انحراف معیار یا خطای معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < XXX$ است.

منابع (بر اساس شیوه‌نامه انجمن روان‌شناسی آمریکا، APA)

منابع استفاده شده در سراسر مقاله فقط به زبان انگلیسی باشد.

منابعی که در اصل فارسی زبان هستند، با درج عبارت (in Persian) در انتها مشخص شوند.

منابع استفاده شده در متن مقاله در چهار مورد با فهرست منابع کاملاً منطبق باشد: استفاده شدن یا نشدن در متن یا انتها، داشتن املائی صحیح و یکسان، داشتن یا نداشتن همکار، یکسان بودن سال.

استناد در متن (references in text): به صورت نام نویسنده یا نویسندگان (بدون نام کوچک) و سال انتشار نوشته شود.

ابتدای جمله

Ranjbar و Mahmoudian (۲۰۱۳) با مطالعه چهار گونه از جنس ...

Ashrafzadeh و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی برخی ویژگی‌های بوم‌شناختی گونه جریبل بلوچی ...

وسط جمله

مطالعه Mehdipour Moghaddam و همکاران (۲۰۱۲) برای شناسایی گونه‌هایی جدید از باکتری‌های ...

نتایج به دست آمده از بررسی‌های Kharazian (۲۰۱۰) بر روی طبقه‌بندی و ریخت‌شناسی ...

انتهای جمله (از قدیم به جدید)

(Ranjbar and Mahmoudian, 2013; Mehdipour Moghaddam *et al.*, 2012; Kharazian, 2010; Ashrafzadeh *et al.*, 2010)

عبارت *et al* بایستی به صورت مورب باشد (به دلیل لاتین بودن).

منابع (references in list)

منابع بر اساس حروف الفبا مرتب شود و به اندازه ۵/۰ سانتی‌متر به صورت Hanging تورفتگی داشته باشد. 11 Times New Roman

استناد به مقاله (paper)

به ترتیب شامل: عنوان نویسنده یا نویسندگان، سال، عنوان مقاله، عنوان مجله، شماره مجله، شماره صفحات است (به علامت‌های جدا کننده ویرایشی توجه شود).

پیش از عنوان آخرین نویسنده، واژه ربط and استفاده شود (استفاده از & مجاز نیست).

برای استناد به مقاله‌هایی که هنوز چاپ نشده‌اند به جای سال، از عبارت (in press) استفاده شود.

عنوان مقاله با حروف کوچک نوشته شود، به استثنای نخستین حرف از: نخستین واژه، اسامی خاص و اسامی علمی.

عنوان مجله به صورت کامل (نه مخفف) نوشته شود.

حروف نخستین عنوان مجله به صورت بزرگ (capital) نوشته شود.

Gholipour, A. and Sonboli, A. (2013) Rediscovery of *Acorus calamus* (Acoraceae) in Iran. *Taxonomy and Biosystematics* 5(15): 113-116 (in Persian).

Takano, A., Gisil, J. and Suleiman, M. (2013) Floral size variation causes differentiation of pollinators and genetic parameters in *Alpinia nieuwenhuizii*, a flexistylous ginger (Zingiberaceae). *Plant Systematics and Evolution* 299(5): 865-871.

استناد به کتاب (book)

با توجه به اینکه ترجمه اغلب کتاب‌ها بدون دریافت مجوز از نویسنده و ناشر اصلی انجام می‌شود، استفاده از آنها در مجامع بین‌المللی موجب بروز مشکلات عدیده‌ای می‌شود. لذا، استناد به ترجمه‌های فارسی مجاز نیست. در صورت نیاز، اصل کتاب تهیه، مطالعه و به آن ارجاع داده شود.

به ترتیب شامل: عنوان نویسنده یا نویسندگان، سال، عنوان کتاب، شماره ویرایش در صورت وجود، نام انتشارات، نام نخستین شهر محل انتشارات.

Ghahreman, A. and Attar, F. (1999) Biodiversity of plant species in Iran. Tehran University Press, Tehran (in Persian).

Stace, C. A. (1989) Plant taxonomy and biosystematics. Edward Arnold, London.

استناد به بخشی از کتاب (chapter in book) به طوری که هر بخش دارای نویسنده جداگانه باشد:

به ترتیب شامل: عنوان نویسنده یا نویسندگان بخش، سال، عنوان بخش، استفاده از واژه In:، عنوان اصلی کتاب، نام ویراستار اصلی، شماره ویرایش در صورت وجود، شماره صفحه آغاز و پایان بخش، نام انتشارات، نام نخستین شهر محل انتشارات. توضیح: اگر ویراستار اصلی (chief editor) یک نفر باشد، از Ed. و اگر بیش از یک نفر باشد (chief editors) از Eds. استفاده می‌شود.

Morrison, L. A. (1993) *Triticum-Aegilops* systematics: taking an integrative approach. In: Biodiversity and wheat improvement (Ed. Damania, A. B.) 59-66. John Wiley & Sons, New York.

Sears, E. R. (1956) The systematic, cytology and genetics of wheat. In: Handbuch der Pflanzenzuchtung. (Eds. Kapparet, H. and Rudorf, W.) 2: 164-187. Paul Parey, Berlin and Humburg.

استناد به کتاب چند جلدی دارای ویراستار اصلی با تاریخ نشر چند ساله

Rechinger, K. H. (Ed.) (1963-1998) Flora Iranica. vols. 1-176. Akademische Druck-U Verlagsanstalt, Graz.

Townsend, C. C. and Guest, E. (1966-1985) Flora of Iraq. vols. 1-9. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Baghdad.

استناد به یک جلد از کتاب چند جلدی دارای ویراستار اصلی

Podlech, D., Zarre, Sh. and Maassoumi, A. A. (2001) Papilionaceae IV, Astragalus II. In: Flora Iranica (Ed. Rechinger, K. H.) vol. 175. Akademische Druck-U Verlagsanstalt, Graz.

استناد به پایان‌نامه کارشناسی ارشد و رساله دکتری

به ترتیب شامل: نام نویسنده، سال، عنوان پایان‌نامه، مقطع تحصیلی، نام دانشگاه، نام شهر، نام کشور.

Barzehkar, Gh. (1995) Flora and plant communities with their distribution according to ecological properties in Noor Forest Park. MSc thesis, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (in Persian).

Von Konrat, M. (2003) A biosystematic study of the liverwort genus *Frullania Raddi*: encompassing a worldwide monograph of subg. *microfrullania* (Schust.) Schust.; a revision of the New Zealand species and study of subsidiary species. PhD thesis, The University of Auckland, Auckland, New Zealand.

استناد به Patent

به ترتیب شامل: نام نویسنده، سال، عنوان، نام کشور و شماره patent.

Suzuki, T., Ohishi, N. and Yagi, K. (2000) Methods of obtaining a composition 9-cis β -Carotene in high purity. US Patent 6057484.

استناد به همایش (سمینار، سمپوزیوم، کنگره، میتینگ و ...)

به ترتیب شامل: نام نویسنده، سال انتشار، عنوان مقاله، دوره و نام همایش، نام محل برگزاری، نام شهر، نام کشور.

Mason-Gamer, R. J. and Helfgott, D. M. (2002) Molecular phylogenetic investigation of allopolyploid *Elymus* in North America. 4th International Triticeae Symposium, Prague, Czech Republic.

استناد به مقاله کامل همایش (سمینار، سمپوزیوم، کنگره، میتینگ و ...): **Proceedings**

به ترتیب شامل: نام نویسندگان، سال انتشار، عنوان مقاله، دوره و نام همایش، نام محل برگزاری، نام شهر، نام کشور.

Mohsenzadeh, S. (1996) Study of nitrogen fertilizer time and amount on seed production and other characterizations of Sorghum. In: Proceeding of the 4th Iranian Congress of Agriculture and Plant Breeding, Isfahan, Iran (in Persian).

Somsap, V., Atkins, C. and Jones, M. G. K. (1993) Tissue culture for transformation of narrow- and broad-leaved lupins. In: Proceeding of the 33rd Annual General Meeting of Australian Society of Plant Physiologist, University of Western Australia, Perth, Australia.

استناد به منابع با پدیدآورنده سازمانی

Iran Meteorological Organization (2007) Statistical data of Gonabad synoptic station. Retrieved from <http://www.weather.ir>. On: 30 October 2007 (in Persian).

استناد به اینترنت

استناد به نشانی‌های اینترنتی تقریباً فاقد اعتبار است، به استثنای نشانی‌هایی که محتوای آنها به صورت " پایگاه داده " قابل استفاده است، مانند: IPNI و IPCN. در مواقعی که ناگزیر از استفاده محدود از آن باشد نام نویسنده، زمان چاپ و زمان استخراج از پایگاه درج گردد.

IPNI, The International Plant Names Index. Retrieved from <http://www.ipni.org>. On: 31 March 2012.

ISTA, International Seed Testing Association. Retrieved from <http://www.seedtest.org/en/home.html> On: 16 May 2013.

Rotblat, J. (2000) Fifty Pugwash conferences: a tribute to Eugene Rabinowitch. Retrieved from <http://www.pugwash.org/reports/pac/pac256/otblat.htm>. On: 22 June 2001.

Title: دقیقاً منطبق با عنوان فارسی مقاله باشد. 14 Times New Roman Bold

Author(s) Name(s): دقیقاً منطبق با نام نگارندگان فارسی باشد. 11 Times New Roman Bold

درج شماره مربوط به وابستگی سازمانی هر نگارنده پس از نام نگارنده به صورت superscript

درج ستاره (*) برای نویسنده مسؤول (Corresponding Author)

Author(s) Affiliation(s): دقیقاً منطبق با وابستگی سازمانی فارسی باشد. درج شماره مربوط به وابستگی سازمانی هر نگارنده

پیش از نشانی به صورت superscript. 10 Times New Roman

Email: 10 Times New Roman

Abstract: دقیقاً منطبق با چکیده فارسی باشد. 12 Times New Roman

Key words: دقیقاً منطبق با واژه‌های کلیدی فارسی باشد. 12 Times New Roman

ارسال مقاله

فایل مقاله با نرم‌افزار Microsoft Office Word در فرمت ذخیره 2003 تنظیم و به همراه فایل پیش‌نیاز (copyright) توسط عضو هیأت علمی در پایگاه اختصاصی مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک به نشانی <http://uijs.ui.ac.ir/tbj> ارسال گردد.

تماس با مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک

شماره تماس: ۰۲۱-۷۹۳۴۲۵۵-۳۱۱-۹۸+

دورنگار: ۰۲۱-۷۹۳۲۱۷۷-۳۱۱-۹۸+

نشانی پست الکترونیک: tbj@ui.ac.ir

نشانی پایگاه: <http://uijs.ui.ac.ir/tbj>

نشانی: اصفهان - خیابان هزار جریب - دانشگاه اصفهان - ساختمان کتابخانه مرکزی - طبقه دوم - اداره چاپ، انتشارات و مجلات -

دفتر مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک، کدپستی: ۸۱۷۴۶۷۳۴۴۱

معرفی داوران علمی

سال پنجم - شماره شانزدهم - پاییز ۱۳۹۲

اعضای محترم هیأت علمی دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی کشور که در داوری و ارزیابی مقالات این شماره از مجله علمی-پژوهشی تاکسونومی و بیوسیستماتیک همکاری داشته‌اند، معرفی شده، از خدمات علمی آنها تقدیر می‌گردد:

دکتر مراحم آشنگرف	دانشگاه کردستان
دکتر علی اکبر احسانپور	دانشگاه اصفهان
دکتر زهرا اعتمادی‌فر	دانشگاه اصفهان
دکتر حمیدرضا اسماعیلی	دانشگاه شیراز
دکتر محمد حسین اهتمام	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر سهیل ایگدری	دانشگاه تهران
دکتر نواز خرازیان	دانشگاه شهرکرد
دکتر احمدرضا خسروی	دانشگاه شیراز
دکتر مهدی رحیم ملک	دانشگاه صنعتی اصفهان
دکتر مجید شریفی تهرانی	دانشگاه شهرکرد
دکتر یونس عصری	مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
دکتر منصور علی آبادیان	دانشگاه فردوسی مشهد
دکتر حسین فتح‌پور	دانشگاه اصفهان
دکتر فرخ قهرمانی‌نژاد	دانشگاه خوارزمی
دکتر شاهرخ کاظم‌پور اصلو	دانشگاه تربیت مدرس
دکتر سید مسعود مجدزاده	دانشگاه شهید باهنر کرمان
دکتر محمد جواد مهدی‌پور مقدم	دانشگاه گیلان
دکتر سید منصور میرتاج الدینی	دانشگاه شهید باهنر کرمان
دکتر علیرضا نقی‌نژاد	دانشگاه مازندران

مجله علمی - پژوهشی تاکسونومی و بیوسیستماتیک

سال پنجم - شماره شانزدهم - پاییز ۱۳۹۲

شماره استاندارد بین‌المللی (نسخه چاپی): ۸۹۰۶-۲۰۰۸

شماره استاندارد بین‌المللی (نسخه الکترونیک): ۲۱۹۰-۲۳۲۲

فهرست

- فون سوسماران شهرستان سبزوار با تأکید بر گونه‌های هم‌زیستگاه به همراه ارائه چارچوبی برای تهیه نقشه‌های پراکنش خزندگان ایران ۱۶-۱
مسعود یوسفی، علی خانی، صیاد شیخی بیلانلو و اسکندر رستگار پویانی
- بررسی دو شکلی جنسی در ویژگی‌های ریخت‌شناختی جمجمه خرس قهوه‌ای (*Esus arctos* Linnaeus, 1758) در ایران با روش ریخت‌سنجی هندسی ۲۶-۱۷
فرزانه قنبری، محمد کابلی، سهیل ایگدری و باقر نظامی بلوچی
- معرفی شاخص اجتماع‌پذیری بذر در ارزیابی پایداری بانک بذر خاک ۴۰-۲۷
اعظم نورایی، امید اسماعیل‌زاده، سید غلامعلی جلالی و حامد اسدی
- استفاده از نشانگرهای اینترون-گزون برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در دو زیرگونه آویشن دنایی (*Erys daenensis*) ۵۴-۴۱
احمد اسماعیلی، فرزانه مجیری و سیده زهرا حسینی
- بررسی تنوع زیستی با روش تعیین زیستگاه ویژه و مقایسه الکتروفورزی پروتئین‌های بذر جمعیت‌های دو گونه بومادران (*Aniba* L.) در غرب ایران ۶۸-۵۵
هاجر صالحی، عبدالکریم چهارگانی راد، مرتضی عطری و فریبا محسن‌زاده
- مطالعه تاکسونومی زیرجنس *Schedonorus* (P. Beauv.) Peterm. از جنس *Festuca* L. در ایران ۷۴-۶۹
سید ذبیح‌اله حسینی، محمدرضا رحیمی‌نژاد رنجبر، حجت‌اله سعیدی و مصطفی اسدی
- استفاده از الگوهای پروتئینی در بررسی تنوع ژنتیکی برخی ارقام منتخب کلزا ۸۴-۷۵
رؤیا رضوی‌زاده و فاطمه رستمی
- فلور، شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی گیاهان منطقه حفاظت شده هلالی در استان خراسان رضوی ۱۰۰-۸۵
فاطمه سخنور، حمید اجتهادی، جمیل واعظی، فرشید معماریانی، محمدرضا جوهرچی و زهرا رنجبر
- جداسازی و شناسایی آرکی‌های نمک‌دوست اجباری قابل کشت تالاب پر شور اینچه‌برون، استان گلستان ۱۱۶-۱۰۱
مهرنوش رسولی، محمد علی آموزگار و عباس اخوان سپهی

فون سوسماران شهرستان سبزوار با تأکید بر گونه‌های هم‌زیستگاه به همراه ارائه چارچوبی برای تهیه نقشه‌های پراکنش خزندگان ایران

مسعود یوسفی^۱، علی خانی^۲، صیاد شیخی ییلانلو^۳ و اسکندر رستگار پویانی^{۴*}
^۱ گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
^۲ اداره حفاظت محیط‌زیست استان خراسان رضوی، مشهد، ایران
^۳ گروه محیط‌زیست، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
^۴ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران

چکیده

مطالعه خزندگان و اتخاذ تدابیری برای حفاظت از آنها از اولویت‌های حفظ تنوع زیستی هر کشوری محسوب می‌شود. شهرستان سبزوار در غرب استان خراسان رضوی دارای غنای بالایی از مهرداران است. مطالعه حاضر، با هدف بررسی فون سوسماران شهرستان سبزوار با تأکید ویژه بر گونه‌های هم‌زیستگاه به مدت سه سال (۱۳۸۸ تا ۱۳۹۰) انجام شده است. نتایج نشان داد که ۲۱ گونه سوسمار متعلق به ۱۳ جنس و ۵ خانواده در این شهرستان زیست می‌نماید. مطالعه گونه‌های هم‌زیستگاه نشان داد که گونه *Trapelus agilis* با ۱۸ گونه هم‌زیستگاه است و از این نظر بیشترین گونه‌های هم‌زیستگاه را در منطقه داراست. همچنین، ارتباط فون سوسماران سبزوار که در منطقه فیزیوژئوگرافیک فلات مرکزی قرار دارد با دیگر مناطق فیزیوژئوگرافیک سوسماران ایران بررسی شد. نتایج نشان داد سبزوار در سطح گونه بیشترین اشتراک را با دشت ترکمن دارد. تعداد این گونه‌های مشترک ۱۳ عدد است. به دلیل ناقص بودن نقشه پراکنش خزندگان ایران و ضرورت ثبت مدون اطلاعات پراکنش خزندگان در تحقیق حاضر نقشه شبکه‌بندی شده ۲۵×۲۵ کیلومتر ایران به عنوان نقشه پایه برای ثبت نقاط پراکنش خزندگان ایران پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سوسمار، هم‌زیستگاه، سبزوار، نقشه پراکنش

مقدمه

Sindaco and Jeremcenko, Pouyani *et al.*, 2008

(2008). در این پهنه گسترده، زیستگاه‌های بسیاری برای خزندگان وجود دارد که تاکنون ارزیابی نشده‌اند یا به دلایل مختلف از جمله: نبود زمان و بودجه کافی یا

ایران با مساحتی برابر با ۱۶۴۸۱۹۵ کیلومتر مربع دارای غنای عظیمی از خزندگان است (Anderson, 1999؛ 2000؛ Latifi, 2007؛ Firouz, Rastegar-

فقدان امنیت به ویژه در مناطق مرزی به خوبی بررسی نشده است. از این رو، فون خزندگان آنها ناشناخته مانده است و هر ساله گونه‌ها و رکوردهای جدید از خزندگان ایران در منابع مختلف به ثبت می‌رسد (Moradi and Shafiei, 2011; Kazemi *et al.*, 2011; Rajabizadeh *et al.*, 2011; Mozaffari *et al.*, 2011).

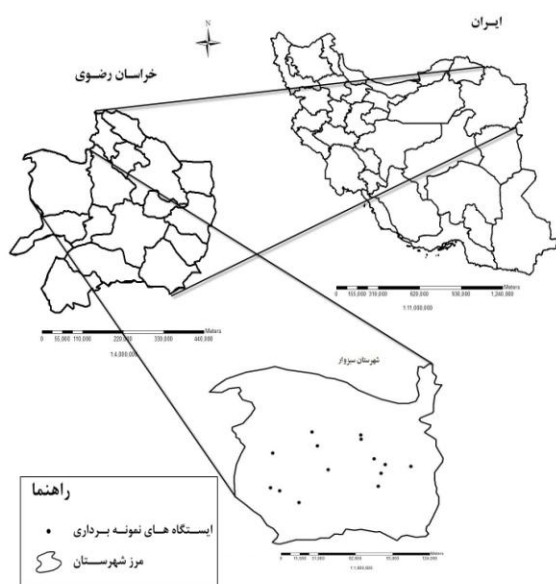
از دیگر دلایل ناشناخته ماندن فون خزندگان ایران وجود گونه‌های نادر و گونه‌هایی با رفتارهای ویژه است (Majnoonian *et al.*, 2005). گونه‌های روز فعال یک منطقه ویژه را می‌توان در یک زمان بسیار کوتاه نیز شناسایی کرد، اما گونه‌های کمیاب حتی در بررسی‌های گسترده نیز ممکن است ناشناخته باقی بمانند و کسی با آنها برخورد نکند. Anderson (۱۹۹۹) در تأیید این موضوع اذعان دارد که در طول ۹ ماه زندگی و مطالعه در مسجد سلیمان و خوزستان موفق به دیدن تمام گونه‌های معرفی شده از منطقه نشده است (Majnoonian *et al.*, 2005). از این رو، ضروری است که برای تعیین فهرست و موجودی واقعی خزندگان هر منطقه ارزیابی‌های طولانی مدت ترتیب داده و انجام شود تا تمامی گونه‌ها حتی انواع کمیاب منطقه جمع‌آوری و شناسایی شود. تاکنون در شهرستان سبزوار چندین مطالعه در مورد فون خزندگان انجام شده است ولی به دلیل کوتاه بودن زمان مطالعه تمام گونه‌های موجود شناسایی نشدند به طوری که تعداد گونه‌های فهرست شده در مطالعه حاضر تا تعداد ۱۰ گونه با فهرست‌های ارایه شده قبلی تفاوت دارد (Gharzi, 1999).

در مطالعات فونستیک و غنای گونه‌ای توجه به گونه‌های هم‌زیستگاه بسیار ضروری است، برای واژه هم‌زیستگاه دو اصطلاح در زبان انگلیسی وجود دارد

(sympatric و syntopic) که هر کدام به حالت‌های مختلفی از هم‌پوشانی پراکنش جغرافیایی و پراکنش بوم‌شناختی اشاره دارد (Rivas, 1964). اصطلاح syntopic به دو یا چند گونه‌ای اشاره دارد که دارای هم‌پوشانی پراکنش جغرافیایی هستند صرف نظر از اینکه با هم در یک زیستگاه کلان (macrohabitat) یا یک مکان یکسان (same locality) حضور دارند یا حضور ندارند، اما اصطلاح syntopic به دو یا چند گونه‌ای اشاره دارد که در یک زیستگاه کلان در مجاورت هم حضور دارند و برای گونه‌های خویشاوند نزدیک امکان هم‌آوری وجود دارد (Anderson, 1964; Rivas, 1999). از آنجا که در برخی مقالات از اصطلاح syntopic برای گونه‌هایی استفاده می‌شود که در حقیقت اشاره به گونه‌های syntopic دارد، لازم به ذکر است که منظور از اصطلاح هم‌زیستگاه در نوشتار حاضر واژه syntopic است. بدیهی است در گستره زیستگاه‌های یکسان یا نزدیک به هم این فرصت برای گونه‌های syntopic فراهم می‌شود که از نظر بوم‌شناختی به شیوه‌های قابل درکی مانند هم‌زیستی و رقابت، کنش و واکنش داشته، یا به شیوه‌های دیگری نظیر رابطه صید و صیادی با یکدیگر مرتبط باشند و حتی ممکن است یکدیگر از نظر آشیان اکولوژیک در تنگنا قرار دهند (Anderson, 1999; Rivas, 1964; Majnoonian *et al.*, 2005).

پیش از این، تحقیقاتی در مورد فون خزندگان در شمال شرق ایران انجام شده است که می‌توان به مطالعات Ziaol-Hagh (۱۹۹۵)، Rastegar-Pouyani (۱۹۹۶)، Salehi (۱۹۹۷)، Gharzi (۱۹۹۹)، Khademi (۲۰۰۵)، Hojati و همکاران (۲۰۰۶)، Nasrabadi و همکاران (۲۰۰۶)، Aghili (۲۰۰۷)، Salehi و همکاران (۲۰۱۰) و

شناخت نگارندگان از منطقه در زمان‌های مناسب در زیستگاه‌های مختلف به گشت‌زنی پرداخته، نمونه‌ها جمع‌آوری شدند. نمونه‌های خزنده جمع‌آوری شده، پس از تهیه عکس در الکل ۹۶ درصد تثبیت شدند. سپس، با کلیدهای شناسایی معتبر برای خزندگان ایران (Anderson, 1999; Leviton et al., 1992; Rastegar-Pouyani et al., 2008) شناسایی شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده در آزمایشگاه جانورشناسی دانشگاه حکیم سبزواری و موزه حیات وحش اداره حفاظت محیط‌زیست شهرستان سبزوار نگهداری می‌شوند.



شکل ۱- موقعیت شهرستان سبزوار در استان خراسان رضوی

نتایج

در بررسی‌های انجام شده تعداد ۲۱ گونه سوسمار متعلق به ۱۳ جنس و ۵ خانواده جمع‌آوری و شناسایی شد. در ادامه مروری بر سوسماران جمع‌آوری شده به همراه گونه‌های هم‌زیستگاه و مختصری از وضعیت هر گونه ارایه شده است (جدول ۱). در برخی موارد به گونه‌های مار هم‌زیستگاه نیز اشاره شده است.

Yousefi و همکاران (۲۰۱۰) اشاره کرد.

هدف از مطالعه حاضر، بررسی فون سوسماران شهرستان سبزوار برای تهیه فهرستی کامل از سوسماران شهرستان و تعیین گونه‌های هم‌زیستگاه با توجه به اهمیت آنها، بررسی ارتباط سوسماران شهرستان با مناطق فیزیوژئوگرافیک کشور که Anderson (۱۹۹۹) برای تبیین فون سوسماران ایران ارایه نمود و نیز بررسی ارتباط آنها با کشورهای واقع در مرزهای شرقی کشور است.

مواد و روش‌ها

موقعیت منطقه مورد مطالعه

شهرستان سبزوار بین ۳۳' و ۵۶' تا ۱۶' و ۵۸° طول شرقی و ۲۷' و ۳۵° تا ۵۲' و ۳۶° عرض شمالی قرار گرفته، یکی از شهرهای غربی استان خراسان رضوی است (شکل ۱). مساحت این شهرستان ۱۴۲۴۵ کیلومتر مربع و ۹۵۰ متر بالاتر از سطح دریا است. کوه گر در بخش داورزن با ارتفاع ۲۹۷۷ متر بلندترین نقطه شهرستان به شمار می‌آید. زمستان‌های سرد و خشک و تابستان‌های گرم از ویژگی‌های آب و هوای این شهرستان محسوب می‌شود. شهرستان سبزوار دارای دو منطقه حفاظت‌شده است: ۱- پناهگاه حیات وحش شیر احمد با وسعت ۲۲۸۰۰ هکتار، در فاصله ۵ کیلومتری شرق شهرستان سبزوار و ۲- منطقه حفاظت‌شده پروند با وسعت ۱۶۹۰۰ هکتار در جنوب‌غربی شهرستان که دارای پهنه‌های وسیعی از تپه‌های ماسه‌ای است (خانی، ۱۳۸۹).

روش مطالعه

مطالعه به روش پیمایشی انجام شد. با توجه به

Agamidae***Laudakia caucasica***

آگامای قفقازی در مناطق کوهستانی شمال غرب شهرستان در کوه‌های منطقه ریوند زیست می‌نماید. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از: *Eremias strauchi* و *Ablepharus pannonicus*

شایان توجه است که گونه *L. nupta* در محدوده مرزهای غربی سبزواری در استان سمنان در ذخیره‌گاه زیست کره توران (هم مرز منطقه حفاظت شده پروند) زیست می‌نماید ولی تاکنون در محدوده شهرستان رکوردی از آن به دست نیامده است.

Phrynocephalus scutellatus

آگامای سروزغی خاکستری در مناطق دشتی و مسطح و در بسترهای سنگریزه‌ای که دارای نفوذپذیری زیاد و پوشش بوته‌ای است زیست می‌نماید. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از:

Teratoscincus bedriagai, *Trapehus agilis*, *E. persica*, *Eremias nigrocellata*, *T. scincus*, *Varanus griseus*, *Mesalina watsonana*, *E. velox*, *Psammophis schokari* و *Platycephalus karelini*

Phrynocephalus mystaceus

آگامای سروزغی در ماسه بادی‌های غرب سبزواری در منطقه حفاظت شده پروند یافت شد. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از:

E. lineolata, *Crossobamon evermanni*, *T. agilis* و مار *Eryx jaculus*

Trapehus agilis

آگامای چابک در بیشتر گستره شهرستان به وفور یافت می‌شود و با بسیاری از گونه‌ها نیز هم‌زیستگاه است در مناطق دشتی، کوهپایه‌ای، دره‌ها و تپه‌های

ماسه‌ای تثبیت شده با گیاهان، همراه با گونه‌های ماسه‌زی یافت می‌شود. این گونه را می‌توان اغلب بر روی تخته سنگ‌ها، درختچه‌ها و بوته‌ها یافت، حتی در مناطقی بر روی درختچه‌های تاغ تا ارتفاع دو متری سطح زمین نیز مشاهده می‌شود. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از:

Bunopus, *P. scutellatus*, *P. mystaceus*, *T. scincus*, *C. evermanni*, *tuberculatus*, *E. nigrocellata*, *E. lineolata*, *bedriagai*, *P. V. griseus*, *M. watsonana*, *E. velox*, *persica*, *Spalerosophis*, *Lytorhynchus ridgewayi*, *karelini*, *P. schokari* و *diadema*

Gekkonidae***Agamura persica***

جکوی ایرانی در دشت شیر احمد زیست می‌نماید. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از: *E. persica*, *T. agilis*, *P. scutellatus*, *P. schokari* و *P. karelini*, *velox*

Bunopus tuberculatus

جکوی سنگی بلوچی در دشت شیر احمد به همراه گونه‌های ذکر شده برای جکوی ایرانی یافت شد.

Crossobamon evermanni

جکوی انگشت ریشه‌دار اورسمنان در تپه‌های ماسه‌ای تثبیت شده با گیاهان در منطقه پروند یافت شد. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از: *E. lineolata*, *T. agilis*, *P. mystaceus* و مار *E. jaculus*

Cyrtopodion caspium

جکوی انگشت کج خزری در خرابه‌ها، آغل

شهرستان یافت می‌شود. برای این سوسمار گونه هم‌زیستگاه یافت نشد.

Eremias lineolata

لاسترای راه‌راه در ماسه بادی‌های منطقه پروند و ماسه بادی‌های محدوده‌های شرقی شهرستان در منتهی‌الیه شرقی پناهگاه حیات وحش شیر احمد حضور دارد. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از:

E. C. eversmanni, *T. agilis*, *P. mystaceus jaculus*

Eremias nigrocellata

لاسترای خال سیاه در مناطق دشتی جنوب شهرستان سبزوار در جایی که درختچه‌های تاغ وجود دارد یافت می‌شود. این گونه به لانه‌های جوندگان و سوراخ‌های اطراف محل زیست خود و اطراف درختچه‌های تاغ بسیار وابسته است، به طوری که در زمان احساس خطر به آنها پناه می‌برد و در صورت وجود چند سوراخ صید آن مشکل می‌شود. *E. velox* و *E. nigrocellata* به فاصله چند متر از یکدیگر یافت می‌شوند و با طی چند قدم در محل زیست آن می‌توان هر دو گونه را مشاهده کرد سوسمارها و مارهای هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از:

T. T. bedriagai, *T. agilis*, *P. scutellatus*, *V. M. watsonana*, *E. velox*, *E. pesica*, *scincus*, *P. S. diadema*, *L. ridgewayi*, *griseus schokari*

Ermias persica

لاسترای ایرانی در مناطق دشتی دارای پوشش بوته‌ای و به ویژه درختچه‌ای یافت می‌شود و در مناطقی که بوته‌های بلند و درختچه نداشته باشد مشاهده نمی‌شود. در واقع، از این نوع پوشش به عنوان

گوسفندان و مناطق مسکونی در داخل خانه‌ها و کانال‌های لوله‌کشی به وفور یافت می‌شود. همچنین، این نمونه در یک بریدگی متشکل از رسوبات حاوی رودخانه‌ای نیز یافت شد. این جکو در طول روز در مناطق سایبان که نور مستقیم خورشید وجود ندارد نیز فعالیت می‌کند. گونه هم‌زیستگاه برای این جکو در منطقه مطالعه شده یافت نشد.

Cyrtopodion scabrum

جکوی سنگی تیغه‌دار در پناهگاه حیات وحش شیر احمد و در نزدیکی پاسگاه منطقه یافت شد. گونه هم‌زیستگاه برای این جکو در منطقه مطالعه شده یافت نشد.

Teratoscincus bedriagai

جکوی سقنقر بدریاگا در دشت‌های جنوبی و محدوده‌های شرقی شهرستان، در بسترهای نسبتاً نرم و پوشش گیاهی بوته‌ای همراه با درختچه‌های بلند نظیر تاغ یافت می‌شود. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از:

E. T. scincus, *T. agilis*, *P. scutellatus*, *M. watsonana*, *E. velox*, *E. pesica nigrocellata*, *P. S. diadema*, *L. ridgewayi*, *V. griseus schokari*

Teratoscincus scincus

این جکو در بستری مشابه با *T. bedriagai* به همراه گونه‌های هم‌زیستگاه ذکر شده برای *T. bedriagai* یافت شد.

Lacertidae

Eremias fasciata

این گونه در مناطقی با بستر ماسه‌ای در جنوب غرب

T. B. tuberculatus, *T. agilis*, *P. scutellatus*
E. E. nigrocellata, *T. bedriagai*, *scincus*
P. karelini, *V. griseus*, *E. velox*, *persica*
P. schokari و *S. diadema*, *L. ridgewayi*

Scincidae

Ablepharus pannonicus

اسکینک چشم ماری آسیایی در مناطق کوهستانی مناطق با پوشش بوته‌ای و درختچه‌ای با بستری اغلب از سنگریزه که بتواند به سرعت در آنها نفوذ کند زندگی می‌کند. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از:

E. s. kopetdaghica و *L. caucasia*

Eumeces schneiderii princeps

اسکینک خال قرمز در محدوده مسکونی شهر سبزوار توسط یکی از اهالی شهر صید و به اداره محیط زیست تحویل داده شده است و نگارندگان از جزئیات مکان صید اطلاع ندارند.

Varanidae

Varanus griseus

بزوجه، بزرگترین سوسمار ایران در دشتهای جنوبی و دشتهای نزدیک به شهر مانند دشت شیر احمد زیست می‌نماید در زبان محلی به آن بزغاله مار می‌گویند. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از:

T. T. scincus, *B. tuberculatus*, *P. scutellatus*
E. E. persica, *E. nigrocellata*, *bedriagai*
P. M. watsonana, *M. watsonana*, *velox*
P. S. diadema, *L. ridgewayi*, *karelini*
schokari

پناهگاه استفاده نموده، احتمال صید شدن کاهش می‌یابد. سوسمارها و مارهای هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از:

B. tuberculatus, *T. agilis*, *P. scutellatus*
E. nigrocellata, *T. scincus*, *T. bedriagai*
P. karelini, *V. griseus*, *M. watsonana*, *E. velox*
P. schokari و *S. diadema*, *L. ridgewayi*

Eremias strauchi kopetdaghica

لاسترای کپه‌داغ در دامنه کوه‌ها و مناطق دشتی کم وسعت بین کوه‌ها در مناطقی که ناهمواری‌ها خُرد اقلیم مرطوب‌تری نسبت به مناطق مجاور به وجود آورده است و پوشش مناسبی دارد یافت می‌شود. این گونه، در محدوده‌های کوهستانی شمال غربی شهرستان سبزوار در منطقه ریوند با گونه‌های *L. caucasia* و *A. pannonicus* در یک زیستگاه مشترک یافت می‌شود.

Eremias velox

لاسترای آسیای مرکزی در اغلب دشت‌ها و دامنه‌ها با پوشش بوته‌ای و درختچه‌ای به وفور یافت می‌شود. این گونه را می‌توان در فاصله چند متری از *E. nigrocellata* و *E. persica* مشاهده نمود. گونه‌های هم‌زیستگاه ذکر شده برای لاسترای ایرانی برای این گونه نیز صادق است.

Mesalina watsonana

سوسمار دُم دراز ایرانی یکی از فراوان‌ترین گونه‌های شهرستان سبزوار است. زیستگاه اصلی آن در مناطق دشتی است، اما در دامنه کوه‌ها (ارتفاعات پایین بند) همراه با پوشش گیاهی بوته‌ای (درمنه و انواع گون) زیست می‌نماید. گونه‌های هم‌زیستگاه با این گونه عبارتند از:

جدول ۱- گونه‌های هم‌زیستگاه سوسماران در سبزوار

گونه های هم زیستگاه																					گونه
<i>Varanus griseus</i>	<i>Eumeces schneiderii</i>	<i>Ablepharus pannonicus</i>	<i>Mesalina watsonana</i>	<i>Eremias velox</i>	<i>Eremias strauchi</i>	<i>Ermias persica</i>	<i>Eremias nigrocellata</i>	<i>Eremias lineolata</i>	<i>Eremias fasciata</i>	<i>Teratoscincus scincus</i>	<i>Teratoscincus bedriagai</i>	<i>Cyrtopodion scabrum</i>	<i>Cyrtopodion caspium</i>	<i>Crossobamon eversmanni</i>	<i>Bunopus tuberculatu</i>	<i>Agamura persica</i>	<i>Trapelus agilis</i>	<i>Phrynocephalus mystaceus</i>	<i>Phrynocephalus scutellatus</i>	<i>Laudakia caucasica</i>	
	*				*															*	
*			*	*		*	*			*	*					*	*	*	*	*	
			*	*		*	*	*		*	*			*		*	*	*	*	*	
															*	*					
*			*	*		*			*					*		*	*	*	*	*	
															*						
														*							
*			*	*		*	*			*	*				*		*	*	*	*	
*			*	*		*	*	*		*	*				*	*	*	*	*	*	
								*													
			*	*		*	*			*	*		*			*	*	*	*	*	
	*				*															*	
			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*	*	*	*	
*			*	*		*	*			*	*				*	*	*				

بحث و نتیجه‌گیری

تفاوت ۱۰ گونه گزارش شده توسط Gharzi (۱۹۹۹) و مطالعه حاضر بیشتر به گونه‌های شب فعال مربوط می‌شود. با احتساب گونه *T. aurata* که در مطالعه حاضر نمونه‌ای از آن به دست نیامد، تعداد کل گونه‌های شهرستان به ۲۲ گونه می‌رسد. این در حالی است که Khademi (۲۰۰۵) ۱۵ گونه از شهرستان نیشابور در همسایگی شرق سبزوار، Rastegar-Pouyani (۱۹۹۶) ۱۶ گونه از شهرستان‌های دامغان و شاهرود در همسایگی غرب سبزوار و Hojati و همکاران (۲۰۰۶) ۱۷ گونه‌های شهرستان دامغان را بر می‌شمارند. تفاوت تعداد گونه‌های سبزوار با نیشابور

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ۲۱ گونه سوسمار متعلق به ۱۳ جنس و ۵ خانواده در شهرستان سبزوار زیست می‌نماید. Gharzi (۱۹۹۹) ۱۲ گونه شامل: *C. caspium*, *P. scutellatus*, *L. caucasica*, *E. nigrocellata*, *E. lineolata*, *E. fasciata*, *M. watsonana*, *E. velox*, *E. persica*, *Trachylepis aurata*, *E. schneiderii princeps* و *V. griseus* از سبزوار گزارش نموده است. از میان گونه‌های نامبرده *T. aurata* و *transcaucasica* در مدت مطالعه حاضر یافت نشد.

نقطه ایران باشد که گستره پراکندگی چهار گونه از جنس *Laudakia* ایران به هم برسد.

از خانواده Gekkonidae، تعداد ۷ گونه در شهرستان سبزوار زیست می‌نمایند. ۵ گونه از آنها گستره انتشار وسیعی در ایران دارند و گونه‌های *T. bedriagai* و *C. evermanni* نسبت به آنها دارای گستره محدودتری هستند. گونه *C. evermanni* در مناطق پوشیده از ماسه بادی به طور هم‌زیستگاه با گونه‌های *E. lineolata* و *P. mystaceus* زیست می‌نماید. از آنجا که این گونه از مرز استان سمنان و سبزوار ثبت شده است، به نظر می‌رسد در استان سمنان، شهرستان شاهرود و در ذخیره گاه زیست کره توران در مناطقی که *P. mystaceus* وجود دارد نیز یافت شود هر چند تاکنون گزارشی از وجود این گونه در سمنان وجود نداشته است (Rastegar-Pouyani, 1996; Salehi et al., 2010; Salehi, 1997).

از خانواده Lacertidae، تعداد ۷ گونه در سبزوار وجود دارد که تعداد ۶ گونه آن از جنس *Eremias* است. این جنس دارای بیشترین تنوع گونه‌ای میان جنس‌های موجود از سوسماران در سبزوار است. سه گونه از این جنس پراکنش وسیعی در ایران دارند و گونه‌های *E. lineolata*، *E. nigrocellata* و *E. s. kopetdaghica* بیشتر به نواحی شمال شرق ایران محدود شده‌اند (Rastegar-Pouyani et al., 2008). Anderson (۱۹۹۹) و رستگار پویانی و همکاران (۱۳۸۵) محدوده پراکنش *E. intermedia* را محدود به شهرستان سرخس دانستند در حالی که در فهرست سوسماران Khademi (۲۰۰۵) از نیشابور نیز وجود دارد. گونه *E. intermedia* در مطالعات رستگار پویانی (۱۳۷۵)، Hojati و همکاران (۲۰۰۶) و Salehi و

که در مجاورت هم قرار دارند ۷ گونه است. این تفاوت، به گونه‌های شب فعال و گونه‌های ماسه بادی‌زی مربوط است. احتمال می‌رود با پایش‌های شبانه و بررسی ماسه بادی‌های موجود در شهرستان نیشابور - در صورت وجود - تعداد گونه‌های دو شهرستان تا حدودی برابر شود. گونه‌های شهرستان دامغان نیز ۵ گونه از سبزوار کمتر است. این تفاوت نیز اغلب به سوسماران ماسه بادی‌زی برمی‌گردد که این گونه‌ها در شهرستان سبزوار دارای زیستگاه وسیع و جمعیت‌های مطلوبی هستند.

از سوسماران خانواده Agamidae، چهار گونه در شهرستان سبزوار زیست می‌نمایند که سه گونه *L. caucasia*، *P. scutellatus* و *T. agilis* در ایران به طور وسیع گسترده‌اند و *P. mystaceus* که از عناصر آرای-خزری است (Majnoonian et al., 2005) به شمال شرق ایران محدود شده است. به نظر می‌رسد نداشتن توانایی در رسیدن به زیستگاه‌های جدید باعث شده این گونه نتواند در نواحی جنوبی‌تر فلات ایران با وجود زیستگاه‌های مشابه (Ahmadi, 1998) حضور داشته باشد. اگر چه تاکنون از گونه *L. nupta* نمونه‌ای در شهرستان مورد مطالعه به دست نیامده، ولی همان طور که اشاره شد در همسایگی مرزهای غربی سبزوار در استان سمنان - ذخیره گاه زیست کره توران - زیست می‌نماید. با بررسی منابع و نقشه پراکندگی این گونه چنین به نظر می‌رسد که این گونه به دنبال حرکت تاریخی خود (Rastegar-Pouyani and Nilson, 2002) در حال افزایش گستره انتشار جغرافیایی خود به سمت شمال فلات ایران است و این موضوع از این نظر قابل تأمل است که حرکت این گونه به سمت شمال شرق باعث شده است که استان خراسان رضوی تنها

همکاران (۲۰۱۰) از استان سمنان گزارش شده است. با وجود گزارش این گونه از مناطق مجاور شهرستان سبزوار، در مطالعه حاضر و مطالعات پیشین و مدت دو سال گشت‌زنی مداوم در زمان‌های مناسب نمونه‌ای از آن به دست نیامد. Rastegar-Pouyani و همکاران (۲۰۰۸) پراکندگی *E. arguta* را در محدوده استان‌های خراسان رضوی، خراسان جنوبی، سمنان، آذربایجان شرقی و اردبیل ذکر نموده‌اند ولی در هیچ کدام از مطالعات انجام شده در استان‌های خراسان رضوی و سمنان نمونه‌ای از آن به دست نیامده است. Anderson (۱۹۹۹) معتقد است رکورد Guibe (۱۹۵۷) از مانه در استان خراسان که به *E. arguta* منسوب است، در حقیقت *E. nigrocellata* بوده، نمونه‌های جمع‌آوری شده توسط Guibe از منطقه سرخس، *E. intermedia* است و رکورد Werner و Bedriaga از شمال شرق ایران به مطالعه مجدد نیاز دارد. گذشته از اظهارات Anderson (۱۹۹۹) بعید به نظر می‌رسد که *E. arguta* که گونه‌ای کمیاب نیست، در استان‌های خراسان و سمنان حضور داشته باشد ولی در طی مطالعات انجام شده در مناطق مذکور هیچ رکوردی از آن به دست نیامده باشد.

بازبینی اساسی پراکنش سوسماران کشور با توجه به موارد ذکر شده بالا و موارد مشابه دیگر ضروری به نظر می‌رسد. در این بازبینی‌ها بایستی تمامی مقالات، گزارشات، پایان‌نامه‌ها و پروژه‌های انجام شده که در واقع بیشتر بر پایه مشاهدات میدانی هستند، بررسی شود تا بتوان نقشه پراکندگی دقیق هر گونه را ارایه نمود. امروزه از نقشه‌های پراکنش گونه‌ها (Bombi et al., 2011) برای تعیین مناطقی با کم‌ترین وسعت که بیشترین تعداد گونه را حمایت می‌کند استفاده می‌شود.

تعیین این مناطق با توجه به محدودیت‌های مالی و انسانی در بحث حفاظت از تنوع زیستی بسیار ارزشمند است (Reddy and Dávalos, 2003). بررسی‌های مربوط به نقشه‌سازی زیستگاه‌های حیات وحش و پراکندگی آنها در ایران با استفاده از نقشه رستنی‌ها، زنده‌گیری، حلقه‌گذاری و مشاهدات میدانی به عمل می‌آید (Makhdoum, 2006). برای یکسان‌سازی نقشه پایه ثبت اطلاعات پراکنش خزندگان ایران، نقشه شبکه‌بندی شده‌ای برای ایران با واحدهای ۲۵×۲۵ کیلومتر پیشنهاد می‌شود (پیوست ۱). در این نقشه شبکه‌بندی شده هر سلول دارای یک کد خواهد بود که می‌توان در مقالات فونستیک برای بیان محدوده پراکنش هر گونه از آن استفاده نمود. همچنین، ضروری است در بررسی‌های صحرایی خزندگان ایران نقاط حضور گونه‌ها بر روی نقشه پیشنهادی مشخص شود. نقشه‌ای مشابه برای ثبت اطلاعات صحرایی پرندگان و پستانداران پیشنهاد شده است (Kaboli et al., in press; Karami et al., in press). از مزایای یکسان بودن نقشه پایه برای گروه‌های مختلف مهرداران، قابلیت مقایسه شدن نقشه‌های پراکنش گروه‌های مختلف مهرداران ایران است. همچنین، با رویهم‌گذاری این نقشه‌ها نقاط داغ تنوع زیستی مهرداران ایران مشخص می‌شود که برای تعیین مناطقی با اولویت بالا برای حفاظت سودمند خواهد بود و می‌تواند در مقالاتی که به بیش از یک گروه از مهرداران ایران مربوط می‌شود (Darvish and Rastegar-Pouyani, 2012) استفاده شود.

در شهرستان سبزوار از خانواده‌های Anguidae، Eublepharidae و Uromastycidae هیچ نماینده‌ای وجود ندارد. از خانواده Anguidae گونه

Pseudopus apodus توسط Ziaol-Hagh (۱۹۹۵) از شهرستان درگز، Nasrabadi و همکاران (۲۰۰۶) از صالح آباد تربت جام و Yousefi و همکاران (۲۰۱۰) از شهرستان سرخس گزارش شده است که موارد مذکور به نواحی شرقی و شمال شرقی استان مربوط است و در نیمه غربی استان گزارشی مبنی بر وجود این گونه وجود ندارد (Gharzi, 1999). از خانواده Eublepharidae گونه *Eublepharis turcmenicus* در استان خراسان زیست می نماید که جنوبی ترین رکورد آن به Auer و همکاران (۲۰۰۸) در نزدیکی دریاچه بزنگان در ۱۲۵ کیلومتری مشهد مربوط است. از خانواده Uromastycidae گونه *Uromastyx asmussi* در استان خراسان وجود دارد. همچنین، این گونه مانند *L. nupta* در مجاورت مرزهای غربی شهرستان در ذخیره گاه زیست کره توران در استان سمنان زیست می نماید اما گستره انتشار آن در ورای مرزهای شهرستان سبزوار متوقف می شود. شایان ذکر است که گزارشی مشکوک از وجود یک گونه از جنس *Ophiomorus* در جنوب شرقی شهرستان وجود دارد که به احتمال زیاد متعلق به گونه *O. brevipes* است که در مطالعه حاضر نمونه ای به دست نیامد.

ارتباط سوسماران سبزوار (منطقه فیزیوژئوگرافیک فلات مرکزی) با دیگر مناطق فیزیوژئوگرافیک کشور و کشورهای همسایه مرزهای نیمه شرقی کشور (ترکمنستان، افغانستان و پاکستان)

Anderson (۱۹۹۹) در کتاب سوسماران ایران، ۱۳ منطقه فیزیوژئوگرافیک برای تبیین جغرافیایی مارمولک های ایران در نظر گرفته است: ۱- فلات مرکزی، ۲- حوضه دریاچه ارومیه، ۳- حوضه سیستان،

۴- منطقه خزر، ۵- دشت خوزستان و سواحل خلیج فارس، ۶- بلوچستان ایران و ساحل مکران، ۷- دشت ترکمن، ۸- دشت مغان، ۹- کوه های زاگرس، ۱۰- کوهپایه های غربی رشته کوه های زاگرس، ۱۱- کوه های البرز، ۱۲- کپه داغ و ۱۳- جزایر خلیج فارس. بررسی میزان اشتراک سوسماران شهرستان سبزوار با ۱۳ منطقه ذکر شده نشان می دهد که شهرستان سبزوار از نظر فون سوسماران با منطقه دشت ترکمن در ۱۳ گونه، حوضه سیستان در ۱۲ گونه، بلوچستان و سواحل مکران در ۱۱ گونه، کپه داغ در ۹ گونه، کوه های البرز در ۸ گونه، کوه های زاگرس در ۶ گونه، کوهپایه های غربی زاگرس در ۶ گونه، دشت خوزستان و سواحل خلیج فارس در ۶ گونه، منطقه خزر در ۳ گونه، دشت مغان ۲ گونه، جزایر خلیج فارس ۲ گونه، حوضه دریاچه ارومیه ۱ گونه مشترک است. بنابراین، شهرستان سبزوار بیشترین اشتراک را با دشت ترکمن در ۱۳ گونه (۵۹ درصد) و کمترین اشتراک را با حوضه دریاچه ارومیه در ۱ گونه (۴/۵ درصد) دارد.

شهرستان سبزوار در منطقه فیزیوژئوگرافیک فلات مرکزی قرار دارد. از ۲۲ گونه ای که در این شهرستان زیست می نمایند ۱۹ گونه آنها از فلات مرکزی گزارش شده است. گونه های *C. scabrum*, *B. tuberculatus* و *E. s. kopetdaghica* که پیش از این توسط Anderson (۱۹۹۹) از منطقه فیزیوژئوگرافیک فلات مرکزی گزارش شده بود، وجود ندارند. وی گونه های *C. caspium*, *C. evermanni*, *P. mystaceus* و *E. nigrocellata*, *E. velox*, *E. lineolata* و *E. taeniolatus* را محدود به شمال شرق فلات ایران و به طور عمده خراسان می داند، از میان این گونه ها، تنها

E. taeniolatus در سبزوار ثبت نشده است.

شهرستان سبزوار از لحاظ فون سوسماران دارای اشتراکات گونه‌ای شایان توجهی با کشورهای همسایه مرزهای نیمه شرقی کشور است. به طوری که با افغانستان در ۲۱ گونه (۹۵ درصد)، با ترکمنستان در ۱۶ گونه (۷۲ درصد) و با پاکستان در ۱۳ گونه (۵۹ درصد) مشترک است (Anderson, 1999). بنابراین، بیشترین اشتراک گونه با کشور افغانستان است، گونه‌ای که در سبزوار زیست می‌نماید و در فهرست گونه‌های مشترک ایران و افغانستان ارایه شده توسط Anderson (۱۹۹۹) وجود ندارد، *E. s. kopetdaghica* است. با توجه به ارتباطات ذکر شده برای سوسماران سبزوار می‌توان بیان کرد که اغلب گونه‌هایی که در سبزوار زیست می‌کنند هم در ایران و هم در خارج از مرزهای ایران دارای پراکنش گسترده‌ای هستند به طوری که محدودترین پراکنش‌ها به *E. s. kopetdaghica* مربوط است که در ترکمنستان و شمال شرق ایران زیست می‌نماید و *T. bedriagai* که در ایران و افغانستان وجود دارد، سایر گونه‌ها دست کم در سطح سه کشور یا بیشتر پراکنده‌اند.

گونه‌های هم‌زیستگاه

مطالعه و شناسایی گونه‌های هم‌زیستگاه به منظور مدیریت گونه‌های در خطر انقراض سودمند است. شناخت گونه‌های رقیب و شکارگر گونه‌های در خطر انقراض برای کنترل و مدیریت این قبیل گونه‌ها ضرورتی اجتناب‌ناپذیر است. اگر چه در مطالعه حاضر برای تعیین گونه‌های هم‌زیستگاه به سوسماران و مارها

اکتفا شده ولی می‌توان این مطالعات را بسط داده، پرندگان نظیر: سنگ چشم‌ها که از شکارگران سوسمارها هستند (Scott *et al.*, 1975) و پرندگان حشره‌خوار، پستاندارانی مانند: خارپشت‌ها که از سوسمارها و حشرات تغذیه می‌کنند (Ziaie, 2005) و سایر گروه‌های جانوری که رقیب غذایی یا شکارگر سوسمارها هستند را لحاظ کرد (Anderson, 1999).

در حال حاضر، اطلاعات بسیار اندکی در مورد گونه‌های هم‌زیستگاه سوسماران ایران (Anderson, 1999) میزان هم‌پوشانی آشیان بوم‌شناختی و نحوه جدایی آن در گونه‌های خویشاوند نزدیک و هم‌زیستگاه وجود دارد و مطالعاتی که در مورد بوم‌شناسی سوسماران در ایران باشد، بسیار ناچیز است (Allah-Qoli, 2010؛ Koohi-Lasibi *et al.*, 2010؛ Safari-Kang *et al.*, 2010؛ Dezfoulan, 2011). شاید بتوان ثبت گونه‌های هم‌زیستگاه را پیش‌نیاز درک و ارزیابی اجتماعات سوسماران و سین اکولوژی آنها در ایران دانست.

سپاسگزاری

نگارندگان، از جناب آقای مهندس آقامیری مدیر کل محترم محیط زیست استان خراسان رضوی به خاطر همکاری‌های ارزنده و از آقایان محمد زرین تاب، علی شیخی، داوود میلانلو و محیط‌بانان شهرستان سبزوار برای همکاری صمیمانه در امر جمع‌آوری نمونه‌ها تشکر و قدردانی نمایند. همچنین، از آقایان روزبه بهروز و علی عسکریان بابت تهیه نقشه شبکه‌بندی شده ایران مراتب سپاس و قدردانی به عمل می‌آید.

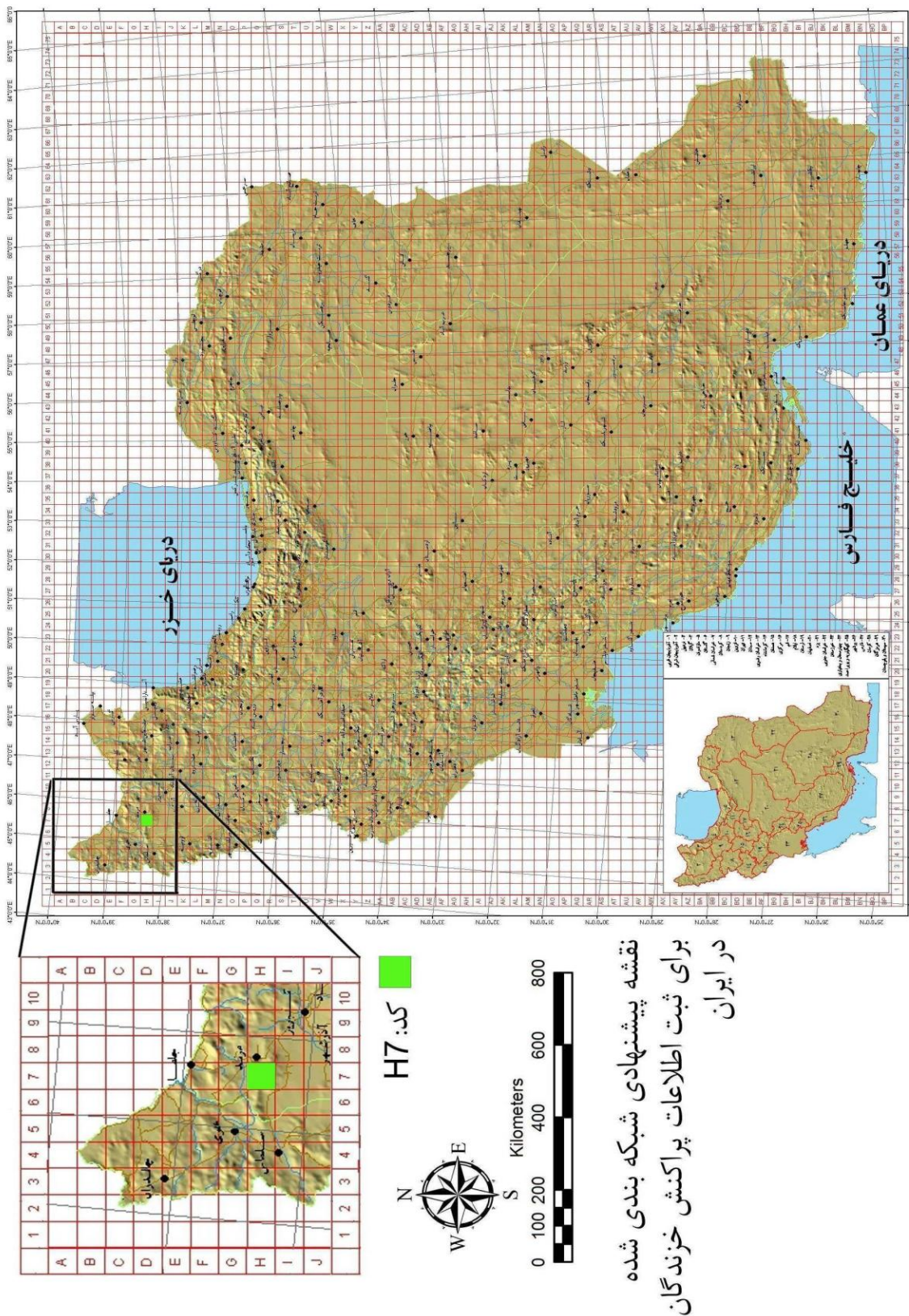
منابع

- Aghili, H. (2007) Faunistics study of the lizards in Fariman. MSc thesis, University of Tehran, Tehran, Iran (in Persian).
- Ahmadi, H. (1998) Geomorphology of Iran. University of Tehran Press, Tehran (in Persian).
- Allah-Qoli, L. (2010) Niche breadth estimation between lizards in Sorkh-e-Hesar National Park. MSc thesis, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran (in Persian).
- Anderson, S. C. (1999) The Lizard of Iran. Society for the study of Amphibians and Reptiles. Oxford, Ohio.
- Auer, M., Richters, S. and Khani, A. (2008) A new record of Turkmenian Fat-Tailed Gecko (*Eublepharis turkmenicus*) Darevsky, 1978, from north-eastern Iran (Squamata Gekkonidae). *Zooligy in the Middle East* 45: 107-110.
- Bombi, P., Luiselli, L. and D'Amen, M. (2011) When the method for mapping species matters: defining priority areas for conservation of African freshwater turtles. *Diversity and Distributions* 17(4): 581-592.
- Darvish, J. and Rastegar-Pouyani, E. (2012) Biodiversity conservation of Reptiles and Mammals in the Khorasan provinces, northeast of Iran. *Progress in Biological Sciences* 2(1): 95-109.
- Dezfoulan, R. (2011) Study on the ecological factors determining distribution of lizards in Sorkhe Hesar National Park. MSc thesis, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran (in Persian).
- Firouz, E. (2000) A guide to the fauna of Iran. Iran University Press, Tehran (in Persian).
- Gharzi, A. (1999) Biosystematics of north Sabzevar Lizards. MSc thesis, University of Tehran, Tehran, Iran (in Persian).
- Guibe, J. (1957) Reptiles d'Iran recoltés par M. Francis Petter, description d'un viperide nouveau; *pseudocerastes latirostris*. *Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle* 29: 136-142.
- Hojati, V., Kami, H. Gh. and Faghiri, A. (2006) Faunistics study of the lizards in Damghan region. *Iranian Journal of Biology* 19(3): 325-340 (in Persian).
- Kaboli, M., Aliabadian, M., Hashemi A. R., Tohidifar, M. and Roslar, K. (in press) Atlas of birds of Iran. Iran Department of Environment Publication, Tehran (in Persian).
- Karami, M., Qadirian, T. and Fayzollahi, K. (in press) Atlas of mammals of Iran. Iran Department of Environment Publication, Tehran (in Persian).
- Kazemi, S. M., Qomi, M. F., Kami, H. G. and Anderson, S. C. (2011) A new species of *Ophiomorus* (Squamata: Scincidae) from Maranjab desert, Isfahan province, Iran, with a revised key to the genus. *Amphibian and Reptile Conservation* 5(1): 23-33.
- Khademi, A. (2005) Biosystematics of Neyshaboor lizards. MSc thesis, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran (in Persian).
- Khani, A. (2010) Nature of Sabzevar. Payame-Movafagh, Mashhad (in Persian).
- Koohi-Lasibi, M., Hemami, M. R., Safari-Kang, Z. and Vahabi, M. R. (2010) Habitat selection of *Mesalina watsonian* in Kolah-Ghazi National Park. 16th National and 4th International Conference of Biology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (in Persian).
- Latifi, M. (2000) Snakes of Iran. Iran Department of Environment Publication, Tehran (in Persian).
- Leviton, A. E., Anderson, S. C., Adler, K. K. and Minton, S. A. (1992) Handbook to Middle East Amphibians and Reptiles (Contributions to Herpetology). Society for the Study of Amphibians and

- Reptiles, Oxford, Ohio.
- Majnoonian, H., Kiabi, B. H. and Danesh, M. (2005) Readings in zoogeography of Iran. vol. 2. Iran Department of Environment Publication, Tehran (in Persian).
- Makhdoum, M. F. (2006) Fundamental of land use planning. 7th edition. University of Tehran Press, Tehran (in Persian).
- Moradi, N. and Shafiei, S. (2011) New record of the Western leopard gecko, *Eublepharis angramainyu* Anderson & Leviton, 1966 (Sauria: Eublepharidae) from southeastern Iran. Amphibian and Reptile Conservation 5(4): 88-91.
- Mozaffari, O., Ghaffari, H., Kamali, K. and Safaei, B. (2011) New record of plateau snake skink, *Ophiomorus nuchalis* (Squamata: Scincidae), from Iran. Russian Journal of Herpetology 18(1): 36-38.
- Nasrabadi, R., Darvish, J., Rastegar-Pouyani, N. and Ejtehadi, H. (2006) Survey of lizard fauna of Salehabad of Torbat-e-Jam, Razavi Khorasan province. Iranian Biology Journal 21(2): 261-266 (in Persian).
- Rajabizadeh, M., Nilson, G. and Kami, H. G. (2011) A new species of mountain viper (Ophidia: Viperidae) from the central Zagros mountains, Iran. Russian Journal of Herpetology 18(3): 235-240.
- Rastegar-Pouyani, E. (1996) Biosystematic and breeding biology of lizards in Semnan (Damghan and Shahrod). MSc thesis, Kharazmi University, Tehran, Iran (in Persian).
- Rastegar-Pouyani, N. and Nilson, G. (2002) Taxonomy and biogeography of the Iranian species of *Laudakia* (Sauria: Agamidae). Zoology in the Middle East 26: 93-122.
- Rastegar-Pouyani, N., Kami, H. G., Rajabizadeh, M., Shafiei, S. and Anderson, S. C. (2008) Annotated checklist of Amphibians and Reptiles of Iran. Iranian Journal of Animal Biosystematics 4(1): 7-30.
- Reddy, S. and Dávalos, L. M. (2003) Geographical sampling bias and its implications for conservation priorities in Africa. Journal of Biogeography 30(11): 1719-1727.
- Rivas, R. R. (1964) A reinterpretation of the concepts sympatric and allopatric with proposal of additional terms syntopic and allotopic. Systematic Zoology 13(1): 42-43.
- Safari-Kang, Z., Hemami, M. R., Koohi-Lasibi, M. and Malekian, M. (2010) Resource partitioning by two sympatric Agamid lizards species (*Trapelus agilis* and *phrynocephalus scutellatus*). 16th National and 4th International Conference of Biology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (in Persian).
- Salehi, H. (1997) Biosystematic of lizards in some parts of Semnan province. MSc thesis, University of Tehran, Tehran, Iran (in Persian).
- Salehi, H., Mahmoudi, M. and Parsa, H. (2010) Distribution and taxonomy of the lizard fauna of Semnan province. 16th National and 4th International Conference of Biology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (in Persian).
- Scott, D. A., Moravvej-Hamadani, H. and Adhami-Mirhosseyni, A. (1975) The birds of Iran. Department of the Environment, Tehran (in Persian).
- Sindaco, R. and Jeremcenko, V. K. (2008) The Reptiles of the western Palearctic. 1. Annotated checklist and distributional atlas of the turtles, crocodiles, amphisbaenians and lizards of Europe, North Africa, Middle East and Central Asia. Edizioni Belvedere, Latina, Italy.

- Yousefi, M., Khani, A. and Shaykhi-Ilanloo, S. (2010) Reptiles' fauna of the Khajeh protected area. 16th National and 4th International Conference of Biology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (in Persian).
- Ziaie, H. (2005) A field guide to the Mammals of Iran. Wildlife Educational Center Press, Tehran (in Persian).
- Ziaol-Hagh, Gh. (1995) Biosystematic of lizards in Tandore National park. MSc thesis, University of Tehran, Tehran, Iran (in Persian).

پیوست ۱- نقشه پیشنهادی شبکه‌بندی شده برای ثبت اطلاعات پراکنش خزندگان ایران



نقشه پیشنهادی شبکه بندی شده
برای ثبت اطلاعات پراکنش خزندگان
در ایران

بررسی دو شکلی جنسی در ویژگی‌های ریخت‌شناختی جمع‌جمه خرس قهوه‌ای (*Ursus arctos* Linnaeus, 1758) در ایران با روش ریخت‌سنجی هندسی

فرزانه قنبری^۱، محمد کابلی^{۱*}، سهیل ایگدری^۲ و باقر نظامی بلوچی^۳

^۱ گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۲ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۳ گروه محیط‌زیست، دانشکده محیط‌زیست و انرژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

چکیده

دو شکلی جنسی پدیده‌ای رایج در بسیاری از گونه‌های جانوری است و بررسی حاضر نیز با هدف بررسی الگوهای دو شکلی جنسی جمع‌جمه خرس قهوه‌ای در ایران با روش ریخت‌سنجی هندسی لندمارک انجام شد. بدین منظور، بر روی تصاویر دو بعدی نماهای پشتی، شکمی و جانبی جمع‌جمه ۷۹ قلاده خرس به ترتیب ۱۷، ۱۳ و ۱۶ لندمارک تعریف و قرار داده شدند. پس از آنالیز پروکراست، داده‌های حاصل با تحلیل‌های چند متغیره CVA و MANOVA بررسی شدند. نتایج به دست آمده تفاوت معنی‌داری را بین شکل جمع‌جمه نمونه‌های نر، ماده و نابالغ نشان داد. تفاوت‌های مشاهده شده در شکل جمع‌جمه جنس‌های نر و ماده تأیید کننده وجود دو شکلی جنسی در شکل جمع‌جمه خرس قهوه‌ای است. بر این اساس، عمده تفاوت‌های شکل جمع‌جمه دو جنس نر و ماده به استخوان‌های پس‌سری، کمان زیگوماتیک آهیانه و ردیف‌های دندانی مربوط است. این تفاوت‌ها می‌تواند نشان‌دهنده الگوی رشد آلومتری متفاوت جمع‌جمه بین دو جنس به دلیل تفاوت در عملکرد ساختارها باشد. نتایج این مطالعه همچنین می‌تواند الگوی مناسبی برای تعیین جنسیت جمع‌جمه‌های ناشناخته موجود در مجموعه موزه‌های تاریخ طبیعی و یا در طبیعت ارایه نماید.

واژه‌های کلیدی: تحلیل شکل، خرس قهوه‌ای (*Ursus arctos*)، دو شکلی جنسی، ریخت‌سنجی هندسی

مقدمه

شده است (Slice, 2007). این گونه مطالعات در درک

چگونگی تکامل همزمان جنس‌های نر و ماده در گونه‌های مختلف و امکان شناخت ریشه دو شکلی جنسی دارای اهمیت است (Tjarks, 2009).

دو شکلی جنسی پدیده‌ای رایج در بسیاری از گونه‌های جانوری است (Schoener, 1967؛ Ralls, 1976) که الگوهای آن در مطالعات متعددی بررسی

منبع مهم تغییرپذیری درون گونه‌ای در برخی گونه‌ها است (Takemura *et al.*, 2007)، لذا، در مطالعات ریخت‌شناختی جمعیت‌ها و گونه‌ها، شناخت دقیق الگوهای تفاوت میان نر و ماده گام اول محسوب می‌شود. از این رو، با توجه به اهمیت این موضوع و نیز به دلیل عدم وجود تحقیق و مطالعه در زمینه دو شکلی جنسی گونه خرس قهوه‌ای در ایران، مطالعه حاضر با هدف بررسی الگوهای دو شکلی جنسی در شکل جمجمه خرس قهوه‌ای با استفاده از روش ریخت‌سنجی هندسی انجام شد.

مواد و روش کار

در این بررسی، تعداد ۷۹ جمجمه از خرس‌های قهوه‌ای شامل ۴۲ نر، ۲۲ ماده و ۱۵ نابالغ بررسی شد (جدول ۱). از شاخص‌های: تعداد و شکل دندان‌ها، وضعیت درزهای جمجمه و همچنین طول کندیلو بازال برای تعیین و جداسازی نمونه‌های بالغ از نابالغ، شاخص‌های تیغه ساجیتال و کندیلو بازال برای تعیین جنسیت نمونه‌ها استفاده شد (Zavatsky, 1976). برای اندازه‌گیری متغیر طول کندیلو بازال از نرم‌افزار ImageJ نسخه ۱/۴۵ s استفاده شد. از سطوح پشتی، شکمی و جانبی تمامی نمونه‌ها با دوربین دیجیتال Kodak با قدرت تفکیک شش مگاپیکسل عکس‌برداری شد. در روش ریخت‌سنجی هندسی با استفاده از لندمارک‌ها بر روی نقاط هومولوگ و مختصات آنها (X و Y) به عنوان متغیرهای مرتبط با شکل، الگوهای مختلف تفاوت شکل استخراج و تغییرات مختصات فضایی این نقاط به عنوان بازتابی از تغییرات شکلی در بین ساختارهای زیستی با استفاده از

مکانیسم‌های تکاملی متفاوتی از جمله: انتخاب جنسی، وظایف متفاوت والدینی و رقابت درون جنسی برای کسب غذا به عنوان دلایل توسعه دو شکلی جنسی در تاکسون‌های مختلف جانوران ذکر شده است (Kaliontzopoulou *et al.*, 2005؛ Derocher *et al.*, 2007). در مهره‌داران، دو شکلی جنسی جمجمه می‌تواند به واسطه تفاوت در اندازه و شکل باشد. در بررسی دو شکلی جنسی بر پایه اندازه (size-based) مهره‌داران، به طور معمول جمجمه نرها از ماده‌ها بزرگ‌تر است (Schoener, 1967؛ Ralls, 1976؛ Grandal-d'Anglade and López-González, 2005). در صورتی که دو شکلی جنسی بر پایه شکل (shape-based) به دلیل تفاوت در الگوی رشد بین جنس‌ها طی فرایند فردزایی ایجاد می‌شود (Badyaev, 2002)، به عبارت دیگر یک ویژگی ریختی در یکی از جنس‌ها بیش از جنس دیگر توسعه می‌یابد (Grandal-d'Anglade and López-González, 2005).

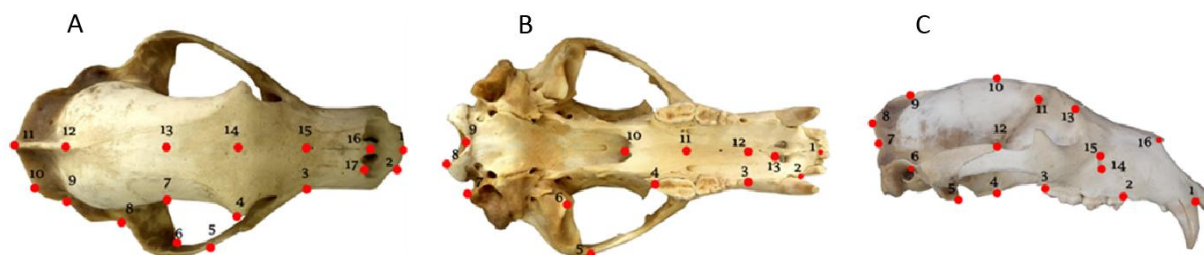
دو شکلی جنسی در برخی گونه‌های خرس نیز بررسی شده است (Grandal-d'Anglade and López-González, 2005؛ Bechshøft *et al.*, 2008). Ohdachi و همکاران (۱۹۹۲) در مطالعه جمجمه جمعیت‌های خرس قهوه‌ای (*Ursus arctos*) با روش ریخت‌سنجی سنتی وجود دو شکلی جنسی را گزارش نمودند. اما برخلاف روش‌های ریخت‌سنجی سنتی، روش ریخت‌سنجی هندسی ابزاری جدید برای مطالعه ساختارهای ریختی پیچیده توسعه یافته، نسبت به روش‌های سنتی قابلیت بیشتری برای نشان دادن تفاوت‌های شکل‌های زیستی دارد (Rohlf and Marcus, 1993). با توجه به این که دو شکلی جنسی

با آنالیز پروکراست GPA (Generalized Procrustes Analysis) (Rohlf and Slice, 1990) و با نرم‌افزار MorphoJ نسخه ۱/۰۵a (Klingenberg, 2008) روی هم‌گذاری شدند. داده‌های حاصل از هر سه نما با هدف مقایسه شکل سه گروه (نر، ماده و نابالغ) با استفاده از تحلیل چند متغیره تجزیه همبستگی کانونیک (CVA) تحلیل چند متغیره واریانس (MANOVA) بر روی ماتریس کوواریانس با نرم‌افزارهای MorphoJ و PAST نسخه ۲/۱۵ (Hammer *et al.*, 2001) تحلیل شدند. شکل میانگین یا اجماع هر گروه (نر، ماده و نابالغ) با برنامه TPSSmall نسخه ۱/۲۰ (Rohlf, 1990) محاسبه و الگوهای تغییر شکل بین گروه‌ها با گراف‌های wireframe توسط نرم‌افزار MorphoJ مصورسازی شدند.

تحلیل‌های چند متغیره بررسی و ارزیابی می‌شوند (Rohlf and Marcus, 1993). برای استخراج داده‌های شکل، نماهای پشتی، ۱۲ لندمارک و ۵ شبه‌لندمارک، نماهای شکمی، ۱۱ لندمارک و ۲ شبه‌لندمارک و نماهای جانبی، ۱۳ لندمارک و ۳ شبه‌لندمارک بر اساس مطالعات مشابه (Loy *et al.*, 2008؛ Drake and Milenković *et al.*, 2010؛ Klingenberg, 2010؛ Figueirido *et al.*, 2011) تعریف شدند (شکل ۱) و با نرم‌افزار TpsDig2 نسخه ۲/۱۰ (Rohlf, 2006) بر روی تصاویر دو بعدی قرار داده شدند. برای اجتناب از ایجاد داده‌های اضافی در ساختارهای متقارن، تنها نیمه راست جمجمه (شکل ۱) لندمارک‌گذاری شد (Cardini *et al.*, 2010). به منظور حذف ویژگی‌های غیر شکل نظیر: اندازه، مکان و زاویه متفاوت، جایگاه لندمارک‌ها

جدول ۱- تعداد نمونه‌های نر، ماده و نابالغ بر اساس مکان جمع‌آوری

مجموعه	نر	ماده	نابالغ	محل جمع‌آوری
سازمان حفاظت محیط‌زیست	۲۶	۲۰	۱۵	نامشخص
اداره محیط‌زیست زنجان	۳	۱	-	استان زنجان
سمنان	۴	-	-	استان سمنان
مؤسسه طرح سرزمین	۱	-	-	استان گلستان
اداره محیط‌زیست گلستان	۱	-	-	استان گلستان
دانشگاه محیط‌زیست کرج	۲	۱	-	استان گلستان
اداره محیط‌زیست مازندران	۱	-	-	استان مازندران
موزه دارآباد	۱	-	-	شاهرود
اداره محیط‌زیست شاهرود	۱	-	-	شاهرود
لرستان	۱	-	-	شاهرود
مؤسسه ارسباران	۱	-	-	منطقه حفاظت شده دنا
مجموع	۴۲	۲۲	۱۵	



شکل ۱- شماره و تعریف لندمارک‌ها و شبه‌لندمارک‌های استفاده شده برای تحلیل ریختی مجموعه‌ها

(A) نمای پشتی: ۱- نقطه میانی پیش‌فکی (premaxilla) در نوک پایینی استخوان سپتوم (septum) بین دندان‌های پیش مرکزی فوقانی، ۲- نقطه روی دندان پیش سوم، ۳- تقاطع بین کمان زیگوماتیک (zygomatic arch) و فک (maxilla)، ۴- بالاترین نقطه زائیده پس حدقه‌ای (postorbital process)، ۵- نقطه میانی درز بین دو استخوان جوگال و اسکواموزال (squamosal-jugal suture)، ۶- بالاترین نقطه خمیدگی داخلی کمان زیگوماتیک (zygomatic arch)، ۷- ابتدایی‌ترین نقطه محل اتصال اسکواموزال (squamosal) به استخوان پیشانی (frontal)، ۸- پایین‌ترین نقطه خمیدگی استخوان اسکواموزال، ۹- پایین‌ترین نقطه محل تقاطع استخوان اسکواموزال یا استخوان پاریتال (parietal)، ۱۰- امتداد خطی از لندمارک‌های ۸ و ۹ تا جایی که لبه استخوان پاریتال (parietal) را قطع کند، ۱۱- بالاترین نقطه استخوان پس‌سری (occipital crest)، ۱۲- خطی عمود از لندمارک ۹ بر محور میانی مجموعه تاجایی که تیغه ساجیتال (sagittal crest) را قطع کند، ۱۳- خطی عمود از لندمارک ۷ بر محور میانی مجموعه تاجایی که درز پیشانی (frontal suture) را قطع کند، ۱۴- خطی عمود از لندمارک ۴ بر محور میانی مجموعه تاجایی که درز پیشانی را قطع کند، ۱۵- خطی عمود از لندمارک ۳ بر محور میانی مجموعه تاجایی که درز بینی (nasal suture) را قطع کند، ۱۶- نقطه میانی درز بینی، ۱۷- پایین‌ترین نقطه درز سمت راست بینی.

(B) نمای شکمی: ۱- ابتدایی‌ترین نقطه محل اتصال دندان‌های پیش در قسمت پیش‌فکی (premaxilla)، ۲- عقبی‌ترین نقطه دندان پیش سوم، ۳- لبه جلویی دندان پیش آسیای اول، ۴- انتهایی‌ترین نقطه دندان آسیای دوم، ۵- نقطه میانی درز بین دو استخوان جوگال و اسکواموزال (squamosal-jugal suture)، ۶- نقطه اوج استخوان پتریگوئید (pterygoid)، ۷- نقطه اوج استخوان پارااکسی پیتال (para occipital)، ۸- بالاترین نقطه کندیل استخوان پس‌سری (occipital condyle)، ۹- پایین‌ترین نقطه کندیل استخوان پس‌سری، ۱۰- انتهایی‌ترین نقطه روی درز استخوان کام (palatine)، ۱۱- خطی عمود از سوراخ عقبی کامی بر محور میانی مجموعه تاجایی که درز کامی را قطع کند، ۱۲- خطی عمود از لندمارک ۳ بر محور میانی مجموعه تاجایی که درز ناحیه فک را قطع کند، ۱۳- پایین‌ترین نقطه سوراخ جلویی کامی (incisive foramen).

(C) نمای جانبی: ۱- لبه جلویی دندان نیش، ۲- لبه جلویی پیش‌آسیای چهارم، ۳- انتهایی‌ترین نقطه دندان آسیای دوم، ۴- نقطه اوج استخوان پتریگوئید (pterygoid)، ۵- نقطه اوج استخوان اسکواموزال (squamosal)، ۶- بالاترین نقطه مجرای گوش بیرونی (external acoustic meatus)، ۷- داخلی‌ترین نقطه لبه استخوان پاریتال (parietal)، ۸- بیرونی‌ترین نقطه لبه استخوان پاریتال (parietal)، ۹- خطی عمود از لندمارک ۶ بر محور میانی مجموعه تاجایی که تیغه ساجیتال (sagittal crest) را قطع کند، ۱۰- خطی عمود از لندمارک ۴ بر محور میانی مجموعه تاجایی که استخوان پیشانی (frontal) را قطع کند، ۱۱- بالاترین نقطه زائیده پس حدقه‌ای (postorbital process)، ۱۲- نقطه میانی درز بین دو استخوان جوگال و اسکواموزال (squamosal-jugal suture)، ۱۳- امتداد خطی از لندمارک ۶ و ۱۲ تا جایی که لبه استخوان پیشانی (frontal) را قطع کند، ۱۴- ابتدایی‌ترین نقطه سوراخ جلوی حدقه‌ای، ۱۵- انتهایی‌ترین نقطه سوراخ جلوی حدقه‌ای، ۱۶- انتهایی‌ترین نقطه درز استخوان بینی (nasal bone).

نتایج

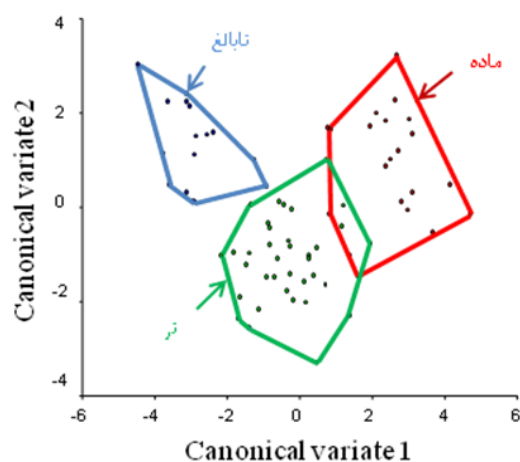
نمای پستی: تحلیل CVA تفاوت معنی‌داری را بین

شکل نمای پستی جمجمه جنس‌های نر و ماده خرس قهوه‌ای نشان داد ($P=0.03$) (شکل ۲-۱). در مقایسه گراف wireframe شکل میانگین نمای پستی جمجمه جنس‌های نر و ماده، تفاوت عمده مربوط به قسمت استخوان پس سری است (شکل ۲-۱). بر این اساس، در جنس نر لندمارک ۱۱ (مربوط به بالاترین نقطه استخوان پس سری) همراه با لندمارک ۱۰ (مربوط به استخوان پاریتال) به طرف پشت جابجا شده‌اند. به واسطه این جابجایی‌ها، استخوان پس سری در نرها نسبت به ماده‌ها بزرگ‌تر است.

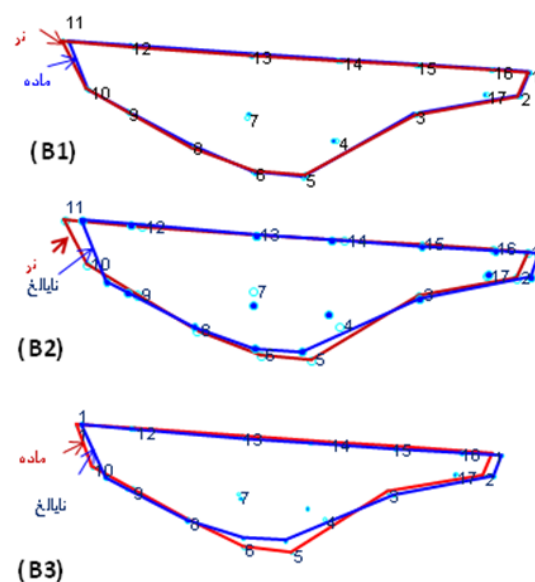
همچنین، تحلیل CVA تفاوت بسیار معنی‌داری را در شکل نمای پستی جمجمه بین بالغ‌ها و نابالغ‌ها نشان داد ($P<0.0001$). تفاوت عمده میان بالغ‌ها و نابالغ‌ها مربوط به نواحی ابتدایی و انتهایی جمجمه و کمان زیگوماتیک

است. در جنس‌های نر و ماده لندمارک ۱۱ به سمت پشت جابجا شده است (شکل‌های ۲-۱ و ۲-۲). این جابجایی در جنس نر نسبت به نابالغ‌ها خیلی بیشتر از جنس ماده بوده، به عبارت دیگر استخوان پس سری در نرها بزرگ‌تر از جنس ماده و نابالغ‌ها است. در جنس‌های نر و ماده لندمارک‌های مربوط به آرک زیگوماتیک به سمت بیرون جابجا شده است. این جابجایی‌ها باعث عریض‌تر شدن آرک زیگوماتیک در جنس‌های نر و ماده نسبت به نابالغ‌ها شده است. انبساط مشاهده شده در ناحیه پیشانی (لندمارک‌های ۴، ۷، ۱۳ و ۱۴) نشان‌دهنده عریض بودن پیشانی در جنس‌های نر و ماده نسبت به نابالغ‌هاست. همچنین، گراف wireframe انبساطی را در ناحیه بینی در محدوده لندمارک‌های ۳، ۱۵، ۱۶ و ۱۷ نشان می‌دهد که نشان‌دهنده بزرگ بودن طول استخوان بینی در ماده‌ها نسبت به نابالغ‌هاست (شکل‌های ۲-۱ و ۲-۲).

(A)

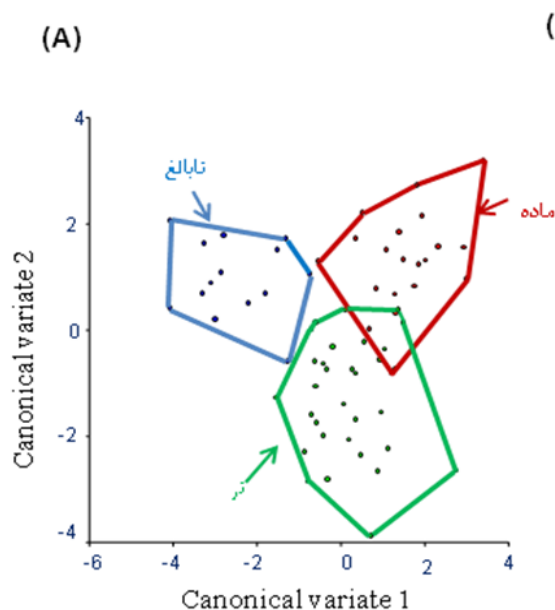


(B)



شکل ۲-۱) تحلیل CVA داده‌های شکل نمای پستی جمجمه جنس‌های نر، ماده و نابالغ، (B) گراف wireframe مقایسه شکل میانگین، (B1) جنس‌های نر و ماده، (B2) جنس نر و نابالغ و (B3) جنس ماده و نابالغ

نشان داد ($P=0.0001$). در بالغ‌ها لندمارک ۲ (لبه جلویی پیش آسیای چهارم) اندکی به سمت پشت و لندمارک ۳ (انتهایی ترین نقطه دندان آسیای دوم) نیز به سمت پیشین جابجا شده‌اند و این جابجایی‌ها سبب کوچک شدن این بخش از ردیف دندانی (دندان‌های آسیا و پیش آسیا) نسبت به نابالغ‌ها شده است. جابجایی لندمارک ۲ در بالغ‌ها باعث بزرگ شدن ردیف دندانی در ناحیه دندان نیش در فاصله لندمارک‌های ۱ و ۲ شده است. جابجایی لندمارک‌های مربوط به پیشانی (لندمارک‌های ۱۰، ۱۳ به سمت بیرون و ۱۱ به سمت درون) باعث بزرگ شدن ناحیه پیشانی شده است (شکل‌های B2-۳ و B3-۳).

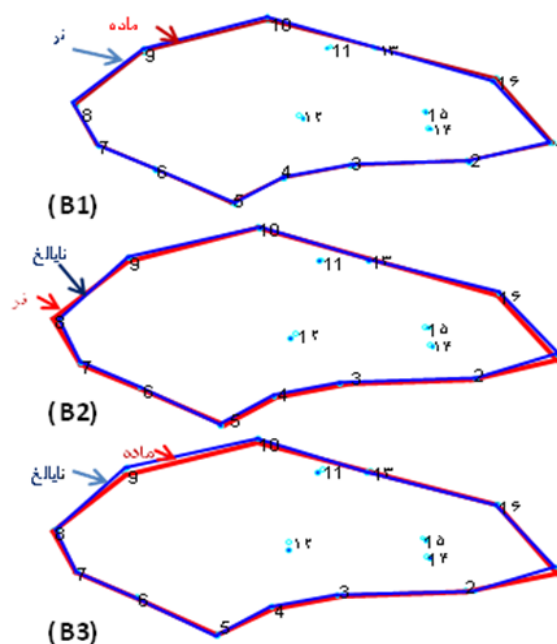


شکل A-۳) تحلیل CVA داده‌های شکل نمای جانبی جمجمه جنس‌های نر، ماده و نابالغ، (B) گراف wireframe مقایسه شکل میانگین، (B1) جنس‌های نر و ماده، (B2) جنس نر و نابالغ و (B3) جنس ماده و نابالغ

نشان داد ($P=0.0106$) (شکل A-۴). نتایج مقایسه شکل اجماع جنس‌های نر و ماده نشان داد که لندمارک

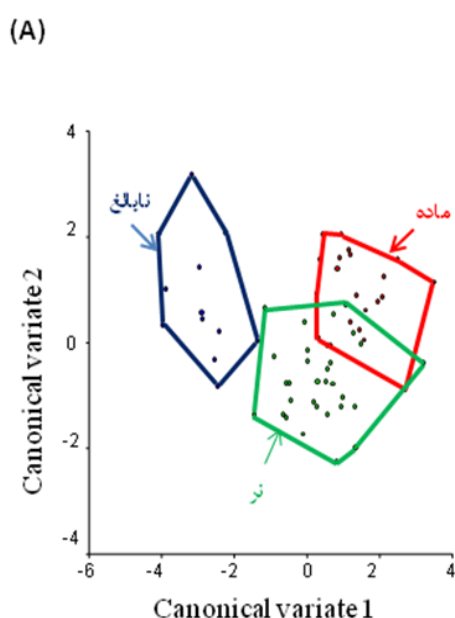
نمای جانبی: تحلیل CVA تفاوت معنی داری در شکل نمای جانبی جمجمه بین جنس‌های نر و ماده نشان داد ($P=0.008$) (شکل A-۳). مقایسه شکل اجماع نمای جانبی جمجمه جنس‌های نر و ماده، جابجایی لندمارک‌های ۸ (بیرونی ترین نقطه لبه استخوان پاریتال) و ۹ (بر روی تیغه ساجیتال) در جنس نر به سمت پشتی را نشان می‌دهد که بیان‌کننده بزرگ بودن ناحیه آهیانه در نرها است (شکل B1-۳). در جنس نر، ناحیه پیشانی به واسطه جابجایی لندمارک‌های مربوط به این ناحیه (لندمارک‌های ۱۰، ۱۳ به سمت بیرون و ۱۱ به سمت درون) بزرگ‌تر از ماده بود.

همچنین، تحلیل CVA تفاوت معنی داری را در شکل نمای جانبی جمجمه جنس‌های نر، ماده و نابالغ



نمای شکمی: تحلیل CVA تفاوت معنی داری را در شکل نمای شکمی جمجمه بین جنس‌های نر و ماده

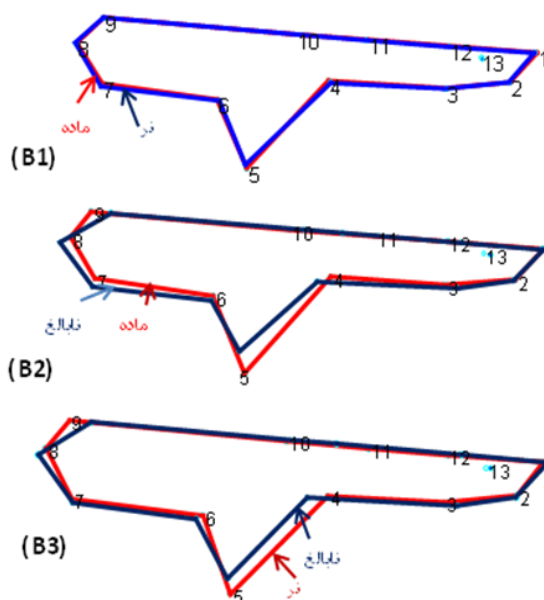
بین بالغ‌ها و نابالغ‌ها تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P < 0.001$). انبساطی در کمان زیگوماتیک بالغ‌ها نسبت به نابالغ‌ها مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده بزرگ بودن آن در بالغ‌ها نسبت به نابالغ‌هاست. در بالغ‌ها جابجایی لندمارک‌های مربوط به ردیف دندانانی یعنی لندمارک‌های ۳ (عقبی‌ترین نقطه دندان پیش سوم) و ۴ (انتهایی‌ترین نقطه دندان آسیای دوم) سبب فشردگی در این ناحیه شده که با انبساط در فاصله لندمارک‌های ۲ و ۳ همراه می‌شود (شکل‌های B2-۴ و B3-۴).



(B)

۷) (مربوط به استخوان اکسی پیتال) نیز در جنس نر به سمت بیرون جابجا شده است که این امر سبب بزرگ شدن استخوان اکسی پیتال در آنها شده است. انبساط در لندمارک ۴ (ناحیه کام دهان)، لندمارک ۱۰ (انتهایی‌ترین نقطه روی درز استخوان کام) و لندمارک ۱۳ (پایین‌ترین نقطه سوراخ جلویی کامی) مربوط به طول کام دهانی در جنس نر دیده می‌شود. موارد بالا نشان می‌دهد که طول و عرض کام دهان در جنس نر از ماده بزرگ‌تر است.

تحلیل CVA در شکل نمای شکمی جمجمه



شکل ۴- A) تحلیل CVA داده‌های شکل نمای شکمی جمجمه جنس‌های نر، ماده و نابالغ، B) گراف wireframe مقایسه شکل میانگین، B1) جنس‌های نر و ماده، B2) جنس نر و نابالغ و B3) جنس ماده و نابالغ

نسبت رشد آنها و یا به عبارت دیگر تفاوت در الگوی رشد آلومتری متفاوت جمجمه در بین دو جنس است (Tjarks, 2009; Badyaev, 2002).

انبساط جایگاه لندمارک‌ها و یا بزرگ بودن ناحیه مربوط به کمان زیگوماتیک از لحاظ طول و ارتفاع در بالغ‌ها نسبت به نابالغ‌ها و در جنس نر نسبت به ماده

بحث

در این تحقیق، تفاوت‌های مشاهده شده در شکل جمجمه جنس‌های نر و ماده، تأیید کننده وجود دو شکلی جنسی در شکل جمجمه خرس قهوه‌ای در ایران است. تفاوت‌ها در شکل بخش‌های متفاوت جمجمه بین جنس‌های نر و ماده، نشان‌دهنده تفاوت در

می‌تواند به اندازه ماهیچه‌های تمپوراليس (temporalis) و جونده (masseter) مرتبط باشد، زیرا کمان زیگوماتیک منشأ و حمایت‌کننده این ماهیچه‌ها است (Grandal-d'Anglade and López-González, 2005; Naples and MacAfee, 2012) و سبب تقویت آنها می‌گردد (Naples and MacAfee, 2012). از آنجا که بالغ‌ها نسبت به نابالغ‌ها جثه بزرگ‌تری دارند، بنابراین، وجود ماهیچه‌های تمپوراليس و جونده بزرگ‌تر و قوی‌تر طبیعی است چرا که افزایش اندازه کمان زیگوماتیک سبب افزایش اندازه این ماهیچه‌ها و در نتیجه افزایش توانایی آنها برای حرکت دادن آرواره به سمت عقب و جلو می‌شود (Naples and MacAfee, 2012). در ضمن، کمان زیگوماتیک بزرگ‌تر می‌تواند فضای بیشتری را برای زایده کورونوید فک زیرین فراهم آورد (Liem *et al.*, 2000). نتایج همچنین، نشان‌دهنده بزرگ بودن ناحیه آهیانه در بالغ‌ها نسبت به نابالغ‌ها و همچنین در جنس نر نسبت به ماده است که نشان‌دهنده الگوی رشد آلومتری مثبت این ناحیه در آنها است. بزرگ بودن این ناحیه، می‌تواند فضای بیشتری را برای جایگاه اتصال ماهیچه تمپوراليس فراهم آورد.

ردیف دندان‌های آسیا و پیش آسیا و همچنین ناحیه پوزه (در نمای پشتی) در نابالغ‌ها بزرگ‌تر از بالغ‌ها بود. از این رو، در بالغ‌ها این دندان‌ها رشد نسبی کمتری نسبت به سایر بخش‌ها داشته، به عبارت دیگر الگوی رشد آنها آلومتری منفی است. بنابراین، در طول فرآیند آنتورژنی مجموعه، استخوان پس‌سری و کمان زیگوماتیک رشد بیشتری نسبت به ردیف دندان‌های آسیا و پیش آسیا دارند. روند رشد آنتورژنی ردیف دندان‌های نیش نیز نشان‌دهنده یک الگوی رشد

آلومتری مثبت در این ناحیه است.

انبساط جایگاه لندمارک‌ها در ناحیه استخوان پس‌سری در جنس نر نسبت به ماده‌ها و نابالغ‌ها نشان‌دهنده بزرگ‌تر بودن این ناحیه در نرها است و این امر می‌تواند به دلیل نیاز به جایگاه بیشتر برای اتصال ماهیچه‌های تنه‌ای و گردنی در جنس نر باشد که نسبت به ماده قوی‌تر است. استخوان پس‌سری بزرگ، جایگاه بیشتری را برای اتصال ماهیچه‌های تمپوراليس و تنه‌ای فراهم می‌سازد (Liem *et al.*, 2000).

نتایج همچنین نشان داد که طول استخوان بینی و ناحیه پیشانی در بالغ‌ها بیش از نابالغ‌ها است که بیان‌کننده الگوی رشد آلومتری مثبت این نواحی است. دلیل این الگوی رشد در ناحیه پیشانی و سینوس‌ها که داخل استخوان پیشانی قرار دارند، می‌تواند توسعه حس بویایی در خرس‌های بالغ باشد. این ویژگی، ارتباط مستقیمی با سینوس‌های پیشانی ندارد ولی بزرگ بودن پیشانی می‌تواند در توسعه مارپیچ‌ها (turbinate) به سمت حفره بینی مؤثر باشد (Grandal-d'Anglade and López-González, 2005).

در نهایت، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که مجموعه جنس نر در بخش‌هایی که گردن و ماهیچه‌های آرواره‌ها را حمایت می‌کند نسبت به جنس ماده توسعه بیشتری یافته است و تفاوت‌های مشاهده شده ممکن است به دلیل رفتارهای قلمروطلبی و تغذیه‌ای متفاوت بین دو جنس باشد (Grandal-d'Anglade and López-González, 2005). البته به بررسی‌های بیشتر نیاز دارد. نتیجه این مطالعه لزوم پژوهش‌های تکمیلی در خصوص چگونگی تکامل همزمان بین ویژگی‌های رفتاری متفاوت نرها و ماده‌های خرس قهوه‌ای و خصوصیات آناتومی آنها را آشکار می‌کند.

سپاسگزاری

از سازمان حفاظت محیط‌زیست دانشگاه محیط‌زیست کرج، موزه دارآباد، اداره محیط‌زیست شاهرود، اداره محیط‌زیست مازندران، اداره محیط‌زیست گلستان و اداره محیط‌زیست زنجان به خاطر فراهم کردن امکان دسترسی به مجموعه جمجمه خرس قهوه‌ای قدردانی می‌شود. همچنین، از آقایان فرهاد عطایی، علی ادیبی، طاهر قدیریان، هادی فهیمی و موسی شجاع به خاطر در اختیار قرار دادن نمونه‌های جمجمه برای این مطالعه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- Badyaev, A. V. (2002) Growing apart: an ontogenetic perspective on the evolution of sexual dimorphism. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 369-378.
- Bechshøft, T., Sonne, C., Rige't, F., Wiig, Ø. and Dietz, R. (2008) Differences in growth, size and sexual dimorphism in skulls of East Greenland and Svalbard polar bears (*Ursus maritimus*). *Polar Biology* 31: 945-958.
- Cardini, A., Diniz Filho, J. A. F., Polly, P. D. and Elton, S. (2010) Biogeographic analysis using geometric morphometrics: clines in skull size and shape in a widespread African arboreal monkey. In: *Morphometrics for Nonmorphometricians* (Ed. Elewa, A. M. T) 124. Springer-Verlag Publishers, Heidelberg.
- Derocher, A. E., Anderson, M. and Wiig, Ø. (2005) Sexual dimorphism of polar bears. *Journal of Mammology* 86: 895-901.
- Drake, A. G. and Klingenberg, G. P. (2010) Large-Scale Diversification of Skull Shape in Domestic Dogs: -Disparity and Modularity. *The american naturalist* 175: 289-301.
- Figueirido, B., Palmqvist, P., Pérez-laros, J. A. and Dong, W. (2011) Cranial shape transformation in the evolution of the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). *Naturwissenschaften* 98: 107-116.
- Grandal-d'Anglade, A. and López-González, F. (2005) Sexual dimorphism and ontogenetic variation in the skull of the cave bear (*Ursus spelaeus* Rosenmüller) of the European Upper Pleistocene. *Geobios* 38: 325-337.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T. and Ryan, P. D. (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 1-9.
- Kaliontzopoulou, A., Carretero, M. A. and Lorente, G. A. (2007) Multivariate and geometric morphometrics in the analysis of sexual dimorphism variation in Podarcis Lizards. *Journal of Morphology* 268: 152-165.
- Klingenberg, C. P. (2008) MorphoJ. Retrieved from <http://www.flywings.org.uk/MorphoJ-page.htm>. On: 15 March 2013.
- Liem, K., Bemis, W., Walker, W. F. and Grande, L. (2000) Functional anatomy of the vertebrates: An Evolutionary Perspective. 3rd edition. Belmont, California.
- Loy, A., Genov, P., Galfo, M., Jacobone, M. G. and Vigna, A. (2008) Cranial morphometrics of the pennine brown bear (*Ursus arctos marsicanus*) and preliminary notes on the relationships with other southern European populations. *Italian Journal of Zoology* 75: 67-75.
- Milenković, M., Blagojević, V. J. Š. J., Tatović, S. and Vujošević, M. (2010) Skull variation in Dinaric-Balkan and Carpathian gray wolf populations revealed by geometric morphometric

- approaches. *Journal of Mammalogy* 91: 376-386.
- Naples, V. L. and MacAfee, R. K. (2012) Reconstruction of the cranial musculature and masticatory function of the Pleistocene panamerican ground sloth *Eremotherium laurillardi* (Mammalia, Xenarthra, Megatheriidae). *Historical Biology* 24: 187-206.
- Ohdachi, S., Aoi, T., Mano, T. and Tsubota, T. (1992) Growth, sexual dimorphism, and geographical variation of skull dimensions of the brown bear *Ursus arctos* in Hokkaido. *Journal of the Mammalogical Society of Japan* 17: 27-47.
- Ralls, K. (1976) Mammals in which females are larger than males. *Quarterly Review of Biology* 51: 245-276.
- Rohlf, F. J. (1990) TpsSmall Version 1.20. Ecology and Evolution. SUNY at Stony Brook, New York.
- Rohlf, F. J. (2006) TpsDig2, Version 2.10. Ecology and Evolution. SUNY at Stony Brook, New York.
- Rohlf, F. J. and Marcus, L. F. (1993) A revolution in morphometrics. *Trend in Ecology and Evolution* 8: 129-132.
- Rohlf, F. J. and Slice, D. E. (1990) Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology* 39: 40-59.
- Schoener, T. W. (1967) The ecological significance of sexual size dimorphism in the lizard *Anolis conspersus*. *Science* 155: 474-486.
- Slice, D. E. (2007) Geometric morphometrics. *Annual Review of Anthropology* 36: 261-281.
- Takemura, C. M., Cesar-Jr, R. M., Hingst-Zaher, E., Arantes, R. A. T. and Costa. L. A. T. (2007) Application of wavelets in the analysis of sexual dimorphism in the skull of South American canids (Mammalia, Canidae). 15th European Symposium on Artificial Intelligence ECAI2002, Lyon, France.
- Tjarks, H. (2009) Geometric morphometric analysis of head shape in *Thamnophis elegans*. Msc thesis, California State University, Chico, USA.
- Zavatsky, B. P. (1976) The use of the skull in Age determination of the brown bear. 3th International Conference on Bears Research and Management, Binghamton, New York.

معرفی شاخص اجتماع پذیری بذر در ارزیابی پایداری بانک بذر خاک

اعظم نورایی، امید اسماعیل زاده *، سید غلامعلی جلالی و حامد اسدی
گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

چکیده

در پژوهش حاضر، کاربرد ضریب اجتماع پذیری بذور در ارزیابی پایداری بانک بذر خاک در جنگل حفاظت شده سفید پلت پارک جنگلی نور بررسی گردید. نمونه برداری از پوشش گیاهی رو زمینی در خردادماه سال ۱۳۸۹ هنگامی که ترکیب پوشش گیاهی منطقه در اوج بود به روش سیستماتیک-انتخابی انجام شد. نمونه برداری از بانک بذر خاک طی سه دوره زمانی با استفاده از یک قاب ۴۰۰ سانتی متر مربعی در دو عمق (۵-۰ و ۵-۱۰ سانتی متری) در ۴ تکرار در هر قطعه نمونه انجام شد و با استفاده از روش کشت گلخانه‌ای، ترکیب گیاهی بانک بذر خاک تعیین گردید. نتایج نشان داد ۴۲/۲ درصد از ترکیب گیاهی منطقه در گروه بانک بذر موقتی طبقه‌بندی شده، ۵۷/۸ درصد باقی مانده در گروه بانک بذر پایدار بودند که بیشتر آنها مربوط به گونه‌های مراحل اولیه توالی بوده، تنها سه گونه درختی *Ficus carica*، *Morus alba* و *Alnus glutinosa* قادر به تشکیل بانک بذر دائمی بودند. آزمون نیکویی برازش مربع کای ($X^2 = 60/2$) در بررسی استقلال نتایج دو روش طبقه‌بندی ضریب اجتماع پذیری بذر و الگوی توزیع عمقی بذور نشان داد که نتایج این دو روش با احتمال ۹۹ درصد از یکدیگر مستقل نبوده، با یکدیگر انطباق دارند. در این ارتباط، میزان تطابق و همبستگی دو روش مزبور بر مبنای ضریب کاپا و ضریب همبستگی اسپیرمن ۸۵/۲ درصد برآورد شد. بنابراین، نتیجه‌گیری شد که طبقه‌بندی بانک بذر خاک بر اساس الگوی اجتماع پذیری بذر می‌تواند به عنوان روشی جدید در طبقه‌بندی بانک بذر خاک رویشگاه‌های جنگلی کاربرد داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: طبقه‌بندی بانک بذر خاک، پایداری، ضریب اجتماع‌پذیری بذور (SAI)

مقدمه

بانک بذر خاک، بخشی از فلور یک منطقه است (Erfanzadeh et al., 2012) که فقدان مطلوب آن به دلیل پراکنش محدود و قوه نامیه پایین بذور در بسیاری از گونه‌ها به عنوان عاملی محدود کننده در احیای اکوسیستم‌ها حتی در شرایط مدیریت بهینه عمل کرده،

امروزه افزایش تقاضا برای کسب اطلاعات بیشتر در زمینه بانک بذر خاک برای اهداف علمی، چشم‌اندازهای مدیریتی و اجرایی برای تصمیم‌گیری در رویشگاه‌ها وجود دارد (Holzel and Otte, 2004).

خطر انقراض را در بسیاری از گونه‌ها افزایش می‌دهد (Bekker and Berendse, 1999). بوم‌شناسان و زیست‌شناسان به طور فزاینده‌ای به نقشی که بانک بذر خاک در حفظ تنوع زیستی و ژنتیکی جمعیت‌ها و جوامع گیاهی ایفا می‌کند، آگاه شده‌اند (Templeton and Leck and Levin, 1979) و همکاران (۱۹۸۹) دریافتند که در طیف گسترده‌ای از زیستگاه‌ها از رویشگاه‌های جنگلی تا مناطق بیابانی، تأخیر در جوانه‌زنی از مشخصه‌های بسیاری از گونه‌های گیاهی است. این ویژگی به گیاهان این امکان را می‌دهد که در صورت مرگ و میر در پوشش گیاهی روزمینی یک منطقه به صورت ذخیره‌ای از بذور رویش نیافته درون خاک آن منطقه باقی مانده، در نتیجه خطر انقراض آنها کاهش یابد (Thompson and Grime, 1979). در تعریف بانک بذر خاک که توسط Templeton و Levin (۱۹۷۹) ارائه شد بر نقش بانک بذر خاک پایدار در حفاظت از تنوع ژنتیکی ترکیب پوشش گیاهی تأکید فراوان شده است و شناخت آن به عنوان بخشی از بانک ژنتیکی رویشگاه‌های طبیعی لازم و ضروری قلمداد می‌شود. اهمیت بانک بذر خاک دایمی در تداوم حیات گونه‌های گیاهی و به تبع آن بقای جوامع گیاهی توسط محققان کشاورزی و بوم‌شناسی حتی پیش از آن که تعریف جامعی از آن ارائه گردد شناخته شده بود (Baskin and Baskin, 1998). بانک بذر خاک دایمی ضامن حفظ بقای گونه‌های گیاهی رویشگاه‌ها به هنگام بروز شرایط مخرب طبیعی و حتی پس از تخریب کلی یک رویشگاه است (Stockline et al., 2010b). مطالعات Fischer و (۱۹۹۹) نشان داد که خطر انقراض محلی

گونه‌ها با بانک بذر موقت به خصوص با رویشگاه‌های تکه تکه شده (patch habitat) افزایش می‌یابد. مرور منابع نشان می‌دهد که بانک بذر خاک به عنوان عاملی کلیدی در بازسازی اکوسیستم‌ها نقش دارد و شناخت آن، موجب ارتقای طرح‌های مدیریت پوشش گیاهی می‌شود. با وجود این، متأسفانه اطلاعات در زمینه نوع بانک بذر خاک و میزان پایداری بذور در بسیاری از گونه‌ها ناشناخته مانده است (Thompson et al., 1997).

Thompson (۱۹۹۳) برای تعیین میزان پایداری بذور در گونه‌های مختلف طرح طبقه‌بندی بانک بذر را در سه گروه و صرفاً بر اساس طول عمر بذور ارائه کردند (Fenner and Thompson, 2005). در این طرح طبقه‌بندی، بذور گونه‌های زود گذر کمتر از یک سال در خاک زنده باقی می‌مانند، بذور گونه‌های با پایایی کوتاه مدت (short term persistent) برای حداقل یک سال اما کمتر از پنج سال در خاک ماندگار هستند در حالی که گونه‌های با پایایی دراز مدت (long term persistent) برای حداقل پنج سال پایدار می‌مانند. سرانجام، Thompson و همکاران (۱۹۹۷) با ارائه کلید طبقه‌بندی که در آن طول عمر بذور با توجه به اعماق خاک بیان می‌شود، طرح طبقه‌بندی بانک بذر خاک را به صورت کاربردی ارائه کردند. در واقع، این گروه‌بندی بر مبنای این فرضیه که بذور عمقی مدفون شده در مقایسه با بذور نزدیک سطح خاک از طول عمر بیشتری برخوردار هستند شکل گرفته است. اما گاهی اوقات کاربرد الگوی طبقه‌بندی Thompson و همکاران (۱۹۹۷) در رویشگاه‌های پر شیب و یا سنگلاخی که ممکن است امکان استخراج و یا تفکیک

همکاران (۱۹۹۷)، قابلیت الگوی SAI در ارزیابی ماندگاری بانک بذر خاک را برای نخستین بار در ایران ارائه نماید. الگوی پیشنهادی SAI می تواند زمانی که روش طبقه بندی عمقی بانک بذر خاک در تشریح ماندگاری بانک بذر خاک با محدودیت همراه است، روشی جایگزین در ارزیابی پایداری بانک بذر خاک باشد.

روش تحقیق

منطقه مطالعه شده

منطقه حفاظت شده سفید پلت با مساحت تقریبی ۵۵۰ هکتار در مختصات جغرافیایی ۳۴° و ۳۶° عرض شمالی و ۵۰° و ۵۱° درجه طول شرقی در جنوب شرقی پارک جنگلی نور قرار دارد. بیشینه و کمینه ارتفاع آن بین ۲۰-۴۳ متر و شیب عمومی آن ۳-۵ درصد است. متوسط بارندگی سالیانه در منطقه ۱۰۹۷/۵ میلی متر و دمای متوسط سالیانه ۱۶/۴ درجه سانتیگراد است. بیشینه دمای گرمترین ماه سال ۳۰ درجه و کمینه دمای سردترین ماه سال ۷/۳ درجه است. بیشینه بارندگی در آذر ماه و کمینه بارندگی در خرداد ماه بوده، طول فصل خشک آن ۱/۵ ماه است. این منطقه از نظر زمین شناسی به عهد کواترنری و از نظر رخساره جزو دشت های آبرفتی محسوب می شود. نوع سنگ مادر رسوبات آبرفتی منشأ آهکی دارد. از نظر خاک شناسی، خاک منطقه آبرفتی بوده، از رسوبات ریز تجمع یافته در قسمت مسطح کنار دریای خزر تشکیل شده است و خاک آن هیدرومورف کامل است (Barzehkar, 1995).

نمونه برداری پوشش گیاهی

نمونه برداری از پوشش گیاهی منطقه در دو دوره

نمونه های خاک در دو عمق مشخص میسر نباشد با محدودیت همراه است. بنابراین، برای طبقه بندی بانک بذر خاک در چنین رویشگاه های بایستی از روش های جایگزین استفاده کرد.

شاخص اجتماع پذیری بذر (SAI, Seed Accumulation Index) ظرفیت اجتماع پذیری بذور ترکیب گیاهی در داخل خاک هر منطقه را ارائه می کند. این شاخص، به دلیل درجه همبستگی بالایی که با شاخص طول عمر بذر دارد، می تواند شاخصی مناسب در ارزیابی درجه ماندگاری بذور در داخل خاک کاربرد داشته باشد (Holzel and Otte, 2004). شاخص طول عمر بذر که Bekker و همکاران (۱۹۹۸) ارائه کرده است، بر آندی از نتایج گزارش های متفاوت پژوهشگران مختلف در خصوص طبقه بندی بانک بذر خاک هر گونه گیاهی است. از این رو، به عنوان الگوی طلایی و کاربردی در ارزیابی پایداری بذور تلقی می شود. شاخص اجتماع پذیری بذور با تلفیق دو معیار: نسبت مقادیر فراوانی و وفور گونه ها در بانک بذر خاک به فراوانی و وفور آنها در پوشش گیاهی رو زمینی، میزان تمایل بذور گونه های مختلف برای اجتماع پذیری در خاک را ارائه می دهد. نتایج مطالعات Wellstein و همکاران (۲۰۰۷)، Schmidt و Dolle (۲۰۰۹) نشان داده است که SAI به دلیل درجه همبستگی بالایی که با شاخص طول عمر بذر دارد می تواند به عنوان شاخصی مناسب در ارزیابی درجه ماندگاری بذور در داخل خاک کاربرد داشته باشد.

پژوهش حاضر در نظر دارد تا با کاربرد روش عددی SAI در طبقه بندی بانک بذر خاک و تطبیق نتایج حاصل با نتایج الگوی طبقه بندی Thompson و

زمانی: فصل خزان (بهمن ماه) برای ثبت فلور پیش بهار
جنگل و فصل رویش (خرداد ماه) هنگامی که انتظار
می رود اغلب گیاهان در منطقه حضور داشته، به رشد
کامل رسیده اند با روش سیستماتیک-انتخابی انجام
گردید (Esmailzadeh et al., 2010b). شبکه
سیستماتیک به گونه ای طراحی گردید که کل منطقه را
پوشش دهد تا کلیه ناهمگونی پوشش گیاهی منطقه
آمار برداری شود. برای این منظور، با توجه به هموار
بودن سطح منطقه (شیب عمومی منطقه کمتر از ۵
درصد است) نخست، تعداد ۵ ترانسکت در جهت
شمالی-جنوبی (متناسب با عرض رویشگاه) که با فاصله
۳۰۰ متر از یکدیگر قرار داشتند (سیستماتیک) در سطح
منطقه طراحی شد. سپس، تعداد ۶ قطعه نمونه ۴۰۰ متر
مربعی با فواصل شناور ۱۰۰ و ۲۰۰ متری (انتخابی) بر
روی خطوط پیاده شدند. اندازه قطعات نمونه مطابق با
اندازه قطعه نمونه پیشنهادی برای مطالعه ترکیب
فلوریستیک رویش های جنگلی نواحی معتدله ۴۰۰ متر
مربع (۲۰ × ۲۰ متر) در نظر گرفته شد (Asri, 2005). در
هر قطعه نمونه ابتدا فهرست کلیه گونه های گیاهی به
تفکیک شکل رویشی ثبت شده و سپس، وفور و
چیرگی (درصد تاج پوشش) گونه های گیاهی بر مبنای
مقیاس براون-بلانکه ثبت شد (Kent and Cocker, 1994).
شناسایی و نام گذاری گونه های گیاهی با منابع
فلورا ایرانیکا (Rechinger, 1963-2012)، مجموعه
فلور فارسی ایران (Assadi et al., 1988-2001)، فلور
رنگی ایران (Ghahraman, 1975-2000) و فرهنگ
نام های گیاهان ایران (Mozaffarian, 2005) انجام شد.

نمونه برداری بانک بذر خاک

نمونه برداری از بانک بذر خاک در سال ۱۳۸۸ و

۱۳۸۹، در سه دوره: ۱- بهمن ماه (فصل خزان)،
۲- اردیبهشت ماه اندکی پس از آغاز فصل رویش
هنگامی که تصور می شود اغلب بذور یک ساله در
خاک جوانه زنی کرده اند و بذر پاشی سال جدید آغاز
نشده است و ۳- آبان ماه و در دو عمق ۵-۰ و ۵-۱۰
سانتی متر، به منظور بررسی روند تغییرات عمقی با
استفاده از قاب فلزی ۲۰ × ۲۰ سانتی متری با ۴ تکرار در
هر یک از قطعات ۳۰ گانه به عمل آمده است. هر یک
از نمونه های بانک بذر پس از استخراج، درون
کیسه های پلاستیکی ریخته شد و پس از نصب
برچسب (ثبت شماره قطعه نمونه، تکرار و عمق) به
منظور اعمال سرمادهی مصنوعی به سردخانه مرکز بذر
کلوده منتقل شدند. نمونه ها در دمای سرد و خشک
(دمای ۲ تا ۴ درجه سانتیگراد) به مدت یک تا دو ماه
نگهداری و پس از آن به محیط گلخانه ارسال شدند
تا مطالعه بانک بذر آنها به روش پیدایش نهال
(seedling emergence method) موسوم به روش
کشت گلخانه ای انجام شود (Esmailzadeh et al., 2010b).
در خصوص نمونه برداری دوره اول
(بهمن ماه)، به دلیل اینکه نمونه های بانک بذر خاک
در طول فصل سرد شرایط بهاره سازی را در محل
رویشگاه سپری کردند، به منظور اجرای روش پیدایش
نهال بلافاصله به محیط کشت گلخانه منتقل شدند.

روش کشت گلخانه ای

در این روش، نمونه های بانک بذر خاک در محیط
گلخانه با شرایط دمایی ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتیگراد در
داخل گلدان های پلاستیکی کشت داده شدند. در
داخل هر گلدان، نمونه های خاک بر روی لایه نازکی
از ماسه سترون شده (ضخامت ۳ سانتی متر) به گونه ای

پخش شده که ضخامت آنها بیشتر از ۲ سانتی متر نباشد به طوری که بذور در معرض نور و هوا از احتمال جوانه زنی بیشتری برخوردار باشند. رطوبت مورد نیاز برای جوانه زنی بذور و رشد نونهالها به صورت تلفیق مه پاشی از بالا و آبیاری کرتی از پایین تأمین شد. ثبت و شمارش ننهالهای سبز شده هر گلدان هفته ای یک بار به مدت یک سال تا زمانی که دیگر ننهال جدیدی سبز نشد انجام گردید (Esmailzadeh *et al.*, 2010a).

شاخص اجتماع پذیری بذر (SAI)

شاخص اجتماع پذیری بذر (Seed Accumulation Index یا SAI بر اساس دو شاخص فراوانی نسبی و وفور نسبی بانک بذر خاک تعیین می شود. این دو شاخص به بیان ارتباط بین حضور گونه ها در پوشش رو زمینی و بانک بذر خاک اشاره دارد. شاخص اول حضور هر گونه را در قطعه نمونه های بانک بذر نسبت به پوشش رو زمینی ارزیابی می کند و به صورت زیر برآورد می شود:

رابطه ۱ = فراوانی نسبی بانک بذر خاک

$$AV/SBfreq\ index = (SBf / (SBf + AVf)) \times 100$$

SBf = فراوانی گونه ها در بانک بذر خاک

AVf = فراوانی گونه ها در پوشش گیاهی رو زمینی

رابطه ۲ = وفور نسبی بانک بذر خاک

$$AV/SBquant\ index = (SBq / (SBq + AVq)) \times 100$$

SBq = تعداد کل بذور هر گونه در بانک بذر خاک

AVq = وفور تجمعی گونه ها در ترکیب پوشش گیاهی رو زمینی

مقادیر هر یک از این دو شاخص بین صفر (گونه هایی که تنها در پوشش گیاهی حضور دارند

بنابراین دارای بذور با بانک بذر موقت هستند) تا ۱۰۰ (گونه هایی که تنها در بانک بذر حضور دارند در نتیجه دارای بانک بذر پایدار هستند) است. برای برآورد شاخص اجتماع پذیری بذر در داخل خاک، این دو شاخص با یکدیگر جمع و میانگین آن به عنوان ضریب SAI که بیانگر میزان تمایل گونه های مختلف برای تجمع در خاک است محاسبه گردید (Hoelzel and Otte, 2004). گونه هایی با SAI بیشتر از ۵۰ در گروه بانک بذر خاک دایمی و گونه هایی که SAI آنها کمتر از ۵۰ بود در گروه بانک بذر خاک موقتی طبقه بندی شدند. پس از محاسبه SAI در خصوص وضعیت ماندگاری بذور هر گونه در داخل خاک بر مبنای اینکه مقادیر عددی SAI هر گونه بیشتر از ۵۰ (بانک بذر دایمی) یا کمتر از ۵۰ باشد تصمیم گیری شد. مقدار عددی $SAI=50$ به عنوان سطح قطع (cut level) و ملاک طبقه بندی دو گروه بانک بذر دایمی و موقتی مد نظر قرار گرفت. در خصوص تعیین آن به روش آزمون و خطا و ملاک قرار دادن مقادیر عددی و تطبیق طبقه بندی حاصل با نتایج به دست آمده از روش طبقه بندی Thompson و همکاران (۱۹۹۷) بهترین سطح قطع $SAI=50$ در نظر گرفته شد. برای ارزیابی صحت نتایج طبقه بندی حاصل از روش SAI، استقلال نتایج دو روش طبقه بندی SAI و روش توزیع عمقی بذور (Thompson *et al.*, 1997) به عنوان روش مرسوم طبقه بندی بانک بذر خاک (Bekker *et al.*, 1998؛ Fenner and Thompson, 2005) با استفاده از آزمون نیکویی برازش مربع کای (داده های جدول توافقی) بررسی گردید. همچنین، میزان انطباق نتایج دو روش با استفاده از شاخص تطابق پذیری کاپا و ضریب

همبستگی پیرسون برآورد شد.

بالای SAI بودند، البته در این میان برخی از گونه‌ها نظیر: *Athyrium filix-femina*، *Ajuga reptans*، *Microstegium vimineum* و *Poa annua* هر چند که در ترکیب گیاهی رو زمینی حضور نداشتند اما به دلیل اینکه درجه فراوانی و وفور نسبتاً بالایی در بانک بذر خاک داشتند از مقادیر بالای SAI برخوردار بودند (جدول ۱).

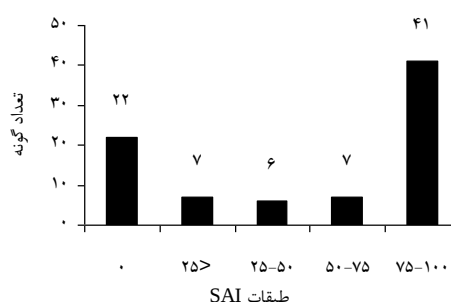
بر اساس نتایج روش طبقه‌بندی SAI مشخص شد که ۴۲/۲ درصد از ترکیب گیاهی منطقه دارای اجتماع‌پذیری کمتر از ۵۰ بوده، در نتیجه در گروه بانک بذر موقتی قرار می‌گیرند و ۵۷/۸ درصد از گونه‌ها دارای اجتماع‌پذیری بیشتر از ۵۰ بوده، در نتیجه در گروه بانک بذر خاک دائمی طبقه‌بندی می‌شوند. در این خصوص، در روش طبقه‌بندی بر اساس توزیع عمقی بذور در بانک بذر خاک (روش عمقی) مشخص شد که ۵۴/۲ درصد از گونه‌ها دارای بانک بذر پایدار و ۴۵/۷ درصد از گونه‌ها دارای بانک بذر موقت هستند (جدول ۱).

در بررسی میزان انطباق نتایج دو روش طبقه‌بندی بانک بذر خاک بر اساس نتایج جدول توافقی (جدول ۲) و آزمون نیکویی برازش مربع کای ($X^2 = 60/2$) مشخص گردید که نتایج دو روش طبقه‌بندی SAI و عمقی با احتمال ۹۹ درصد از یکدیگر مستقل نبوده، با یکدیگر انطباق دارند. در این ارتباط، میزان تطابق و همبستگی دو روش طبقه‌بندی SAI و روش توزیع عمقی Thompson و همکاران (۱۹۹۷) بر مبنای ضریب کاپا و ضریب همبستگی اسپیرمن ۸۵/۲ درصد برآورد گردید (جدول ۳).

نتایج

طبقه‌بندی گونه‌ها بر اساس شاخص اجتماع‌پذیری SAI

نتایج فراوانی گونه‌ها در طبقات پنج‌گانه SAI نشان می‌دهد که از تعداد کل ۸۳ گیاهی شناسایی شده در منطقه (بر اساس داده‌های تلفیقی بانک بذر خاک و پوشش رو زمینی) تعداد ۴۸ گونه طبقه بیشتر از ۵۰ بود که در واقع می‌توان اذعان داشت که بر اساس شاخص SAI تعداد ۵۸ درصد از گونه‌های گیاهی منطقه قابلیت تشکیل بانک بذر دائمی یا پایدار را دارند (شکل ۱).



شکل ۲- نمودار تعداد گونه‌ها در طبقات SAI

گونه‌هایی که فقط در ترکیب گیاهی رو زمینی حضور دارند و از ترکیب بانک بذر خاک غایب بودند مانند: *Epipactis*، *Brachypodium sylvaticum*، *Polypodium*، *Fraxinus excelsior*، *helleborine* و *Pteris dentate* کمترین مقدار SAI را داشتند ($SAI = 0$)، اما گونه‌هایی که در ترکیب گیاهی رو زمینی حضور نداشتند مانند: *Cardamine hirsute*، *Hypericum perforatum*، *Digitaria sanguinalis* و *Ruscus hyrcanus* دارای مقادیر

جدول ۱- طبقه بندی بانک بذر خاک بر اساس الگوی طبقه بندی SAI و توزیع عمودی Thompson و همکاران (۱۹۹۷). T= بانک بذر خاک موقتی، P= بانک بذر خاک پایدار

نام گونه	روش های طبقه بندی بانک بذر خاک		
	توزیع عمقی بانک	روش اجتماع پذیری	
		SAI	پایداری
<i>Acalypha australis</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Acer velutinum</i> Boiss.	T	۲۱	T
<i>Adiantum capillus-veneris</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Ajuga reptans</i> L.	P	۶۹/۵	P
<i>Alliaria petiolata</i> (M.Bieb.) Cavara & Grande	P	۱۰۰	P
<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaert.	P	۵۰	P
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Artemisia annua</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Athyrium filix- femina</i> (L.) Roth.	P	۹۵/۳	P
<i>Atropa belladonna</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Brachypodium sylvaticum</i> (L.) P. Beauv.	T	.	T
<i>Cardamine hirsuta</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Carex divulsa</i> Stokes.	P	۷۶/۴۳	P
<i>Carex remota</i> L.	P	۴۲/۳۹	T
<i>Carex sylvatica</i> Huds.	P	۶۶/۳۱	P
<i>Carpesium abrotanoides</i> L.	T	.	T
<i>Carpinus betulus</i> L.	T	۱۴/۸۱	T
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	T	.	T
<i>Circaea lutetiana</i> L.	T	.	T
<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist	P	۱۰۰	P
<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronquist	P	۱۰۰	P
<i>Crataegus microphylla</i> K. Koch.	T	.	T
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	T	۱۰۰	P
<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.	P	۱۰۰	P
<i>Diospyros lotus</i> L.	T	۸/۹۳	T
<i>Dryopteris filix-mas</i> (L.) Schott.	T	.	T
<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.	P	۱۰۰	P
<i>Epipactis helleborine</i> (L.) Crantz.	T	.	T
<i>Equisetum maximum</i> Lam.	T	۳۶/۲۱	T
<i>Euphorbia amygdaloides</i> L.	T	.	T
<i>Ficus carica</i> L.	P	۸۱/۳۵	P
<i>Fraxinus excelsior</i> L.	T	.	T
<i>Galanthus nivalis</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Galium spurium</i> L.	T	.	T
<i>Geranium robertianum</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Gleditsia caspica</i> Desf.	T	.	T
<i>Hedera pastuchovii</i> Woronow.	T	.	T
<i>Hypericum androsaemum</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Hypericum perforatum</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Juncus effusus</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Lamium album</i> L.	T	.	T
<i>Lithospermum officinale</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Lycopus europaeus</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Lythrum salicaria</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Mentha aquatica</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Mercurialis perennis</i> L.	T	.	T
<i>Microstegium vimineum</i> (Trin.) A. Camus.	P	۹۲/۸۱	P
<i>Morus alba</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Ophioglossum vulgatum</i> L.	T	.	T
<i>Oplismenus undulatifolius</i> (Ard.) Roem. & Schult.	P	۵۳	P
<i>Parietaria officinalis</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Parrotia persica</i> C.A.May	T	۲/۴۶	T
<i>Phyllitis scolopendrium</i> (L.) Newman.	T	.	T

نام گونه	روش های طبقه بندی بانک بذر خاک		
	توزیع عمقی بانک	روش اجتماع پذیری	
		SAI	پایداری
<i>Phytolacca americana</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Plantago major</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Poa annua</i> L.	P	۶۰/۲۲	P
<i>Polypodium vulgare</i> L.	T	.	T
<i>Polystichum aculeatum</i> (L.) Schott.	T	.	T
<i>Populus caspica</i> Bornm.	T	۳۲/۳۷	T
<i>Potentilla reptans</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Prunus divaricata</i> Ledeb.	T	۴۷/۲۸	T
<i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn.	T	۶۷/۱۶	P
<i>Pteris cretica</i> L.	P	۳۷/۵	T
<i>Pteris dentata</i> Forssk.	T	.	T
<i>Pterocarya fraxinifolia</i> (Lam.) Spach.	T	۷/۲۲	T
<i>Punica granatum</i> L.	T	.	T
<i>Quercus castaneifolia</i> C.A.May.	T	.	T
<i>Rubus hyrcanus</i> Juz.	P	۸۱/۸	P
<i>Rumex acetosella</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Ruscus hyrcanus</i> Woronow	P	۱۰۰	P
<i>Sambucus ebulus</i> L.	T	.	T
<i>Smilax excelsa</i> Duhamel	T	۷/۶۶	T
<i>Solanum nigrum</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Sonchus arvensis</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	T	۷۴/۳	P
<i>Typha latifolia</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Ulmus minor</i> Mill.	T	۷/۰۹	T
<i>Urtica dioica</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Veronica officinalis</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Vicia cracca</i> L.	P	۱۰۰	P
<i>Viola alba</i> Besser.	P	۳۹/۴۹	T
<i>Vincetoxicum scandens</i> Sommier & Levier	P	۱۰۰	P
گه نه ناشناخته	P	۱۰۰	P

بحث

به گفته Thompson و همکاران (۱۹۹۸) مدیریت پوشش گیاهی نیازمند اطلاعات دقیق در مورد ویژگی های بسیاری از گونه هاست که یکی از مهم ترین آنها شناخت میزان پایداری بذور گونه های مختلف در خاک است. بانک بذر پایدار یکی از جنبه های اساسی در زیست شناسی بذر است. این بذور نقش مهمی را در حفاظت و مرمت جوامع گیاهی ایفا کرده، در واقع واکنش گیاهان در برابر تغییرات کاربری زمین، آب و هوا محسوب می شود. اما به گفته Thompson و همکاران (۱۹۹۸) اطلاعات درباره پایداری بذور موجود در خاک تنها برای تعداد اندکی از گونه ها و اغلب با

جدول ۲- جدول توافقی برای بررسی استقلال نتایج دو روش طبقه بندی توزیع عمقی و SAI در معرفی بانک بذر خاک

کل	طبقه بندی عمقی		SAI طبقه بندی
	۱	۲	
۳۵	۱	۳۲	۳
۴۸	۲	۳	۴۵
۸۳	کل	۳۷	۴۶

جدول ۳- ضریب کاپا و همبستگی اسپیرمن در بررسی میزان انطباق و همبستگی دو روش طبقه بندی توزیع عمقی و SAI.

***: $P < 0.001$ (انطباق و همبستگی در سطح ۹۹ درصد).

مقدار ضریب کاپا	اشتباه معیار	معنی داری
۰/۸۵۲	۰/۰۶۶	***۰/۰۰۰
ضریب همبستگی اسپیرمن = ۰/۸۵۲ ***۰/۰۰۰		

کیفیت نامشخص در دسترس است که این اطلاعات در بسیاری از کشورها به ویژه در خارج از اروپا بسیار اندک است. در کشور ایران نیز مطالعه طبقه‌بندی بانک بذر خاک و تعیین نوع بانک بذر در گونه‌ها بسیار اندک است و نیاز به انجام مطالعات در این مورد ضروری به نظر می‌رسد. پژوهش حاضر، الگویی جدید با تکیه بر مقادیر عددی SAI در بررسی ماندگاری بانک بذر خاک را ارائه داده است. بر اساس این مطالعه و مقادیر عددی SAI، گونه‌هایی که در ترکیب گیاهی رو زمینی حضور ندارند مانند: *Cardamine hirsuta*, *Hypericum perforatum*, *Digitaria sanguinalis*, *Acalypha*, *Juncus effusus*, *Rubus hyrcanus* و *Adiantum capillus veneris* و *australis* مقادیر بالای SAI بودند (SAI=۱۰۰). البته در این میان برخی از گونه‌ها که با درجه فراوانی نسبتاً بالایی در بانک بذر خاک و البته در ترکیب گیاهی رو زمینی نیز حضور داشتند، از مقادیر بالای SAI برخوردار بودند. در این خصوص می‌توان به گونه‌هایی نظیر: *Ajuga*, *Carex divulsa*, *Athyrium filix-femina*, *Creptans*, *Poa* و *Microstegium vimineum* و *Ficus carica* اشاره کرد. به بیان دیگر، مقادیر شاخص SAI در گونه‌های مزبور با وجود این که آنها در ترکیب گیاهی رو زمینی حضور داشتند اما به دلیل اینکه از درجه فراوانی بالایی در بانک بذر خاک برخوردار بودند در سطح نسبتاً بالا ارزیابی گردید. بذور این گونه‌ها به دو دلیل قابلیت تشکیل بانک بذر پایدار را دارند: ۱- هر ساله بذر فراوان تولید می‌کنند، ۲- بذور کوچک و گرد با سطح صاف با سهولت بیشتری در خاک نفوذ می‌کنند، بنابراین سهم عمده‌ای از غنا و

اندازه بانک بذر خاک را در رویشگاه‌های جنگلی معتدله به خود اختصاص می‌دهند. Thompson et al., (2001؛ Bossuyt and Roovers et al., 2006؛ Esmailzadeh et al., 2011؛ Honnay, 2008). آنچه در احیای پوشش گیاهی رو زمینی در رویشگاه‌های جنگلی اهمیت ویژه دارد حضور گونه‌های درختی در ترکیب بانک بذر پایدار است. در این پژوهش و بر اساس طبقه‌بندی SAI تنها سه گونه درختی انجیر، توسکا و توت دارای مقادیر عددی SAI بیش از ۵۰ بوده، قابلیت تشکیل بانک بذر پایدار را داشتن. لذا، نتایج این مطالعه تصریح می‌کند با وجود این که ۵۴/۲ درصد از ترکیب گیاهی منطقه (بر اساس نتایج طبقه‌بندی SAI) قابلیت تشکیل بانک بذر دایمی خاک را دارد اما اکثریت آنها به گونه‌های پیشگام و مراحل اولیه توالی تعلق دارند. در واقع، گونه‌های اصلی منطقه به ویژه درختان سفید پلت، بلند مازو، ون، ممرز به همراه انجیلی و لرگ هر چند که از تراکم نسبتاً در خور توجهی در ترکیب گیاهی رو زمینی منطقه برخوردارند و تقریباً هر ساله بذور فراوان تولید می‌کنند اما به دلیل اینکه بذور آنها از درجه پایداری نسبتاً اندکی برخوردار است، قابلیت اجتماع‌پذیری پایینی در داخل خاک داشته، قادر به تشکیل بانک بذر دایمی نیستند. نتایج تحقیق حاضر از این نظر با نتایج مطالعات Bossuyt و همکاران (۲۰۰۲)، Jalili و همکاران (۲۰۰۳)، Zobel و همکاران (۲۰۰۷) و Bossuyt و Honnay (۲۰۰۸) که در جنگل معتدله اروپا انجام شد و با نتایج مطالعات Esmailzadeh و همکاران (۲۰۱۱) و Asadi و همکاران (۲۰۱۲) که در جنگل‌های معتدله هیرکانی انجام شده همخوانی دارد. اما آنچه در این مطالعه علاوه

بر بررسی میزان ماندگاری بانک بذر خاک بر اساس مقادیر عددی SAI در منطقه حفاظت شده سفید پلت نور به آن پرداخته شد تعیین میزان انطباق نتایج طبقه بندی SAI با نتایج طبقه بندی توزیع عمقی به عنوان روش رایج در ارزیابی درجه ماندگاری بذور در خاک است.

در رابطه با طبقه بندی توزیع گونه ها در پوشش گیاهی و اعماق مختلف خاک (Thompson et al., 1997) از آنجا که بذور عمقی مدفون شده در مقایسه با بذور نزدیک سطح خاک طول عمر بیشتری دارند و از آنجا که توزیع عمودی بذور در خاک تا حدودی شواهد دقیقی از طول عمر بذر ارائه می دهد (Erfanzadeh et al., 2010؛ Thompson et al., 2003) می توان اذعان داشت که روش مزبور می تواند روشی مناسب در تعیین ماندگاری بذور باشد. در واقع، از آنجا که حرکت بذور در خاک بسیار آرام است و غیر ممکن است که بذور در کوتاه مدت به اعماق پایین مثلاً ۵-۱۰ سانتی متر نفوذ کنند در نتیجه بذوری که در این لایه قرار می گیرند مسلماً اتفاقی نبوده، دارای طول عمر بالایی هستند. بنابراین، بررسی نسبت بذور در لایه های رویی و زیرین می تواند به صورت معیار جایگزین برای طول عمر بذر استفاده شود. در این خصوص، Bekker و همکاران (۱۹۹۸) نیز اعتقاد دارند که بین توزیع بذور در گونه ها در لایه های مختلف خاک با ماندگاری آنها مطابقت شگفت آوری وجود دارد و از آنجا که این مسأله رکنی مهم در روش کلید طبقه بندی Thompson و همکاران (۱۹۹۷) است، لذا روش مزبور به عنوان بهترین شیوه برای برآورد طول عمر بذر و تعیین درجه ماندگاری

بانک بذر خاک معرفی شده است. البته، از معایب روش طبقه بندی عمقی بانک بذر خاک می توان به عبور بذور از شکاف های موجود در خاک جنگل به هنگام دوره خشکی (فصل تابستان) اشاره کرد که در این حالت تعدادی از بذور به لایه های پایین نفوذ کرده، در طبقه بندی عمقی در گروه بانک بذر دایمی طبقه بندی می شوند. این در حالی است که ممکن است درجه ماندگاری آنها در داخل خاک کمتر از یک سال باشد. از دیگر مشکلاتی که کاربرد روش طبقه بندی عمقی را در برخی از رویشگاه های هیرکانی با مشکل رو به رو می کند سنگلاخی بودن رویشگاه و عدم توانایی استخراج نمونه های خاک در عمق دوم و یا تفکیک نمونه های خاک در دو عمق مشخص خاک است. چنین حالتی در عرصه های جنگلی کوهستانی پُرسیب شمال و در جنگل با خاک کم عمق و سنگلاخی نظیر توده شمشادی جنگل سی سنگان قابل مشاهده است (Baseri, 2012). نتایج پژوهش حاضر بر اساس جدول های توافقی و معیار کاپا نشان داد که میزان انطباق نتایج روش طبقه بندی SAI با نتایج روش طبقه بندی عمقی ۸۴/۵ درصد است. بنابراین، نتیجه گیری می شود که روش طبقه بندی SAI می تواند روشی کارآمد برای طبقه بندی بانک بذر خاک رویشگاه های جنگلی باشد به ویژه هنگامی که کاربرد روش توزیع عمودی با محدودیت همراه باشد. نتایج تحلیل همبستگی اسپیرمن، میزان همبستگی بین مقادیر عددی شاخص SAI با نتایج طبقه بندی عمقی را ۸۵ درصد ارزیابی کرد که بر ارتباط نسبتاً بالای دو روش توزیع عمقی و SAI دلالت می کند. بررسی انطباق نتایج دو روش طبقه بندی SAI و کلید طبقه بندی

Thompson و همکاران (۱۹۹۷) نشان می‌دهد که از تعداد ۸۳ گونه موجود در منطقه (مجموع ترکیب پوشش گیاهی رو زمینی و بانک بذر خاک) نتایج این دو روش تنها در مورد ۶ گونه: *Carex remota*, *Pteridium aquilinum*, *Cynodon dactylon*, *Stellaria media* و *Viola alba* با یکدیگر تطابق ندارند. مرور منابع در خصوص ماندگاری بانک بذر خاک این ۶ گونه حاکی از آن است که روش SAI پایداری بانک بذر خاک گونه‌های *Stellaria media*, *Pteridium aquilinum* و *Viola alba* را به درستی ارزیابی کرده است و این در حالی است که در روش طبقه‌بندی توزیع عمقی (کلید طبقه‌بندی) Thompson و همکاران (۱۹۹۷) فقط درجه ماندگاری بانک بذر خاک یا به اصطلاح بانک هاگ خاک (که در مورد سرخس‌ها کاربرد دارد) گونه *Pteris cretica* را به درستی ارزیابی می‌کند (Bossuyt and Thompson et al., 1998; Hermý, 2003; Bossuyt and Honnay, 2008; Asadi et al., 2012; Esmailzadeh et al., 2011). به طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که اولاً طبقه‌بندی SAI در تعیین درجه ماندگاری بانک بذر خاک

انطباق نسبتاً بالایی با روش توزیع عمقی طبقه‌بندی بانک بذر خاک موسوم به روش طبقه‌بندی Thompson و همکاران (۱۹۹۷) دارد و ثانیاً در مواردی که نتایج دو روش طبقه‌بندی با یکدیگر همخوانی نداشته است، بر اساس نتایج دیگر پژوهشگران مشخص گردید که دقت نتایج روش طبقه‌بندی SAI در سطح بالاتری نسبت به روش طبقه‌بندی توزیع عمقی بانک بذر خاک یا روش کلید طبقه‌بندی بانک بذر خاک Thompson و همکاران (۱۹۹۷) قرار دارد. بر اساس واقعیت موجود (نتایج سایر پژوهشگران) حاکی از آن است که دقت نتایج روش طبقه‌بندی SAI نسبت به روش طبقه‌بندی توزیع عمقی بانک بذر خاک یا الگوی کلید طبقه‌بندی بانک بذر خاک Thompson و همکاران (۱۹۹۷) بیشتر است. پس، می‌توان اذعان داشت که طبقه‌بندی بانک بذر خاک بر اساس SAI روشی کارآمد و کاربردی برای طبقه‌بندی بانک بذر خاک رویشگاه‌های جنگلی است. البته این بدان مفهوم نیست که روش طبقه‌بندی بانک بذر خاک بر اساس الگوی SAI جایگزین روش طبقه‌بندی توزیع عمقی Thompson و همکاران (۱۹۹۷) باشد.

منابع

- Asadi, H., Hosseini, S. M., Esmailzadeh, O. and Baskin, C. C. (2012) Persistent soil seed banks in old-growth Hyrcanian Box tree (*Buxus hyrcana*) stands in northern Iran. *Ecological Research* 27: 23-33.
- Asri, Y. (2005) *Phytosociology*. Payame Noor University Press, Tehran, Iran (in Persian).
- Assadi, M., Maassoumi, A. A., Khatamsaz, M., and Mozaffarian, V. (1988-2001) *Flora of Iran*. vols. 1-38. Forests and Rangelands Research Institute Press, Tehran, Iran (in Persian).
- Barzehkar, Gh. (1995) *Flora and plant communities with their distribution according to ecological properties in Noor Forest Park*. MSc thesis, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (in Persian).
- Baseri, F. (2012) *Assessment of soil seed bank in pure and mixed stand the Sisangan Box Tree (*Buxus hyrcana* Pojark) forest reserve*. MSc thesis, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (in Persian).

- Baskin, C. C. and Baskin, J. M. (1998) Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego.
- Bekker, J. P. and Berendse, F. (1999) Constraints in the restoration of ecological diversity in grassland and heathland communities. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 63-68.
- Bekker, R. M., Bekker, J. P., Grandinf, U., Kalamees, R., Milberg, P., Poschlod, P., Thompson, K. and Willems, H. (1998) Seed size, shape and vertical distribution in the soil: indicators of seed longevity. *Functional Ecology* 12: 834-842.
- Bossuyt, B. and Hermy, M. (2003) The potential of soil seed bank in the ecological restoration of grassland and heathland communities. *Belgian Journal of Botany* 136(1): 23-34.
- Bossuyt, B. and Honnay, O. (2008) Can the seed bank be used for ecological restoration? An overview of seed bank characteristic in European communities. *Journal of Vegetation Science* 19: 875-884.
- Bossuyt, B., Heyn, M. and Hermy, M. (2002) Seed bank and vegetation composition of forest stands of varying age in central Belgium: consequences for regeneration of ancient forest vegetation. *Plant Ecology* 162: 33-48.
- Dolle, M. and Schmidt, W. (2009) The relationship between soil seed bank, above-ground vegetation and disturbance intensity on old-field successional permanent plots. *Applied Vegetation Science* 12: 415-428.
- Erfanzadeh, R., Hendrickx, F., Maelfait, J. P. and Hoffmann, M. (2010) The effect of successional stage and salinity on the vertical distribution of seeds in salt marsh soils. *Flora* 205: 442-448.
- Erfanzadeh, R., Hosseini Kahnuij, S. H. and Dianati Tilaki, G. A. (2012) Comparison of soil seed bank characteristics between grazed and ungrazed areas in two different depths. *Arid Biome and Research Journal* 1(4): 64-73 (in Persian).
- Esmailzadeh, O., Hosseini, M., Mesdaghi, M., Tabari, M. and Mohammadi, J. (2010a) Can soil seed bank floristic data describe above ground vegetation plant communities? *Environmental Sciences* 7(2): 41-62 (in Persian).
- Esmailzadeh, O., Hosseini, M., Mesdaghi, M., Tabari, M. and Mohammadi, J. (2010b) Persistent soil seed bank study of Darkola Oriental Beech (*Fagus orientalis* Lipsky) Forest. *Journal of Forest and Wood Products (JFWP), Iranian Journal of Natural Resources* 63(2): 117-135 (in Persian).
- Esmailzadeh, O., Hosseini, S. M., Tabari, K. M., Baskin, C. C. and Asadi, H. (2011) Persistent soil seed banks and floristic diversity in *Fagus orientalis* forest communities in the Hyrcanian vegetation region of Iran. *Flora* 206(4): 365-372.
- Fenner, M. and Thompson, K. (2005) The ecology of seeds. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ghahraman, A. (1975-2000) Colored flora of Iran. vols. 1-22. Forests and Rangelands Research Institute Press, Tehran, Iran (in Persian).
- Holzel, N. and Otte, A. (2004) Assessing soil seed bank persistence in flood-meadows: The search for reliable traits. *Journal of Vegetation Science* 15: 93-100.
- Jalili, A., Hamzeh'ee, B., Asri, Y., Shirvany, A., Yazdani, Sh., Khoshnevis, M., Zarrinkamar, F., Ghahramani, M. A., Safavi, R., Shaw, S., Hodgson, J. G., Thompson, K., Akbarzadeh, M. and Pakparva, M. (2003) Soil seed banks in the Arasbaran protected area of Iran and their significance for conservation management. *Biological Conservation* 109: 425-431.
- Kent, M. and Coker, P. (1994) Vegetation description and analysis, a practical approach. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Leck, M. A., Parker, V. T. and Simpson, R. L. (1989) Ecology of soil seed banks. Academic Press, San

- Diego.
- Mozaffarian, V. (2005) Trees and shrubs of Iran. Farhang Moaser Publishers, Tehran, Iran (in Persian).
- Rechinger, K. H. (Ed.) (1963-2010) Flora Iranica, vols. 1-174. Akademische Druck-und Verlagsanstalt, Graz, vols. 175-178, Naturhistorisches Museum, Wien.
- Roovers, P., Bossuyt, B., Brecht, I. and Hermy, M. (2006) May seed banks contribute to vegetation on paths in temperate deciduous forest? *Plant Ecology* 187: 25-38.
- Stockline, J. and Fischer, M. (1999) Plant with longer-lived seeds have lower local extinction rates in grassland remnants 1950-1985. *Oekologia* 120: 539-543.
- Templeton, A. R. and Levin, D. A. (1979) Evolutionary consequences of seed pools. *American Naturalist* 114: 232-249.
- Thompson, K. (1993) Seed persistence in soil. Chapman & Hall, London.
- Thompson, K. and Grime, J. P. (1979) Seasonal variation in the seed bank of herbaceous species in ten contrasting habitats. *Journal of Ecology* 67: 893-921.
- Thompson, K., Bakker, J. P. and Bakker, R. M. (1997) The soil seed banks of North West Europe, methodology, density and longevity. Cambridge University Press, Cambridge.
- Thompson, K., Bakker, J. P., Bekker, R. M. and Hodgson, J. G. (1998) Ecological correlates of seed persistence in soil in the NW European flora. *Journal of Ecology* 86: 163-169.
- Thompson, K., Ceriani, R. M., Bakker, J. P. and Bekker, R. M. (2003) Are seed dormancy and persistence in soil related? *Seed Science Research* 13: 97-100.
- Thompson, K., Jalili, A., Hodgson, J. G., Hamzeh'ee, B., Asri, Y., Shaw, S., Shirvany, A., Yazdani, Sh., Khoshnevis, M., Zarrinkamar, F., Ghahramani, M. A. and Safavi, R. (2001) Seed size, shape and persistence in the soil in an Iranian flora. *Seed Science Research* 11: 345-355.
- Wellstein, C., Otte, A. and Waldhardt, R. (2007) Seed bank diversity in mesic grasslands in relation to vegetation type, management and site conditions. *Journal of Vegetation Science* 18: 153-162.
- Zobel, M., Kalamees, R., Pussa, K., Roosalu, E. and Moora, M. (2007) Soil seed bank and vegetation in mixed coniferous forest stand with different disturbance regimes. *Forest Ecology and Management* 250: 71-76.

استفاده از نشانگرهای اینترون-اگزون برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در دو زیرگونه آویشن دنايي (*Thymus daenensis*)

احمد اسماعیلی^{۱*}، فرزانه مجیری^۱ و سیده زهرا حسینی^۲

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران

چکیده

مطالعه تنوع ژنتیکی در گیاهان دارویی از اهداف مهم اصلاحی و تکاملی است. در بررسی حاضر، تنوع ژنتیکی دو زیرگونه آویشن دنايي با استفاده از آغازگرهای نیمه تصادفی اینترون-اگزون مطالعه شد. از ۳۰ آغازگر استفاده شده، ۹۸ درصد چندشکلی از ۶۳۳ نوار تکثیر شده، ایجاد شد. بیشترین محتوای اطلاعات چندشکلی را آغازگرهای ISJ₅ و ISJ₉ و کمترین مقدار را IT₁₅₋₃₂ به خود اختصاص داد. بیشترین شاخص نشانگر را آغازگر IT₁₀₋₆ ایجاد کرد. تجزیه واریانس مولکولی بیانگر تنوع در خور توجه درون دو زیرگونه آویشن دنايي نسبت به تنوع بین آنها بود. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای با روش UPGMA و ضریب تشابه دایس با نرم افزار NTSYS توده‌ها را به چهار گروه تقسیم کرد. بیشترین دامنه تشابه ژنتیکی بین دو توده از زیرگونه آویشن دنايي مشاهده شد. دو توده مربوط به استان‌های فارس و سمنان نیز هر کدام یک گروه جداگانه را تشکیل دادند. نتایج گروه‌بندی حاصل از داده‌های مولکولی با گروه‌بندی تجزیه مختصات اصلی مطابقت داشت. همچنین، گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای توانست تا حدودی دو زیرگونه آویشن دنايي را از یکدیگر تفکیک نماید. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که نشانگرهای اینترون-اگزون ابزار مؤثری در بررسی روابط خویشاوندی دو زیرگونه آویشن دنايي بوده است.

واژه‌های کلیدی: آویشن دنايي (*Thymus daenensis*)، تنوع ژنتیکی، چندشکلی

مقدمه

هستند که اغلب در غدد اپیدرمی اندام‌های هوایی ذخیره می‌شوند. آویشن (*Thymus* spp.) یکی از مهم ترین جنس‌های این خانواده در جهان است. اصلاح آویشن به دلیل تنوع ژنتیکی وسیع، دارا بودن گونه‌های فراوان و نبود موانع ژنتیکی در هیبریداسیون موفق بین

خانواده Lamiaceae (نعناعیان) یکی از مهم ترین تیره‌های گیاهی با پراکنش جهانی و نیازهای بوم‌شناختی بسیار متفاوت از اهمیت خاصی برخوردار است. اغلب نعناعیان تولید کننده ترپن‌ها و ترکیبات مفید دیگر

آنها، می تواند توسط روش های اصلاحی متداول مانند انتخاب به سادگی صورت پذیرد. یکی از گونه های انحصاری آویشن در ایران آویشن دنايي با نام علمی *Thymus daenensis* Celak. است. این گونه به صورت بوم زاد (endemic) در مناطق گسترده ای از ایران به ویژه در مناطق غربی و مرکزی رویش دارد. این گیاه دارای برگ های نیزه ای، تیپ رویشی ایستاده و ساقه چوبی است. دو ترکیب تیمول و کارواکربول از مهم ترین ترکیبات موجود در آویشن دنايي است (Alvandi, 1996). در مطالعه ای دیگر، میزان تیمول و کارواکربول در ترکیبات آویشن دنايي را به ترتیب ۷۳/۹ و ۶/۷ درصد به دست آمد (Sajjadi and Khatamsaz, 2003). این گیاه به صورت سنتی به عنوان ضد نفخ، هضم کننده غذا، ضد اسپاسم، ضد سرفه و خلط آور در درمان سرماخوردگی در ایران مصرف می شود (Zargari, 1990).

در علم اصلاح نباتات، آگاهی از میزان تنوع و فاصله ژنتیکی بین افراد، در انتخاب والدین مناسب برای تولید هیبریدهای برتر بسیار با اهمیت است، ضمن اینکه تنوع ژنتیکی از ارکان اصلی کشاورزی پایدار محسوب می شود (Kumar, 1999؛ Pullman and Sliper, 2001؛ Sharma et al., 2002). بررسی تنوع ژنتیکی با روش های متفاوتی امکان پذیر است که از میان این روش ها، نشانگرهای مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR, Polymerase Chain Reaction) روشی قدرتمند و مؤثر برای شناسایی چندشکلی DNA و بررسی تنوع ژنتیکی است. این نشانگرهای مولکولی وابسته به DNA تحت تأثیر شرایط محیطی قرار نمی گیرند و تعدادی از آنها را به راحتی می توان در کل ژنوم جستجو کرد (Chawla, 2003).

نشانگر کاملاً تصادفی (Random Amplified RAPD Polymorphic DNA) یکی از نشانگرهای مبتنی بر PCR است که در بررسی تنوع ژنتیکی بیشتر گونه های گیاهی استفاده شده است. اما تحلیل ژنتیکی گیاهان با ژنوم بزرگ و پیچیده با این نشانگر چندان مناسب نیست. به همین دلیل، نوعی از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر PCR توسط Weining و Langridge (۱۹۹۱) طراحی شد که به این نوع نشانگرها، نشانگرهای نیمه تصادفی (Intron-exon Splice Junction) ISJ می گویند. اطلاعات بیشتر از این نشانگرها توسط Rafalski و همکاران (۱۹۹۷) تکمیل شد. آغازگرهای ISJ دارای توالی های ۹ تا ۱۸ نوکلئوتیدی هستند که بر اساس نواحی برش اتصال اگزون-اینترون به دو گروه از آغازگرهای مکان هدف اگزون (ET: exon targeting) و مکان هدف اینترون (IT: intron targeting) تقسیم بندی می شوند. در آغازگرهای ET انتهای ۵ آغازگر اختصاصی است که با نواحی حفاظت شده ای از IT اتصال می یابند و نواحی اگزونی را تکثیر می کنند اما در آغازگرهای IT انتهای ۳ اختصاصی است و به نواحی حفاظت شده مرز بین اگزون-اینترون اتصال می یابند و اینترون ها را تکثیر می کنند (Rafalski et al., 1997؛ Gawel et al., 2002). بنابراین، آغازگرهای گروه IT در تکثیر قطعات از دقت و کارآیی بیشتری برخوردارند. در آغازگرهای ISJ بخش نخست بیانگر توالی های حفاظت شده اگزون-اینترون است، اما Przetakiewicz و همکاران (۲۰۰۲) و Nowosielski و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که بخش دوم این آغازگرها به صورت تصادفی طراحی می شوند، بدین صورت که آغازگرهای ۹ نوکلئوتیدی دارای یک باز، آغازگرهای ۱۰

Arithmetic Mean Analysis) و ضریب تشابه جاکارد، توده‌ها را در دو گروه قرار داد. گروه اول توده‌های جمع‌آوری شده از زاگرس مرکزی و گروه دوم توده‌های مربوط به دو دامنه شمال غربی و جنوب غربی زاگرس بود که به ترتیب Tc و Te نامیده شدند. نتایج نشان داد که تنوع و هتروزیگوسیتی مورد انتظار در گروه Tc بیشتر بود، بنابراین، مرکز پیدایش (center of origin) و مرکز تنوع (center of diversity) این گونه در زاگرس مرکزی معرفی شد. در مطالعه‌ای دیگر، Rustaii و همکاران (۲۰۰۹) به بررسی خصوصیات کمی ژرمپلاسم ۱۰ توده آویشن دناپی از غرب کشور در مرحله گل‌دهی کامل پرداختند. جمعیت‌های مطالعه شده پس از ترسیم دندروگرام به روش تجزیه خوشه‌ای با نرم‌افزار آماری SPSS در چهار گروه قرار گرفتند که دو جمعیت اراک و ملایر در یک گروه، جمعیت‌های همدان ۱ و لرستان در گروه دیگر و جمعیت‌های دنا و همدان ۲ به طور مجزا، هر یک در گروه‌های دیگری قرار گرفتند. اما دو جمعیت اراک و ملایر به دلیل شرایط مطلوب‌تر دارای خصوصیات رشدی بارزتری نسبت به سایرین بوده، از این جهت برای کارهای اصلاحی ترجیح داده می‌شوند. در پژوهشی دیگر، Ziaei Nasab و همکاران (۲۰۱۲) تنوع کاریوتیپی ۱۶ جمعیت از *T. daenensis* و *T. kotschyanus* را بررسی کردند. نتایج نشان داد که جمعیت‌های *T. kotschyanus* دارای سطوح پلوئیدی متفاوت دیپلوئید و تتراپلوئید و کاریوتیپ‌های متقارن اما جمعیت‌های آویشن دناپی فقط سطح پلوئیدی دیپلوئید و کاریوتیپ‌های نامتقارن داشتند. در مطالعه‌ای دیگر Mahdavi و Karimzadeh (۲۰۱۰) به بررسی تنوع کاریوتیپی و محتوای DNA هسته‌ای شش توده بوم‌زاد آویشن در ایران شامل: *T. daenensis*

نوکلئوتیدی دارای سه باز، آغازگرهای ۱۲ نوکلئوتیدی دارای پنج باز، آغازگرهای ۱۵ نوکلئوتیدی دارای هفت باز، آغازگرهای ۱۶ نوکلئوتیدی دارای ۹ باز و در آغازگرهای ۱۸ نوکلئوتیدی نیز ۹ باز از توالی آغازگرهای آنها به صورت تصادفی است. به همین دلیل به آنها آغازگرهای نیمه تصادفی می‌گویند. آغازگرهای ۱۰ نوکلئوتیدی ISJ از نظر دمای اتصال مشابه آغازگرهای RAPD بوده، می‌تواند در ترکیب با آنها استفاده شود.

بر اساس بررسی‌های پیشین، آغازگرهای ISJ روی گیاهانی مانند برنج توسط Hashemi-Petroudi و همکاران (۲۰۱۰)، گندم دوروم توسط Frahani و Arzani (۲۰۰۴)، شبدر ایرانی توسط Samiei و همکاران (۲۰۰۸) شده است. اما تاکنون مطالعه‌ای در مورد تنوع ژنتیکی گونه‌های آویشن با نشانگر ISJ در خارج و داخل کشور صورت نگرفته است. تنوع ژنتیکی آویشن گونه دناپی با نشانگرهای RAPD و ISSR شده است (Rahimmalek et al., 2009; Rustaii et al., 2009). همچنین، تنوع بوم‌شناختی، ریختاری، فیتوشیمیایی و شیمیوتایی این گونه به صورت جداگانه و یا همراه با چند گونه دیگر آویشن بررسی شده است که در زیر به چند نمونه از آنها اشاره شده است:

در پژوهشی، Rahimmalek و همکاران (۲۰۰۹) تنوع ژنتیکی و اختلافات جغرافیایی ۱۷ توده آویشن دناپی را که از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری شده بود با نشانگر ISSR بررسی کردند. ۱۵ آغازگر انتخاب شده از کل ۲۵۶ نوآر، ۲۲۸ نوآر چندشکل (۸۸/۹ درصد) تولید کرد. دندروگرام حاصل از روش (Unweighted Pair Group Method with UPGMA

تفکیک زیرگونه‌ای مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی شامل ۲۰ توده آویشن دناایی بود که از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در کرج تهیه شد. این توده‌ها از دو زیرگونه *T. daenensis* subs *daenensis* و *T. lancifolius* subs *daenensis* بودند که از استان‌های اصفهان، سمنان، فارس، قزوین، کردستان، لرستان و مرکزی جمع‌آوری شده بودند (جدول ۱).

جدول ۱- نام توده‌ها همراه با زیرگونه، منشأ جغرافیایی و کد هرباریومی آنها. خط تیره به معنای نامشخص بودن منشأ و کد هرباریومی است.

شماره توده‌ها	نوع زیرگونه	منشأ جغرافیایی	کد هرباریومی	شماره توده‌ها	نوع زیرگونه	منشأ جغرافیایی	کد هرباریومی
۱	<i>subs lancifolius</i>	مرکزی	۱۳۴۹۰	۱۱	<i>subs lancifolius</i>	اصفهان	۱۰۱۲۶
۲	<i>subs lancifolius</i>	مرکزی	۱۳۴۹۸	۱۲	<i>subs lancifolius</i>	لرستان	۷۵۰۷
۳	<i>subs lancifolius</i>	کردستان	۱۷۰۰۹	۱۳	<i>subs daenensis</i>	اصفهان	۱۸۲۰۹
۴	<i>subs lancifolius</i>	-	-	۱۴	<i>subs daenensis</i>	مرکزی	۱۵۶۵۶
۵	<i>subs daenensis</i>	قزوین	۲۰۰۸۸	۱۵	<i>subs daenensis</i>	لرستان	۱۴۲۴۵
۶	<i>subs daenensis</i>	لرستان	۱۱۱۰	۱۶	<i>subs daenensis</i>	لرستان	۱۴۲۶۹
۷	<i>subs lancifolius</i>	فارس	۶۳۷۸	۱۷	<i>subs daenensis</i>	سمنان	۱۳۶۲۵
۸	<i>subs daenensis</i>	اصفهان	۱۰۱۲۲	۱۸	<i>subs daenensis</i>	اصفهان	۱۴۰۷۷
۹	<i>subs lancifolius</i>	لرستان	۹۱۸۲	۱۹	<i>subs lancifolius</i>	مرکزی	۱۳۵۰۰
۱۰	<i>subs lancifolius</i>	کردستان	۴۵۸۵	۲۰	<i>subs daenensis</i>	مرکزی	۱۳۶۱۱

T. migricus و *T. eriocalyx* دو سطح پلوییدی دیپلوئید و تتراپلوئید و سه تعداد کروموزوم (۳۰، ۵۶ و ۶۰) را شناسایی کردند. با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در مورد تنوع ژنتیکی با روش‌های مولکولی DNA در دو زیرگونه آویشن دناایی انجام نشده است، در این تحقیق به بررسی تنوع ژنتیکی دو زیرگونه آویشن دناایی با نشانگرهای اینترون-گزون برای نخستین بار پرداخته شده است تا هم وضعیت این دو زیرگونه نسبت به همدیگر مشخص شود و هم اینکه کارایی این نشانگر در

در ابتدا، برای استخراج DNA ژنومی، روش‌های مختلف استخراج DNA از برگ‌های جوان آویشن آزمایش شد و سرانجام Mojiri و همکاران (۲۰۱۰) روش استخراج Khanuja و همکاران (۱۹۹۹) با اندکی تغییر را مناسب‌ترین روش استخراج تشخیص دادند. برای تعیین کمی و کیفیت DNA استخراج شده، از روش اسپکتروفتومتری (بیوفتومتر مدل ایندورف) استفاده شد. برای بررسی کیفیت با این روش نمونه‌هایی که جذب آنها بین ۱/۸-۲ بود انتخاب شدند. همچنین،

برای بررسی بیشتر کیفیت DNA استخراج شده و بررسی عدم شکستگی (smear) مولکول، نمونه‌ها بر روی ژل آگاروز ۰/۸ درصد با بافر TAE 1X و ولتاژ ۹۰ ولت الکتروفورز شدند. در نهایت، غلظت DNAهای مناسب برای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر رسید. واکنش PCR در حجم ۱۵ میکرولیتر برای تمامی نمونه‌ها بهینه شد. مواد واکنش PCR شامل: ۴/۵ میکرولیتر DNA با غلظت ۱۰ نانوگرم در هر میکرولیتر، ۰/۷۵ میکرولیتر آغازگر با غلظت ۰/۵

(جدول ۲). حروف پُر رنگ توالی آغازگرها بیانگر توالی‌های حفاظت شده اگزون-اینترون است اما بخش دوم این آغازگرها تصادفی طراحی می‌شوند. برای تحلیل نوارها، بر مبنای وجود و عدم وجود نوار به ترتیب کد یک و صفر به آنها اختصاص داده شد. برای ترسیم دندروگرام به روش تجزیه خوشه‌ای از نرم‌افزار NTSYS-pc استفاده شد. تجزیه مختصات اصلی (PCA, Principal Coordinate Analysis) نیز برای برای توصیف بهتر روابط ژنتیکی بین و درون زیرگونه‌های آویشن دناپی با نرم‌افزار GenAlex استفاده شد. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA: Analysis of Molecular Variance) برتی تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین زیرگونه‌ها با نرم‌افزار GenAlex نسخه ۶/۴ انجام شد. با این تحلیل، اجزای واریانس محاسبه و سهم هر یک از آنها در تنوع کل تعیین می‌شود. میزان اطلاعات چندشکلی (PIC: Polymorphic Index Content) و شاخص نشانگر (MI: Marker Index) با فرمول $PIC = \sum [2p_i(1-p_i)]$ محاسبه شد که p_i فراوانی نوار i ام است (Thimmappaiah *et al.*, 2008). شاخص نشانگر از حاصل ضرب محتوای اطلاعات چندشکلی برای هر آغازگر در تعداد کل نوارها برای هر آغازگر و درصد چندشکلی هر آغازگر به دست می‌آید. شاخص نشانگر علاوه بر مزایای PIC، تعداد کل نوارها و نسبت چندشکلی را نیز در نظر گرفته، پتانسیل هر آغازگر برای تولید نوار بیشتر را نشان می‌دهد (Anderson *et al.*, 1993؛ Powell *et al.*, 1996).

نتایج

در پژوهش حاضر، آغازگرهای به کار رفته درصد چندشکلی بالایی (۹۸ درصد) را نشان دادند.

میکرومولار، ۷ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر و ۲/۷۵ میکرولیتر کیت PCR بود. برنامه دستگاه PCR به علت اختصاصی بودن قسمتی از توالی آغازگرهای ISJ (Weining and Henry, 1995؛ Rafalski *et al.*, 1997؛ Przetakiewicz *et al.*, 2002) در دو چرخه دمایی مطابق با روش Przetakiewicz و همکاران (۲۰۰۲) در دستگاه ترموسایکلر مدل اپندورف انجام شد. ابتدا، به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتیگراد عمل تک رشته‌ای شدن اولیه (denaturation) انجام شد. سپس در هفت چرخه اولیه، دمای اتصال آغازگر دو درجه سانتیگراد و در ۳۳ چرخه بعدی شش درجه سانتیگراد بالاتر از دمای ذوب آغازگر در نظر گرفته شد. در تمامی چرخه‌ها، تک رشته‌ای شدن به مدت ۴۰ ثانیه و در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، اتصال آغازگر به مدت یک دقیقه و مرحله سنتز به مدت دو دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد صورت گرفت. برای اطمینان از سنتز کامل تمامی رشته‌ها پس از انجام ۴۰ چرخه، یک مرحله ۱۰ دقیقه‌ای با دمای ۷۲ درجه سانتیگراد اضافه گردید که باعث تکثیر نهایی رشته‌های DNA گردید. سرانجام، نمونه‌های DNA از دستگاه خارج شد. برای بررسی محصولات تکثیر شده PCR، نمونه‌ها بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد با بافر TAE 1X و ولتاژ ۹۰ ولت به مدت ۹۰ دقیقه در دستگاه الکتروفورز بارگذاری شدند. برای تعیین حدود اندازه نوارها روی ژل، از اندازه نشانگر ۱۰۰ جفت باز و یک کیلو باز در هر دو طرف ژل استفاده شد. برای مشاهده نوارها عکس‌برداری زیر نور UV به وسیله دستگاه ژلداک مدل UviTech صورت گرفت.

در این پژوهش، از ۳۰ آغازگر ISJ استفاده شد که آغازگرهای شماره‌های ۱ تا ۱۶ آغازگر IT و آغازگرهای شماره‌های ۱۷ تا ۳۰ آغازگرهای ET بودند

به بیان دیگر، از مجموع نوارهای تولید شده به وسیله ۳۰ آغازگر، ۶۱۹ نوار چندشکل و ۱۴ نوار تک شکل بودند. از بین آغازگرهای استفاده شده، آغازگر ET₁₂₋₃₀ و ET₁₈₋₆ به ترتیب بیشترین و کمترین درصد چندشکلی را تشکیل دادند. متوسط تعداد کل نوارها به ازای هر آغازگر ۲۱/۱ عدد و برای هر توده ۳۱/۶۵ عدد بود. همچنین، بیشترین

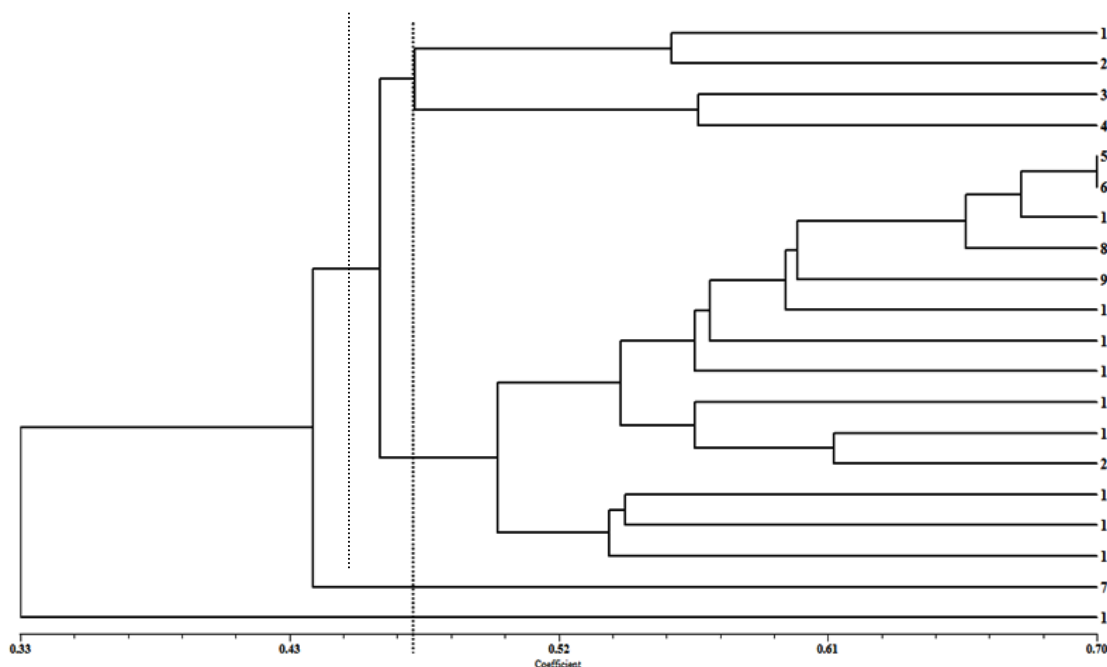
میزان اطلاعات چندشکلی را آغازگرهای ISJ₅ و ISJ₉ و کمترین مقدار را IT₁₅₋₃₂ تشکیل داد. شاخص نشانگر شاخصی است که پتانسیل آغازگر را جهت تولید بیشترین نوار نشان می‌دهد که آغازگرهای IT₁₀₋₆ و ET₁₈₋₆ به ترتیب بیشترین و کمترین شاخص نشانگر (MI) را به خود اختصاص دادند (جدول ۲).

جدول ۲- مشخصات آغازگرها از نظر توالی، تعداد کل نوارها، نوارهای چندشکل، درصد چندشکلی و دیگر شاخص‌های تفکیک (حروف پُر رنگ توالی‌ها بیانگر توالی‌های حفاظت شده اگزون-اینترون است).

ردیف	نام آغازگرها	توالی آغازگرها (۵'-۳')	کل نوارها	نوارهای چندشکل	درصد چندشکلی	میزان اطلاعات چندشکلی	شاخص نشانگر
۱	ISJ ₁ (IT)	CAGACCTGC	۲۰	۲۰	۱۰۰	۰/۳۵	۷/۰
۲	IT ₁₀₋₁	ACGTCCAGAC	۲۲	۲۲	۱۰۰	۰/۳۴	۷/۴۸
۳	IT ₁₀₋₂	ACGTCCAGGT	۲۲	۲۱	۹۵	۰/۳۲	۶/۷۲
۴	IT ₁₀₋₃	ACGTCCAGCA	۲۲	۲۱	۹۵	۰/۳۶	۷/۵۶
۵	IT ₁₀₋₄	ACGTCCACCA	۱۸	۱۷	۹۴	۰/۳۲	۵/۴۴
۶	IT ₁₀₋₅	ACGTCCAGAG	۱۸	۱۷	۹۴	۰/۳۲	۵/۴۴
۷	IT ₁₀₋₆	ACGTCCATCC	۲۳	۲۳	۱۰۰	۰/۳۹	۹/۰
۸	IT ₁₅₋₃₁	GAAGCCGCAGGTAAG	۱۸	۱۷	۹۴	۰/۳۴	۵/۷۸
۹	IT ₁₅₋₃₂	GACTCGCCAGGTAAG	۲۲	۲۲	۱۰۰	۰/۲۴	۵/۲۸
۱۰	IT ₁₅₋₃₄	GCGGCATCAGGTAAG	۲۳	۲۳	۱۰۰	۰/۳۲	۷/۳۶
۱۱	IT ₁₅₋₃₅	CGAAGCCCAGGTAAG	۱۷	۱۷	۱۰۰	۰/۳۳	۵/۶۱
۱۲	IT ₁₅₋₃₆	ACCTACCTGGGGCTC	۲۱	۲۱	۱۰۰	۰/۳۸	۸/۰
۱۳	ISJ ₅ (IT)	CAGGGTCCACCTGCA	۲۲	۲۲	۱۰۰	۰/۴۰	۸/۸
۱۴	ISJ ₉ (IT)	AGGTGACCGACCTGCA	۱۶	۱۵	۹۴	۰/۴۰	۶/۰
۱۵	IT ₁₈₋₁	CCGGCAGGTCAGGTAAGT	۲۴	۲۴	۱۰۰	۰/۳۲	۷/۶۸
۱۶	IT ₁₈₋₂	GCAGAGGGCCAGGTAAGT	۲۰	۲۰	۱۰۰	۰/۲۸	۵/۶
۱۷	ISJ ₃ (ET)	TGCAGGTCA	۲۲	۲۲	۱۰۰	۰/۳۵	۷/۷
۱۸	ET ₁₂₋₂₅	AGCAGGTGACTG	۲۳	۲۲	۹۶	۰/۲۹	۶/۳۸
۱۹	ET ₁₂₋₂₆	AGCAGGTGGACT	۲۱	۱۹	۹۰	۰/۳۷	۷/۰۳
۲۰	ET ₁₂₋₂₇	AGCAGGTCCTAG	۲۵	۲۵	۱۰۰	۰/۳۴	۸/۵۰
۲۱	ET ₁₂₋₂₈	AGCAGGTCCAAG	۲۱	۱۹	۹۰	۰/۳۶	۶/۸۴
۲۲	ET ₁₂₋₂₉	AGCAGGTCGTGA	۲۱	۲۰	۹۵	۰/۳۵	۷/۰
۲۳	ET ₁₂₋₃₀	AGCAGGTGGTAC	۲۶	۲۶	۱۰۰	۰/۳۴	۸/۸۴
۲۴	ET ₁₅₋₃₁	ACTTACCTGGGCCAG	۱۷	۱۷	۱۰۰	۰/۳۵	۵/۹۵
۲۵	ET ₁₅₋₃₂	ACTTACCTGGGCCACG	۲۶	۲۵	۹۶	۰/۲۹	۷/۲۵
۲۶	ET ₁₅₋₃₃	ACTTACCTGGCCGTG	۲۴	۲۴	۱۰۰	۰/۳۶	۸/۶۴
۲۷	ET ₁₅₋₃₄	ACTTACCTGGCCGAG	۲۳	۲۳	۱۰۰	۰/۳۲	۷/۳۶
۲۸	ET ₁₅₋₃₅	ACTTACCTGCCGAG	۲۰	۲۰	۱۰۰	۰/۳۴	۶/۸
۲۹	ET ₁₅₋₃₆	ACTTACCTGGGGCTC	۲۱	۲۱	۱۰۰	۰/۳۲	۶/۷۲
۳۰	ET ₁₈₋₆	ACTTACCTGCCTACGCGG	۱۵	۱۴	۹۳	۰/۲۷	۳/۷۸
میانگین			۲۱/۱	۲۰/۶۳	۹۸	۰/۳۴	۶/۹۱

در این پژوهش، بر اساس داده‌های حاصل از
UPGMA و ماتریس تشابه دایس با نرم‌افزار
NTSYS-pc ترسیم شد (شکل ۱).

نشانگر ISJ دندروگرام تجزیه خوشه‌ای به روش

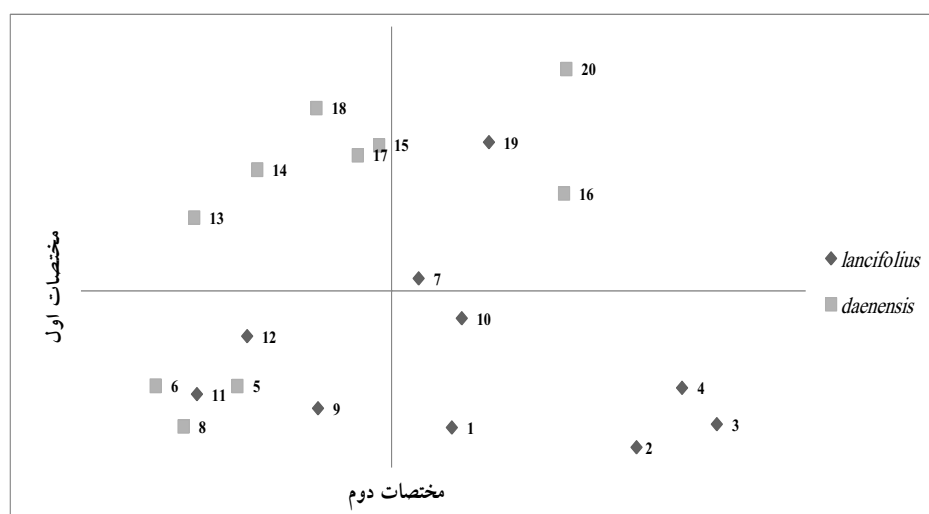


شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای دو زیرگونه آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) بر اساس روش UPGMA به کمک آغازگرهای نیمه تصادفی ISJ با نرم‌افزار NTSYS-pc.

نتایج حاصل از گروه‌بندی با روش UPGMA و ضریب تشابه دایس، جمعیت‌های آویشن دناپی را به چهار گروه تقسیم کرد. گروه اول بیشترین توده از هر دو زیرگونه آویشن دناپی را به خود اختصاص داد. در گروه دوم چهار توده آویشن دناپی *T. daenensis* subs *lancifolius* قرار داشت. گروه سوم آویشن دناپی *T. daenensis* subs *daenensis* گروه چهارم آویشن دناپی *T. daenensis* subs *daenensis* از استان سمنان را تشکیل داد. بیشترین شباهت (۷۰ درصد) بین دو توده *T. daenensis* subs *daenensis* (شماره‌های ۵ و ۶) از قزوین و لرستان دیده شد. نتایج گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای با منشأ جغرافیایی تا حدود قابل توجهی مطابقت داشت. تجزیه مختصات اصلی (Principal Coordinate Analysis) حالت تعمیم یافته‌ای از تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA) است که در آن از شباهت بین افراد استفاده می‌کند. هدف از این تجزیه ساخت پلات‌های گرافیکی با ابعاد کمتر از داده‌ها است. بنابراین، هر ژنوتیپ توسط نقطه‌ای در فضای اقلیدسی نمایش داده می‌شود و ژنوتیپ‌هایی که شباهت بیشتری به یکدیگر دارند نزدیک یکدیگر قرار می‌گیرند (Farshadfar, 1997). نتایج نشان داد که دو مختصات اول ۶۰/۲۴ درصد از واریانس کل را بیان کردند که سهم هر کدام به ترتیب ۳۶/۵۱ و ۲۳/۷۳ درصد بود. آرایش تجمعی توده‌های آویشن دناپی در شکل ۲ نشان داده شده است. در این بررسی، نتایج گروه‌بندی تجزیه مختصات اصلی گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای را تأیید کرد و به خوبی توانست دو زیرگونه آویشن دناپی را از هم تفکیک نماید (شکل ۲).

نتایج حاصل از گروه‌بندی با روش UPGMA و ضریب تشابه دایس، جمعیت‌های آویشن دناپی را به چهار گروه تقسیم کرد. گروه اول بیشترین توده از هر دو زیرگونه آویشن دناپی را به خود اختصاص داد. در گروه دوم چهار توده آویشن دناپی *T. daenensis* subs *lancifolius* قرار داشت. گروه سوم آویشن دناپی *T. daenensis* subs *daenensis* گروه چهارم آویشن دناپی *T. daenensis* subs *daenensis* از استان سمنان را تشکیل داد. بیشترین شباهت (۷۰ درصد) بین دو توده *T. daenensis* subs *daenensis* (شماره‌های ۵ و ۶) از قزوین و لرستان دیده شد. نتایج گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای با منشأ جغرافیایی تا حدود قابل توجهی مطابقت داشت.

تجزیه مختصات اصلی (Principal Coordinate



شکل ۲- نمودار دو بعدی تجزیه مختصات اصلی توده‌های آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) بر اساس نشانگرهای ISJ به کمک نرم‌افزار GenAlex. اعداد ۱ تا ۲۰ شماره توده‌های آویشن دناپی مطابق با جدول ۱ است.

جدول ۳- تجزیه واریانس مولکولی دو زیرگونه آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) با نرم‌افزار GenAlex، *: معنی دار در سطح ۵ درصد ($P=0.036$).

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	اجزای واریانس	درصد واریانس
بین زیرگونه‌ها	۱	۱۴۷/۲۰۰	۴/۰۱۰*	۴
درون زیرگونه‌ها	۱۸	۱۰۷/۱۰۰	۱۰۷/۱۰۰*	۹۶
کل	۱۹	-	۱۱۱/۱۱۰	۱۰۰

نتیجه‌گیری و بحث

در پژوهش حاضر، برای نخستین بار تنوع ژنتیکی دو زیرگونه آویشن دناپی با نشانگرهای اینترون-اگزون بررسی شد. این نشانگرها به خوبی توانستند ۲۰ توده آویشن دناپی را به دو زیرگونه تقسیم کنند. نتایج تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و ضریب تشابه دایس نشان داد که بیشترین شباهت ژنتیکی (۷۰ درصد تشابه) بین دو توده آویشن از استان‌های قزوین و لرستان

Schaut و همکاران (۱۹۹۷) از تجزیه مختصات اصلی با استفاده از داده‌های به دست آمده از نشانگر AFLP نشان دادند که این تجزیه، اطلاعات حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تأیید می‌کند و به خوبی می‌تواند ارقام دو ردیفه و شش ردیفه جو را از همدیگر به صورت گرافیکی متمایز نماید.

نتایج تجزیه واریانس مولکولی بیانگر تنوع قابل توجه درون دو زیرگونه آویشن دناپی نسبت به بین زیرگونه‌ها بود. علت را شاید بتوان به عوامل مؤثر در تغییرات ژنتیکی نظیر جهش، مهاجرت ژن یا ژنوتیپ در اثر عوامل مختلف نسبت داد. نتایج اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بین اجزای واریانس نشان داد (جدول ۳).

همچنین، با استفاده از نرم‌افزار GenAlex مشخص شد که بیشترین درصد چندشکلی را *T. daenensis* subs *lancifolius* با ۹۰/۶۳ درصد نسبت به *T. daenensis* subs *daenensis* با ۸۴/۶۵ درصد به خود اختصاص داد.

بوده است که علت را می‌توان در یکسان بودن نوع زیرگونه (*T. daenensis* subs *daenensis*) دانست. جدا بودن دو توده آویشن دناپی استان‌های فارس و سمنان هر کدام در یک گروه جداگانه و دور از سایر گروه‌ها را می‌توان به این علت دانست که مرکز پیدایش و تنوع آویشن دناپی بیشتر در مرکز و غرب ایران است که استان‌های فارس و سمنان را در بر نمی‌گیرد. متفاوت بودن شرایط اقلیمی این دو استان نسبت به سایر استان‌ها با شرایط سردسیری (اصفهان، قزوین، کردستان، لرستان و مرکزی) دلیل دیگری می‌تواند باشد. بنابراین، با اینکه همگی توده‌ها از یک گونه آویشن بوده‌اند اما متناسب با شرایط آب و هوایی از هم تفکیک شده‌اند. بیشترین تعداد توده‌های آویشن در یک گروه دندروگرام قرار گرفته‌اند که از هر دو زیرگونه آویشن دناپی هستند و شامل نمونه‌های استان‌های سردسیری هستند. به بیان دیگر، نشانگرهای اینترون-اگزون توانسته‌اند تا حدودی توده‌ها را از نظر منشأ جغرافیایی تفکیک کنند. این مسأله نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی توده‌های آویشن دناپی تا حدودی تابع الگوی پراکنش جغرافیایی است. قرار گرفتن توده‌های آویشن استان مرکزی در دو گروه متفاوت دندروگرام بیانگر تنوع ژنتیکی بالا در استان محل جمع‌آوری است که می‌توان این طور بیان کرد که در گروه‌بندی آنها اولویت بیشتر بر اساس نوع زیرگونه بوده است تا منشأ جغرافیایی.

در این مطالعه، آغازگرهای استفاده شده چندشکلی بالایی (۹۸ درصد چندشکلی) را در بین توده‌های آویشن دناپی از خود نشان دادند که این از مزایای آغازگرهای ISJ به کار رفته است. تعداد نوار چندشکل به ازای هر آغازگر ۲۰/۶۳ عدد بود. Nowosielski و

همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه‌ای بر روی تنوع ژنتیکی ارقام لوییا با استفاده از آغازگرهای نیمه تصادفی، متوسط تعداد نوار به ازای هر ژنوتیپ را ۱۱/۵ عدد گزارش کردند. Rafalski و همکاران (۲۰۰۲) متوسط تعداد نوار تولید شده به ازای هر یک از ژنوتیپ‌های چاودار را ۸/۹ عدد برآورد نمودند. در مطالعه‌ای دیگر، Gawel و همکاران (۲۰۰۲) نیز میانگین تعداد قطعات تکثیر شده به ازای هر یک از آغازگرهای نیمه تصادفی را ۱۴ عدد گزارش کردند. میزان اطلاعات چندشکلی یکی از شاخص‌های مهم برای مقایسه نشانگرهای مختلف از نظر قدرت تمایز به شمار می‌رود. مقادیر بالای آنها دلالت بر چندشکلی زیاد در یک جایگاه نشانگری دارد که در تفکیک و تمایز افراد نقش به سزایی دارد. بنابراین، نشانگرهایی با PIC بالا برای تمایز ژنوتیپ‌هایی با خویشاوندی نزدیک اهمیت بالایی دارند. نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که از میان آغازگرهای به کار رفته، آغازگر IT10-6 بیشترین شاخص نشانگر و به بیان دیگر، توان پتانسیل بالا برای تولید حداکثر نوار را داراست. میانگین میزان اطلاعات چندشکلی نیز ۰/۳۴ برآورد گردید که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی شایان توجهی در توده‌های آویشن دناپی است.

تجزیه مختصات اصلی ابزار دیگری برای نشان دادن نحوه پراکنش توده‌هاست که به عنوان روشی مکمل برای تجزیه خوشه‌ای به کار می‌رود. نتایج حاصل از این آزمون به خوبی توانست دو زیرگونه آویشن دناپی را از هم تفکیک کند. Melchinger (۱۹۹۳) گزارش کرد که در تجزیه مختصات اصلی زمانی که سه مؤلفه اول بیش از ۲۵ درصد از کل تغییرات را تبیین نمایند توصیف صحیحی از روابط موجود بین ژنوتیپ‌ها را ارائه می‌دهد. به طور کلی، فاصله جغرافیایی و جریان

RAPD استفاده شد. نتایج حاصل از آن روابط خویشاوندی ارقام گندم با دو منشأ بومی سیستان و غیربومی را به خوبی آشکار کرد (Bandani et al., 2005).

از آنجا که اجرای هر برنامه اصلاحی وابسته به وجود تنوع ژنتیکی بوده است بنابراین، انتخاب والدین مناسب در برنامه‌های تلاقی برای تولید هیبریدهایی با حداکثر هتروزیگوسیتی امری ضروری است. وقتی والدین از نظر ژنتیکی فاصله بیشتری از هم داشته باشند، به تعداد کمتری تلاقی برای دستیابی به بهترین جمعیت نیاز است و هتروزیس قویتری در نتایج ظاهر می‌شود. بنابراین، با اجرای تلاقی برای تولید ارقام مناسب با داشتن خصوصیات مورد نظر، از ارقامی که دارای بیشترین فاصله ژنتیکی و صفات مورد نظر باشند می‌توان استفاده نمود. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که می‌توان از آغازگرهای اینترون-گزون ISJ برای بررسی روابط خویشاوندی و انتخاب والدین مناسب در برنامه‌های تلاقی به منظور تولید هتروزیس استفاده نمود. هر چند به علت نیمه تصادفی بودن آغازگرهای ISJ نمی‌توان به طور دقیق از روی دندروگرام و فواصل حاصل از ماتریس تشابه در مورد والدین پیشنهادی برای تلاقی توده‌های آویشن نظر داد اما با توجه به تنوع ژنتیکی موجود و بیشترین فاصله ژنتیکی می‌توان با در نظر گرفتن صفات مطلوب به تلاقی دو توده (شماره‌های ۴ و ۷) که هر دو از زیرگونه *T. daenensis subs lancifolius* اشاره کرد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که نشانگرهای اینترونی-گزون ISJ روشی ارزشمند در ارزیابی تنوع ژنتیکی آویشن دنیایی است به گونه‌ای که آغازگرهای به کار رفته قادر به تفکیک دو زیرگونه آویشن دنیایی از

ژنی بین جمعیت‌ها تعیین کننده فاصله ژنتیکی توده‌هاست. آزمون دیگری به نام تجزیه واریانس مولکولی بر روی داده‌ها انجام شد که نتایج حاصل از آن بیانگر هتروزیگوتی بالایی بین افراد درون یک زیرگونه نسبت به تنوع بین دو زیرگونه بود. علت شباهت ژنتیکی زیاد بین دو زیرگونه آویشن به خاطر این است که هر دو به یک گونه آویشن متعلق هستند. در جمعیت‌های دگرگشن، هتروزیگوسیتی بالایی وجود دارد که این امر فرصتی برای سازگاری و تکامل در آن جمعیت ایجاد می‌کند، بنابراین، وجود تنوع درون چنین جمعیت‌هایی امری طبیعی است. چنین الگوی ساختار ژنتیکی در سایر گیاهان دگرگشن نیز تأیید شده است. Yavari و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیت‌های آویشن آذربایجانی با نشانگر RAPD بیان کردند که نتایج تجزیه واریانس مولکولی بیانگر تنوع بالای درون جمعیت‌ها است که علت را می‌توان به دگرگشتی و جریان ژنی بالا نسبت داد.

در پژوهش Dababneh (۲۰۰۷) بر روی تنوع ژنتیکی سه گونه آویشن با سه آغازگر RAPD انجام شد نشان داده شد که ارتباط خویشاوندی نزدیکتری بین دو گونه *T. boveii* Jo 856 و *T. vulgaris* Jo 276 نسبت به گونه *T. broussonetii* وجود دارد. داده‌های حاصل از نشانگر RAPD نشان داد که این سه گونه با هر سه آغازگر نوارهای مشابهی را ایجاد کردند که احتمالاً بیانگر وجود ژن یا ژن‌های مشابهی است. Ramezani و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۲ ژنوتیپ گلرنگ با نشانگر ISJ گزارش کردند که تطابق خوبی بین تنوع ژنتیکی و تنوع جغرافیایی وجود ندارد. در مطالعه‌ای دیگر، برای تعیین تنوع ژنتیکی ۲۰ رقم گندم بومی سیستان از نشانگرهای ISJ و PCR-

یکدیگر بوده است. بنابراین، از اطلاعات تنوع ژنتیکی حاصل از این نوع نشانگر می‌توان برای انجام تحقیقات کاربردی به منظور اصلاح گیاه آویشن دنایی استفاده نمود.

این مطالعه، شناختی کلی از تنوع ژنتیکی دو زیرگونه آویشن دنایی بود که تحقیقات وسیع‌تر ژنتیکی با به کارگیری سایر نشانگرهای مولکولی نظیر: AFLP (Amplified fragment length polymorphism)، SRAP (Simple Sequence Repeat) SSR (Sequence-Related Amplified Polymorphism) و نشانگرهای آیزوایمی می‌تواند بسیار سودمند باشد.

همچنین، بررسی تنوع ژنتیکی آنها با مطالعات ریخت‌شناسی در کنار نشانگرهای مولکولی می‌تواند اطلاعات جامع‌تری در این زمینه در اختیار پژوهشگران قرار دهد. از آنجا که داده‌های تولید شده در این بررسی بیشترین اهمیت را در نشان دادن میزان چندشکلی خود نشانگر دارد می‌توان از این نوع نشانگر در مطالعاتی که با حجم نمونه بیشتری سر و کار دارند استفاده کرد.

سپاسگزاری

از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور به خاطر در اختیار گذاشتن نمونه‌های آویشن سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- Alvandi, M. R. (1996) Investigated morphological and phytochemical plant *Thymus daenensis* Celak. M.Phil. thesis, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran (in Persian).
- Anderson, J. A., Church, J. E., Autrique, S. D., Thanksley, S. and Sorrells, M. E. (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage map. *Genome* 36(1): 181-188.
- Bandani, A. R. Mohhamadi, A. Imamjomeh, A. A. Khalafbaghi, M. R. Ravan, S. and Akbari Moghadam, H. (2005) Estimation of genetic diversity in genotypes of wheat using RAPD-PCR (Random Primers) and ISJ (Semi-Random Primers) markers. 4th National Biotechnology Congress of Iran, Kerman, Iran (in Persian).
- Chawla, H. S. (2003) Principles of plant biotechnology. (Trans. Farsi, M. and Zolali, M.) Ferdowsi University of Mashhad Press, Mashhad (in Persian).
- Dababneh, B. F. (2007) Antimicrobial activity and genetic diversity of *Thymus* species on pathogenic microorganisms. *Journal of food, Agriculture and Environment* 5 (3,4): 158-162.
- Farshadfar, A. A. (1997) Principles and methods of multivariate statistics. vol. 2., Razi University Press, Kermanshah (in Persian).
- Frahani, E. and Arzani, A. (2004) The use of semi-random marker for evaluation of genetic diversity among cultivars and F1 hybrids of durum wheat. In: Proceedings of the 4th International Iran and Russia Conference, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
- Gawel, M., Wisniewska, I. and Rafalski, A. (2002) Semi-specific PCR for the evaluation of diversity among cultivars of wheat and triticale. *Cellular and Molecular Biology Letters* 7: 577-582.
- Hashemi-Petroudi, S. H., Mirmohammadi Maibody, S. A. M., Nematzadeh, Gh. A. and Arzani, A. (2010) Semi-random PCR markers for DNA fingerprinting of rice hybrids and their corresponding parents. *African Journal of Biotechnology* 9(7): 979-985.
- Khanuja, S. P. S., Shasany, A. K., Darokar, M. P. and Kumar, S. (1999) Rapid isolation of DNA dry and fresh samples of plants producing large amounts of secondary metabolites and essential oils. *Plant Molecular Biology Reporter* 17: 1-7.

- Kumar, L. S. (1999) DNA marker in plant improvement. *Biotechnology Advances* 17: 143-182.
- Mahdavi, S. and Karimzadeh, G. (2010) Karyological and nuclear DNA content variation in some Iranian endemic *Thymus* species (Lamiaceae). *Journal of Agricultural Science and Technology* 12: 447-458.
- Melchinger, A. E. (1993) Use of RFLP markers for analyses of genetic relationships among breeding materials and prediction of hybrid performance. In: *Proceeding of the 1st International Crop Science Congress*, Ames, CSSA, Madison, Wisconsin, USA.
- Mojiri, F., Zabeti, S. M., Ismaili, A., Nazarian-Firouzabadi, F., Madah-Arefi, H. and Ahmadi, H. (2010) Optimization of genomic DNA extraction method in leaf of *Thymus* spp medicinal plant. 4th Regional Congress on Advances in Agricultural Research (west of Iran), University of Kordestan, Sanandaj, Iran (in Persian).
- Nowosielski, J., Podyma, W. and Nowosielska, D. (2002) Molecular research on the genetic diversity of polish varieties and landraces of *Phaseolus coccineus* L. and *Phaseolus vulgaris* L. using the RAPD and AFLP methods. *Cellular and Molecular Biology Letters* 7: 753-762.
- Powell, W., Morgante, M., Ander, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingy, S. and Rafalaski, V. (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) marker for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2: 225-238.
- Przetakiewicz, J., Nadolska-Orczyk, A. and Orczyk, W. (2002) The use of RAPD and semi-random markers to verify somatic hybrids between diploid lines of *Solanum tuberosum* L. *Cellular and Molecular Biology Letters* 7: 671-676.
- Pullman, G. M. and Sliper, D. A. (2001) Crop breeding (Trans. Arzani, A.) Isfahan University of Technology, Isfahan (in Persian).
- Rafalski, A., Gidzinska, M. and Wisniewska, I. (1997) PCR-based systems for evaluation of relationships among maize inbreds, genetics and biotechnology of maize and sorghum. Royal Society Chemistry Cambridge, Cambridge.
- Rafalski, A., Madej, L. Wisniewska, I. and Gawel, M. (2002) The genetic diversity of components of rye hybrids. *Cellular and Molecular Biology Letters* 7: 471-475.
- Rahimmalek, M., Bahreininejad, B., Khorrami, M. and Sayed Tabatabaei, B. E. (2009) Genetic variability and geographic differentiation in *Thymus daenensis* subsp. *daenensis*, an endangered medicinal plant, as revealed by Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers. *Biochemical Genetics* 47: 842-831.
- Ramezani, M., Ismaili, A., Nazarian-Firouzabadi, F. and Bakhshkhaniki, Gh. (2009) Study of genetic diversity among safflower genotypes (*Carthamus tinctorius* L.) using ISJ molecular markers. MSc thesis, Payame Noor University, Tehran, Iran (in Persian).
- Rustaii, A., Fakhre Tabatabaai, S. M., Omidbigi, R., Sefidkon, F. and Hassani, M. A. (2009) valuation of morphological diversity of Danei thyme (*Thymus daenensis* Celak) populations from Iran. 6th Congress of Iranian Horticultural Sciences, Guilan University, Rasht, Iran (in Persian).
- Sajjadi, S. E. and Khatamsaz, M. (2003) Composition of the essential oil of *Thymus daenensis* Celak. Subsp. *lancifolius* (Cleak.) Jalas. *Journal of Essential Oil Research* 15: 34-35.
- Samiei, K., Arzani, A. and Mirmohammadi Maibodi, S. A. M. (2008) Evaluation of genetic diversity of Iranian indigenous clover populations, using random and semi randoms primers. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 12(45): 157-164 (in Persian).
- Schaut, J. W., Qi, X. and Stam, P. (1997) Association between relationship measures AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley. *Theoretical and Applied Genetic* 95: 1161-1168.

- Sharma, K. K., Crouch, J. H. and Hash, C. T. (2002) Applications of biotechnology for crop improvment: Prospects and constraints. *Plant Science* 163: 381-395.
- Thimmappaiah, W., Santhosh, G., Shobha, D. and Melwyn, G. S. (2008) Assessment of genetic diversity in cashew germplasm using RAPD and ISSR markers. *Scientia Horticulturae* 118: 1-7.
- Weining, S. and Henry, V. (1995) Molecular analysis of DNA polymorphism of barley (*Hordeum spontaneum* L.) germplasm using the polymerase chain reaction. *Genetics Research Crop Evolution* 42: 273-281.
- Weining, S. and Langridge, P. (1991) Identification and mapping of polymorphisms in cereals based on the polymerase chain reaction. *Theoretical and Applied Genetic* 82: 209-216.
- Yavari, A. R., Nazeri, V., Sefidkon, F., Zamani, Z. and Hassani, M. H. (2012) Evaluation of genetic diversity among and within some endemic populations of *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost, using RAPD molecular markers. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 28(1): 35-47 (in Persian).
- Zargari, A. (1990) Medicinal plants. vol. 4. Tehran University Press, Tehran, Iran (in Persian).
- Ziaei Nasab, M., Hesamzadeh Hejazi, S. M., Bihamta, M. R., Mirza, M. and Naderi-Shahb, M. A. (2012) Assessment of karyotypical variation among 16 populations of *Thymus daenensis* Celak and *Thymus kotschyanus* Boiss. species in Iran. *African Journal of Biotechnology* 11(5): 1028-1036.

بررسی تنوع زیستی با روش تعیین زیستگاه ویژه و مقایسه الکتروفورزی پروتئین‌های بذر جمعیت‌های دو گونه بومادران (*Achillea* L.) در غرب ایران

هاجر صالحی، عبدالکریم چهرگانی راد*، مرتضی عطری و فریبا محسن‌زاده
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

چکیده

تنوع درون گونه‌ای و بین گونه‌ای از ذخایر مهم تنوع زیستی و منشأ مهم گونه‌زایی به شمار می‌روند. بنابراین، تعیین آنها در راستای شناخت تنوع زیستی حایز اهمیت است. این پژوهش، با هدف بررسی وجود تنوع زیستی و مقایسه الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر جمعیت‌هایی از جنس بومادران (*Achillea*) در استان‌های همدان و کردستان با روش تعیین زیستگاه ویژه (DSS) انجام شد. بدین منظور، با مراجعه به فلورها برای گونه‌های *A. tenuifolia* و *A. biebersteinii* به ترتیب ۱۲ و ۹ زیستگاه ویژه انتخاب و ترکیب فلورستیک گونه‌های هم‌باش همراه با شرایط بوم‌شناختی مطالعه شد. پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر استخراج و با تکنیک الکتروفورز با روش SDS-PAGE بررسی گردید. در بررسی زیستگاه‌های ویژه، در مجموع ۱۲۰ گونه هم‌باش برای گونه‌های مورد بررسی شناسایی شد. نتایج حاصل از داده‌های تبارشناختی هر دو گونه به طور مجزا، به تشخیص شش گروه متمایز منجر شد که نشان‌دهنده تنوع بالای درون گونه‌ای در این گیاهان است. تحلیل داده‌های بوم‌شناختی و الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر دو گونه کاملاً منطبق بر نتایج تبارشناختی است و شش گروه پروتئینی کاملاً مشخص برای جمعیت‌های هر دو گونه به دست آمد. وجود نوارهای ۴، ۵، ۸، ۱۲ و ۱۳ که خاص زیستگاه‌های ویژه گونه *A. tenuifolia* است و نوارهای ۱۴، ۱۵ و ۱۶ که خاص زیستگاه‌های ویژه گونه *A. biebersteinii* است، دو گونه را از نظر پروتئین‌های بذر در دو گروه کاملاً مجزا قرار داد.

واژه‌های کلیدی: تنوع درون گونه‌ای، تنوع بین گونه‌ای، نیم‌رُخ پروتئینی، تیره کاسنیان (Asteraceae)

مقدمه

Anthemideae (Watanabe, 2002). جزو یکی از

هفت تبار بزرگ این تیره با حدود ۱۰۹ جنس و حدود ۱۸۰۰ گونه در سطح جهان است (Tahir et al., 2002). این تبار در ایران، دارای ۱۲ جنس و حدود

تیره Asteraceae بزرگترین خانواده گیاهی (Bremer, 1994) شامل جنس‌ها و گونه‌های بسیاری است که در سراسر جهان پراکندگی دارند

روش تعیین زیستگاه ویژه (DSS (Determination of Special Station) استفاده شد که الهام گرفته از جامعه‌شناسی گیاهی است (Atri, 2006). Quike (۱۹۹۳) روش الکتروفورز پروتئین‌های بذر و کاربرد آن در سیستماتیک و شناسایی تاکسون‌ها را توضیح داد و نشان داد که این روش می‌تواند ابزاری قدرتمند برای جدا نمودن تاکسون‌ها، ارتباطات بین تاکسون‌های معین و همچنین مشخص نمودن گونه‌ها، جنس‌ها، بخش‌ها و تیره‌ها به کار گرفته شود.

مواد و روش‌ها

برای بررسی تنوع زیستی (درون گونه‌ای و بین گونه‌ای) ۲۱ جمعیت از گونه‌های *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* از مناطقی از غرب کشور (استان‌های همدان و کردستان) با روش DSS جمع‌آوری شد که مراحل جمع‌آوری به شرح ذیل است:

- ۱- انتخاب گونه‌های چند زیستگاهی
- ۲- تعیین محل‌های پراکنش گونه‌های بررسی شده با مراجعه به فلورها
- ۳- تعیین زیستگاه‌های عمومی
- ۴- تعیین زیستگاه ویژه که با محوریت فرد گونه مورد بررسی و با روش سطح حداقل یا روش Cain و de Oliveira (۱۹۵۹) تعیین می‌شود. شایان ذکر است که در روش DSS، زیستگاه ویژه عبارت است از سطحی از پوشش گیاهی که بر اساس حضور گونه مورد نظر تعیین می‌شود و از نظر تبارشناختی - بوم‌شناختی یکنواخت است.
- ۵- جمع‌آوری داده‌های فلوربستیک بوم‌شناختی از زیستگاه‌های ویژه که در این مرحله تمامی گونه‌های هم‌باش با فرد گونه مورد بررسی جمع‌آوری و

۱۳۴ گونه است که از میان آنها *Anthemis*، *Achillea* و *Artemisia* از مهم‌ترین جنس‌ها هستند (Rechinger, 1986). جنس *Achillea* یکی از جوان‌ترین جنس‌های تیره Asteraceae از نظر تکاملی است که در سراسر جهان حضور دارد و بیش از ۱۰۰ گونه در این جنس شناسایی شده است (Goli et al., 2008). این جنس، در مناطق مختلف ایران با ۱۹ گونه که ۷ گونه آن انحصاری ایران هستند پراکنش دارد (Mozaffarian, 2007).

تنوع زیستی، گوناگونی زندگی و فرآیندهای آن که شامل گوناگونی موجودات زنده، تفاوت‌های ژنتیکی میان آنها، اجتماعات و اکوسیستم‌هایی که در آن وجود دارند و فرآیندهای تکاملی و بوم‌شناختی است که آنها را فعال، در حال تغییر و سازگار نگه می‌دارند (Keystone Center, 1991). ایجاد تنوع درون و بین گونه‌ای منشأ اصلی و ذخیره‌گاه گونه‌زایی است و به غنای تاکسون‌ها در یک منطقه منجر می‌شود (Atri et al., 2007). تاکنون بررسی‌های گیاه‌شناسان نشان داده است که افراد متعلق به یک گونه گیاهی کاملاً مشابه یکدیگر نیستند. لینه این تنوعات را در رابطه با اثر محیط و عوامل محیطی تفسیر می‌کرد که به دو صورت تنوع ژنتیکی (منشأ ارثی) و فنوتیپی (منشأ غیر ارثی) ظاهر می‌شود (Maassoumi and Assadi, 2004). بنابراین، مطالعه معیارهای بوم‌شناختی در ایجاد تنوع در زیستگاه‌های متفاوت یک منطقه امری ضروری است. با توجه به اینکه هدف پژوهش حاضر بررسی تنوع درون گونه‌ای و بین گونه‌ای است سعی شد از روشی استفاده شود که هم معیار تبارشناختی و هم معیار بوم‌شناختی در مرحله جمع‌آوری داده‌ها مد نظر قرار دهد. بر همین اساس، از

مشخص گردید. کدهای به دست آمده با نرم‌افزار NTSYS روش complete linkage و نرم‌افزار MVSP روش PCA تحلیل شد.

نتایج

نتایج بررسی‌های تبارشناختی

با مراجعه به زیستگاه‌های عمومی در استان‌های کردستان و همدان ۲۱ زیستگاه ویژه، برای گونه‌های *A. tenuifolia* (۱۲ زیستگاه ویژه) و *A. biebersteinii* (۹ زیستگاه ویژه) تعیین شد (جدول ۱) و در مجموع، تعداد ۱۲۰ گونه گیاهی به عنوان گونه‌های هم‌باش از ۲۱ زیستگاه ویژه به عنوان ترکیب رُستنی‌ها شناسایی شد که فهرست کامل این گونه‌ها به صورت حضور (۱) و عدم حضور (۰) در هر یک از زیستگاه‌های ویژه در جدول ویژه‌ای وارد شد.

نتایج حاصل از تنوع درون گونه‌ای در

A. tenuifolia

تحلیل زیستگاه‌های ویژه *A. tenuifolia* با نرم‌افزار Anaphyto با روش FCA بر اساس ترکیب رُستنی‌ها (به عنوان نشانگر تبارشناختی) به گروه‌بندی زیستگاه‌ها در شش گروه متمایز منجر شد (شکل ۱). گروه I شامل زیستگاه‌های ۱، ۲، ۴، ۵ و ۷، گروه II شامل زیستگاه ۳، گروه III شامل زیستگاه ۶، گروه IV شامل زیستگاه ۸، گروه V شامل زیستگاه ۹ و گروه VI شامل زیستگاه‌های ۱۰، ۱۱ و ۱۲ است.

عوامل بوم‌شناختی نظیر: ارتفاع، جهت شیب، نوع بستر و ... در هر زیستگاه ویژه بررسی و با نرم‌افزار MVSP با روش PCA تحلیل گردید (شکل ۲، جدول ۲) که زیستگاه‌های ویژه این گونه را در شش گروه متمایز قرار داد.

کدگذاری می‌شود. همچنین، داده‌های بوم‌شناختی (از جمله: ارتفاع، درصد شیب، جهت شیب، نوع بستر و ...) نیز ثبت شد.

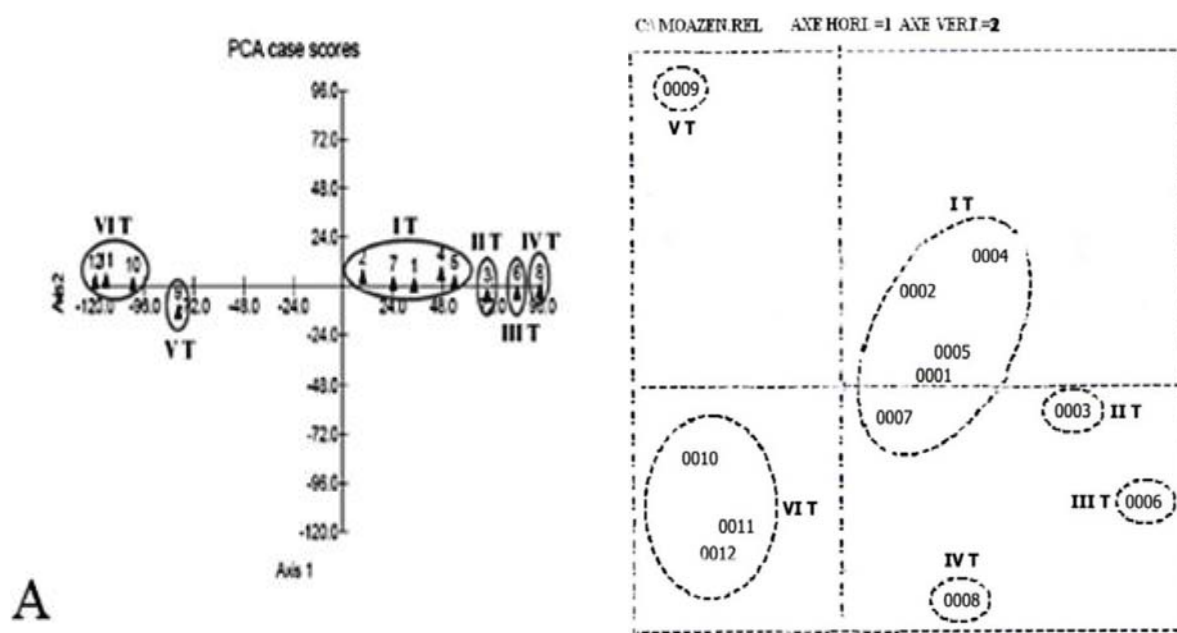
۶- شناسایی نمونه‌های گیاهی

۷- کدگذاری و تحلیل داده‌های تبارشناختی - بوم‌شناختی بر اساس ترکیب گونه‌ای (به عنوان نشانگر تبارشناختی) با نرم‌افزار Anaphyto و روش FCA (Factoria Correspondence Analysis) انجام شد. داده‌های بوم‌شناختی نیز با نرم‌افزار MVSP با روش PCA (Principal Components Analysis) تحلیل شد.

۸- گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه بر اساس نشانگر تبارشناختی

۹- تعیین گونه یا گونه‌های تشخیصی

پس از تعیین و اثبات وجود تنوع درون گونه‌ای و بین گونه‌ای، به تعیین و تشخیص سطح و نوع تنوع با روش‌های مورفومتری، سیتولوژی، گرده‌شناسی، الکتروفورز و ... پرداخته می‌شود. در مطالعه حاضر، برای تعیین سطح تنوع و مقایسه گونه‌های مطالعه شده از الکتروفورز پروتئین‌های بذر روی ژل پلی‌اکریل آمید در حضور سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) استفاده شد (Hames and Rickwood, 1990). برای استخراج پروتئین‌ها از بافر فسفات سدیم (اسیدیته=۷) استفاده شد. عصاره پروتئینی استخراج شده به نسبت مساوی با بافر نمونه مخلوط گردید و به مدت سه دقیقه در حمام آب گرم حرارت داده شد. ژل پلی‌اکریل آمید ۱۲ درصد تهیه و مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه در چاهک‌ها تزریق شد. پس از اتمام الکتروفورز، رنگ آمیزی با رنگ کوماسی بلو بریلانت R₂₅₀ انجام شد. سپس، موقعیت هر نوار روی ژل به صورت کدهای یک و صفر که نشان‌دهنده وجود و عدم وجود نوار مربوط است



شکل ۱- گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه گونه *A. tenuifolia* بر اساس ترکیب رُستنی‌ها با روش FCA
 شکل ۲- گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه *A. tenuifolia* بر اساس عوامل بوم‌شناختی با روش PCA

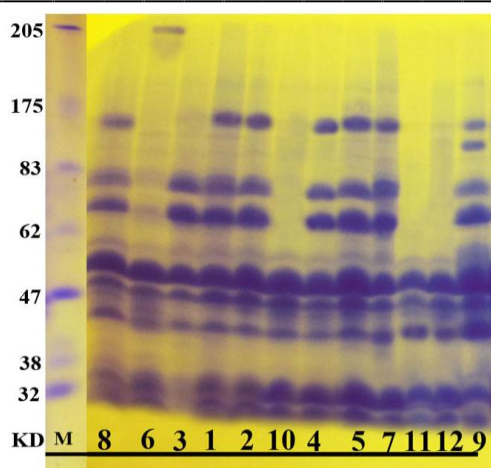
جدول ۱- مشخصات مناطق جمع‌آوری گونه‌های *A. tenuifolia* (۱۲۱) و بقیه *A. biebersteinii*

کد زیستگاه ویژه	محل جمع‌آوری	تاریخ جمع‌آوری	شماره هرباریومی
۱	همدان، اسدآباد، دو راهی جاده خاکی راهدارخانه	۱۳۸۹/۰۳/۲۰	۲۸۵۳۵
۲	همدان، ۴۰ کیلومتری اسدآباد، روستای تاج‌آباد	۱۳۸۹/۰۳/۲۰	۲۸۵۳۴
۳	همدان، کبودرآهنگ، منطقه سوباشی	۱۳۸۹/۰۳/۱۹	۲۸۵۳۷
۴	همدان، روستای مرویل، دامنه کوه ملوک	۱۳۸۹/۰۳/۱۸	۲۸۵۳۹
۵	همدان، جاده اراک، روستای مرویل، کوه ملوک	۱۳۸۹/۰۳/۱۸	۲۸۵۳۶
۶	همدان، کبودرآهنگ، قلی‌آباد	۱۳۸۹/۰۳/۱۹	۲۸۵۴۱
۷	همدان، جاده اراک، روستای مرویل، داخل باغ	۱۳۸۹/۰۳/۱۸	۲۸۵۳۸
۸	همدان، رزن، کوه‌های بقاطی	۱۳۸۹/۰۳/۱۹	۲۸۵۴۰
۹	سنندج، گردنه مروارید	۱۳۸۹/۰۳/۱۸	۲۸۵۴۴
۱۰	سنندج، کامیاران، بایسپرنه	۱۳۸۹/۰۳/۱۸	۲۸۵۴۳
۱۱	سنندج، نران، نثار گوره	۱۳۸۹/۰۳/۱۸	۲۸۵۴۲
۱۲	سنندج، نران، نثار گوره	۱۳۸۹/۰۳/۱۸	۲۸۵۴۵
۱۳	همدان، گنج‌نامه، کنار جاده، حاشیه باغ	۱۳۸۹/۰۳/۲۲	۲۸۵۵۲
۱۴	همدان، گنج‌نامه، سمت راست آبشار	۱۳۸۹/۰۳/۲۲	۲۸۵۵۱
۱۵	همدان، روستای حیدره	۱۳۸۹/۰۳/۲۱	۲۸۵۵۰
۱۶	همدان، گنج‌نامه، اردوگاه کیوارستان	۱۳۸۹/۰۳/۲۲	۲۸۵۴۹
۱۷	همدان، دره مرادیبک، داخل باغ	۱۳۸۹/۰۳/۲۱	۲۸۵۴۸
۱۸	همدان، کوه الوند، تخت نادر	۱۳۸۹/۰۳/۲۲	۲۸۵۴۷
۱۹	همدان، کوه الوند، تپه میشان	۱۳۸۹/۰۳/۲۲	۲۸۵۴۶
۲۰	سنندج، کامیاران، گردنه مروارید	۱۳۸۹/۰۳/۱۸	۲۸۵۵۳
۲۱	سنندج، دهگلان-قروه، کاظم‌آباد	۱۳۸۹/۰۳/۱۸	۲۸۵۵۴

بیشترین تعداد آن در زیستگاه‌های ۶، ۸ و ۹ مشاهده گردید. نوارهای ۳، ۶، ۷ و ۸ در تمام زیستگاه‌ها مشترک هستند که مربوط به پروتئین‌های ویژه گونه *A. tenuifolia* هستند. نوارهای ۱، ۲، ۴، ۵، ۷، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۳ در بین جمعیت‌ها تنوع را نشان می‌دهد.

جدول ۳- داده‌های الکتروفورزی SDS-PAGE در جمعیت‌های بررسی شده *A. tenuifolia*

شماره زیستگاه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
شماره نوار	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۲	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۳	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۴	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۶	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۷	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۸	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۹	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱۰	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱۱	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۰	۱	۱
۱۲	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱۳	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰



شکل ۳- الگوی الکتروفورزی نوارهای پروتئینی بذر جمعیت‌های گونه *A. tenuifolia*. اعداد هر ستون نشان‌دهنده کد زیستگاه ویژه است؛ M، نشانگر.

جدول ۲- داده‌های بوم‌شناختی بررسی شده زیستگاه‌های ویژه

گونه *A. tenuifolia*

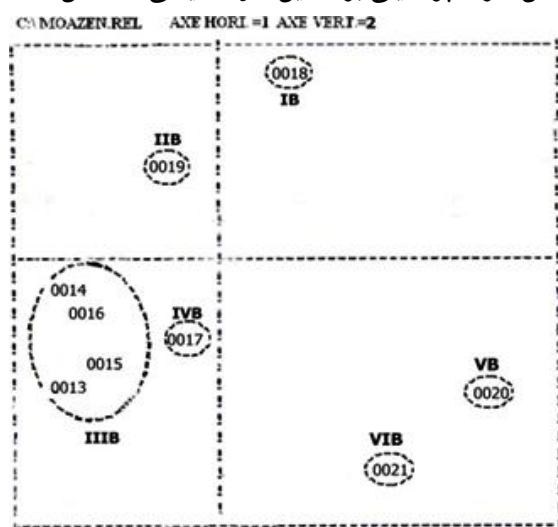
کد زیستگاه ویژه	ارتفاع (متر)	جهت شیب	درصد شیب	نوع بستر
۱	۲۱۸۰	شمال شرقی	۴۵	سنگریزه
۲	۲۱۰۰	شرقی	۵۰	شنی
۳	۲۲۹۵	جنوب شرقی	۲۰	سنگریزه
۴	۲۲۲۵	شرقی	۵۵	شنی
۵	۲۲۴۵	شمال شرقی	۴۵	سنگریزه
۶	۲۳۴۵	جنوب غربی	۲۰	واریزه‌ای
۷	۲۱۴۸	شمال شرقی	۵۰	سنگریزه
۸	۲۳۸۰	جنوبی	۲۰	واریزه‌ای
۹	۱۸۰۱	شمالی	۳۰	سنگلاخ
۱۰	۱۷۳۲	شمال غربی	۸۰	خاک درشت
۱۱	۱۶۹۰	جنوب غربی	۹۰	سنگی
۱۲	۱۶۷۲	جنوب غربی	۹۰	سنگی

برای تعیین نوع و سطح تنوع درون گونه‌ای از مطالعات الکتروفورزی استفاده شد. بدین منظور، پروتئین‌های بذر ۱۲ جمعیت گونه *A. tenuifolia* بررسی و در مجموع، ۱۳ نوار شناسایی شد (شکل ۳ و جدول ۳).

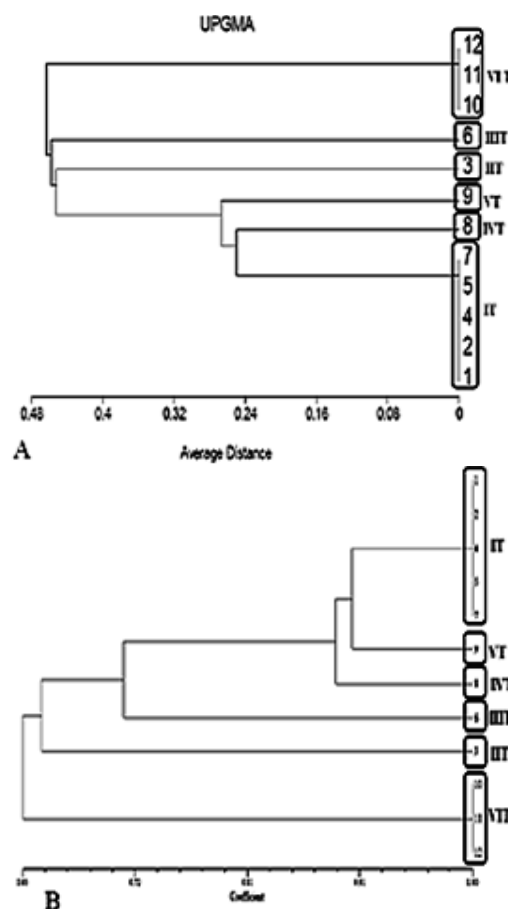
در دندروگرام‌های حاصل از تحلیل داده‌های الکتروفورزی با دو روش UPGMA و Complete نشان داد که زیستگاه‌های ویژه این گونه در شش گروه قرار گرفته‌اند (شکل ۴). گروه I شامل زیستگاه‌های ۱، ۲، ۴، ۵ و ۷، گروه II شامل زیستگاه ۳، گروه III شامل زیستگاه ۶، گروه IV شامل زیستگاه ۸، گروه V شامل زیستگاه ۹ و گروه VI شامل زیستگاه ۱۰، ۱۱ و ۱۲ است. هر گروه دارای نوارهای خاص خود است که از گروه دیگر متمایز شده است. بنابراین، در بررسی الکتروفورزی گونه *A. tenuifolia* می‌توان شش گروه پروتئینی معرفی کرد. کمترین تعداد نوار در زیستگاه‌های ۳، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ و

بررسی شده زیستگاه‌های ویژه گونه *A. biebersteinii* را نشان می‌دهد. تحلیل داده‌های بوم‌شناختی مطالعه شده زیستگاه‌های ویژه گونه گیاهی *A. biebersteinii* با روش PCA در شکل ۶ نشان داده شده است. با توجه به این شکل مشخص می‌شود که گروه‌بندی حاصل از تحلیل داده‌های بوم‌شناختی مطابق با گروه‌بندی حاصل از تحلیل داده‌های فلوریستیک است. الگوی نوارهای پروتئینی حاصل از مطالعات الکتروفورزی ۹ جمعیت از گونه *A. biebersteinii* در شکل ۷ ارائه شده است.

همچنین، نتایج حاصل به صورت کدهای صفر و یک در جدول ۵ و نمودار خوشه‌ای حاصل از تحلیل داده‌ها با روش UPGMA و Complete در شکل ۸ نمایش داده شده است. زیستگاه‌های این گونه دارای ۱۱ نوار پروتئینی است که کمترین تعداد نوار مربوط به زیستگاه ۱۸ و بیشترین تعداد در جمعیت‌های ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶ مشاهده شد. نوارهای شماره ۷ و ۱۴ در تمام زیستگاه‌های ویژه حضور دارند که به عنوان نوارهای اختصاصی این گونه معرفی می‌شوند. بنابراین، وجود شش گروه پروتئینی برای این گونه گیاهی مشخص شد.



شکل ۵- گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه گونه *A. biebersteinii* بر اساس ترکیب رُستنی‌ها با روش FCA



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تحلیل داده‌های الکتروفورزی زیستگاه‌های ویژه گونه *A. tenuifolia* با روش UPGMA (A) و Complete (B).

نتایج حاصل از تنوع درون گونه‌ای در

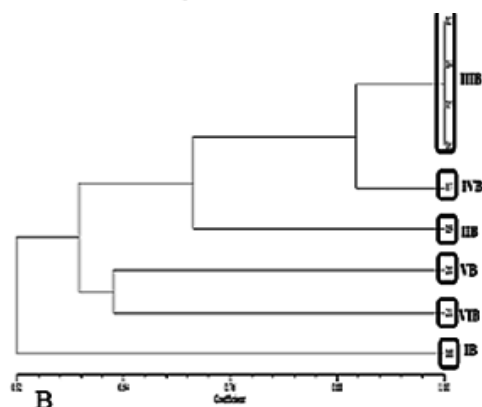
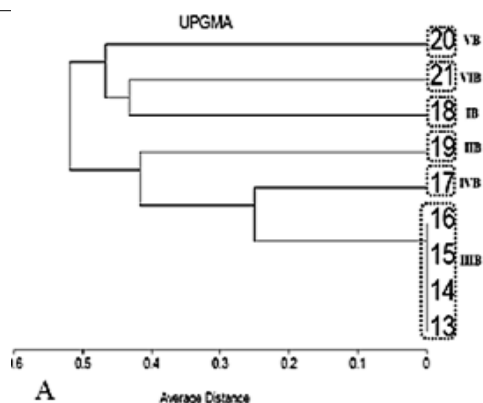
A. biebersteinii

برای تشخیص وجود تنوع درون گونه‌ای گیاه *A. biebersteinii* با نرم‌افزار Anaphyto و روش FCA داده‌های فلوریستیکی به عنوان نشانگر فلوریستیک تحلیل شد و زیستگاه‌های ویژه این گونه گیاهی در شش گروه قرار گرفتند (شکل ۵). گروه IB شامل زیستگاه ۱۸، گروه IIB شامل زیستگاه ۱۹، گروه IIIB شامل زیستگاه‌های ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶ و ۱۷، گروه IVB شامل زیستگاه ۲۰ و گروه VIB شامل زیستگاه ۲۱ هستند. جدول ۴ داده‌های بوم‌شناختی

جدول ۵- داده‌های الکتروفورزی SDS-PAGE در جمعیت‌های

A. biebersteinii بررسی شده

شماره زیستگاه	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱
شماره نوار	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۱
۲	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۱
۳	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۰	۰
۶	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰
۷	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۹	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱	۱
۱۰	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰
۱۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰
۱۴	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۱۵	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۱
۱۶	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰

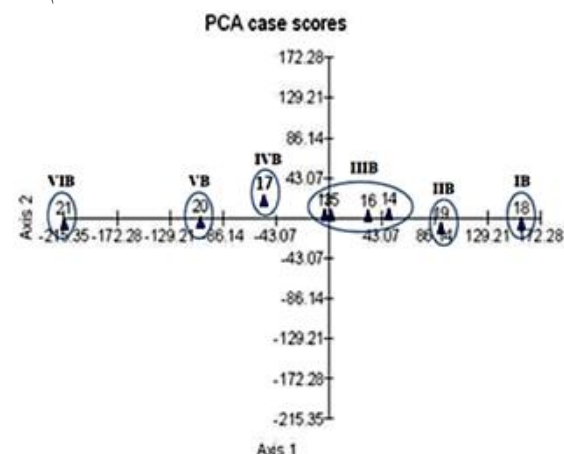


شکل ۸- داده‌های الکتروفورزی حاصل از تحلیل داده‌های الکتروفورزی زیستگاه‌های ویژه گونه *A. biebersteinii* با روش (A) UPGMA و (B) Complete. نخستین شاخه‌بندی در هر دو تحلیل در سطح فاصله ۰/۵ مشاهده شد.

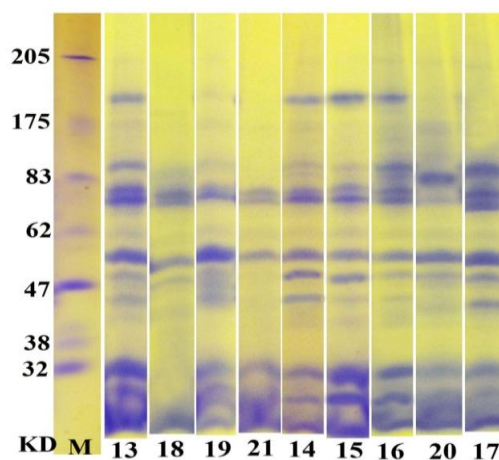
جدول ۴- داده‌های بوم‌شناختی بررسی شده حاکم بر زیستگاه‌های

A. biebersteinii ویژه گونه

کد زیستگاه ویژه	ارتفاع (متر)	جهت شیب	شیب (درصد)	نوع بستر
۱۳	۲۱۰۰	شرقی	۵۵	خاک مرطوب
۱۴	۲۲۴۸	شرقی	۵۰	خاک مرطوب
۱۵	۲۱۱۴	شرقی	۵۵	خاک مرطوب
۱۶	۲۲۰۰	شرقی	۵۰	خاک مرطوب
۱۷	۲۰۸۹	شرقی	۲۰	خاک معمولی
۱۸	۲۵۵۲	شرقی	۷۰	برون‌زدگی سنگی
۱۹	۲۳۶۷	غربی	۶۵	برون‌زدگی سنگی
۲۰	۱۸۱۴	شمال غربی	۴۰	خاک مرطوب
۲۱	۱۵۰۰	شرقی	۴۰	خاک نرم



شکل ۶- نتایج حاصل از تحلیل داده‌های بوم‌شناختی زیستگاه‌های ویژه گونه *A. biebersteinii* با روش PCA



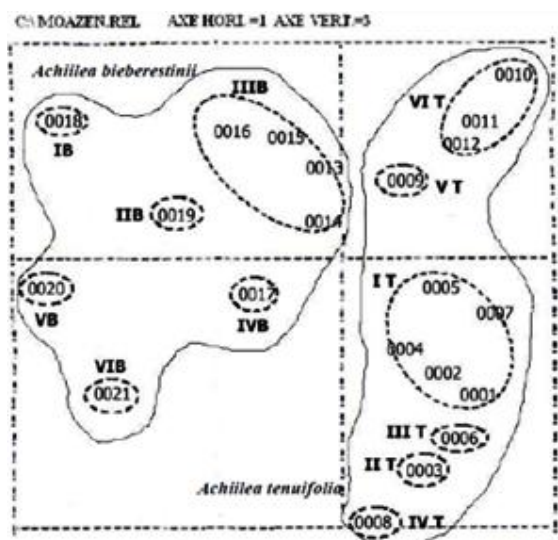
شکل ۷- الگوی نوارهای پروتئینی عصاره بذر زیستگاه‌های ویژه گونه *A. biebersteinii*

شمال غرب می‌روید. از نظر بستر نیز دو گونه از یکدیگر متمایز می‌شوند، گونه *A. biebersteinii* بیشتر در خاک‌های معمولی و مرطوب و به ندرت سنگی حضور دارد، اما گونه *A. tenuifolia* در بسترهای سنگی، سنگلاخی و شنی رویش دارد و از این نظر کاملاً با هم متفاوتند.

برای بررسی تنوع بین گونه‌ای دو گونه *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* نوارهای پروتئینی زیستگاه‌های ویژه هر دو گونه به طور همزمان با نرم‌افزار NTSYS روش Complete و نرم‌افزار MVSP روش UPGMA تحلیل شدند. نوارهای پروتئینی هر دو گونه در جدول ۶ مشاهده می‌شود. نوار شماره ۷ در تمام زیستگاه‌های بررسی شده دو گونه، مشترک است که نشان دهنده پروتئین یکسان در دو گونه و احتمالاً پروتئین اختصاصی جنس *Achillea* است. دندروگرام حاصل از تحلیل داده‌های الکتروفورزی در شکل ۱۰ نشان داده شده است. که در آن، گروه I و II به ترتیب نشان‌دهنده زیستگاه‌های ویژه گونه *A. tenuifolia* و *A. biebersteinii* است. بررسی نتایج حاصل از مطالعات الکتروفورزی پروتئین‌های بذر نیز وجود تنوع بین گونه‌ای را نشان می‌دهد. وجود نوارهای ۴، ۵، ۸، ۱۲ و ۱۳ که خاص زیستگاه‌های ویژه گونه *A. tenuifolia* است و نوارهای ۱۴، ۱۵ و ۱۶ که خاص زیستگاه‌های ویژه گونه *A. biebersteinii* است، این دو گونه را از نظر پروتئین‌های بذر در دو گروه مجزا قرار داده است. گروه I شامل زیستگاه‌های ویژه *A. tenuifolia* و گروه II شامل زیستگاه‌های ویژه *A. biebersteinii*

نتایج حاصل از تنوع بین گونه‌ای در *A. tenuifolia* و *A. biebersteinii*

تحلیل و بررسی ۲۱ زیستگاه ویژه شامل ۱۲ زیستگاه ویژه برای *A. tenuifolia* و ۹ زیستگاه ویژه برای *A. biebersteinii* بر اساس ترکیب رُستنی‌ها به عنوان نشانگر فلوریستیک با روش FCA، به گروه‌بندی این زیستگاه‌ها به دو گروه اصلی مجزا منجر شد. همان طور که مشاهده می‌شود زیستگاه‌های این دو گونه از نظر ترکیب فلوریستیک از یکدیگر جدا شده‌اند (شکل ۹).

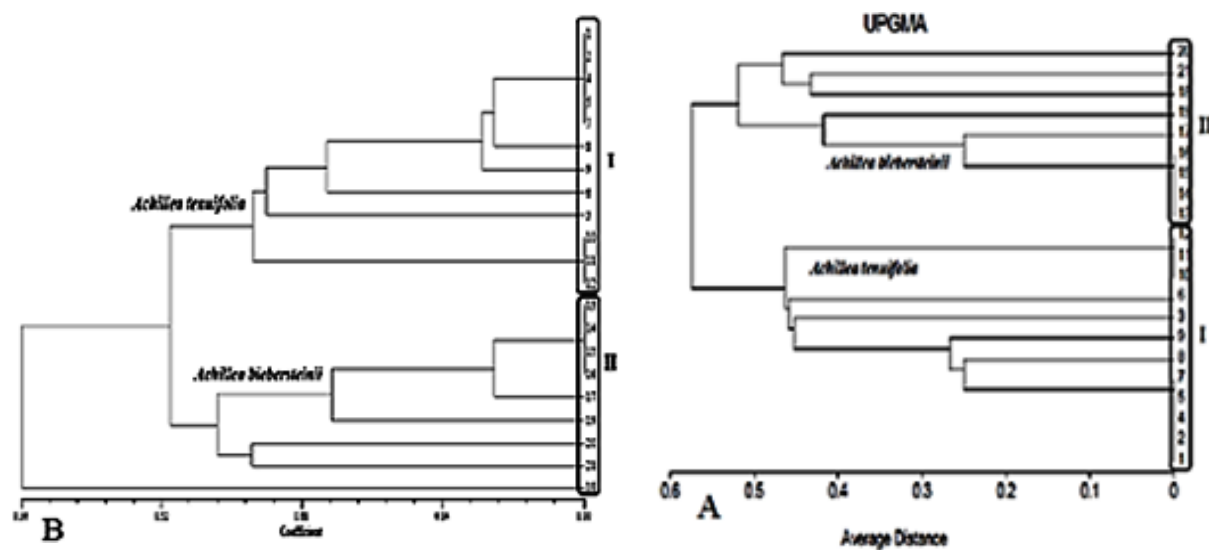


شکل ۹- گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه گونه‌های *A. tenuifolia* و *A. biebersteinii* بر اساس ترکیب رُستنی‌ها با روش FCA

مقایسه عوامل بوم‌شناختی زیستگاه‌های ویژه این دو گونه نشان داد که از نظر ارتفاع، هر دو گونه در ارتفاعات مختلفی رشد می‌کنند و گونه *A. biebersteinii* در محدوده ارتفاع بیشتری نسبت به گونه *A. tenuifolia* دیده می‌شود. *A. tenuifolia* تقریباً در تمامی جهات شیب رویش دارد، در حالی که گونه *A. biebersteinii* در جهت‌های شرقی، غربی و

جدول ۶- داده‌های الکتروفورزی SDS-PAGE در جمعیت‌های گونه‌های *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia*

کد زیستگاه	شماره نوار															
	۲۱	۲۰	۱۹	۱۸	۱۷	۱۶	۱۵	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶
۱	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۲	۱	۱	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰
۳	۰	۰	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۴	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰
۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰
۶	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۷	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۹	۱	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۱
۱۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۱
۱۱	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۱	۱	۱	۰	۱
۱۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰
۱۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰
۱۴	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱۵	۱	۰	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱۶	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰



شکل ۱۰- دندروگرام حاصل از تحلیل داده‌های الکتروفورزی پروتئین‌های بذر دو گونه *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* با روش UPGMA (A) و روش Complete (B).

بحث

تنوع زیستی که حاصل تنوع عوامل بوم‌شناختی زیستگاه‌های مختلف است، نشان‌دهنده توان زیستی هر منطقه است. تنوع درون گونه‌ای و بین گونه‌ای که به تنوع زیستی منجر می‌شود، منشأ مهم گونه‌زایی است. بر این اساس، تشخیص و تعیین تنوع درون گونه‌ای و بین گونه‌ای در راستای شناخت تنوع زیستی دارای اهمیت است (Atri et al., 2007). بررسی‌ها نشان می‌دهد گونه‌هایی که می‌توانند در زیستگاه‌های مختلف با شرایط بوم‌شناختی و فلوریستیک متفاوت حضور داشته باشند، پراکنش وسیعی دارند. بنابراین، حضور این گونه‌ها در چنین شرایطی نشان‌دهنده خوپذیری یا تطابق بالای این گیاهان نسبت به شرایط متفاوت بوم‌شناختی است (Fakhre Tabatabaei, 2005). در بررسی گونه‌های گیاهی باید در نظر داشت که هیچ گونه گیاهی در هیچ زیستگاهی به طور تصادفی بقا نمی‌یابد. با توجه به این که هر زیستگاهی دارای ترکیبی از عوامل بوم‌شناختی ویژه خود است، در اثر عوامل بوم‌شناختی خاص حاکم بر آن، ترکیب گونه‌ای ویژه‌ای را می‌پذیرد. بنابراین، نقش و اهمیت عوامل بوم‌شناختی بر ترکیب رُستنی‌ها و روابط دو جانبه آنها در یک زیستگاه مشخص می‌شود. بر این اساس، تنوع عوامل بوم‌شناختی و تأثیر پدیده‌هایی چون برهم‌کنش و جایگزینی عوامل بوم‌شناختی، باعث به وجود آمدن شرایط بوم‌شناختی مختلف و در نتیجه ایجاد زیستگاه‌های متفاوت در یک منطقه می‌شود. پس برای بررسی و پی بردن به وجود تنوع در زیستگاه‌های متفاوت یک منطقه لازم است، به طور همزمان معیارهای بوم‌شناختی فلوریستیک به کار برده شود (Atri, 2006). در این بررسی، برای تعیین تنوع درون و بین گونه‌ای در *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* از روش

DSS مبتنی بر نشانگر فلوریستیک استفاده شد. سپس، تحلیل داده‌های بوم‌شناختی انجام شد. نتایج حاصل با گروه‌بندی‌های حاصل از تحلیل داده‌های فلوریستیک مقایسه گردید. در نهایت، بررسی الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره بذری، وجود تنوع در سطح نوارهای پروتئینی هر یک از گروه‌های تعیین شده را مشخص نمود. هر سه نشانگر استفاده شده وجود تنوع را در جمعیت‌های مورد مطالعه نشان دادند. به بیان دقیق‌تر، گروه‌های جمعیتی معرفی شده با نشانگر فلوریستیکی توسط نشانگرهای بوم‌شناختی و الگوی نوارهای پروتئین‌های ذخیره‌ای بذری نیز تأیید گردید. این تأیید به معنای آن است که گروه‌بندی فلوریستیکی در مواردی به تنهایی می‌تواند به عنوان روشی کم هزینه و کارآمد برای بررسی وجود تنوع جمعیت‌ها (تنوع درون گونه‌ای) استفاده شود. بنابراین، درستی و میزان دقت روش DSS برای تعیین وجود تنوع و نیز تشخیص نوع و سطح تنوع آشکار می‌گردد. در واقع، این امر منتج از دو مرحله: جمع‌آوری داده‌ها و تحلیل آنها با استفاده از نشانگر فلوریستیک (ترکیب رُستنی‌های زیستگاه‌های ویژه) است.

بر اساس نتایج به دست آمده، گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* بر اساس عوامل بوم‌شناختی با روش PCA با گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه این گیاهان بر اساس ترکیب تبارشناختی کاملاً منطبق است. همچنین، مقایسه عوامل بوم‌شناختی و تبارشناختی دو گونه بررسی شده مؤید وجود تنوع بین گونه‌ای در جمعیت‌های دو گونه است و کاملاً از هم مجزا هستند. نتایج مشابهی توسط محققان پیشین که تنوع درون گونه‌ای *Artemisia incana* L. را از نظر (Chehregani Rad et al., 2011) را از نظر

پروتئینی مشابهی دارند، اما الگوی نوارهای پروتئینی مربوط به گروه‌های مختلف تبارشناختی-اکولوژیک از یکدیگر متفاوت است، به طوری که شش گروه تفکیک شده مربوط به دو گونه، هر کدام شش باند پروتئینی بارز ارائه دادند.

پروتئین‌ها به عنوان محصولات مستقیم ژن‌ها، نشانگرهای مناسبی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی محسوب می‌شوند (Mirzaei Nadoushan *et al.*, 2002). در مورد گیاهان چوبی و غیر چوبی، مطالعه الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر بیشتر برای تفکیک گونه‌ها، ارقام و کولتوارها صورت گرفته است (Espahbodi *et al.*, 2007). در پژوهش حاضر، روش الکتروفورز قادر به جداسازی کامل جمعیت‌ها از یکدیگر بود و نتایج ارزنده‌ای نیز در زمینه وزن مولکولی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گونه‌های مورد بررسی به دست آمد که نشان می‌دهد این روش می‌تواند ابزاری مفید و قدرتمند برای تفکیک و جدایی تاکسون‌ها در سطح گونه و پایین‌تر از آن باشد. این نتایج از آن جهت با اهمیت است که در زمینه الکتروفورز پروتئین‌های بذر گونه‌های مورد بررسی، تاکنون گزارشی منتشر نشده است. اگر چه پژوهش‌های متعدد نشان داده است که مطالعه نیم‌رُخ نوارهای پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر روشی مناسب برای شناسایی تنوع و اختلافات بین تاکسون‌های گیاهی است. Crawford (۱۹۹۰) از بررسی جمعیت‌های سه گونه از جنس *Solanum* (*S. villosum* و *S. nigrum*، *S. americanum*) به این نتیجه رسید که جمعیت‌های هر گونه با وجود شباهت زیاد ریخت‌شناسی، از نظر نوارهای پروتئینی تفاوت داشته، ضریب تشابه پایینی را نشان دادند و چنین نتیجه‌گیری شد که الگوی نوارهای پروتئینی در جدایی

تبارشناختی بوم شناختی و الکتروفورز پروتئین‌های بذر با روش DSS مطالعه و مقایسه کرده‌اند، به دست آمده است که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. بنابراین، مطالعه گروه‌های گیاهی می‌تواند نتایج مفیدی برای شناخت محیط به دست دهد (Asri, 2007) و داده‌های فلوریستیک که معمولاً از نمونه‌های انتخابی منطقه مورد بررسی جمع‌آوری می‌شوند، ابزاری پایه برای آگاهی یافتن از تنوع زیستی منطقه مورد مطالعه هستند (Chiarucci and Bonini, 2005).

بررسی و تحلیل الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های بذر نیز به تعیین گروه‌هایی منجر شد که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف دو گونه است و با گروه‌بندی مبتنی بر نشانگر تبارشناختی بوم‌شناختی مطابقت دارد. به ترتیب ۱۳ و ۱۱ نوار برای گروه‌های تفکیک شده در گونه‌های *A. tenuifolia* و *A. biebersteinii* به دست آمد که بیشتر نوارها به ترتیب در محدوده وزنی ۳۸-۸۳ و ۴۷-۸۳ کیلو دالتون قرار دارند. لذا، می‌توان گفت که وزن مولکولی بیشتر پروتئین‌های ذخیره‌ای موجود در جنس *Achillea* در حدود ۳۸-۸۳ کیلو دالتون است. نوار شماره ۱۳ در زیستگاه ویژه ۶ در گونه *A. tenuifolia* دارای بیشترین وزن مولکولی (۲۰۵ کیلو دالتون) در بین جمعیت‌های مطالعه شده است. بنابراین، تفاوت در تعداد نوارها و وزن مولکولی گروه‌های تفکیک شده را می‌توان به متفاوت بودن شرایط بوم‌شناختی و تبارشناختی زیستگاه‌ها دانست. در این پژوهش، نوارهای انحصاری برای تفکیک جمعیت‌های مختلف گونه *A. tenuifolia* و جمعیت‌های *A. biebersteinii* و همچنین تفکیک بین گونه‌ای دو گونه مورد بررسی شناسایی شدند. بنابراین، می‌توان بیان کرد که افراد هر گروه، الگوی

جمعیت‌های یک گونه می‌تواند با ارزش باشد. همچنین، تنوع درون گونه‌ای از نظر پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در گونه *Chenopodium fremontii* نیز مطالعه شده است و این نتیجه به دست آمده است که تنوع درون گونه‌ای پیش از مقایسه بین گونه‌ها بررسی شود. Quike (۱۹۹۳) نشان داد که مطالعه الگوی نیم رخ پروتئینی می‌تواند ابزاری قدرتمند برای جدا نمودن تاکسون‌ها در سطوح پایین‌تر از گونه باشد. Vural و همکاران (۲۰۰۹) از پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر با روش الکتروفورز و مطالعات ریخت‌شناسی برای مشخص کردن سطح رده‌بندی *Veronica pusilla* و *V. erciyasdagi* در سطح گونه یا واریته استفاده کردند و *V. erciyasdagi* را به عنوان گونه‌ای مستقل معرفی کردند، در صورتی که پیش از آن، هر دو به عنوان واریته‌های *V. pusilla* در نظر گرفته شده بودند.

جمع‌بندی

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد جمعیت‌های مختلف یک گونه در شرایط بوم‌شناختی متفاوت بر اساس سرشت بوم‌شناختی خود دارای پاسخ‌های متفاوت ژنوتیپیک هستند، به طوری که افراد گونه‌های *A. biebersteinii* و *A. tenuifolia* در مناطق بررسی

شده با شرایط بوم‌شناختی متفاوت نشان‌دهنده دو گروه پروتئینی مختلف هستند که از نظر نوارهای پروتئینی با یکدیگر اختلاف دارند. وجود تفاوت و تنوع در نوارهای پروتئینی جمعیت‌های مشخص شده در گونه‌های مورد مطالعه مبین وجود تنوع درون گونه‌ای در مناطق مورد بررسی است. همچنین، نتایج حاصل از این سه نوع نشانگر (نشانگرهای فلورستیکی، بوم‌شناختی و الگوی پروتئینی بذر) نشان می‌دهد که هر سه نوع نشانگر توانایی تعیین تنوع درون گونه‌ای در جمعیت‌های مورد بررسی را دارا بوده، می‌توان با توجه به زمان، هزینه، ضرورت‌های پیش روی و امکانات موجود یکی از این سه نوع نشانگر را برای نیل به هدف تحقیقی مناسب انتخاب کرد و از آن جا که روش DSS، با صرف وقت و هزینه کمتر، دسترسی به نتایج متعدد را فراهم می‌سازد، می‌تواند به روشی کارآمد برای بررسی آسان‌تر، سریع‌تر، دقیق‌تر و مطمئن‌تر تعیین تنوع درون گونه‌ای و در مجموع سیستماتیک گیاهی به کار رود.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه بوعلی سینا انجام شده است.

منابع

- Asri, Y. (2007) Ecology of plant vegetation. Payam Noor University Press, Tehran, Iran (In Persian).
- Atri, M. (2006) Study on interspecific variation using DSS method. 1st National Congress of Plant Systematic, Tehran, Iran (in Persian).
- Atri, M., Asgari Nematian, M. and Shahgolzari, M. (2007) Determination and discrimination of intraspecific diversity of *Astragalus gossypinus* by eco-phytosociological method from west of Iran. Pakistan Journal of Biological Science 10: 1947-1955.
- Bremer, K. (1994) Asteraceae, cladistics and classification. Timber Press, Portland.
- Cain, S. A. O. and de Oliveira Castro, G. M. (1959) Manual of vegetation analysis. Harper and Brothers, New York.

- 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: 245-256 (in Persian).
- Chiarucci, A. and Bonini, I. (2005) Quantitative floristics as a tool for the assessment of plant diversity in Tuscan forests. *Forest ecology and management* 212: 160-170.
- Crawford, D. J. (1990) Plant molecular systematic and molecular approaches. John Wiley & Sons. New York.
- Espahbodi, K., Mirzaii, H. and Dehghan Shooraki, Y. (2007) Investigation of genetic variation of wild service (*Sorbus torminalis* (L.) Crantz), using morphological analysis of fruits and leaves. *Pajouhesh and Sazandegi* 72: 44-57 (in Persian).
- Fakhre Tabatabaei, S. M. (2005) Study on populations of *Triticum boeoticum* Boiss in Iran. PhD Thesis. University of Tehran, Tehran, Iran (in Persian).
- Goli, S. A. H., Rahimmalek, M. and Sayed Tabatabaei, B. E. (2008) Characteristics and fatty acid profile of yarrow (*Achillea tenuifolia*) seed oil. *International Journal of Agriculture and Biology* 10: 355-357.
- Hames, B. D. and Rickwood, D. (1990) Gel electrophoresis of proteins: A practical approach. 3rd edition. Oxford University Press, New York.
- Maassoumi, A. and Assadi, M. (2004) Papilionaceae: The genus *Astragalus* I. Research Institute of Rangelands and Forests, Tehran (in Persian).
- Mirzaei Nadoushan, H., Shariat, A. and Asadi Corom, F. (2002) Evaluation of genetic variation in different population of *Haloxylon* spp. using electrophoresis. *Iranian Journal of Rangeland Forests Plant Breeding and Genetic Research* 7: 99-117 (in Persian).
- Mozaffarian, V. (2007) A dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser Publishers, Tehran, Iran.
- Quike, D. L. J. (1993) Principles and techniques of contemporary taxonomy. Blackie Academic Professional, London.
- Rechinger, K. H. (1986) *Artemisia*. In: *Flora Iranica, Compositae* (Eds. Rechinger, K. H. and Hedge, I. C.) 158-214. Akademische Druck and Verlasantalt, Graz.
- Tahir, M. H. N., Sadaghat, H. A. and Bashir, S. (2002) Correlation and path coefficient analysis of morphological traits in sunflower. *International Journal of Agriculture and Biology* 4: 341-344.
- 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 Systematic and Evolution* 47: 168-172.
- Watanabe, W. (2002) Index to chromosome numbers in Asteraceae. Retrieved from <http://www.asteraceae.cla.kobeu.ac.jp/index.html>. On: 20 September 2011.

مطالعه تاکسونومی زیرجنس *Schedonorus* (P. Beauv.) Peterm. از جنس *Festuca* L. در ایران

سید ذبیح‌اله حسینی^{۱*}، محمدرضا رحیمی‌نژاد رنجبر^۱، حجت‌اله سعیدی^۱ و مصطفی اسدی^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

^۲ بخش تحقیقات گیاه‌شناسی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ایران

چکیده

مطالعه حاضر، بر پایه بررسی نمونه‌های جمع‌آوری شده از نواحی پراکنش گونه‌های مربوط به زیرجنس *Schedonorus* از ایران و همچنین، مشاهده نمونه‌های موجود در هرباریوم‌های وین و برلین، شامل نمونه‌های تیپ، انجام گرفته است. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، زیرجنس *Schedonorus* در ایران دارای سه گونه *Festuca arundinacea*، *F. gigantea* و *F. pratensis* است. همچنین، مشخص شد که گونه *F. arundinacea* در ایران دارای دو زیرگونه *orientalis* و *fenas* است و بیشترین دامنه انتشار را در مقایسه با دو گونه دیگر دارد. بررسی‌های انجام شده روی نمونه تیپ *F. elatior* subsp. *pratensis* var. *elbursiana* مترادف بودن آن را با *F. arundinacea* تأیید می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: *Schedonorus*، *Festuca pratensis*، *Festuca gigantea*، *Festuca arundinacea*، ایران

مقدمه

P. Beauv. و Darbyshire (۱۹۹۳) به صورت زیرجنسی

از *Lolium* L. در نظر گرفته‌اند.

هر چند تفاوت‌های ریخت‌شناسی آشکاری در نوع گل‌آذین، تعداد پوشه‌ها و تعداد رگه‌های پوشینه بین *Schedonorus* و *Lolium* وجود دارد، اما Darbyshire (۱۹۹۳) بر اساس داده‌های حاصل از DNA کلروپلاست و هسته نزدیکی این دو گروه را نشان داد، به طوری که *Schedonorus* را به عنوان زیرجنسی از *Lolium* در نظر گرفت. این در حالی است که Catalan

زیرجنس *Schedonorus* (P. Beauv.) Peterm.

شامل تعدادی از گونه‌های برگ‌پهن جنس *Festuca* L. است که در نواحی وسیعی از دنیا پراکنش دارند (Catalan, 2006). موقعیت تاکسونومیک این گروه مورد اختلاف نظر تاکسونومیست‌ها بوده است، به طوری که Tzvelev (۱۹۷۶) و Alexeev (۱۹۷۹) آن را زیرجنسی از *Festuca*، Soreng و Terrell (۱۹۹۷) و همچنین Holub (۱۹۹۸) به عنوان جنس *Schedonorus*

و همکاران (۲۰۰۷) در آخرین طبقه‌بندی خود برای *Loliinae* Dumort. که با استفاده از داده‌های مولکولی ارائه داده‌اند دو بخش *Plantynia* (Dumort.) Tzvel. و *Schedonorus* (P. Beauv.) Nees را برای *Festuca* subgenus *Schedonorus* در نظر گرفته‌اند.

از مهم‌ترین گونه‌های زیرجنس *Schedonorus* دو گونه: *F. arundinacea* Schreb. (tall fescue) و *F. pratensis* Huds. (meadow fescue) هستند که اهمیت بوم‌شناختی و اقتصادی فراوانی دارند. این دو تاکسون بر پایه گونه لینه‌ای *F. elatior* L. معرفی شده‌اند، با توجه به این که لینه *F. elatior* را بر اساس این دو عنصر ناسازگار ایجاد کرده بود بیشتر نویسندگان به کنار گذاشتن این نام موافقت کردند (Boissier, 1967؛ Terrell, 1991؛ Reveal et al., 1991). در بخش Bovinae (Fries ex Anderss.) Hack. گونه *F. elatior* را با دو زیرگونه *F. arundinacea* Hack. و *F. pratensis* Hack. برای ایران نام برده است. Bor (۱۹۷۰) در فلورا ایرانیکا پنج زیرجنس برای *Festuca* ذکر کرده است که در زیرجنس *Schedonorus* دو گونه *F. arundinacea* و *F. pratensis* همچنین در زیرجنس *Drymonaetes* گونه *F. gigantea* (L.) Vill. را برای ایران

گزارش داده است.

اگرچه پس از انتشار فلورا ایرانیکا (Bor, 1970) مطالعات مولکولی، کروموزمی و تشریحی روی گونه‌های این زیرجنس در ایران انجام شده است (Sheidai and Bagheri-Shabestarei, 2007؛ Zarinkamar and Eslami, 2009؛ Sharifi et al., 2011) ولی مطالعه تاکسونومی جامعی تاکنون در این گروه انجام نشده است. پژوهش حاضر به بررسی موقعیت تاکسونومی این زیرجنس در ایران می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

در مجموع، ۳۰ جمعیت مربوط به سه گونه *F. pratensis*، *F. gigantea*، *F. arundinacea* مطالعه شد. این جمعیت‌ها شامل نمونه‌های جمع‌آوری شده از نواحی پراکنش این گونه‌ها در ایران، نمونه‌های موجود در هرباریوم دانشگاه اصفهان (HUI) و همچنین نمونه‌های ایرانی موجود در هرباریوم‌های موزه تاریخ طبیعی وین (W) و هرباریوم برلین (B) هستند (جدول ۱). به علاوه، نمونه‌های تیپ *F. arundinacea* (W 0256329) و نیز نمونه تیپ *F. elatior* subsp. *pratensis* Hack. var. *elbursiana* Vetter (W 1144) نیز مطالعه شد.

جدول ۱- مشخصات جمعیت‌های مطالعه شده از گونه‌های جنس *Festuca* زیرجنس *Schedonorus* در ایران

گونه	مشخصات محل جمع‌آوری
<i>F. arundinacea</i>	البرز، طالقان، روستای فشم، پریشانی (HUI 19422)
<i>F. arundinacea</i>	اصفهان، سمیرم، ونک، جاسور، پریشانی (HUI 14438)
<i>F. arundinacea</i>	اصفهان، نطنز، ۳۵ کیلومتری جنوب غرب نطنز، ۲۰۹۶ متر، ابراهیم پور (HUI 17130)
<i>F. arundinacea</i>	کرمان، ۱۰ کیلومتری بافت به سیرجان، ۲۲۵۵ متر ابراهیم پور (HUI 17126)
<i>F. arundinacea</i>	مشهد، روستای بوژان، ۱۷۵۰-۱۶۲۰ متر، ابراهیم پور (HUI)
<i>F. arundinacea</i>	چهارمحال و بختیاری، گندمان، روستای له دراز، حسینی (HUI 19423)
<i>F. arundinacea</i>	چهارمحال و بختیاری، بن، ۲۱۵۰ متر، حسینی (HUI 19424)

گونه	مشخصات محل جمع آوری
<i>F. arundinacea</i>	خراسان رضوی، محسن آباد طاهری، روستای پوشان، ۱۳۰۰ متر، حسینی و نادری (HUI 19425)
<i>F. arundinacea</i>	کهنکلیویه و بویر احمد، یاسوج به اقلید، ۲۲۹۰ متر، حسینی و نادری (HUI 19426)
<i>F. arundinacea</i>	یزد، ۱۱ کیلومتر جنوب غرب بهاباد، روستای باقر آباد تقی آباد، کوه ده نبی، نادری و حسینی (HUI 19427)
<i>F. arundinacea</i>	تهران، کوه های البرز، شمشک، ۲۲۰۰ متر، Rechinger (B 100113641)
<i>F. arundinacea</i>	آذربایجان، جنوب شرق شاهپور، روبروی دریاچه ارومیه، ۱۳۰۰ متر، Rechinger (W 41817)
<i>F. arundinacea</i>	لرستان، درود، ۲۴۳۸ متر، Walter (W 18353)
<i>F. arundinacea</i>	البرز، کرج به چالوس، بعد از گچسر، ۲۴۲۰ متر، حسینی (HUI 19428)
<i>F. arundinacea</i>	همدان به توپسرکان، ۲۵۰۰ متر، حسینی (HUI 19429)
<i>F. gigantea</i>	مازندران، گلوگاه به دیباج، ۵ کیلومتر مانده به سرخه گریو، ۱۹۸۰ متر، حسینی (HUI 19421)
<i>F. gigantea</i>	گلستان، جنگل گلستان، بعد از گلستان از طرف دشت، ۷۵۱ متر، نادری (HUI 19420)
<i>F. gigantea</i>	گیلان، اسالم به خلخال، ۱۱۱۰ متر، حسینی (HUI 19419)
<i>F. gigantea</i>	گلستان، پارک ملی گلستان، ۸۰۰ متر، Wendelbo و Cobham (W 14282)
<i>F. pratensis</i>	اصفهان، داران، ۲۲۰۰ متر، حسینی (HUI 18016)
<i>F. pratensis</i>	خراسان، کوه های بینالود، ۱۹۱۱ متر، حسینی و نادری (HUI 18028)
<i>F. pratensis</i>	تهران، فیروزکوه به پلور، ۲۴۵۰ متر، حسینی (HUI 18026)
<i>F. pratensis</i>	تهران، فیروزکوه به پلور، ۲۷۹۰ متر، حسینی (HUI 18023)
<i>F. pratensis</i>	خراسان، اخلمد علیا، حسینی و نادری (HUI 18021)
<i>F. pratensis</i>	خراسان شمالی، کوه های هزارمسجد، حسینی (HUI 18019)
<i>F. pratensis</i>	اردبیل، اسالم به خلخال، ۲۰۹۰ متر، حسینی (HUI 18017)
<i>F. pratensis</i>	آذربایجان، قره داغ، ۲۰ تا ۲۵ کیلومتری اهر، Lamond و Termeh (W 44228)
<i>F. pratensis</i>	خراسان، کوه نیشابور، دره آبشار، بالای اخلمد، ۱۶۰۰ تا ۱۸۰۰ متر، Rechinger (W 4533-a)
<i>F. pratensis</i>	خراسان، هزار مسجد، ارداک به تلغور، ۱۲۰۰ تا ۱۶۰۰ متر، Rechinger (W 4946)
<i>F. pratensis</i>	اصفهان، سمیرم، چشمه قنات، ۱۹۰۰ متر، پریشانی (HUI 14436)

بحث و نتیجه گیری

F. arundinacea با داشتن دو زیرگونه

F. arundinacea subsp. *fenas* (Lag.) Arcang.

F. arundinacea subsp. *orientalis* (Hack.) و

Tzvelev بیشترین تنوع را نشان می دهد. این دو

زیرگونه که در برخی منابع به صورت گونه های مستقل

ذکر شده اند (Krechetovich and Bobrov, 1934)،

بر اساس اندازه سیخک پوشینه قابل شناسایی هستند. در

زیرگونه *fenas* پوشینه معمولاً فاقد سیخک مشخص

بر اساس مشاهدات این پژوهش، گیاهان زیرجنس

Schedonorus با داشتن گوشوارک های (auricle)

معمولاً سرنیزه ای، ساقه های برون غلافی و رأس

تخمدان بدون مو از سایر زیرجنس های *Festuca* قابل

تشخیص اند. همچنین، بررسی ها نشان داد که این

زیرجنس در ایران دارای سه گونه *F. arundinacea*،

F. gigantea و *F. pratensis* است. گونه

گروه پراکنش محدودتری نشان می‌دهد. این گونه، در صفات رویشی و زایشی تنوعات در خور توجهی ندارد و با توجه به منابع بررسی شده، در مقیاس جهانی هم تاکسون‌های فروگونه‌ای معتبر برای آن ذکر نشده است. *F. gigantea* با داشتن پوشینه‌هایی با سیخک‌های بلند و نیز ناخنک‌هایی هلالی شکل که به طور مشخص ساقه را در بر می‌گیرند، به راحتی از سایر تاکسون‌های این زیرجنس قابل تشخیص است (شکل ۱).

این مطالعه همچنین نشان داد که با توجه به وجود ناخنک‌های سرنیزه‌ای شکل مژه‌دار در نمونه تیپ *F. elatior* subsp. *pratensis* var. *elbursiana* مترادف بودن این تاکسون با *F. arundinacea* مورد تأیید است.

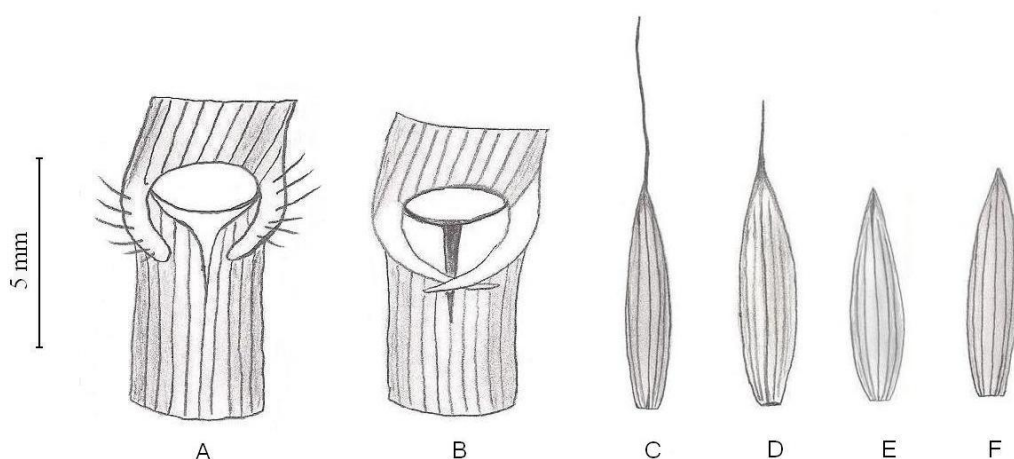
مطالعه دامنه انتشار گونه‌ها در این تاکسون نشان می‌دهد که *F. arundinacea* بیشترین پراکنش را در ایران دارد و گونه *F. gigantea* هم منحصراً در مناطق جنگلی شمال کشور می‌روید. به طور کلی، گیاهان این گروه ویژه زیستگاه‌های مرطوب‌اند (شکل ۲).

است، در حالی که در زیرگونه *orientalis* به ویژه پوشینه‌ها در بخش‌های بالایی سنبلیچه دارای سیخک مشخص هستند (شکل ۱).

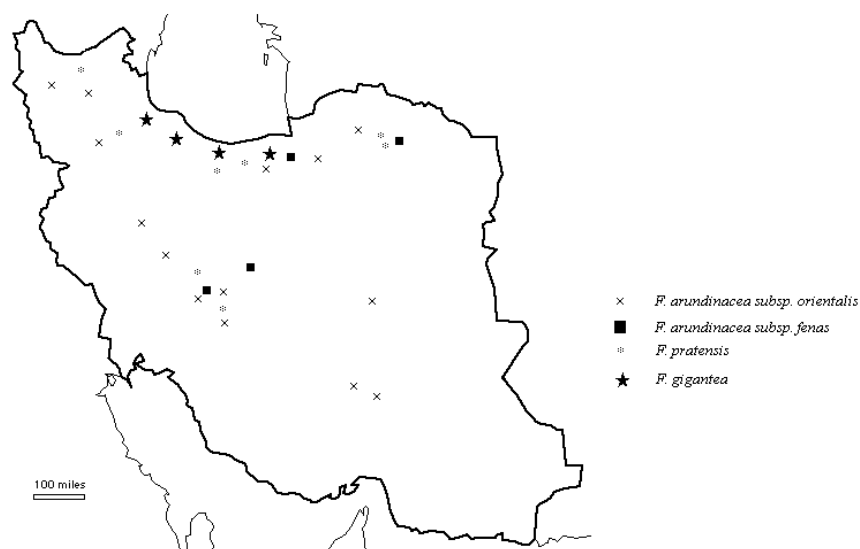
هر چند جمعیت‌های مختلف *F. pratensis* در صفاتی مانند طول ساقه، طول پانیکول، طول سنبلیچه و تعداد گلچه‌ها در هر سنبلیچه تنوع نشان می‌دهند، اما در این مطالعه تنوعات فروگونه‌ای تنها مربوط به زیرگونه *pratensis* مشاهده گردید.

شباهت ریخت‌شناسی و همچنین نزدیکی ژنتیکی دو گونه *F. arundinacea* و *F. pratensis* (Borrill et al., 1977) در برخی موارد سبب مخدوش شدن حدود آنها می‌شود. وجود ناخنک‌های مژه‌دار در *F. arundinacea* صفت مناسبی برای شناسایی این دو گونه به شمار می‌رود. البته، باید توجه داشت که این صفت در غلاف‌های برگ ساقه‌های نازای جوان (tiller) مطالعه شود زیرا معمولاً با افزایش سن گیاه و در ساقه‌های مسن‌تر ناخنک‌ها به تدریج تحلیل می‌روند (شکل ۱).

گونه *F. gigantea* در مقایسه با دو گونه دیگر این



شکل ۱- A) ناخنک در گونه *F. arundinacea* (B) ناخنک در دو گونه *F. pratensis* و *F. gigantea* (C) پوشینه در *F. gigantea* (D) پوشینه در *F. arundinacea* subsp. *orientalis* (E) پوشینه در *F. arundinacea* subsp. *fenas* (F) پوشینه در *F. pratensis*



شکل ۲- دامنه پراکنش گونه‌های زیرجنس *Schedonorus* در ایران

کلید شناسایی تاکسون‌های زیرجنس *Schedonorus* در ایران

- ۱- غلاف برگ ساقه‌های نازا (tiller) دارای ناخنک‌های معمولاً سرنیزه‌ای شکل بدون مژه ۲
- ۳- غلاف برگ ساقه‌های نازا دارای ناخنک‌های معمولاً سرنیزه‌ای شکل مژه‌دار ۳
- ۲- پوشینه دارای سیخک به درازای ۱۰ تا ۱۸ میلی‌متر، سطح بالایی برگ بدون شیار
F. gigantea (sect. *Plantynia*)
- پوشینه بدون سیخک یا با سیخک کوتاه
F. pratensis (sect. *Schedonorus*)
- ۳- پانیکول همواره متراکم، انشعابات کوتاه؛ سنبلیچه به درازای ۱۰ میلی‌متر؛ پوشینه‌ها معمولاً بدون سیخک
F. arundinacea subsp. *fenas* (sect. *Schedonorus*)
- پانیکول تا حدودی شُل، انشعابات بلند؛ سنبلیچه به درازای ۱۰ تا ۱۵ میلی‌متر؛ پوشینه‌ها در گلچه‌های بالاتر دارای نوک یا سیخک به درازای ۰/۷ تا ۲/۵ میلی‌متر، به ندرت تا ۵ میلی‌متر
F. arundinacea subsp. *orientalis* (sect. *Schedonorus*)

سپاسگزاری

از همکاری تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان
 Robert Vogt و همکارانشان در هرباریوم موزه تاریخ
 طبیعی وین و هرباریوم برلین قدردانی نمایم.

صمیمانه سپاسگزاری نموده، بر خود لازم می‌دانیم از
 زحمات آقایان پروفسور Ernst Vitek و پروفسور

منابع

Alexeev, E. B. (1979) Genus *Festuca* L. Florae Iranicae et territoriorum confinium. Novosti Sistematiki Vysshikh Rastenii 16: 7-35.

- Boissier, E. (1884) *Flora Orientalis*. 5: 616-627. Genvae et Basileae.
- Bor, N. L. (1970) Poaceae L. In: *Flora Iranica* (Ed. Rechinger, K. H.) 70: 74-87. Akademische Druck- U. Verlagsanstalt Graz.
- Borrill, M., Kirby, M. and Morgan, W. G. (1977) Study in *Festuca*. 11. Interrelationship of some putative diploid ancestors of the polyploidy broad-leaved fescues. *New Phytologist* 78: 661-674.
- Catalan, P. (2006) Phylogeny and evolution of *Festuca* L. and related genera of subtribe Loliinae (Poeae, Poaceae) In: *Plant genome: biodiversity and evolution* (Eds. Sharma, A. K. and Sharma, A.) 1(D): 255-303. Science Publisher, Enfield.
- Catalan, P., Torrecilla, P., Lopez-Rodriguez, J. A., Muller, J. and Stace, C. A. (2007) A systematic approach to subtribe Loliinae (Poaceae: Pooideae) based on phylogenetic evidence. *Aliso* 23: 380-405.
- Darbyshire S. J. (1993) Realignment of *Festuca* subgenus *Schedonorus* with the genus *Lolium* (Poaceae). *Novon* 3: 239-243.
- Holub, J. (1998) Reclassifications and new names in vascular plants. *Preslia* 70: 97-122.
- Krechetovich, V. I. and Bobrov, E. G. (1934) *Festuca* L. s.str. In: *Flora of the U.S.S.R. (Flora SSSR)* (Ed. Komarov, V. L.) 2: 498-5535. Akademiiia Nauk SSSR, Leningrad.
- Reveal, J. L., Terrell, E. E., Wiersema, J. H. and Scholz, H. (1991) Proposal to reject *Festuca elatior* L. with comments on the typification of *F. pratensis* and *F. arundinacea* (Poaceae). *Taxon* 40(1): 135-137.
- Sharifi, M., Mardi, M., Sahebi, J., Catala., P. and Diaz-Perez, A. (2009) Genetic diversity and structure among Iranian tall fescue populations based on genomic-SSR and EST-SSR marker analysis. *Plant systematics and evolution* 282: 57-70.
- Sheidai, M. and Bagheri-Shabestare, E. (2007) Cytotaxonomy of some *Festuca* species and populations in Iran. *Acta Botanica Croatica* 66(2): 143-151.
- Soreng, R. J. and Terrell, E. E. (1967) Taxonomic note on *Schedonorus*, a segregate genus from *Festuca* or *Lolium*, with a new nothogenus, $\times$ *schedololium*, and new combinations. *Phytologia* 83(2): 85-88.
- Terrell, E. E. (1967) Meadow Fescue: *Festuca elatior* L. or *F. pratensis* Hudson? *Brittonia* 9(2): 129-132.
- Tzevele, N. N. (1976) Grasses of the Soviet Union, Part 1. Nauka Publisher, Leningrad, Soviet Union.
- Zarinkamar, F. and Eslami, N. (2011) Foliar anatomy and micromorphology of *Festuca* L. and its taxonomic applications. *Taxonomy and Biosystematics* 8: 55-63.

استفاده از الگوهای پروتئینی در بررسی تنوع ژنتیکی برخی ارقام منتخب کلزا

رؤیا رضوی زاده^۱* و فاطمه رستمی^۲

^۱ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران

^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران

چکیده

تنوع پروتئینی دانه‌ها و برگ‌های لپه‌ای پنج روزه چهار رقم منتخب گیاه کلزا شامل الایت، اکاپی، تاسیلو و زرفام با استفاده از ژل الکتروفورز سدیم دودسیل سولفات به منظور شناسایی نشانگرهای پروتئینی بررسی شد. میزان پروتئین محلول کل در پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه ارقام کلزا تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت در حالی که این مقدار در برگ‌های لپه‌ای متفاوت بود. الگوهای پروتئینی و بررسی باندها با برنامه ImageJ تفاوت‌های در خور توجهی را نشان دادند. بیان نسبی شش باند پروتئینی در دانه‌ها و برگ‌های لپه‌ای متفاوت بود و سه نشانگر پروتئینی از الگوی پروتئینی دانه و برگ‌های لپه‌ای شناسایی گردید. نتایج بررسی روابط بر اساس حضور و غیاب باندهای پروتئینی ویژه در الگوی پروتئینی دانه نشان داد که ارقام تاسیلو و الایت دارای بیشترین شباهت بودند.

واژه‌های کلیدی: پروتئین برگ‌های لپه‌ای، پروتئین ذخیره‌ای دانه، کلزا، نشانگرهای پروتئینی

مقدمه

پروتئین‌ها، محصولات نهایی مسیرهای ژنتیکی هستند که در مراحل مختلف حیات سلول و در پاسخ به نیازهای سلولی تولید و به سوی جایگاه‌های مناسب هدف‌گیری می‌شوند (Nelson and Cox, 2007). در میان انواع پروتئین‌های گیاهی، پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر (SSPs) که در سطوح بالا و در مراحل انتهایی نمو بذر گیاهان در آنها تجمع می‌یابند (Sánchez-Romero et al; 2002; Sergeant et al., 2009) به عنوان ابزاری برای بررسی تنوع ژنتیکی بسیار مورد توجه قرار

گرفته‌اند. مطالعه SSPs اطلاعات مهمی در مورد روابط خویشاوندی در گیاهان به ویژه گیاهانی با ارزش غذایی بالا به دست می‌دهد. به دلیل ثابت‌تر بودن نوع و میزان SSPs در بذرهای بالغ نسبت به سایر بافت‌های گیاهی (Magni et al., 2007)، تحلیل آنها می‌تواند ابزاری برای شناسایی ارقام و گونه‌های گیاهی باشد (Kakaei and Kahrizi, 2011). در مقابل، پروتئین‌های رویشی (VSPs) (پروتئین‌های موجود در بافت‌های رویشی گیاه مانند: ریشه‌ها، ساقه‌ها، برگ‌ها و غده‌ها) تحت تأثیر شرایط محیطی و تنش‌ها قرار می‌گیرند (Tamkoc and

(Arsalan, 2010).

کلزا (*Brassica napus*)، به خانواده چلیپاییان (Brassicaceae)، از گیاهان زراعی مهم در مدیترانه و برخی مناطق خاورمیانه متعلق است (Bybordi, 2010) که به عنوان یک گیاه دانه روغنی با ارزش در سراسر جهان کشت می‌شود (Sadia et al., 2009). درصد بالای پروتئین و اسیدهای چرب غیر اشباع مانند اولئیک اسید، همچنین میزان اندک اسیدهای چرب اشباع موجود در بذره‌های این گیاه ارزش غذایی و اقتصادی آن را افزایش داده است (Nasr et al., 2006). کلزا دانه‌هایی با ۴۰ درصد روغن و حدود ۱۵ درصد پروتئین (به عنوان ترکیبات ذخیره‌ای اصلی) تولید می‌کند (Gunstone et al., 1995؛ Norton and Harris, 1975). مطالعات مولکولی و بیوشیمیایی، مسیرهای بیوسنتزی مسؤول تولید و تجمع پروتئین و روغن را در بذر *B. napus* مشخص کرده‌اند (Rawsthorne, 2002؛ Schwender and Ohlrogge, 2002؛ Hill et al., 2003؛ Goffman et al., 2003؛ Schwender et al., 2003؛ Ruuska et al., 2004؛ Kubis et al., 2004). با وجود اینکه امروزه استفاده از تکنیک‌های الکتروفورز دو بعدی (2-DE) و روش‌های شناسایی پروتئین به وسیله اسپکترومتر جرمی (MS) گسترش یافته است (Gorg et al., 2003؛ Aebersold and Mann, 2003)، بررسی SSPs با استفاده از ژل الکتروفورز یک بعدی، به ویژه SDS-PAGE، همچنان به عنوان روشی ساده، سریع، ارزان و رایج برای مطالعه و مقایسه تفاوت الگوی پروتئینی ارقام و گونه‌های مختلف گیاهی و تنوع ژنتیکی آنها مطرح است. از آنجا که بررسی تنوع ژنتیکی نقش مهمی در به نژادی ژنتیکی گیاهان ایفا

می‌کند، کاربرد نشانگرهای پروتئینی نظیر SSPs در مطالعه تنوع ژنتیکی ژرم پلاسما به منظور استفاده در برنامه‌های اصلاح نباتات بسیار مورد توجه است (Javid et al., 2004). الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در مطالعات قبلی نیز استفاده شده است. برای نمونه نشانگرهای پلی مورفیسم ژنتیکی گونه‌های *Brassica* در بنگلادش، ژاپن، چین و دانمارک با روش SDS-PAGE توسط Rahman و Hirata (۲۰۰۴) تشخیص داده شد. همچنین، Kakaei و Kahrizi (۲۰۱۱) به مطالعه پروفایل پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در ارقام مختلف *B. napus* و تنوع ژنتیکی آنها پرداختند.

با توجه به ارزش غذایی و اقتصادی بسیار بالای ارقام مختلف کلزا و به دلیل محدود بودن اطلاعات موجود در مورد تفاوت‌های پروتئینی (Rahman and Hirata, 2004) و تنوع ژنتیکی میان آنها، مطالعه حاضر به منظور تکمیل اطلاعات در زمینه آنالیزهای مقایسه‌ای و تنوع ژنتیکی ارقام مختلف کلزا به وسیله الکتروفورز یک بعدی (SDS-PAGE) صورت گرفته، شناسایی برخی ارقام منتخب کلزا با استفاده از نشانگرهای پروتئینی ذخیره‌ای بذر و مقایسه با پروتئین‌های رویشی (برگ‌های لپه‌ای) انجام گردیده است. به دلیل وابستگی جوانه‌زنی بذر به لپه‌ها به ویژه در مراحل ابتدایی رشد، الگوی پروتئینی برگ‌های لپه‌ای پس از گذشت پنج روز از کشت در محیط MS نیز توسط SDS-PAGE بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط کشت

بذر چهار رقم کلزا (الایت، اکاپی، تاسیلو و زرفام)

از مرکز تولید دانه‌های روغنی وزارت جهاد کشاورزی استان اصفهان تهیه شد. دانه‌های بالغ هر رقم پس از ضدعفونی با الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه و آب ژاول ۲۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه، ۴ تا ۵ مرتبه در زیر لامینار و تحت جریان هوای استریل شستشو و در محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) حاوی ۱ درصد آگار، ۳ درصد سوکروز کشت داده شدند. شیشه‌های کشت حاوی بذر در اتاق رشد با شرایط تنظیم شده دمایی و در فتوپریود ۸/۱۶ ساعت نور/تاریکی به مدت ۴ هفته قرار گرفتند تا گیاهان رشد نمایند و پس از پنج روز از برگ‌های لپه‌ای هر رقم به منظور استخراج پروتئین و ژل الکتروفورز یک بعدی استفاده شد.

استخراج پروتئین بذر و برگ‌های لپه‌ای

پس از جداسازی پوسته ۵۰ بذر از هر رقم، لپه‌ها و رویان موجود در بذرها با استون چربی‌زدایی شده، پودر فاقد چربی (defatted powder) لپه‌ها و رویان حاصل از هر رقم پس از خشک شدن در دمای اتاق برای استخراج SSPs استفاده شد (Ehsanpour *et al.*, 2010). استخراج پروتئین با استفاده از بافر استخراج حاوی ۵۰ میلی‌مولار تریس، اسیدیت ۷/۵، ۱ میلی‌مولار DTT، ۲ میلی‌مولار Na₂EDTA، ۳ میلی‌مولار ۲-مرکاپتواتانول و به نسبت ۱ به ۳۰ (وزنی/حجمی) بر اساس روش Rostami و Ehsanpour (۲۰۰۹) انجام شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۲ تا ۳ ساعت روی شیکر مدل POLE IPI PARS با سرعت ۵۰ دور در دقیقه تکان داده شد، سپس به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰ و ۴ درجه سانتیگراد توسط سانتریفیوژ مدل 3k20 SIGMA سانتریفیوژ گردید. پروتئین‌های

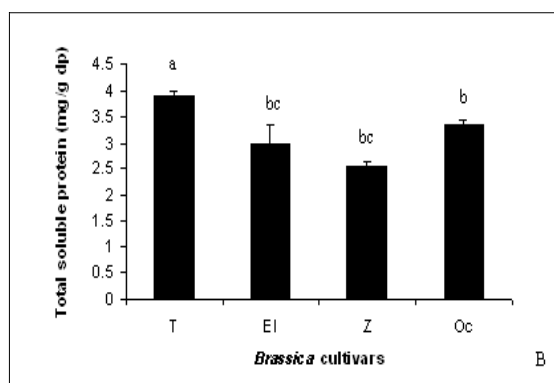
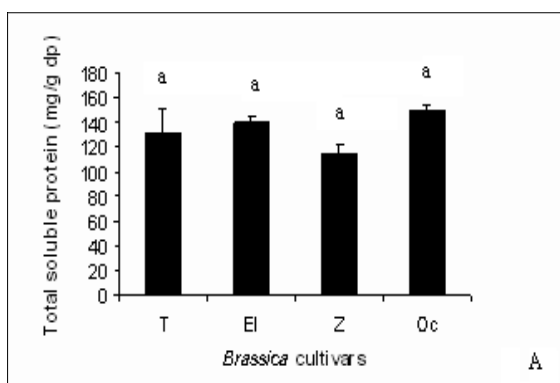
ذخیره‌ای موجود در محلول رویی هر رقم کلزا توسط استون سرد به نسبت ۱ به ۴ (حجمی/حجمی) رسوب داده شد و به مدت ۲۵ دقیقه در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری و مجدداً به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰ rpm و ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند. در نهایت، رسوب پروتئینی هر رقم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق خشک شد و در ۴۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج مذکور همگن و به مدت ۱۵ دقیقه با شرایط قبل سانتریفیوژ شد. به طور مشابه، استخراج پروتئین از برگ‌های لپه‌ای کلزا (۰/۱ گرم بافت) صورت گرفت و در نهایت، رسوب پروتئینی هر رقم در ۵۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج مذکور همگن و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰ rpm و ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ و برای اندازه‌گیری میزان پروتئین کل و بررسی الگوی پروتئینی استفاده شد.

سنجش پروتئین کل و SDS-PAGE

اندازه‌گیری پروتئین کل (mg/g defatted powder) بر اساس روش تغییر یافته Bradford (۱۹۷۶)، با استفاده از BSA به عنوان پروتئین استاندارد انجام (Olson and Markwell, 2007) و پس از یکسان‌سازی نمونه‌ها، الگوی الکتروفورزی (SDS-PAGE) پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر و پروتئین‌های برگ‌های لپه‌ای با استفاده از ژل جداکننده (separating) ۱۲/۵ درصد و ژل متراکم کننده (stacking) ۵ درصد به وسیله تانک الکتروفورز ساخت شرکت PEQLAB مدل ۱۶۱۴-۴۵ و با استفاده از نشانگر پروتئینی Preotein ladder PLUS PS11 در ۱۳۰ ولت انجام شد. پس از رنگ‌آمیزی ژل با نیترات نقره (Salehi and McCarthy, 2002)،

مشاهدات

اندازه‌گیری پروتئین محلول کل SSPs در لپه‌ها و رویان چهار رقم کلزا شامل الایت، اکاپی، تاسیلو و زرفام تفاوت معنی‌داری نشان نداد، در حالی که پروتئین محلول کل برگ‌های لپه‌ای در برخی ارقام متفاوت بود. رقم تاسیلو بیشترین میزان پروتئین محلول کل را نسبت به سایر ارقام دارا بود و ارقام الایت و زرفام از نظر محتوای پروتئین کل تفاوتی نداشتند (شکل ۱).



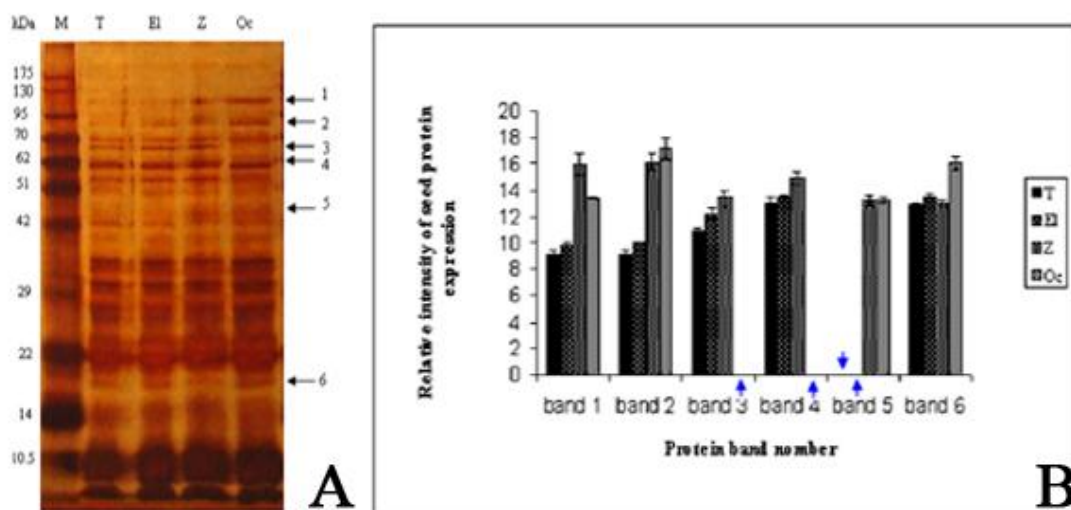
شکل ۱- A) میزان پروتئین محلول کل پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر (SSPs) در لپه‌ها و رویان در چهار رقم کلزا به ترتیب شامل: تاسیلو (T)، الایت (EI)، زرفام (Z) و اکاپی (Oc)؛ B) میزان پروتئین محلول کل برگ‌های لپه‌ای. dp: پودر فاقد چربی (defatted powder). داده‌ها میانگین $\pm$ Std و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ بر اساس آزمون دانکن است.

نبود، در حالی که باند ۵ (با وزن تقریبی ۴۵ کیلو دالتون) در ارقام تاسیلو و الایت مشاهده نشد (شکل ۲). نتایج بررسی الگوی الکتروفورزی پروتئین در برگ‌های لپه‌ای چهار رقم کلزا (شکل ۳) بیشترین میزان بیان باند ۱ با وزن تقریبی ۸۰ کیلو دالتون را در رقم تاسیلو و سپس زرفام نشان داد. همچنین، باندهای ۲ (با وزن تقریبی ۶۳ کیلو دالتون) و ۶ (با وزن تقریبی ۳ کیلو دالتون) به ترتیب بیشترین سطح بیان را در ارقام تاسیلو و زرفام نشان دادند. افزایش سطح بیان باند ۴ (۲۷ کیلو دالتون) در رقم تاسیلو تشخیص داده شد. باند پروتئینی با وزن مولکولی ۶۳ کیلو دالتون (باند ۲) در رقم اکاپی

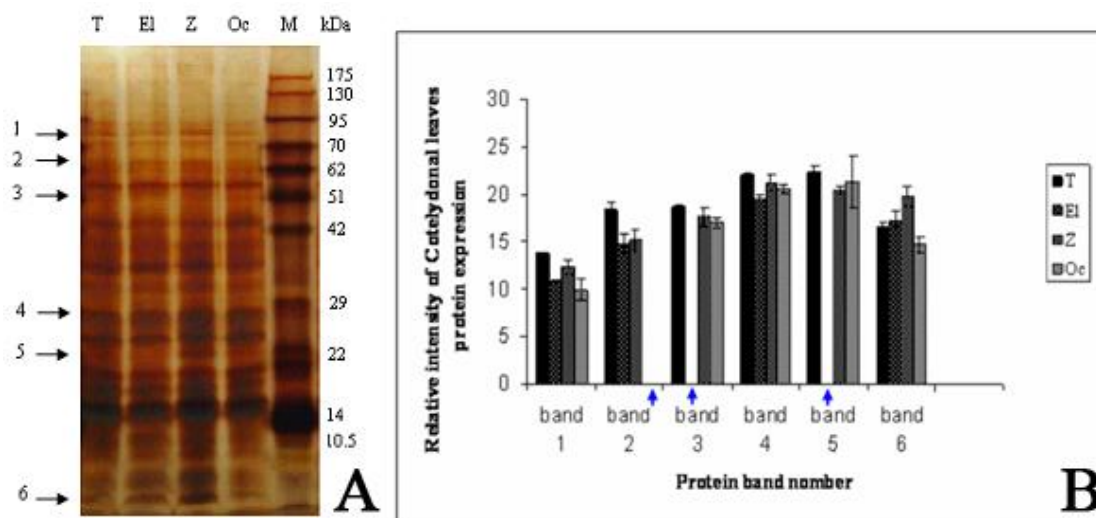
بررسی الگوی پروتئینی بذر و برگ‌های لپه‌ای چهار رقم کلزا با استفاده از SDS-PAGE و آنالیز باندهای پروتئینی با نرم‌افزار ImageJ، تفاوت معنی‌داری در بیان نسبی ۶ باند پروتئینی در دانه‌ها و برگ‌های لپه‌ای ارقام کلزا مشخص کرد. نتایج این بررسی نشان داد که باندهای پروتئینی ۱ و ۲ به ترتیب با وزن تقریبی ۱۱۰ و ۸۰ کیلو دالتون در بذر ارقام تاسیلو و الایت کمترین سطح بیان و باند ۶ (۲۰ کیلو دالتون یا کمتر) در رقم اکاپی بیشترین سطح بیان را داشت. علاوه بر این، بیان باندهای ۳ (با وزن تقریبی ۶۷ کیلو دالتون) و ۴ (با وزن تقریبی ۶۲ کیلو دالتون) در رقم اکاپی قابل تشخیص

تاسیلو علاوه بر دارا بودن بیشترین محتوای پروتئین محلول کل نسبت به سایر ارقام، دارای بیشترین سطح بیان نسبی باندهای ۱، ۲ و ۴ نیز بود.

مشاهده نشد در صورتی که بیان باندهای ۳ و ۵ به ترتیب با وزن تقریبی ۵۱ و ۲۲ کیلو دالتون در رقم الایت تشخیص داده نشد. این بررسی نشان داد که رقم



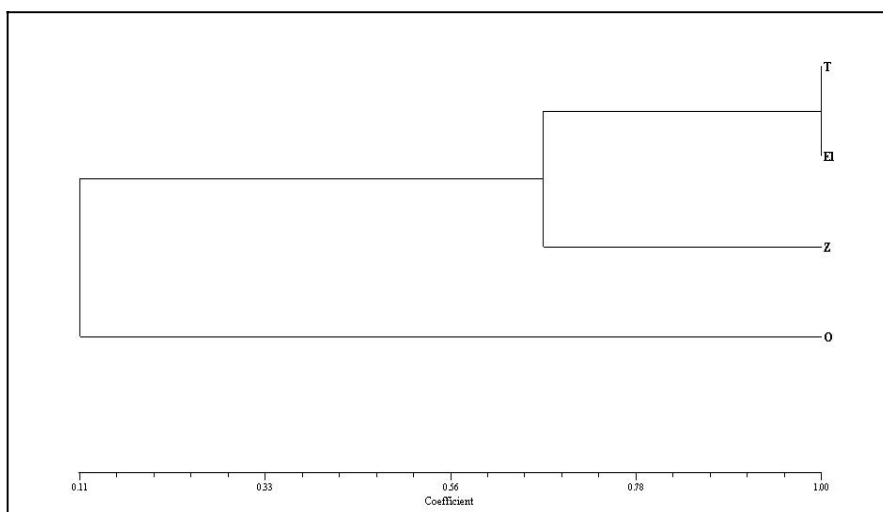
شکل ۲- A) الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر (SSPs) چهار رقم کلزا به ترتیب شامل: تاسیلو (T)، الایت (El)، زرفام (Z) و اکابی (Oc)؛ B) آنالیز میزان بیان نسبی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر چهار رقم کلزا. داده‌ها میانگین ۳ تکرار $\pm$ Std.



شکل ۳- A) الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های برگ‌های لپه‌ای چهار رقم کلزا به ترتیب شامل: تاسیلو (T)، الایت (El)، زرفام (Z) و اکابی (Oc)؛ B) آنالیز میزان بیان نسبی پروتئین‌های برگ‌های لپه‌ای چهار رقم کلزا. داده‌ها میانگین ۳ تکرار $\pm$ Std.

شد. این نتایج نشان داد که ارقام تاسیلو و الایت دارای بیشترین شباهت با یکدیگر بوده، رقم اکابی کمترین شباهت را با سایر ارقام داشت. همچنین، ارقام تاسیلو و الایت بیشترین شباهت را با رقم زرفام داشتند (شکل ۴).

بر اساس حضور و عدم حضور (غیاب) باندهای پروتئینی ویژه‌ای شامل باندهای ۳، ۴ و ۵ در الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر روابط خویشاوندی چهار رقم منتخب کلزا در این مطالعه بررسی



شکل ۴- دندروگرام بررسی روابط خویشاوندی بر اساس باندهای پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر (SSPs) در بذر چهار رقم کلزا به ترتیب شامل: تاسیلو (T)، الایت (El)، زرفام (Z) و اکاپی (Oc). داده‌ها میانگین ۳ تکرار $\pm$ Std.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه، محتوای پروتئین محلول کل در بذر هیچ کدام از ارقام منتخب کلزا تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. نتایج این بررسی با نتایج به دست آمده از مطالعه محتوای پروتئین محلول کل در چهار رقم پسته ایرانی مشابه بود (Ehsanpour *et al.*, 2010). اثر پذیری پروتئین‌های موجود در بافت‌های رویشی گیاهان (VSPs) از شرایط کشت و تغییرات محیطی احتمالاً می‌تواند یکی از دلایل متفاوت بودن محتوای پروتئین محلول کل برگ‌های لپه‌ای بین ارقام مورد مطالعه کلزا در این تحقیق باشد.

پروتئین‌ها، ترکیباتی ضروری در اغلب عملکردهای سلولی هستند. شناساگرهای پروتئینی به ویژه پروتئین‌های ذخیره‌ای موجود در بذر گیاهان (SSPs) به دلیل عدم تأثیر پذیری از شرایط محیطی (Magni *et al.*, 2007) و پایدارتر بودنشان نسبت به پروتئین‌های موجود در بافت‌های رویشی، ابزار و تکنولوژی معتبر و قدرتمندی در شناسایی ارقام و گونه‌های گیاهی معرفی

شدند (Javid *et al.*, 2004; Jha and Ohri, 1996). Seferoglu *et al.*, 2006; Iqbal *et al.*, 2005; Criley *et al.*, 2008). بنابراین، پروفایل الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر می‌تواند باندهای پروتئینی ویژه‌ای را به صورت نشانگر مطرح نماید (Razavizadeh and Ehsanpour, 2013). بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی بر پایه نشانگرهای مولکولی مانند پروتئین‌ها می‌تواند در برنامه‌های اصلاح نباتات نقش تعیین‌کننده‌ای داشته باشد. در مطالعه حاضر، عدم بیان ۳ باند پروتئینی در ژل مربوط به دانه شامل باندهای ۶۷ (باند ۳)، ۶۲ (باند ۴) در رقم اکاپی و ۴۵ کیلو دالتونی (باند ۵) در ارقام تاسیلو و الایت و نیز سه باند پروتئینی در ژل مربوط به برگ‌های لپه‌ای شامل باند ۶۳ (باند ۲) در رقم اکاپی، ۵۱ (باند ۳) و ۲۲ کیلو دالتونی (باند ۵) در رقم الایت به عنوان نشانگرهای پروتئینی ارقام منتخب کلزا شناخته شد. به طور مشابه، در مطالعات قبلی، شناسایی واریته‌های *Ipomoea* (Das and Mukherjee, 1995) and ارقام پسته ایرانی

- هستند.
- نتایج حاصل از بررسی روابط خویشاوندی بر پایه حضور یا عدم حضور باندهای پروتئینی خاص در ژل مربوط به دانه نشان داد که ارقام تاسیلو و الایت بیشترین شباهت را با یکدیگر را داشتند. مشابه با مطالعه حاضر، حضور و غیاب باندهای پروتئینی در مطالعات پیشین نیز برای تشخیص تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی گونه‌های عدس (Ahmad *et al.*, 1997) و ارقام پسته ایرانی (Ehsanpour *et al.*, 2010) استفاده شده است.
- سپاسگزاری**
- نویسندگان لازم می‌دانند از حمایت‌های دانشگاه پیام نور مرکز نجف‌آباد برای انجام این پژوهش قدردانی نمایند.
- (Ehsanpour *et al.*, 2010) و برخی ارقام سویا (Razavizadeh and Ehsanpour, 2013) بر پایه مطالعه الگوی پروتئینی SSPs صورت گرفته است. علاوه بر این، شناساگرهای پروتئینی SSPs به منظور بررسی روابط تاکسونومیک و تشخیص واریته‌های کشت شده برخی گونه‌های گیاهان مهم زراعی مانند: blackgram (Ghafoor and Ghafoor *et al.*, 2002)، (Anu and *Capsicum annuum* L., Ahmad, 2005)، (Menella *et al.*, 1999) *Solanum*, Peter, 2003)، *Arachis* (Rao *et al.*, 1992) *Vigna* spp. (Siddigui wheat, (Javid *et al.*, 2004) *hypogaea* (Win *et Vigna unguiculata* و Naz, 2009) *al.*, 2011) نیز به کار گرفته شده است. بنابراین، این دسته از نشانگرهای مولکولی قابل به کارگیری در تشخیص و جداسازی ارقام مختلف *Brassica* نیز

منابع

- Aebersold, R. and Mann, M. (2003) Mass spectrometry-based proteomics. *Nature* 422: 198-207.
- Agrawal, G. K., Yonekura, M., Iwahashi, Y., Iwahashi, H. and Rakwal, R. (2005) System, trends and perspectives of proteomics in dicot plants Part I: technologies in proteome establishment. *Journal of Chromatogr B* 815: 109-123.
- Ahmad, M., Fautrer, A. G., Burritt, D. J. and Mcneil, D. L. (1997) Genetic diversity and relationships in *Lens* species and their F1 interspecific hybrids as determined by SDS-PAGE. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 25(2): 99-108.
- Anu, A. and Peter, K. V. (2003) Analysis of seed protein of 29 lines of *Capsicum annuum* L. by polyacrylamide gel electrophoresis. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50: 239-243.
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry* 72: 248-254.
- Bybordi, A. (2010) Effects of salinity and N on the Growth, photosynthesis and N Status of canola (*Brassica napus* L.). *Notulae Scientia Biologicae* 2(2): 92-97.
- Criley, R. A., Roh, M. S., Kikuchi, M. and Manshardt, R. M. (2008) A comparison of *Gardenia augusta* cultivars using isozymes and RAPD markers. *Acta Horticulturae* 766:

461-468.

- Das, S. and Mukherjee, K. K. (1995) Comparative study on seed proteins of *Ipomoea*. Seed Science and Technology 23(2): 501-509.
- Ehsanpour, A. A., Shojaie, B. and Roatami, F. (2010) Characterization of seed storage protein patterns of four Iranian Pistachios using SDS-PAGE. Natural Science 2(7): 737-740.
- Ghafoor, A. and Ahmad, Z. (2005) Diversity of agronomic traits and total seed protein in blackgram *Vigna mungo* (L.) Hepper. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 47(2): 69-75.
- Ghafoor, A., Ahmad, Z., Qureshi, A. S. and Bashir, M. (2002) Genetic relationship of *Vigna mungo* (L.) Hepper and *V. radiata* (L.) R. Wilezek based on morphological traits and SDS-PAGE. Euphytica 123: 367-378.
- Goffman, F. D., Ruckle, M., Ohlrogge, J. and Shachar-Hill, Y. (2004) Carbon dioxide concentrations are very high in developing oilseeds. Plant Physiology and Biochemistry 42: 703-708.
- Gorg, A., Weis, W. and Dunn, M. J. (2003) Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. Proteomics 4: 3665-3685
- Gunstone, D. F., Harwood, J. L. and Padley, F. B. (1995) The lipid handbook. Chapman and Hall, London.
- Hill, L. M., Morley-Smith, E. R. and Rawsthorne, S. (2003) Metabolism of sugars in the endosperm of developing seeds of oilseed rape. Plant Physiology 131: 228-236.
- Iqbal, S. H., Ghafoor, A. and Ayub, N. (2005) Relationship between SDS-PAGE markers and *Ascochyta blight* in chickpea. Pakistan Journal of Botany 37(1): 87-96.
- Javid, A., Ghafoor, A. and Anwar, R. (2004) Seed storage protein electrophoresis in groundnut for evaluating genetic diversity. Pakistan Journal of Botany 36(1): 25-29.
- Jha, S. S. and Ohri, D. (1996) Phylogenetic relationships of *Cajanus cajan* (L.) Mill sp. (pigeonpea) and its wild relatives based on seed protein profiles. Genetic Resources and Crop Evolution 43(3): 27-281.
- Kakaei, M. and Kahrizi, D. (2011) Study of seed proteins pattern of *brassica napus* varieties via sodium dodecyl sulfate polyacrylamid gel electrophoresis. International Research Journal of Biotechnology 2(1): 026-028.
- Kubis, S. E., Pike, M. J., Everett, C. J., Hill, L. M. and Rawsthorne, S. (2004) The import of phosphoenolpyruvate by plastids from developing embryos of oilseed rape *Brassica napus* (L.) and its potential as a substrate for fatty acid synthesis. Journal of Experimental Botany 55: 1455-1462.
- Magni, C., Scarafoni, A., Herndl, A., Sessa, F., Prinsi, B., Espen, L. and Duranti, M. (2007) Combined 2-D electrophoretic approaches for the study of white lupin mature seed storage proteome. Phytochemistry 68: 997-1007.
- Menella, G., Sanaja, V. O., Tonini, A. and Magnifico, V. (1999) Seed storage protein characterization of *Solanum* sp. and of cultivars and androgenetic lines of *S. melogena* L. by SDS-PAGE and AE-HPLC. Seed Science and Technology 27: 23-35.

- Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Nasr, N., Khayami, M., Heidari, R. and Jamei, R. (2006) Genetic diversity among selected varieties of *Brassica napus* (Cruciferae) based on the biochemical composition of seeds. *Journal of (University of Tehran)* 32(1): 37-40.
- Nelson, D. L. and Cox, M. M. (2007) *Lehninger principles of biochemistry*. 5th edition, W. H. Freeman and Company, New York.
- Norton, G. and Harris, J. F. (1975) Composition changes in developing rape seed (*Brassica napus* L.). *Planta* 123: 163-174.
- Olson, B. J. S. C. and Markwell, J. (2007) Assays for determination of protein concentration. *Current Protocols in Protein Science* 3.4: 1-29.
- Rahman, M. M. and Hirata, Y. (2004) Genetic diversity in Brassica species using SDS PAGE analysis. *Journal of Biological Science* 4(2): 234-238.
- Rao, R., Vaglioli, M. D., D'Urzo, M. P. and Month, L. (1992). Identification of *Vigna* spp. through specific seed storage polypeptides. *Euphytica* 62: 39-43.
- Rawsthorne, S. (2002) Carbon flux and fatty acid synthesis in plants. *Progress in Lipid Research* 41: 182-196.
- Razavizadeh, R. and Ehsanpour, A. A. (2013) Application of seed storage protein marker for identification of seven soybean (*Glycine max*) cultivars. *Journal of Cell and Tissue* 3(4): 319-326 (in Persian).
- Rohlf, F. J. (2000) NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1. Exeter Software, New York.
- Rostami, F. and Ehsanpour, A. A. (2009) Application of silver thiosulfate (STS) on silver accumulation and protein pattern of potato (*Solanum tuberosum* L.) under *in vitro* culture. *Malaysian Applied Biology Journal* 32(2): 49-54.
- Ruuska, S. A., Schwender, J. and Ohlrogge, J. B. (2004) The capacity of green oilseeds to utilize photosynthesis to drive biosynthetic processes. *Plant Physiology* 136: 2700-2709.
- Sadia, M., Salman, A. M., Rabbani, M. A. and Pearce, S. R. (2009) Electrophoretic characterization and the relationship between some *Brassica* species. *Electronic Journal of Biology* 5(1): 1-4.
- Salehi, Z. and McCarthy, J. E. G. (2002) Structure and function of cap-associated proteins in yeast. PhD. Thesis, University of Manchester, Institute of Sciences and Technology (UMIST), Manchester, England.
- Sánchez-Romero, C., Perán-Quesada, R., Barceló-Muñoz, A. and Pliego-Alfaro, F. (2002) Variations in storage protein and carbohydrate levels during development of avocado zygotic embryos. *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 1043-1049.
- Schwender, J. and Ohlrogge, J. B. (2002) Probing *in vivo* metabolism by stable isotope labeling of storage lipids and proteins in developing *Brassica napus* embryos. *Plant Physiology* 130: 347-361.
- Schwender, J., Ohlrogge, J. B. and Shachar-Hill, Y. (2003) A flux model of glycolysis and the

- oxidative pentosephosphate pathway in developing *Brassica napus* embryos. Journal of Biological Chemistry 278: 29442-29453.
- Seferoglua, S., Seferoglua, H. G., Tekintasa, F. E. and Baltab, F. (2006) Biochemical composition influenced by different locations in Uzun pistachio cv. (*Pistacia vera* L.) grown in Turkey. Journal of Food Composition and Analysis 19: 461-465.
- Sergeant, K., Pinheiro, C., Hausman, J. F., Ricardo, C. P., and Renaut, J. (2009) Taking advantage of nonspecific trypsin cleavages for the identification of seed storage proteins in cereals. Journal of Proteome Research 8: 3182-3190.
- Siddigui, M. F. and Naz, N. (2009) Protein landmarks for diversity assessment in wheat genotypes. African Journal of Biotechnology 8(9): 1855-1859.
- Tamkoc, A. and Arsalan, E. (2010) Comparison of agronomic characters, total seed storage proteins and their use for genotypes discrimination in the Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.). Biotechnology and Biotechnological Equipment 24(1): 1573-1576.
- Win, K. T., Aung, Z. O., New, K. L., Thein, M, S. and Yutaka, H. (2011) Diversity of Myanmar cowpea accessions through seed storage polypeptides and its cross compatibility with the subgenus *Ceratotropis*. Journal of Plant Breeding and Crop Science 3(5): 87-95.

فلور، شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی گیاهان منطقه حفاظت شده هلالی در استان خراسان رضوی

فاطمه سخنور^۱، حمید اجتهادی^۱، جمیل واعظی^{۲*}، فرشید معماربانی^۳، محمدرضا جوهرچی^۳ و زهرا رنجبر^۱
^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
^۲گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
^۳گروه گیاه‌شناسی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

منطقه حفاظت شده هلالی از سال ۱۳۷۶ به عنوان منطقه شکار ممنوع و در سال ۱۳۸۵ به منطقه حفاظت شده تبدیل شده است. این منطقه با مساحت ۶۳۴۹۵ هکتار در غرب شهر گناباد و جنوب شرقی شهر بجستان و در حد فاصل این دو شهر در استان خراسان رضوی قرار دارد. منطقه هلالی در گستره خود ترکیبی از مناطق کوهستانی، دشتی و تپه ماهوری است و بر اساس طبقه بندی دومارتون از اقلیم خشک و بیابانی با تابستان‌های گرم و زمستان‌های سرد برخوردار است. در بررسی فلور این منطقه و با به کارگیری فلورهای موجود، تعداد ۳۱۸ گونه گیاهی شناسایی شد. این گونه‌ها به ۲۰۵ سرده و ۵۳ تیره متعلق هستند. بیشتر گونه‌ها به تیره‌های Poaceae، Asteraceae و Brassicaceae به ترتیب با ۵۳، ۳۰ و ۲۶ گونه تعلق دارند. بررسی پراکنش جغرافیایی گونه‌های منطقه نشان داد که اغلب گونه‌ها (۵۶/۳ درصد) به ناحیه ایرانی-تورانی متعلق‌اند و با توجه به سابقه تخریب در منطقه، گونه‌های چند منطقه‌ای، جهان‌وطن و نیمه جهان‌وطن ۱۴/۱ درصد گیاهان را تشکیل می‌دهند. تروفیت‌ها (۴۷/۵ درصد) و همی کریپتوفیت‌ها (۲۶/۱ درصد) از مهم‌ترین اشکال زیستی منطقه هستند.

واژه‌های کلیدی: شکل زیستی، فلور، پراکنش جغرافیایی، منطقه حفاظت شده هلالی، خراسان رضوی

مقدمه

در چرخه زندگی موجودات دیگر نقشی اصلی داشته، همواره مورد بهره‌گیری سایر موجودات زنده بوده‌اند (Ghahreman and Attar, 1999). در علوم مختلف نظیر: زیست‌شناسی، کشاورزی، منابع طبیعی و غیره که به نحوی با گیاهان یک سرزمین ارتباط پیدا می‌نمایند، شناسایی علمی گیاهان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار

در هر زیستگاهی، خاکی یا آبی، پوشش گیاهی را گونه‌های گیاهی روینده در آنجا تشکیل می‌دهند. برای شناخت صحیح هر واحد گیاهی، فهرستی از گونه‌های موجود در یک جامعه در دوره‌های مختلف رشد بسیار ضروری است (Misra, 1974). عناصر گیاهی همیشه

است (Assareh, 2006).

فلور خراسان تنوع در خور توجهی دارد. Kazemian و همکاران (۲۰۰۴) فلور گیاهان بند گلستان در استان خراسان رضوی را با معرفی ۲۶۶ گونه متعلق به ۴۵ تیره و ۲۶۶ جنس بررسی نمودند. Gholami و همکاران (۲۰۰۶) با مطالعه فلور و بررسی تنوع زیستی گیاهی اطراف دریاچه بزنگان در استان خراسان رضوی، ۱۱۲ گونه متعلق به ۳۵ تیره و ۹۶ جنس را معرفی نمودند. Ghollassi Mood و همکاران (۲۰۰۶) فلور منطقه غرب بیرجند واقع در استان خراسان جنوبی را بررسی نموده، مشخص کردند در این منطقه ۱۶۰ گونه گیاهی وجود دارد که این گونه‌ها به ۳۷ خانواده و ۱۲۸ جنس متعلق هستند. Vaseghi و همکاران (۲۰۰۸) ضمن بررسی فلور، شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی عناصر گیاهی در ارتفاعات کلات-زیرجان گناباد، تعداد ۱۹۰ گونه گیاهی از ۱۰۷ جنس و ۳۹ تیره را معرفی نمودند. آنها نشان دادند که تروفیت‌ها و همی کریتوفیت‌ها از مهم‌ترین گروه‌های ساختاری طیف زیستی منطقه هستند. بررسی پراکنش جغرافیایی نیز چیرگی عناصر ایرانی-تورانی را نشان داد. Bakhshi Khaniki (۲۰۰۸) در بررسی فلور شهرستان فردوس، ۱۶۴ گونه گیاهی متعلق به ۳۱ تیره و ۱۱۴ جنس را معرفی نمود. Memariani و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای بر روی فلور و پوشش گیاهی منطقه فریزی در دامنه‌های شمالی کوه‌های بینالود ۴۸۴ گونه متعلق به ۵۹ تیره و ۲۲۹ جنس را معرفی نمودند که یکی از مناطق با تنوع گیاهی منحصر به فرد در خراسان رضوی محسوب می‌شود.

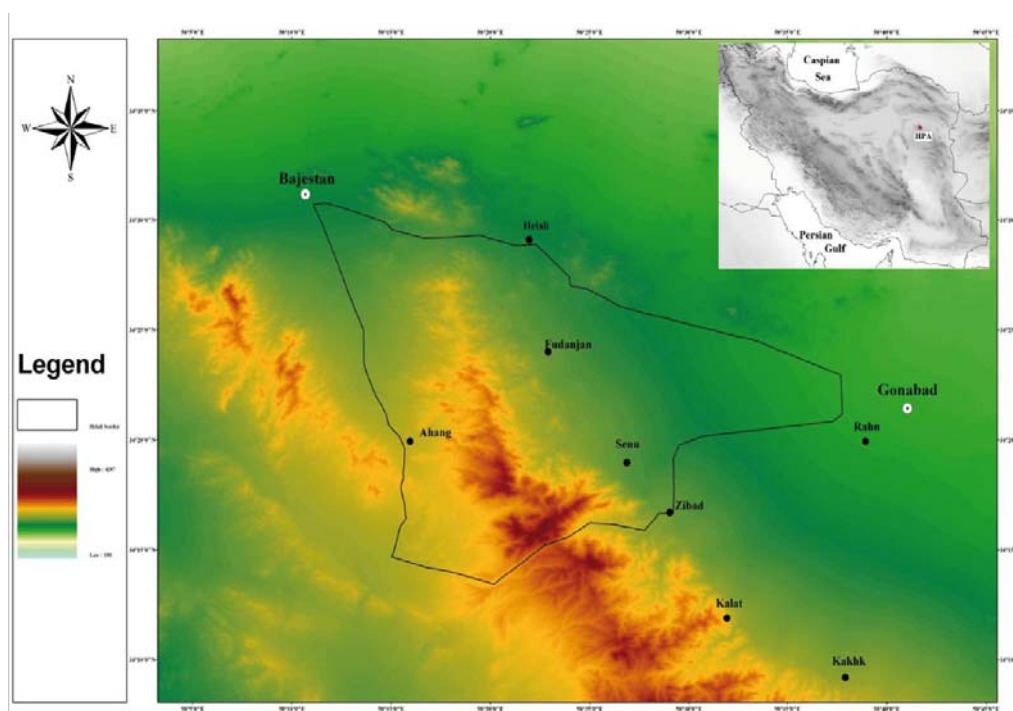
«منطقه حفاظت شده هلالی» که برای انجام پژوهش حاضر انتخاب شده است از سال ۱۳۷۶ توسط سازمان حفاظت محیط زیست، شکار ممنوع اعلام شده، در سال

۱۳۸۵ به منطقه حفاظت شده تبدیل شده است. از آنجا که تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی تنوع زیستی گیاهی این منطقه صورت نگرفته است، هدف از انجام این پژوهش بررسی فلور منطقه است تا به ایجاد پایگاهی از داده‌ها برای سایر مطالعات پوشش گیاهی منجر شود و بتواند راهکارهای مناسبی جهت حفاظت هر چه بهتر منطقه ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

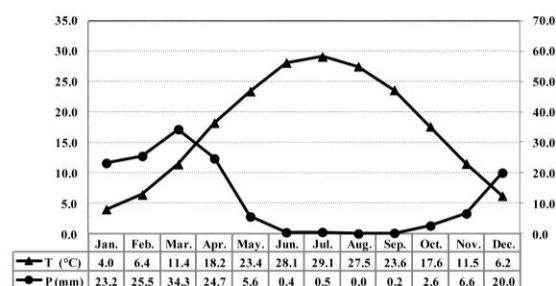
معرفی منطقه: منطقه حفاظت شده هلالی در غرب شهر گناباد و شرق شهر بجستان و در حد فاصل این دو شهر در استان خراسان رضوی قرار دارد. وسعت منطقه ۶۳۴۹۵ هکتار و به صورت دشتی، تپه ماهوری و کوهستانی است. این منطقه در طول شرقی ۵۸ درجه و ۱۰ دقیقه تا ۵۸ درجه و ۳۸ دقیقه و عرض شمالی ۳۴ درجه و ۱۳ دقیقه تا ۳۴ درجه و ۳۶ دقیقه واقع شده است (شکل ۱). مرتفع‌ترین نقطه، کوه کمرزرد ارتفاع ۲۵۷۸ متر و پست‌ترین نقطه ۱۱۰۰ متر ارتفاع دارد.

از نظر سازندهای زمین‌شناسی رخساره‌های شمشک همراه درون لایه‌هایی از گدازه‌های آندزیتی و سنگ‌های آتشفشانی متنوع ائوسن بیشترین گسترش را در منطقه دارند. ارتفاعات منطقه به علت گسترش محدود سازندهای پالئوزوئیک و نفوذ توده‌های آتشفشانی و آندزیتی، از نظر ذخیره و تغذیه منابع آب چندان در خور توجه نیستند (Aghamiri و همکاران، ۲۰۰۳). بارندگی کم و عدم گسترش تشکیلات با نفوذپذیری زیاد، عامل اصلی نبودن رودخانه‌های دائمی و حتی فصلی در منطقه است. تمام مسیرها و انباری که از ارتفاعات جنوبی و جنوب غربی منطقه سرازیر می‌شوند فاقد آب دائمی بوده، فقط در مواقع بارندگی و جریان سیل آبدار هستند (Pourebrahim, 1992).



شکل ۱- نقشه توپوگرافی منطقه حفاظت شده هلالی و موقعیت آن در ایران

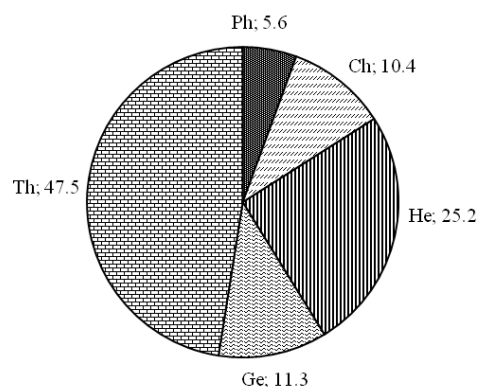
با توجه به منحنی باران-دما به دست آمده از اطلاعات دوره ۲۰ ساله (۱۹۸۷-۲۰۰۶) ایستگاه سینوپتیک گناباد، متوسط بارندگی سالانه ۱۴۳/۶ میلی‌متر و بیشترین مقدار آن مربوط به فصل زمستان است. در این منطقه، ۸ ماه خشک وجود دارد که از اوایل فروردین شروع شده و تا اواخر آبان ادامه می‌یابد (Iran Meteorological Organization, 2007). اقلیم منطقه بر اساس روش دومارتن، خشک و بر اساس روش آمبرژه، خشک و سرد است (شکل ۲).



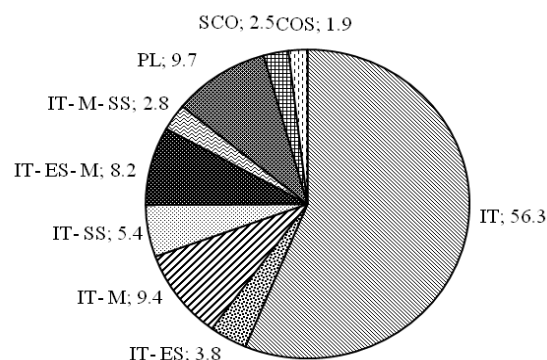
شکل ۲- منحنی باران - دما ایستگاه سینوپتیک گناباد (۱۹۸۷-۲۰۰۶)

روش کار: برای تعیین فلور منطقه در فصول رویشی سال ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱، بازدیدهای دوره‌ای از منطقه به عمل آمد. در هر بازدید، گیاهان به صورت کامل جمع‌آوری و به وسیله روزنامه و تخته پرس، خشک شده، برای شناسایی به هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد منتقل و نگهداری شدند. شناسایی گیاهان در هرباریوم دانشکده علوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی با کمک منابع موجود شامل: فلورا ایرانیکا (Rechinger, 1967) (1998، فلور عراق (Townsend and Guest, 1966) (1985، فلور فلسطین (Zohary, 1966-1972)، فلور ترکیه (Davis, 1965-1988)، فلور شرق (Boissier, 1867-1888)، فلور شوروی سابق (Komarov, 1934) (1954، فلور ایران (Assadi et al., 1988-2011)، فلور رنگی ایران (Ghahreman, 1979-1992)، گونه‌های ایران (Maassoumi, 1986-2000)، کروموفیت‌های

گونه) دارای شکل زیستی تروفیت (۴۷/۵ درصد) هستند. نسبت سایر شکل‌های زیستی به ترتیب عبارتند از: همی کریپتوفیت ۲۵/۲ درصد (۸۰ گونه)، ژئوفیت ۱۱/۳ درصد (۳۶ گونه)، کامفیت ۱۰/۴ درصد (۳۳ گونه) و فانروفیت ۵/۶ درصد (۱۸ گونه) (شکل ۳). نتایج حاصل از تعیین کوروتیپ گیاهان منطقه نشان داد که گیاهان با پراکنش جغرافیایی ایرانی-تورانی با ۵۶/۳ درصد مهم‌ترین گروه منطقه است. سایر نتایج مربوط به پراکنش جغرافیایی گیاهان در شکل ۴ نشان داده شده است.



شکل ۳- درصد فراوانی شکل‌های زیستی گیاهان منطقه بررسی شده (Ch: کامفیت‌ها، Ge: ژئوفیت‌ها (کریپتوفیت‌ها)، He: همی کریپتوفیت‌ها، Ph: فانروفیت‌ها و Th: تروفیت‌ها).



شکل ۴- درصد فراوانی پراکنش جغرافیایی عناصر رویشی منطقه بررسی شده (COS: جهان‌وطن، IT: ایرانی-تورانی، IT-ES: ایرانی-تورانی/اروپا-سیبری، IT-ES-M: ایرانی-تورانی/مدیترانه‌ای، IT-M-SS: ایرانی-تورانی/مدیترانه‌ای/صحرا-سندی، IT-SS: ایرانی-تورانی/صحرا-سندی، PL: چند ناحیه‌ای و SCO: نیمه‌جهان‌وطنی).

ایران (Ghahreman, 1994)، رُستی‌های ایران (Mobayen, 1975-1996)، رده‌بندی گیاهی (Mozaffarian, 2005) و فرهنگ نام‌های گیاهان ایران (Mozaffarian, 2003) انجام شد. اختصار اسامی مؤلفان گونه‌ها با نمایه بین‌المللی نام‌های گیاهی (IPNI, 2012) یکسان‌سازی شد. طبقه‌بندی شکل‌های زیستی گیاهان بر اساس سیستم Raunkiaer (۱۹۳۴) انجام شد. در این سیستم، گیاهان بر اساس موقعیت جوانه‌های تجدید کننده حیات به پنج دسته فانروفیت‌ها، کامفیت‌ها، همی کریپتوفیت‌ها، ژئوفیت‌ها و تروفیت‌ها تقسیم می‌شوند. با استفاده از منابع یاد شده، شکل زیستی گیاهان منطقه نیز مشخص شد. همچنین، بر اساس تقسیم‌بندی نواحی رویشی (Léonard, 1988)، پراکنش جغرافیایی (کورولوژی) گونه‌ها تعیین شد.

نتایج

در بررسی‌های به عمل آمده در منطقه، تعداد ۳۱۸ گونه گیاه آوندی شناسایی شد و مشخص گردید این گونه‌ها به ۲۰۵ سرده و ۵۳ تیره تعلق دارند که از این بین ۱ گونه به ۱ تیره از سرخسی‌ها، ۲ گونه به ۱ تیره از بازدانگان، ۵۱ گونه به ۶ تیره از تک‌لپه‌ای‌ها و ۲۶۴ گونه به ۴۵ تیره از دولپه‌ای‌ها متعلق هستند (پیوست ۱). تیره‌های Asteraceae با ۵۳ گونه، Poaceae با ۳۰ گونه و Brassicaceae با ۲۶ گونه، دارای بیشترین تعداد گونه‌ها هستند. بزرگترین سرده‌های منطقه از لحاظ تعداد گونه عبارتند از: *Astragalus* با ۱۲ گونه، *Gagea* با ۶ گونه و *Euphorbia*, *Alyssum*, *Lappula*, *Cousinia* و *Polygonum* و *Valerianella* هر کدام با ۵ گونه.

در بررسی شکل‌های زیستی به روش Raunkiaer مشخص گردید بیشترین تعداد گونه‌های منطقه (۱۵۱)

بحث

با توجه به سابقه تخریب منطقه پیش از حفاظت و اینکه بخش شایان توجهی از منطقه شامل نواحی روستایی، اراضی زراعی و باغات است و نیز با توجه به اقلیم خشک حاکم بر منطقه، کمبود بارندگی، خشکسالی‌های متوالی و نیز فقدان رودخانه دائمی، حضور ۳۱۸ گونه گیاهی در آن می‌تواند نشانه غنای گونه‌ای نسبتاً بالای منطقه در مقایسه با سایر مناطق خراسان رضوی باشد.

تیره Asteraceae، با دارا بودن ۵۳ گونه، تیره غالب منطقه به شمار می‌رود. اعضای این تیره گیاهی سازش خوبی با شرایط اقلیمی منطقه ایرانی-تورانی داشته، معمولاً در مناطقی که دارای میزان بالای تخریب پوشش گیاهی باشد، افزایش پیدا می‌کنند. این امر می‌تواند سیمای یک منطقه تخریب شده را نمایان سازد. ترکیب شکل‌های زیستی علاوه بر ترکیب گونه‌ای از موارد جالبی است که به وسیله آن می‌توان در مورد پاسخ یک اجتماع به عوامل محیطی خاص اطلاعاتی به دست آورد (Asri, 2005). تروفیت‌ها با ۴۷/۵ درصد، بیشترین فراوانی شکل زیستی منطقه را به خود اختصاص می‌دهند. با توجه به اینکه تروفیت‌ها دوره رویشی خود را در زمانی کوتاه و پیش از شروع خشکی کامل می‌کنند، اقلیم خشک منطقه، وجود تخریب و نیز خشکسالی‌های اخیر می‌تواند شاهدی بر فراوانی بالای آنها باشد. پژوهش‌های مشابه روی فلور مناطق بند گلستان (Kazemian et al., 2004)، بیرجند (Gholassi Mood et al., 2006)، بزنگان (Gholami et al., 2006)، کلات-زیرجان (Vaseghi et al., 2008) و بردسکن (Ghorbanli

(2009) et al. نیز نشان‌دهنده فراوانی بالای تروفیت‌ها در مناطق مزبور است که با ویژگی‌های اقلیمی این مناطق قابل توجیه است. از آنجا که فانروفیت‌ها تحمل کمتری نسبت به خشکی داشته، در شرایط خشکی محکوم به فنا هستند، با توجه به وضعیت منطقه، وجود تعداد گونه اندک از شکل زیستی فانروفیت (۱۸ گونه) منطقی به نظر می‌رسد.

با توجه به قرار داشتن منطقه در ناحیه ایرانی-تورانی، اختصاص بیش از نیمی از گروه‌های پراکنش جغرافیایی منطقه (۵۶/۳) به کوروتیپ ایرانی-تورانی، امری بدیهی به نظر می‌رسد (Léonard, 1988). پژوهش‌های مشابه در مناطق و شهرستان‌های همجوار از جمله کلات-زیرجان (Vaseghi et al., 2008)، فردوس (Bakhshi Khaniki, 2008) و نیز سایر مناطق استان خراسان رضوی از جمله بند گلستان (Kazemian et al., 2004)، بزنگان (Gholami et al., 2006) و حوزه آبخیز تیرگان (Amiri et al., 2008) نیز غلبه عناصر رویشی ایرانی-تورانی را تأیید می‌نماید. گونه‌های چند منطقه‌ای، جهان‌وطن و نیمه‌جهان‌وطن ۱۴/۱ درصد گیاهان را تشکیل می‌دهند. این گیاهان اغلب گونه‌هایی مهاجم و فرصت‌طلب هستند. با توجه به سابقه تخریب در منطقه، افزایش این گروه از گیاهان موجب کاهش سهم گونه‌های بومی و طبیعی، از جمله گیاهان ایرانی-تورانی، در مقایسه با سایر مناطق شده است (Memariani et al., 2009).

با عنایت به اینکه منطقه از تنوع و پوشش گیاهی نسبتاً خوبی برخوردار است و سیمای ظاهری آن در فصول بهار و تابستان می‌تواند زمینه‌های مناسبی برای

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد که حمایت مالی این پروژه را با پژوهانه شماره ۳/۱۵۹۰۸ تقبل نموده است و همچنین، آقای علی اصغر بصیری مسؤول محترم آزمایشگاه سیستماتیک دانشکده علوم که در جمع آوری نمونه ها کمک زیادی کردند، تشکر و قدردانی می شود.

اکوتوریسم ایجاد نماید و همچنین حضور گیاهان دارویی (Sokhanvar *et al.*, 2011) و مرتعی، حضور ۱۲ گونه بوم زاد ایران و برخی گونه های در معرض خطر در منطقه مانند گونه آسیب پذیر *Philomidoschema parviflorum* (Jalili and Jamzad, 1999)، اجرای برنامه های حفاظتی مناسب به منظور بهبود وضعیت منطقه ضروری است.

منابع

- Aghamiri, S. H., Golestani, H., Bijani, M., Ahdoukhes, R. and Salehi, F. (2003) Helali Hunting Prohibited Area. Khorassan Department of Environmental Protection Press, Mashhad (in Persian).
- Amiri, S., Zokaei, M., Ejtehad, H. and Mozaffarian, V. (2008) An introduction to the flora, life forms and plant geographical distribution of Tirgan Watershed (Khorassan province). Journal of Science (Tarbiat Moallem University) 8(2): 89-106 (in Persian).
- Asri, Y. (2005) Vegetation ecology. Payame Noor University Press, Tehran (in Persian).
- Assadi, M. (Ed.) (1988-2011) Flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran (in Persian).
- Assareh, M. H. (2006) Plant diversity of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran (in Persian).
- Bakhshi Khaniki, G. R. (2008) Flora and vegetation studies in Ferdows area, S. Khorassan province (Iran). Pajouhesh and Sazandegi (special issue): 183-195 (in Persian).
- Boissier, P. E. (1867-1888) Flora Orientalis. vols. 1-5. Genevae et Basileae. H. Georg, Geneva.
- Davis, P. H. (1965-1988) Flora of Turkey and the East Aegean. vols. 6 and 8. Edinburgh University Press, Scotland.
- Ghahreman, A. (1979-1992) Colorful flora of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran (in Persian).
- Ghahreman, A. (1994) Plant systematics: cormophytes of Iran. Center for Academic Publication, Tehran (in Persian).
- Ghahreman, A. and Attar, F. (1999) Biodiversity of plant species in Iran. Tehran University Press, Tehran (in Persian).
- Gholami, A., Ejtehad, H., Ghassemzadeh, F. and Ghorashi-al-Hosseini, J. (2006) Study of plant biodiversity around protected area of the Bazangan Lake. Iranian Journal of Biology 19: 398-407 (in Persian).
- Ghollassi Mood, Sh., Jalili, B. and Bakhshi Khaniki, G. R. (2006) Introduction to flora and life forms of plants in west of Birjand. Pajouhesh and Sazandegi 73: 65-73 (in Persian).
- Ghorbanli, M., Asadollahi, F. and Joharchi, M. R. (2009) The introduction to the flora, life forms and plant geographical distribution of Taknar copper mine in Bardaskan (Razavi Khorassan province). Journal of Plant and Ecosystem 18: 2-16 (in Persian).

- IPNI (2012) The International Plant Names Index. Retrieved from <http://www.ipni.org>. On: 10 July 2012.
- Iran Meteorological Organization (2007) Statistical data of Gonabad synoptic station. Retrieved from <http://www.weather.ir>. On: October 2007 (in Persian).
- Jalili, A. and Jamzad, Z. (1999) Red data book of Iran, a preliminary survey of endemic, rare and endangered plant species in Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran.
- Kazemian, A., Saghafi, F. and Assadi, M. (2004) Floristic study of Bande-Golestan and identification biological forms and chorotypes of plants. *Pajouhesh and Sazandegi* 64: 48-62 (in Persian).
- Komarov, V. L. (Ed.) (1934-1954) *Flora of USSR*. vols. 1-30. Izdatel'stvo Akademi Nauk SSSR Leningrad (English translation from Russian, Jerusalem, 1968-1977).
- Léonard, J. (1988) Contribution a l'étude de la flore et de la végétation des desert d'Iran, Fascicule 8: Étude des aries de distribution, Les phytochories, Les chorotypes. *Bulletin of the Jardin Botanique National de Belgique*, Meise.
- Maassoumi, A. A. (1986-2000) The genus *Astragalus* in Iran. vols. 1-4. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran (in Persian).
- Memariani, F., Joharchi, M. R., Ejtehadi, H. and Emadzade, Kh. (2009) Contributions to the flora and vegetation of Binalood mountain range, NE Iran: Floristic and chorological studies in Fereizi region. *Ferdowsi University International Journal of Biological Sciences* 1(1): 1-17 (in Persian).
- Misra, K. C. (1974) *Manual of plant ecology*. Oxford and IBH Publishing, New Delhi.
- Mobayen, S. (1975-1996) *Flora of Iran: vascular plants*. vols. 1-4. Tehran University Press, Tehran (in Persian).
- Mozaffarian, V. (2003) *A dictionary of Iranian plant names*. Farhang Moaser Publication, Tehran (in Persian).
- Mozaffarian, V. (2005) *Plant classification*. vols 1-2. Amirkabir, Tehran (in Persian).
- Pourebrahim, H. (1992) *Geography of Gonabad*. Marandiz Publications, Gonabad (in Persian).
- Raunkiaer, C. (1934) *Life forms of plants*. Academic Press, Oxford.
- Rechinger, K. H. (1967-1998) *Flora Iranica*. vols. 1-176. Akademische Druck und Verlagsanstalt, Graz.
- Sokhanvar, F., Ejtehadi, H., Vaezi, J., Memariani, F. and Joharchi, M. R. (2011) An introduction to medicinal plants of Helali Protected Area, Gonabad- Bajestan, Khorassan Razavi. First National Conference on Biological Sciences, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Falavarjan, Iran (in Persian).
- Townsend, C. C. and Guest, E. (1966-1985) *Flora of Iraq*. vols. 1-9. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Baghdad.
- Vaseghi, P., Ejtehadi, H., Zokaei, M. and Joharchi, M. R. (2008) Floristic studies, life forms and chorology of plants in Kalat highlands of Gonabad, Khorassan Razavi province, East of Iran. *Journal of Science (Tarbiat Moallem University)* 8(1): 75-88 (in Persian).
- Zohary, M. (1966-1972) *Flora Palaestina*. Jerusalem Academic Press, Israel.

پیوست ۱- نام علمی گونه‌ها به تفکیک تیره‌ها بر اساس حروف الفبا، شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی هر گونه (اشکال زیستی شامل: Ch: کامفیت‌ها، Ge: ژئوفیت‌ها (کریپتوفیت‌ها)، He: همی کریپتوفیت‌ها، Ph: فانروفیت‌ها و Th: تروفیت‌ها و محدوده پراکنش جغرافیایی شامل: COS: جهان‌وطن، IT: ایرانی-تورانی، IT-ES: ایرانی-تورانی/اروپا-سیبری، IT-ES-M: ایرانی-تورانی/اروپا-سیبری/مدیترانه‌ای، IT-M: ایرانی-تورانی/مدیترانه‌ای، IT-M-SS: ایرانی-تورانی/مدیترانه‌ای/صحرا-سندی، IT-SS: ایرانی-تورانی/صحرا-سندی، PL: چند ناحیه‌ای و SCO: نیمه‌جهان‌وطن. گونه‌های بوم‌زاد ایران با * مشخص شده‌اند. شماره‌های هرباریومی مربوط به هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد است).

شماره هرباریومی	شکل زیستی	پراکنش جغرافیایی	نام علمی گونه‌ها به تفکیک تیره	گونه‌های بوم‌زاد ایران
Alliaceae				
5069	Ge	IT	<i>Allium rubellum</i> M.Bieb.	
5169	Ge	IT	<i>Allium sarawschanicum</i> Regel	
Amaranthaceae				
5070	Th	PL	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	
Anacardiaceae				
5171	Ph	IT-M	<i>Pistacia atlantica</i> Desf.	
5172	Ph	IT	<i>Pistacia vera</i> L.	
5170	Ph	IT-M	<i>Rhus coriaria</i> L.	
Apiaceae				
5274	Ge	IT	<i>Bunium cylindricum</i> Drude	
5272	Ge	IT	<i>Bunium persicum</i> B.Fedtsch.	
5168	He	IT	<i>Eryngium billardiieri</i> Delar.	
5068	He	IT	<i>Ferula foetida</i> Regel	
5273	He	IT	<i>Ferula gummosa</i> Boiss.	
5275	He	IT	<i>Prangos latiloba</i> Korovin	
5313	Th	IT	<i>Scandix aucheri</i> Boiss.	
5314	Th	IT-ES-M	<i>Scandix pecten-veneris</i> L.	
5040	Th	IT-M	<i>Scandix stellata</i> Soland.	
5173	Ch	IT	<i>Schumannia karelinii</i> (Bunge) Korovin	
5271	Th	IT-ES	<i>Torilis leptophylla</i> Rechb.f.	
Asteraceae				
5067	He	IT	<i>Achillea pachycephala</i> Rech.f.	*
5071	He	IT	<i>Achillea wilhelmsii</i> K.Koch	
5167	He	PL	<i>Acroptilon repens</i> (L.) DC.	
5312	Th	IT	<i>Anthemis hyalina</i> DC.	
5166	Th	IT	<i>Anthemis odontostephana</i> Boiss.	
5269	Th	IT	<i>Anthemis rhodocentra</i> Iranshahr	
5065	Ch	IT	<i>Artemisia kopetdaghensis</i> Krasch., Popov & Lincz. ex Poljakov	
5311	Ch	IT	<i>Artemisia sieberi</i> Besser.	
5174	Ch	IT	<i>Artemisia turcomanica</i> Gand.	
5270	Th	IT-ES-M	<i>Carduus pycnocephalus</i> L.	
5315	Th	IT	<i>Carthamus oxyacantha</i> M.Bieb.	
5347	Th	IT	<i>Centaurea bruguierana</i> (DC.) Hand.-Mzt.	
5165	He	IT-ES	<i>Centaurea iberica</i> Trevir. ex Spreng.	
5346	He	IT	<i>Centaurea virgata</i> Lam.	
5041	Th	IT	<i>Chardinia orientalis</i> (L.) Kuntze	
5345	He	IT	<i>Cirsium congestum</i> Fisch. & C.A.Mey. ex DC.	
5164	Th	COS	<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronquist	
5268	He	IT	<i>Cousinia chrysoclora</i> Rech.f. & Köie	

شماره هرباریومی	شکل زیستی	پراکنش جغرافیایی	نام علمی گونه‌ها به تفکیک تیره	گونه‌های بوم‌زاد ایران
5310	Ch	IT	<i>Cousinia congesta</i> Bunge	
5066	He	IT	<i>Cousinia eryngioides</i> Boiss.	
5163	He	IT	<i>Cousinia onopordioides</i> Ledeb.	
5064	He	IT	<i>Cousinia prolifera</i> Jaub. & Spach	
5072	Th	IT-M	<i>Crepis sancta</i> (L.) Babc.	
5162	Th	IT	<i>Cymbolaena griffithii</i> (A.Gray) Wagenitz	
5265	He	IT	<i>Echinops heteromorphus</i> Bunge	*
5266	He	IT	<i>Echinops leiopolyceroides</i> Mozaff.	
5267	Ch	IT	<i>Echinops leucographus</i> Bunge	
5277	Th	IT	<i>Filago hurdwarica</i> (Wall. ex DC.) Wagenitz	
5276	Th	IT	<i>Garhadiolus angulosus</i> Jaub. & Spach	
5278	Th	IT	<i>Heteroderis pusilla</i> Boiss.	
5175	He	IT	<i>Jurinea stenocalathia</i> Rech.f.	*
5161	Th	IT-SS	<i>Koelpinia linearis</i> Pall.	
5264	Th	IT	<i>Lactuca glaucifolia</i> Boiss.	
5063	He	IT-ES-M	<i>Lactuca serriola</i> L.	
5160	Th	IT-M	<i>Lasiopogon muscoides</i> DC.	
5343	He	IT	<i>Launaea acanthodes</i> (Boiss.) O.Kuntze	
5344	Ch	IT-ES	<i>Onopordum acanthium</i> L.	
5159	He	IT-SS	<i>Phagnalon nitidum</i> Fresen.	
5348	Ch	IT	<i>Pulicaria salviifolia</i> Bunge	
5309	Ch	IT	<i>Scariola orientalis</i> (Boiss.) Soják	
5158	He	IT-ES-M	<i>Scorzonera laciniata</i> L.	
5342	Ge	IT	<i>Scorzonera paradoxa</i> Fisch. & C.A.Mey. ex DC.	
5073	Ge	IT	<i>Scorzonera raddeana</i> C.Winkl.	
5263	Th	IT-M-SS	<i>Senecio glaucus</i> L.	
5061	He	IT	<i>Senecio paulsenii</i> O.Hoffm.	
5157	He	IT	<i>Serratula latifolia</i> Boiss.	
5176	Th	IT	<i>Siebera nana</i> (DC.) Bornm.	
5316	Th	PL	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	
5062	He	IT	<i>Taraxacum pseudocalocephalum</i> Soest	
5156	Th	IT	<i>Thevenotia scabra</i> Boiss.	
5279	He	IT	<i>Tragopogon gaudanicus</i> Boriss.	
5155	He	IT	<i>Tragopogon jesdianus</i> Boiss. & Buhse	*
5060	Th	IT-SS	<i>Zoegea purpurea</i> Fresen.	
Berberidaceae				
5308	Ph	IT	<i>Berberis integerrima</i> Bunge	
Biebersteiniaceae				
5154	Ge	IT	<i>Biebersteinia multifida</i> DC.	
Boraginaceae				
5177	Th	IT-SS	<i>Arnebia decumbens</i> Coss. & Kralik	
5153	Th	PL	<i>Asperugo procumbens</i> L.	
5074	He	IT-SS	<i>Heliotropium bacciferum</i> Forrsk.	
5307	He	IT	<i>Heliotropium dasycarpum</i> Ledeb. ex Eichw.	
5261	Th	IT-ES-M	<i>Heliotropium europaeum</i> L.	
5262	He	IT-M	<i>Lappula barbata</i> Gürke	
5317	Th	IT	<i>Lappula ceratophora</i> (Popov) Popov	
5077	Th	IT	<i>Lappula microcarpa</i> Gürke	

شماره هرباریومی	شکل زیستی	پراکنش جغرافیایی	نام علمی گونه‌ها به تفکیک تیره	گونه‌های بوم‌زاد ایران
5058	Th	IT	<i>Lappula sessiliflora</i> (Boiss.) Gürke	
5281	Th	IT	<i>Lappula sinaica</i> (A.DC.) Asch. & Schweinf.	
5260	Th	IT	<i>Microparacaryum salsum</i> (Boiss.) Hilger & Podlech	
5152	Th	IT	<i>Nonea caspica</i> G.Don	
5059	Th	IT	<i>Onosma longiloba</i> Bunge	
5280	He	IT-SS	<i>Paracaryum rugulosum</i> Boiss.	
5178	He	IT	<i>Trichodesma incanum</i> Bunge	
Brassicaceae				
5075	Th	IT	<i>Aethionema carneum</i> B.Fedtsch.	
5306	Th	IT	<i>Alyssum dasycarpum</i> Stephan ex Willd.	
5258	Th	IT-ES	<i>Alyssum desertorum</i> Stapf	
5259	Th	IT-M	<i>Alyssum linifolium</i> Stephan ex Willd.	
5076	Th	IT	<i>Alyssum menioides</i> Boiss.	
5150	Th	IT	<i>Alyssum szovitsianum</i> Fisch. & C.A.Mey.	
5151	Th	PL	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	
5318	He	PL	<i>Cardaria draba</i> (L.) Desv.	
5179	Th	IT-ES	<i>Chorispora tenella</i> DC.	
5341	Th	IT	<i>Clypeola aspera</i> Turrill	
5078	Th	IT-M	<i>Clypeola jonthlaspi</i> L.	
5149	Th	IT	<i>Conringia perfoliata</i> (C.A.Mey.) N.Busch	
5257	Th	IT-ES-M	<i>Descurainia sophia</i> (L.) Webb ex Prantl.	
5305	Th	IT-ES-M	<i>Eruca sativa</i> Mill.	
5181	Th	IT	<i>Goldbachia laevigata</i> DC.	
5057	He	IT	<i>Lepidium persicum</i> Boiss.	
5182	Th	IT-M-SS	<i>Malcolmia africana</i> (L.) W.T.Aiton	
5180	Th	IT	<i>Malcolmia strigosa</i> Boiss.	
5148	He	IT	<i>Matthiola alyssifolia</i> (DC.) Bornm.	
5256	He	IT	* <i>Matthiola revoluta</i> Bunge ex Boiss.	
5355	Th	IT-SS	<i>Neotorularia torulosa</i> (Desf.) Hedge & I.Léonard	
5282	Th	IT-ES-M	<i>Neslia apiculata</i> Fisch., C.A.Mey. & Avé-Lall.	
5079	He	IT	* <i>Sisymbrium integerrimum</i> Rech.f. & Aellen	
5339	Th	IT-ES	<i>Sisymbrium irio</i> L.	
5340	He	IT-ES	<i>Sisymbrium loeselii</i> L.	
5147	Th	IT	<i>Sisymbrium septulatum</i> DC.	
Capparidaceae				
5254	He	SCO	<i>Capparis spinosa</i> L.	
5255	He	IT	<i>Cleome coluteoides</i> Boiss.	
Caryophyllaceae				
5304	Ch	IT	<i>Acanthophyllum glandulosum</i> Bunge ex Boiss.	
5319	Ch	IT	<i>Acanthophyllum heratense</i> Schiman-Czeika	
5183	Ch	IT	<i>Acanthophyllum sordidum</i> Bunge ex Boiss.	
5252	Th	IT	<i>Cerastium inflatum</i> Link ex Sweet	
5253	Th	IT	<i>Holosteum glutinosum</i> Fisch. & C.A.Mey.	
5056	Th	IT	<i>Lepyrodiclis holosteoides</i> Fenzl ex Fisch. & C.A.Mey.	
5145	Th	IT	<i>Lepyrodiclis stellarioides</i> Fisch. & C.A.Mey.	
5146	Th	IT	<i>Minuartia meyeri</i> Bornm.	
5286	Th	IT-M	<i>Silene coniflora</i> Nees ex Otth	
5285	Th	IT-M	<i>Silene conoidea</i> L.	

شماره هرباریومی	شکل زیستی	پراکنش جغرافیایی	نام علمی گونه‌ها به تفکیک تیره	گونه‌های بوم‌زاد ایران
5143	Th	IT-M	<i>Spergularia bocconii</i> (Scheele) Asch. & Graebn.	
5251	Th	SCO	<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	
5055	Th	IT	<i>Vaccaria oxyodonta</i> Boiss.	
Chenopodiaceae				
5080	Ch	PL	<i>Atriplex canescens</i> (Pursh.) Nutt.	
5144	Ch	IT-SS	<i>Atriplex leucoclada</i> Boiss.	
5184	Th	IT-ES-M	<i>Atriplex tatarica</i> L.	
5284	Th	IT	<i>Ceratocarpus arenarius</i> L.	
5249	Th	COS	<i>Chenopodium album</i> L.	
5142	Th	PL	<i>Chenopodium botrys</i> L.	
5250	Th	PL	<i>Chenopodium glaucum</i> L.	
5338	Th	IT	<i>Girgensohnia oppositiflora</i> (Pall.) Fenzl	
5320	Ph	IT	<i>Haloxylon ammodendron</i> (C.A.Mey.) Bunge ex E.Fenzl	
5321	Ch	IT-ES	<i>Kochia prostrata</i> (L.) Schrad.	
5303	Th	IT-ES	<i>Kochia scoparia</i> (L.) Schrad.	
5185	Ch	IT-M-SS	<i>Noaea mucronata</i> Asch. & Schweinf.	
5081	Th	IT	<i>Salsola incanescens</i> C.A.Mey.	
5248	Th	IT-SS	<i>Salsola nitraria</i> Pall.	
5140	Ch	IT-SS	<i>Seidlitzia rosmarinus</i> Bunge ex Boiss.	
Convolvulaceae				
5141	Ge	SCO	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	
Crassulaceae				
5139	Th	IT-M	<i>Sedum rubens</i> L.	
Cucurbitaceae				
5247	He	IT-M-SS	<i>Citrullus colocynthis</i> (L.) Schrad.	
Cuscutaceae				
5187	Th	COS	<i>Cuscuta campestris</i> Yunck.	
Cyperaceae				
5186	Ge	IT-ES-M	<i>Carex divisa</i> Huds.	
5082	Ge	IT	<i>Carex songorica</i> Kar. & Kir.	
5054	Ge	IT-ES	<i>Carex stenophylla</i> Wahlenb.	
5136	Ge	COS	<i>Cyperus rotundus</i> L.	
5137	Ge	PL	<i>Schoenoplectus lacustris</i> (L.) Palla	
5138	Ge	PL	<i>Scirpoides holoschoenus</i> (L.) Soják	
Dipsacaceae				
5188	Th	IT	<i>Scabiosa olivieri</i> Coult.	
Ephedraceae				
5246	Ph	IT	<i>Ephedra intermedia</i> Schrenk & C.A.Mey.	
5135	Ph	IT	<i>Ephedra sarcocarpa</i> Aitch. & Hemsl.	
Equisetaceae				
5350	Ge	PL	<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	
Euphorbiaceae				
5134	Th	IT-M-SS	<i>Chrozophora tinctoria</i> (L.) A.Juss.	
5083	He	IT	<i>Euphorbia bungei</i> Boiss.	
5301	Th	IT-M	<i>Euphorbia chamaesyce</i> L.	
5302	Th	IT	<i>Euphorbia densa</i> Schrenk	
5189	Th	IT-ES-M	<i>Euphorbia helioscopia</i> L.	
5244	Th	IT	<i>Euphorbia szovitsii</i> Fisch. & C.A.Mey.	

شماره هرباریومی	شکل زیستی	پراکنش جغرافیایی	نام علمی گونه‌ها به تفکیک تیره	گونه‌های بوم‌زاد ایران
Fabaceae				
5245	Ch	IT-M-SS	<i>Alhagi maurorum</i> Medik.	
5243	He	IT	<i>Astragalus argyroides</i> Beck	
5190	Th	IT	<i>Astragalus bakaliensis</i> Bunge	
5133	Th	IT	<i>Astragalus campylorrhynchus</i> Fisch. & C.A.Mey.	
5191	Th	IT	<i>Astragalus commixtus</i> Bunge	
5084	Th	IT-SS	<i>Astragalus crenatus</i> Schult.	
5242	Ch	IT	<i>Astragalus dactylocarpus</i> Boiss.	
5241	Ch	IT	<i>Astragalus durandianus</i> Aitch. & Baker	*
5053	Th	IT	<i>Astragalus kerkukiensis</i> Bornm.	
5130	Th	IT	<i>Astragalus persepolitanus</i> Boiss.	
5086	He	IT	<i>Astragalus spachianus</i> Boiss. & Buhse	*
5131	Th	IT-SS	<i>Astragalus tribuloides</i> Delile	
5132	Ch	IT	<i>Astragalus verus</i> Olivier	*
5085	He	PL	<i>Medicago lupulina</i> L.	
5353	He	PL	<i>Medicago sativa</i> L.	
5240	He	IT	<i>Sophora pachycarpa</i> Schrenk ex C.A.Mey.	
5128	Th	IT	<i>Trigonella macroglochin</i> Durieu	
5352	Th	IT	<i>Trigonella monantha</i> C.A.Mey.	
5129	Th	IT-ES-M	<i>Vicia peregrina</i> L.	
Fumariaceae				
5192	Th	IT-M	<i>Fumaria asepalae</i> Boiss.	
Gentianaceae				
5051	He	IT	<i>Gentiana olivieri</i> Griseb.	
Geraniaceae				
5087	Th	IT-ES-M	<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Her. ex Aiton	
5238	Th	IT-SS	<i>Erodium oxyrhynchum</i> M.Bieb.	
5193	Ge	IT	<i>Geranium kotschy</i> Boiss.	
Iridaceae				
5127	Ge	IT	<i>Iris drepanophylla</i> Aitch. & Baker	
5052	Ge	IT	<i>Iris kopetdagensis</i> (Vved.) B. Mathew & Wendelbo	
Ixioliriacae				
5239	Ge	IT	<i>Ixiolirion tataricum</i> Herb.	
Juncaceae				
5195	Ge	SCO	<i>Juncus articulatus</i> L.	
5194	Ge	PL	<i>Juncus rigidus</i> Desf.	
Lamiaceae				
5349	Th	IT-ES-M	<i>Acinos graveolens</i> Link	
5126	He	IT	<i>Eremostachys macrophylla</i> Montbret & Aucher	
5088	Ch	IT	<i>Hymenocrater elegans</i> Bunge	
5351	Th	IT	<i>Lallemantia royleana</i> Benth.	
5196	Th	PL	<i>Lamium amplexicaule</i> L.	
5237	He	IT	<i>Marrubium anisodon</i> K.Koch	
5300	He	PL	<i>Mentha longifolia</i> Huds.	
5198	Th	IT	<i>Nepeta bracteata</i> Benth.	
5197	Th	IT	<i>Nepeta saccharata</i> Bunge	
5199	Th	IT	<i>Nepeta satirejoides</i> Boiss.	
5089	Ch	IT	<i>Perovskia abrotanoides</i> Kar.	

شماره هرباریومی	شکل زیستی	پراکنش جغرافیایی	نام علمی گونه‌ها به تفکیک تیره	گونه‌های بوم‌زاد ایران
5050	He	IT	<i>Philomidoschema parviflorum</i> (Benth.) Vved.	
5235	He	IT	<i>Salvia leriifolia</i> Benth.	
5236	He	IT	<i>Salvia macrosiphon</i> Boiss.	
5337	Ch	IT-M	<i>Teucrium polium</i> L.	
5283	Ch	IT	<i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam.	
5354	Th	IT	<i>Ziziphora tenuior</i> L.	
Liliaceae				
5125	Ge	IT	<i>Gagea chomutowae</i> Pascher	
5090	Ge	IT	<i>Gagea gageoides</i> (Zucc.) Vved.	
5234	Ge	IT	<i>Gagea reticulata</i> Schult.f.	
5322	Ge	IT	<i>Gagea setifolia</i> Baker ex Aitch.	
5200	Ge	IT	<i>Gagea tenera</i> Pasch.	
5123	Ge	IT	<i>Gagea vegeta</i> Vved.	
5356	Ge	IT-ES-M	<i>Muscari neglectum</i> Guss. ex Ten.	
5124	Ge	IT	<i>Tulipa biflora</i> Pall.	
5299	Ge	IT	<i>Tulipa lehmanniana</i> Mercklin	
5357	Ge	IT	<i>Tulipa micheliana</i> Hoog	
Malvaceae				
5233	He	IT	<i>Alcea teheranica</i> Parsa	*
5121	He	PL	<i>Malva neglecta</i> Wallr.	
Mimosaceae				
5048	Ch	IT-SS	<i>Prosopis farcta</i> J.F.Macbr.	
Moraceae				
5091	Ph	IT-M	<i>Ficus carica</i> L.	
5122	Ph	IT	<i>Ficus johannis</i> Boiss.	
Orobanchaceae				
5094	Ge	IT-M-SS	<i>Orobanche aegyptiaca</i> Pers.	
Papaveraceae				
5201	Th	IT	<i>Glaucium elegans</i> Fisch. & C.A.Mey.	
5231	Th	IT-M	<i>Hypocoum pendulum</i> L.	
5093	Th	IT	<i>Papaver decaisnei</i> Hachst. & Steud. ex Elkan	
5232	Th	IT-M-SS	<i>Roemeria hybrida</i> (L.) DC.	
5120	Th	IT	<i>Roemeria refracta</i> DC.	
Plantaginaceae				
5230	He	IT-ES-M	<i>Plantago lanceolata</i> L.	
5092	He	SCO	<i>Plantago major</i> L.	
Plumbaginaceae				
5046	Ch	IT	<i>Acantholimon scirpinum</i> Bunge	*
Poaceae				
5202	Th	IT	<i>Aegilops tauschii</i> Coss.	
5287	Th	IT-M	<i>Aegilops triuncialis</i> L.	
5229	Th	IT-ES	<i>Avena fatua</i> L.	
5289	Th	IT-ES-M	<i>Avena sterilis</i> L.	
5095	Th	IT	<i>Boissiera squarrosa</i> (Sol.) Nevski	
5049	He	PL	<i>Bothriochloa ischaemum</i> (L.) Keng	
5288	Th	IT	<i>Bromus danthoniae</i> Trin. ex C.A.Mey.	
5096	Th	IT-ES-M	<i>Bromus scoparius</i> L.	
5227	Th	IT-ES-M	<i>Bromus sterilis</i> L.	

شماره هرباریومی	شکل زیستی	پراکنش جغرافیایی	نام علمی گونه‌ها به تفکیک تیره	گونه‌های بوم‌زاد ایران
5228	Th	PL	<i>Bromus tectorum</i> L.	
5119	He	PL	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	
5047	Th	PL	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P.Beauv.	
5323	Th	IT	<i>Eremopyrum bonaepartis</i> (Spreng.) Nevski	
5203	Th	IT-M	<i>Eremopyrum orientale</i> Jaub. & Spach	
5335	Th	IT	<i>Heteranthelium piliferum</i> Hochst. ex Jaub. & Spach	
5336	Th	IT-M	<i>Hordeum murinum</i> L.	
5290	Th	IT-M	<i>Hordeum spontaneum</i> K.Koch	
5097	Th	IT-M	<i>Lolium rigidum</i> Gaudin	
5298	He	IT	<i>Melica persica</i> Kunth	
5297	He	IT-SS	<i>Pennisetum orientale</i> Rich.	
5205	Th	COS	<i>Phalaris minor</i> Retz.	
5325	He	SCO	<i>Phragmites australis</i> Trin. ex Steud.	
5226	He	IT-ES-M	<i>Poa bulbosa</i> L.	
5225	He	PL	<i>Poa pratensis</i> L.	
5224	He	IT-SS	<i>Poa sinaica</i> Steud.	
5118	He	PL	<i>Polypogon fugax</i> Nees ex Steud.	
5098	He	PL	<i>Polypogon semiverticillatus</i> (Forssk.) Hyl.	
5204	Th	PL	<i>Schismus arabicus</i> Nees	
5045	He	IT	<i>Stipa hohenackeriana</i> Trin. & Rupr.	
5291	Th	IT-ES-M	<i>Taeniatherum caput-medusae</i> (L.) Nevski	
Podophyllaceae				
5324	Ge	IT-M	<i>Bongardia chrysogonum</i> Endl.	
Polygonaceae				
5207	Th	IT	<i>Polygonum argyrocoleon</i> Steud. ex Kunze	
5223	He	IT	<i>Polygonum hyrcanicum</i> Rech.f.	*
5099	He	IT	<i>Polygonum paronychioides</i> C.A.Mey.	
5292	Th	IT-M	<i>Polygonum patulum</i> M.Bieb.	
5206	Th	IT	<i>Polygonum rottboellioides</i> Jaub. & Spach	
5101	Ph	IT	<i>Pteropyrum aucheri</i> Jaub. & Spach	
5222	Ge	IT	<i>Rheum ribes</i> L.	
5293	Th	IT	<i>Rumex chalepensis</i> Mill.	
5117	He	PL	<i>Rumex dentatus</i> L.	
Portulacaceae				
5100	He	SCO	<i>Portulaca oleracea</i> L.	
Primulaceae				
5208	Th	IT-ES-M	<i>Androsace maxima</i> L.	
Ranunculaceae				
5294	Ge	IT	<i>Anemone petiolulosa</i> Juz.	
5043	Th	IT-ES-M	<i>Ceratocephala falcata</i> (L.) Pers.	
5295	Ch	IT	<i>Clematis orientalis</i> L.	
5221	Th	IT-M	<i>Consolida orientalis</i> (J.Gay) Schrödinger	
5102	Th	IT	<i>Consolida rugulosa</i> Schrodgr.	
5209	Th	IT	<i>Nigella integrifolia</i> Regel	
5116	Th	PL	<i>Ranunculus muricatus</i> L.	
5044	Ge	IT	<i>Thalictrum isopyroides</i> C.A.Mey.	
Resedaceae				
5296	He	IT-ES-M	<i>Reseda luteola</i> L.	

شماره هرباریومی	شکل زیستی	پراکنش جغرافیایی	نام علمی گونه‌ها به تفکیک تیره	گونه‌های بوم‌زاد ایران
			Rhamnaceae	
5104	Ph	PL	<i>Ziziphus jujuba</i> Mill.	
			Rosaceae	
5210	Ph	IT	<i>Amygdalus scoparia</i> Spach	
5115	Ph	IT	<i>Amygdalus spinosissima</i> Bunge	
5103	Ph	IT	<i>Crataegus pseudoheterophylla</i> Pojark.	
5326	Ph	IT	<i>Rosa beggeriana</i> Schrenk	
5107	Ch	IT	<i>Rosa persica</i> J.F.Gmel.	
5220	Ph	IT-M	<i>Rubus sanctus</i> Schreb.	
5327	He	IT-ES-M	<i>Sanguisorba minor</i> Scop.	
			Rubiaceae	
5328	Ch	IT	<i>Asperula glomerata</i> (M.Bieb.) Griseb.	
5106	Th	IT-M	<i>Callipeltis cucullaria</i> (L.) DC.	
5211	He	IT-M	<i>Gaillonia bruguieri</i> A.Rich. ex DC.	
5113	Th	IT-SS	<i>Galium ceratopodum</i> Boiss.	
5219	Th	IT-ES-M	<i>Galium spurium</i> L.	
5105	Ch	IT	<i>Rubia rigidifolia</i> Pojark.	
			Salicaceae	
5213	Ph	PL	<i>Salix alba</i> L.	
			Scrophulariaceae	
5114	He	IT	<i>Linaria michauxii</i> Chav.	
5212	Th	IT-M	<i>Linaria simplex</i> DC.	
5329	Ch	IT	<i>Scrophularia striata</i> Boiss.	
5112	He	IT	<i>Verbascum songaricum</i> Schrenk	
5334	Th	IT	<i>Veronica campylopoda</i> Boiss.	
			Solanaceae	
5333	Th	SCO	<i>Datura stramonium</i> L.	
5331	He	IT-M	<i>Hyoscyamus reticulatus</i> L.	
5332	He	IT	<i>Hyoscyamus squarrosus</i> Griff.	
5330	Th	COS	<i>Solanum nigrum</i> L.	
5218	Th	IT	<i>Solanum olgae</i> Pojark.	
			Tamaricaceae	
5217	Ph	IT	<i>Tamarix kotschy</i> Bunge	
			Valerianaceae	
5108	Th	IT	<i>Valerianella cymbaearpa</i> C.A.Mey.	
5215	Th	IT	<i>Valerianella dufresnia</i> Bunge ex Boiss.	
5214	Th	IT-ES	<i>Valerianella lasiocarpa</i> Steven ex Betcke	
5216	Th	IT	<i>Valerianella oxyrhyncha</i> Fisch. & C.A.Mey.	
5111	Th	IT	<i>Valerianella platycarpa</i> Trautv.	
			Zygophyllaceae	
5042	He	IT-M-SS	<i>Peganum harmala</i> L.	
5110	Th	PL	<i>Tribulus terrestris</i> L.	
5109	Ch	IT	<i>Zygophyllum fabago</i> L.	

جداسازی و شناسایی آرکی‌های نمک‌دوست اجباری قابل کشت تالاب پُر شور اینچه‌برون، استان گلستان

مهرنوش رسولی^۱، محمد علی آموزگار^{۲*} و عباس اخوان سپهی^۳

^۱ بخش میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

^۲ بانک میکروارگانیسم‌ها، مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، جهاد دانشگاهی، کرج، ایران

^۳ بخش میکروبیولوژی، دانشکده زیست‌شناسی و قطب تبارزایی موجودات زنده، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

تنوع آرکی‌های نمک‌دوست تالاب اینچه‌برون واقع در استان گلستان ایران با روش‌های مبتنی بر کشت بررسی شد. نمونه برداری در دو فصل پُر بارش و کم بارش (اردیبهشت و شهریورماه ۱۳۸۹) انجام گرفت. در هر نمونه برداری چهار منطقه مشخص از تالاب با استفاده از محیط‌های پیچیده نظیر JCM168، MGM و MH1 و یک محیط قلیایی حاوی ۲۳ درصد نمک بررسی شد. پس از گرماگذاری (incubation) در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد، ۴۰۶ جدایه به دست آمد. متوسط تعداد کلونی‌های به دست آمده در روش کشت، $2/1 \times 10^6$ CFU/ml بود. ۳۶۱ جدایه از محیط MGM، ۳۹ جدایه از محیط JCM168، سه جدایه از محیط MH1 و سه جدایه از محیط قلیایی به دست آمد. تعدادی از ویژگی‌های ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی اولیه برای این سویه‌ها بررسی شد و از میان این جدایه‌ها، ۴۵ سویه بر اساس صفات بررسی شده انتخاب و با تکثیر و تعیین ترادف ژن 16S rRNA شناسایی شدند. از این تعداد ۴۰ سویه به خانواده Halobacteriaceae جنس‌های *Halobacterium*، *Halolamina*، *Halorhabdus* و *Halostagnicola* (به ترتیب: ۲۷/۵، ۱۷/۵، ۱۰، ۵/۲، ۲/۶، ۲/۶ و ۲/۶ جدایه‌های مربوط به قلمرو آرکی‌ها) تعلق داشتند و پنج سویه به سلسله باکتری‌ها، جنس‌های *Rhodovibrio*، *Pseudomonas* و *Salicola* (به ترتیب ۴۰، ۴۰ و ۲۰ درصد سویه‌های باکتریایی) متعلق بودند. با توجه به تعداد محدود جنس‌های آرکی نمک‌دوست شناسایی شده در جهان، بررسی‌ها بیانگر تنوع نسبتاً بالای آرکی‌های نمک‌دوست قابل کشت در این تالاب است.

واژه‌های کلیدی: آرکی نمک‌دوست، تنوع زیستی، ژن 16S rRNA

مقدمه

نمک و دریاچه‌های شور طبیعی، بوم‌نظام‌های

محیط‌های پُر شور مانند حوضچه‌های استحصال

(اکوسیستم) نسبتاً ساده با تنوع پایین و تراکم جمعیت

Amoozegar *et al.*, 2003) sp. Strain MA-2 ارزیابی احیای کروم توسط باکتری نمک دوست نسبی مقاوم به کرومات *Nesterenkonia* sp. Strain MF2 (Amoozegar *et al.*, 2007)، غربالگری و جداسازی باکتری های نمک دوست تولید کننده هیدرولازهای خارج سلولی از دریاچه نمک حوض سلطان (Rohban *et al.*, 2009) اشاره نمود.

ایران از نظر وجود محیط های پُر شور به ویژه دریاچه ها و تالاب های پُر شور از تنوع بسیار بالایی برخوردار است. در سال های اخیر تمایل بسیار زیادی به بررسی دریاچه های پُر شور ایران نشان داده شده است که حاکی از اهمیت این محیط ها به عنوان گنجینه ای مهم از ذخایر زیستی و ژنتیکی کشور است. تالاب نمک اینچه برون نیز به عنوان گوشه ای از این اکوسیستم منحصر به فرد، محل مناسبی برای بررسی تنوع میکروارگانیسم ها به ویژه میکروارگانیسم های نمک دوست اجباری، نسبی و تحمل کننده نمک است. این تالاب، در سمت راست مسیر جاده آق قلا به اینچه برون و در ۲۶ کیلومتری شمال آق قلا، در ۵۴ درجه و ۵۱ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۸ دقیقه و ۵۷ ثانیه عرض شمالی واقع شده است.

نمونه برداری از این تالاب در دو فصل پُر بارش و کم بارش با هدف بررسی تغییر ترکیب جمعیت میکروارگانیسم های نمک دوست اجباری موجود در این منطقه انجام گرفت. مطالعه اخیر، نخستین بررسی در زمینه تنوع زیستی تالاب اینچه برون به عنوان محیطی منحصر به فرد با هدف بررسی گوناگونی و شناسایی آرکی های نمک دوست ساکن و تعیین نقشه زیستی این دریاچه است.

بالا را در اختیار بوم شناسان قرار می دهند. انواع متفاوت میکروارگانیسم های نمک دوست مشکل سازگاری با تنش شوری زیاد (و سایر انواع تنش) را به طرق مختلف حل نموده اند. بنابراین، مطالعه حیات میکروبی در غلظت های بالای نمک، می تواند پاسخگوی بسیاری از پرسش های اساسی درباره سازگاری میکروارگانیسم ها با محیط هایشان باشد (Ma *et al.*, 2010). دریاچه های نمک و نمک های تولید شده از این دریاچه ها حاوی تعداد زیادی آرکی های نمک دوست اجباری خانواده *Halobacteriaceae* هستند. در چنین محیط هایی تعداد 10^7-10^8 واحد تشکیل دهنده کلونی در هر میلی لیتر آب غیر طبیعی نیست. همچنین، نمک های غیر فرآوری شده این دریاچه ها اغلب حاوی 10^5-10^6 واحد تشکیل دهنده کلونی در هر گرم هستند. اعضای خانواده *Halobacteriaceae*، میکروارگانیسم های غالب محیط های پُر شور سراسر جهان شامل دریاچه های نمک، حوضچه های استحصال نمک، معادن نمک و همچنین دریاچه های پُر شور قلیایی هستند (Birbir *et al.*, 2007).

میکروارگانیسم های نمک دوست به دلیل توانایی زندگی در محیط شور، در زمینه های مختلف زیست فناوری دارای توانمندی های بالقوه و بالفعل بسیاری هستند. تولید پلیمرهای زیستی مانند: بیوسورفکتانت ها و اگزوپلی ساکاریدها (که سبب افزایش بازیافت نفت می شوند) و همچنین آنزیم های مختلف مثل ایزومرازها و هیدرولازها از کاربردهای این میکروارگانیسم ها است. از این دست پژوهش های انجام شده در ایران می توان به تولید آمیلاز خارج سلولی تحت تنش حرارت و شوری بالا توسط باکتری *Halobacillus*

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی میکروارگانیسم‌های نمک‌دوست اجباری

برای جداسازی سویه‌های نمک‌دوست افراطی از خاک، لجن‌های نمکی، آب‌های شور رنگی و کریستال‌های سفید و رنگی نمک در دو فصل پُر بارش

و کم بارش (اردیبهشت‌ماه و شهریورماه ۱۳۸۹) از چهار منطقه تالاب نمونه‌برداری صورت گرفت. موقعیت جغرافیایی دقیق مناطق نمونه‌برداری با GPS ثبت و علامت‌گذاری شد (شکل ۱).



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی تالاب اینچه‌برون و مناطق نمونه‌برداری در نقشه گوگل

نمونه‌های جمع‌آوری شده از هر محل در کیسه‌های پلاستیکی و فالتون‌های استریل به آزمایشگاه منتقل شد. دما و pH نمونه‌ها در محل نمونه‌برداری با دماسنج و pH متر قابل حمل در محل اندازه‌گیری و ثبت شد. نمونه‌ها در دمای محیط و در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل و شوری نمونه‌ها با دستگاه مالتی‌متر دیجیتال اندازه‌گیری شد.

تحلیل شیمیایی نمک تالاب برای سنجش عناصر شیمیایی موجود در محیط‌زیست تالاب در دو نوبت نمونه‌برداری، توسط شرکت خاک بهین آزما صورت

گرفت.

برای جداسازی آرکی‌ها و باکتری‌های نمک‌دوست اجباری از نمونه‌های جمع‌آوری شده از محیط‌های کشت زیر استفاده شد:

۱- محیط کشت (pH 7.2-7.3) MGM23% با ترکیبات (گرم در لیتر):

NaCl, 184; MgCl₂ 6H₂O, 23; MgSO₄ 7H₂O, 26.8; KCl, 5.3; CaCl₂, 0.8; Peptone, 10; Yeast extract, 2; Distilled water, 1000ml (Dyall-Smith, 2008).

هر منطقه پس از صاف کردن با فیلتر ۰/۲۲ میکرون فیلتر شد، سپس فیلتر روی محیط‌های کشت مربوط قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت یک هفته در گرمخانه ۴۰ درجه سانتیگراد گرماگذاری شد و سپس تا مدت ۶ ماه هر دو هفته یکبار از نظر وجود کلونی‌های جدید و کُند رشد بررسی شد.

کلونی‌هایی با لام گرم متفاوت یا ریخت‌شناسی متفاوت کلونی از پلیت‌های اولیه جداسازی و مجدداً کشت داده شد. برای نگهداری و تجدید کشت سویه‌ها از محیط‌های استفاده شده برای جداسازی سویه‌ها در مراحل اولیه استفاده و در یخچال ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

برای اندازه‌گیری تعداد میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌ها، تعداد کلونی‌ها در پلیت‌های اولیه در رقت‌های متفاوت نمونه‌های آب شمارش شد.

برای جداسازی جدایه‌های نمک‌دوست اجباری و غیر اجباری، جدایه‌ها در محیط‌های کشت جداسازی حاوی ۵ درصد نمک کشت داده شد. جدایه‌هایی که قادر به رشد در مقادیر بالاتر از ۵ درصد نمک بودند به عنوان جدایه‌های نمک‌دوست اجباری در نظر گرفته شدند.

بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک: سویه‌های نمک‌دوست از نظر بعضی صفات و ویژگی‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مطالعه شدند. رنگ‌آمیزی گرم بر اساس روش Dussault (۱۹۵۵) انجام شد. برای سنجش بهینه و محدوده رشد سویه‌ها از محیط‌های جامد و مایع MGM با درصدهای NaCl برابر با ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ استفاده شد. بررسی حرکت از طریق روش‌های لام مرطوب انجام شد (Gerhardt *et al.*, 1994). فعالیت پراکسیدازی در

۲- محیط کشت JCM 168 (pH 5.2) با ترکیبات (گرم در لیتر):

NaCl, 200; Sodium Glutamate, 1; Trisodium Citrate, 3; MgSO₄.7H₂O, 20; KCl, 2; FeCl₂.4H₂O, 0.0036mg; MnCl₂.4H₂O, 0.00036; Yeast extracts, 5; Casamino acids, 5; Agar, 20; Distilled water, 1000ml (Minegishi *et al.*, 2009).

۳- محیط کشت MH1 (pH 5.2) با ترکیبات (گرم در لیتر):

NaCl, 200; L-Glutamic acid, 2; Trisodium Citrate, 2; K₂SO₄, 5; MgCl₂.6H₂O, 1; NH₄Cl, 1; FeSO₄.7H₂O, 0.004; Yeast extracts, 2; Casamino acids, 5; Agar, 20; Distilled water, 1000ml (Minegishi *et al.*, 2008).

۴- محیط کشت قلیایی (pH 9.2) با ترکیبات (گرم در لیتر):

NaCl, 200; KH₂PO₄, 1; MgSO₄.7H₂O, 0.2; Na₂CO₃, 18; Casamino Acids, 5; Agar, 20; Distilled water, 1000ml (Dyall-Smith, 2008).

برای افزایش pH این محیط به دلیل بالا بودن میزان یون‌های منیزیم در محیط و ایجاد رسوب در محیط به جای ترکیب NaOH از ترکیب Na₂CO₃ استفاده شد که پس از اتوکلاو به صورت جداگانه به محیط افزوده شد.

برای جداسازی و کشت آرکی‌های نمک‌دوست از نمونه‌های خاک، لجن و رسوبات سری رقت متوالی تهیه شد و برای کشت نمونه‌های آب به دلیل تراکم پایین آرکی‌ها، پس از سانتریفیوژ مقداری از نمونه‌ها از مخلوط رسوب و مایع زیرین برای کشت در محیط‌های فوق استفاده شد. همچنین، حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر از آب

زنجیره‌ای پلیمراز برای حجم واکنش ۵۰ میکرو لیتر به این صورت است:

PCR buffer (10X), 5μl; MgCl₂ (5mM), 1.5μl; dNTP mix (10mM), 1μl; Primers (10μM each), 2μl; Taq DNA polymerase, 0.25μl; Template DNA, 2-4μl; Sterilized distilled water, 34-38μl

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای سویه‌های آرکی به این روش صورت گرفت: دناتوراسیون اولیه برای مدت ۳ دقیقه در ۹۴ °C انجام گرفت. سپس، چرخه تکثیر آغاز شد که شامل ۳۰ سیکل تکرار شونده با دمای دناتوراسیون ۹۴ °C به مدت ۱۵ ثانیه، دمای اتصال ۵۱ °C به مدت ۳۰ ثانیه و دمای سنتز ۷۲ °C به مدت ۶۰ ثانیه بود. برای سویه‌های باکتریایی دناتوراسیون اولیه به مدت ۲ دقیقه در ۹۴ °C انجام شد. به دنبال آن چرخه تکثیر آغاز شد که شامل ۳۰ سیکل تکرار شونده با دمای دناتوراسیون ۹۴ °C به مدت ۶۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۵ °C به مدت ۶۰ ثانیه و دمای سنتز ۷۲ °C به مدت ۶۰ ثانیه بود. در نهایت، پس از اتمام چرخه‌ها و به منظور تکمیل نهایی ساختارهای تکثیر شده نمونه‌ها به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ °C قرار داده شد. به دلیل متفاوت بودن سویه‌ها دمای اتصال هر سویه با استفاده از دستگاه PCR گرادیان بهینه‌سازی شد. برای بررسی صحت PCR و تأیید دستیابی به باند 16S rRNA جدایه‌های مورد نظر الکتروفورز انجام شد. ۵ ماکرو لیتر از محصول PCR به همراه شاهد مثبت و منفی PCR و شاخص وزن مولکولی با طیف ۱۰۰-۱۰۰۰۰bp روی ژل آگاروز ۱ درصد تحلیل شد. خالص‌سازی و تعیین توالی نسبی محصول PCR توسط شرکت کره‌ای MacroGen به واسطه شرکت ژن فن آوران انجام شد. توالی‌های به دست آمده با نرم‌افزارهای Chromas Pro و Chromas مرتب و با

حضور محلول ۳ درصد پراکسید هیدروژن تعیین شد. فعالیت اکسیدازی با استفاده از دیسک‌های اکسیداز آماده (شرکت Himedia) تعیین شد.

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های خاص می‌تواند در تفکیک آرکی‌ها از باکتری‌ها مؤثر باشد، بر این اساس آزمون آنتی‌بیوگرام برای سویه‌ها با استفاده از دیسک آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر کلرامفنیکل، تتراسیکلین، اریترومايسين، نوویوسين، باسیتراسين، پنی‌سیلین G و نیترو فورانتوئین انجام شد.

شناسایی فیلوژنتیک سویه‌های منتخب: برای

شناسایی توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA در سویه‌های منتخب، سویه‌های نمک‌دوست اجباری از نظر ویژگی‌های بررسی شده دسته‌بندی شد و تعداد ۴۵ سویه به صورت تصادفی برای مطالعات فیلوژنتیکی انتخاب شد.

برای استخراج DNA از روش Dyal-Wanlam (Dyall- Wanlam, 2008) و روش تغییر یافته Marmur (۱۹۶۱) استفاده شد. برای تأیید استخراج انجام شده، الکتروفورز ژل آگاروز بر اساس روش پیشنهاد شده توسط Williams و Kolmodin در سال ۱۹۹۷ صورت گرفت.

از جفت پرایمر عمومی 21F با ترادف:

5'-TTCCGGTTGATCCTGCCGGA-3'

و 1492R با ترادف:

5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'

برای آرکی‌ها و از جفت پرایمر عمومی 27F با ترادف:

5'-AGAGTTTGATCMTGGGTCAG-3'

و 1492R برای باکتری‌ها استفاده شد (Jiang *et al.*, 2006).

غلظت مواد به کار رفته در تهیه مخلوط واکنش

نتایج آنالیز شیمیایی در جدول ۲ نشان داده شده است. از کاتیون‌ها، سدیم و از آنیون‌ها، کلر بیشترین مقدار را داشت. بنابراین، می‌توان تالاب اینچه‌برون را به عنوان محیطی با منشأ دریایی (thalassohaline) در نظر گرفت.

از نمونه‌های جمع‌آوری شده از گل، لجن، شورابه‌های رنگی و رسوبات در مجموع ۴۰۶ جدایه به دست آمد. فراوانی تعداد جدایه‌ها به تفکیک مناطق نمونه‌برداری در شکل ۲ نشان داده شده است.

در نمونه‌برداری اول ۲۲۹ جدایه به دست آمد که ۲۱ جدایه از محیط JCM، ۲۰۵ جدایه از محیط MGM، دو جدایه از محیط MH1 و یک جدایه از محیط قلیایی جداسازی شد. در نمونه‌برداری دوم نیز ۱۷۷ جدایه به دست آمد که ۱۸ جدایه از محیط JCM، ۱۵۶ جدایه از محیط MGM، یک جدایه از محیط MH1 و دو جدایه از محیط قلیایی به دست آمد. جدایه‌های به دست آمده از محیط‌های قلیایی و اسیدی در محیط MGM کشت داده شد که تمام جدایه‌های حاصل از محیط‌های اسیدی و قلیایی توانایی رشد در محیط MGM با pH خنثی را دارا بودند.

سویه‌های نمک‌دوست حاصل از دو نمونه‌برداری، در محیط جداسازی اولیه هر سویه که حاوی ۵ درصد نمک تام بود کشت داده شدند. ۱۸ سویه توانایی رشد در محیط ۵ درصد را داشتند. با توجه به این که هدف، جداسازی میکروارگانیسم‌های نمک‌دوست اجباری بود، این سویه‌ها در مراحل انتخاب سویه حذف شده، در نظر گرفته نشدند. بیشترین تعداد سویه‌ها از منطقه ۱ با تعداد ۱۰۸ سویه در نوبت اول و ۷۰ سویه در نوبت دوم به دست آمده است، کمترین جداسازی نیز از منطقه ۴ با تعداد ۱۰ سویه در نوبت اول و ۵۷ سویه در نوبت دوم انجام شده است.

توالی‌های ثبت شده در پایگاه اطلاعات ژنومی EzTaxon مقایسه شد. به این ترتیب، نزدیک‌ترین سویه‌ها با ترادف 16S rRNA مشابه با سویه‌های منتخب تعیین شد. انطباق توالی‌ها با نرم‌افزار ClustalX (ویرایش دوم) انجام شد. ارتباط فیلوژنتیکی توالی‌های به دست آمده با یکدیگر و دیگر سویه‌ها-توالی‌های مرتبط به دست آمده حاصل از جستجو-در پایگاه‌های اطلاعاتی Genbank و Eztaxon با نرم‌افزار MEGA نسخه ۵/۰ (Kumar *et al.*, 2008) بررسی شد. در دسته‌بندی توالی‌ها از الگوی Maximum likelihood Neighbour-joining (Saitou and Nei, 1987) استفاده شد. بررسی اعتبار شاخه‌های درخت با الگوریتم بوت‌استرپ و با ۱۰۰ بار نمونه‌گیری صورت گرفت (Felsenstein, 1985).

نتایج

نمونه‌برداری و جداسازی: انتخاب مناطق

نمونه‌برداری بر اساس ویژگی‌های ظاهری تالاب انجام شد و بر این اساس تالاب به دو ناحیه اصلی تقسیم و در هر ناحیه دو منطقه انتخاب شد. در مناطق ۱ و ۴ دریاچه (به ویژه در فصل کم بارش) شورابه و نمک با رنگ‌های نارنجی، قرمز و سیاه غالب بود و در مناطق ۲ و ۳ بیشتر آب و قشر نمکی سفید رنگ قابل مشاهده بود که در برخی از مناطق با رگه‌های سیاه و صورتی همراه بود. جدول ۱ ویژگی‌های مناطق نمونه‌برداری و تعداد سویه‌های انتخاب شده از هر منطقه را به تفکیک نوع نمونه را نشان می‌دهد. دمای مناطق ۱ و ۴ مشابه یکدیگر و بیشتر از سایر مناطق بود. شوری آب هر یک از مناطق در نوبت دوم نمونه‌برداری نسبت به نوبت اول بیش از ۱/۵ برابر افزایش داشت.

جدول ۱- تعداد سویه های انتخاب شده از هر منطقه به تفکیک نوع نمونه و ویژگی های مناطق در دو نوبت نمونه برداری

منطقه نمونه برداری	مختصات جغرافیایی	نوع نمونه				شوری نوبت اول (g/l)	شوری نوبت دوم (g/l)	دمای متوسط (°C)	pH
		آب	نمک	خاک	لجن و گل				
۱	N 37°, 13, 438 E 054, 30, 224	۲	۰	۷	۲۲	۱۷۷	۲۸۶/۴	۳۹	۴/۳
۲	N 37°, 13, 932 E 054, 30, 081	۰	۰	۰	۳	۱۷۶/۷	۲۸۷	۳۱/۸	۵/۲
۳	N 37°, 13, 829 E 054, 30, 307	۱	۲	۰	۰	۱۶۸	۲۸۳/۶	۳۰	۵/۲
۴	N 37°, 13, 517 E 059, 30, 657	۲	۰	۱	۴	۱۵۹/۸	۲۳۲/۶	۳۹	۶/۴

جدول ۲- نتایج آنالیز شیمیایی نمونه های آب در دو نوبت

نوع آزمایش	غلظت (mg/l)	
	در نوبت اول	در نوبت دوم
Cl ⁻	۱۳۴۷۴۸	۱۴۵۳۸۶
SO ₄ ²⁻	۱۴۴۴/۷	۷۸۲۴/۱
Mg ²⁺	۴۰/۴	۷۰۵۴/۲۵
Na ⁺	۵۶۱۲۰	۶۰۷۷۴/۴۹
Fe ²⁺	۰/۱۶	۹۶/۳۱
K ⁺	۲۷/۶	۱۵۳/۸۱



شکل ۲- فراوانی تعداد جدایه ها به تفکیک مناطق نمونه برداری

۴ سویه گرم مثبت رنگ گرفتند که در مورد سویه های باکتریایی، آزمون KOH (۳ درصد) این نتایج را تأیید کرد. آزمون کاتالاز و اکسیداز برای تمام سویه ها انجام شد، تمام سویه ها کاتالاز مثبت بودند و تنها در تعدادی از سویه ها واکنش کاتالاز به صورت ضعیف تری مثبت بود. واکنش اکسیداز نیز برای ۹۸ سویه منفی و برای سایر سویه ها مثبت بود. آزمون حرکت نیز برای تمام سویه ها انجام شد که ۴۵ سویه متحرک و بقیه غیرمتحرک بودند. آنتی بیوگرام برای ۱۳۰ سویه، با آنتی بیوتیک های نوویوسین، نیترو فورانتوین، باسیتراسین، کلرامفنیکل، تتراسیکلین، اریتروماسین و پنی سیلین انجام شد. در ۱۰۱ سویه، حساسیت به نوویوسین، نیترو فورانتوین و باسیتراسین و مقاومت به سایر آنتی بیوتیک ها مشاهده شد که احتمالاً به گروه آرکی ها تعلق دارند.

شناسایی فیلوژنتیک سویه های منتخب: برای

تحلیل فیلوژنتیک، از نوبت اول نمونه برداری ۲۲ سویه و از نوبت دوم ۲۳ سویه به صورت تصادفی انتخاب شد (جدول ۱). نتایج برای ۴۱ سویه به صورت یک طرفه (در جهت رفت) و برای ۴ سویه به صورت کامل خوانده شد. جدول ۳ نتایج شناسایی مولکولی سویه های منتخب و میزان شباهت آنها با نزدیک ترین

مشاهده لام های میکروسکوپی و رنگ آمیزی گرم نشان داد که از سویه های به دست آمده تعداد ۳۳ سویه باسیل و ۳۷۳ سویه دارای اشکال بی قاعده و چند شکل (پلی مورف) بودند. همچنین، ۴۰۲ سویه گرم منفی و تنها

گونه‌های شناخته شده را نشان می‌دهد. از این تعداد، *Halobacteriacea* بودند. ۵
 ۴۰ سویه اعضای خانواده *Halobacteriacea* بودند. ۵
 ترتیب: ۴۰، ۴۰ و ۲۰ درصد سویه‌های باکتریایی (قرار
 گرفته).
 سویه به قلمرو باکتری‌ها متعلق بوده، در جنس‌های

جدول ۳- نتایج شناسایی مولکولی جدایه‌های منتخب

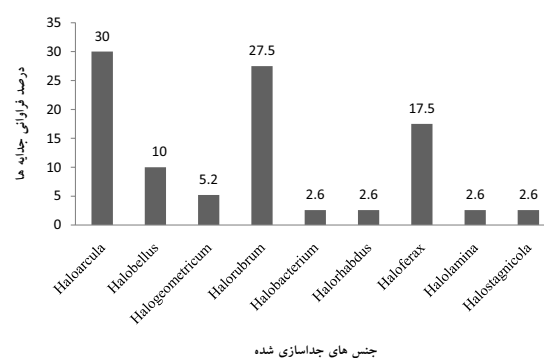
ردیف	نام جدایه	نزدیکترین سویه	شماره دسترسی نزدیکترین گونه	درصد شباهت
۱	A6	<i>Haloferax prahovense</i> TL6(T)	AB258305	100
۲	A12A	<i>Haloferaxprahovense</i> TL6(T)	AB258305	99.51
۳	AC2	<i>Haloarcula japonica</i> JCM7785(T)	AB355986	98.42
۴	AC6	<i>Halobellus clavatus</i> TNN18(T)	GQ282620	94.70
۵	AC7	<i>Halogeometricum rufum</i> RO1-4(T)	EU887286	99.45
۶	AD1	<i>Halorubrum chaoviator</i> Halo-G(T)	AM048786	99.28
۷	AD3	<i>Halorubrum chaoviator</i> Halo-G(T)	AM048786	99.35
۸	AD7	<i>Halorubrum chaoviator</i> Halo-G(T)	AM048786	100
۹	AM1	<i>Haloarcula argentinensis</i> arg-1(T)	D50849	98.79
۱۰	AM2	<i>Haloarcula japonica</i> JCM7785(T)	AB355986	98.37
۱۱	AM5	<i>Haloarcula japonica</i> JCM7785(T)	AB355986	98.11
۱۲	AM14	<i>Halolamina pelagica</i> TBN21(T)	GU208826	98.26
۱۳	AM17	<i>Haloarcula marismortui</i> ATCC43049(T)	AY596297	97.77
۱۴	AO2	<i>Haloferax alexandrines</i> TM(T)	AB037474	99.84
۱۵	AO7	<i>Halobellus clavatus</i> TNN18(T)	GQ282620	93.98
۱۶	B1A	<i>Haloarcula quadrata</i> 801030/1(T)	AB010964	98.87
۱۷	B2	<i>Haloarcula hispanica</i> ATCC33960(T)	CP002921	99.57
۱۸	B4	<i>Halorubrum chaoviator</i> Halo-G(T)	AM048786	99.29
۱۹	B5	<i>Psuedomonas halophila</i> DSM3050(T)	AB021383	99.88
۲۰	B8	<i>Halorhabdus tiamatea</i> SARL4B(T)	EF127229	100
۲۱	B16	<i>Halorubrum chaoviator</i> Halo-G(T)	AM048786	98.62
۲۲	CW8	<i>Halorubrum chaoviator</i> Halo-G(T)	AM048786	100
۲۳	Ct1	<i>Halorubrum chaoviator</i> Halo-G(T)	AM048786	100
۲۴	Ct4	<i>Halorubrum chaoviator</i> Halo-G(T)	AM048786	99.88
۲۵	D19	<i>Halorubrum chaoviator</i> Halo-G(T)	AM048786	99.27
۲۶	DA5	<i>Haloferax prahovense</i> TL6(T)	AB258308	100
۲۷	DA7	<i>Haloarcula japonica</i> JCM7785(T)	AB355986	97.75
۲۸	DB3	<i>Halobellus clavatus</i> TNN18(T)	GQ282620	93.65

ردیف	نام جدایه	نزدیکترین سویه	شماره دسترسی نزدیکترین گونه	درصد شباهت
۲۹	DM1	<i>Halobellus clavatus</i> TNN18(T)	GQ282620	93.88
۳۰	DS16	<i>Haloarcula amylolytica</i> BD-3(T)	DQ826513	98.70
۳۱	DW4	<i>Halogeometricum rufum</i> RO1-4(T)	EU887286	99.55
۳۲	E4B	<i>Halobacterium salinarum</i> NRC-1	AE004437	99.61
۳۳	F4	<i>Rhodovibrio sodomensis</i> DSM9895(T)	FR733704	98.99
۳۴	H7	<i>Haloferax prahovense</i> TL6(T)	AB258305	100
۳۵	I1	<i>Haloarcula quadrata</i> 801030/1(T)	AB010964	99.34
۳۶	I3	<i>Haloarcula argentinensis</i> arg-1(T)	D50849	98.60
۳۷	I5	<i>Psuedomonas halophila</i> DSM3050(T)	AB021383	98.57
۳۸	I6A	<i>Haloarcula salaria</i> HST01-2R(T)	FJ429317	98.50
۳۹	I8	<i>Rhodovibrio sodomensis</i> DSM 9895(T)	FR733704	99.10
۴۰	J2	<i>Halorubrum lipolyticum</i> 9-3(T)	DQ355814	96.57
۴۱	J7	<i>Halostagnicola larsenii</i> XH-48(T)	AM117571	98.42
۴۲	O5	<i>Haloferax prahovense</i> TL6(T)	AB258305	99.31
۴۳	O6B	<i>Salicola salis</i> B2(T)	DQ129689	99.65
۴۴	R8	<i>Halorubrum chaoviator</i> Halo-G(T)	AM048786	98.57
۴۵	S1A1	<i>Haloferax prahovense</i> TL6(T)	AB258305	99.54

جدول ۴- جنس‌های آرکی جداسازی شده و تعداد جدایه‌های مربوط به هر جنس در دو نوبت نمونه‌برداری

ردیف	نام جنس	تعداد جدایه در نوبت اول	تعداد جدایه در نوبت دوم
۱	<i>Haloarcula</i>	۵	۷
۲	<i>Halorubrum</i>	۵	۶
۳	<i>Haloferax</i>	۴	۳
۴	<i>Halobellus</i>	۰	۴
۵	<i>Halogeometricum</i>	۰	۲
۶	<i>Halobacterium</i>	۱	۰
۷	<i>Halolamina</i>	۰	۱
۸	<i>Halorhabdus</i>	۱	۰
۹	<i>Halostagnicola</i>	۱	۰

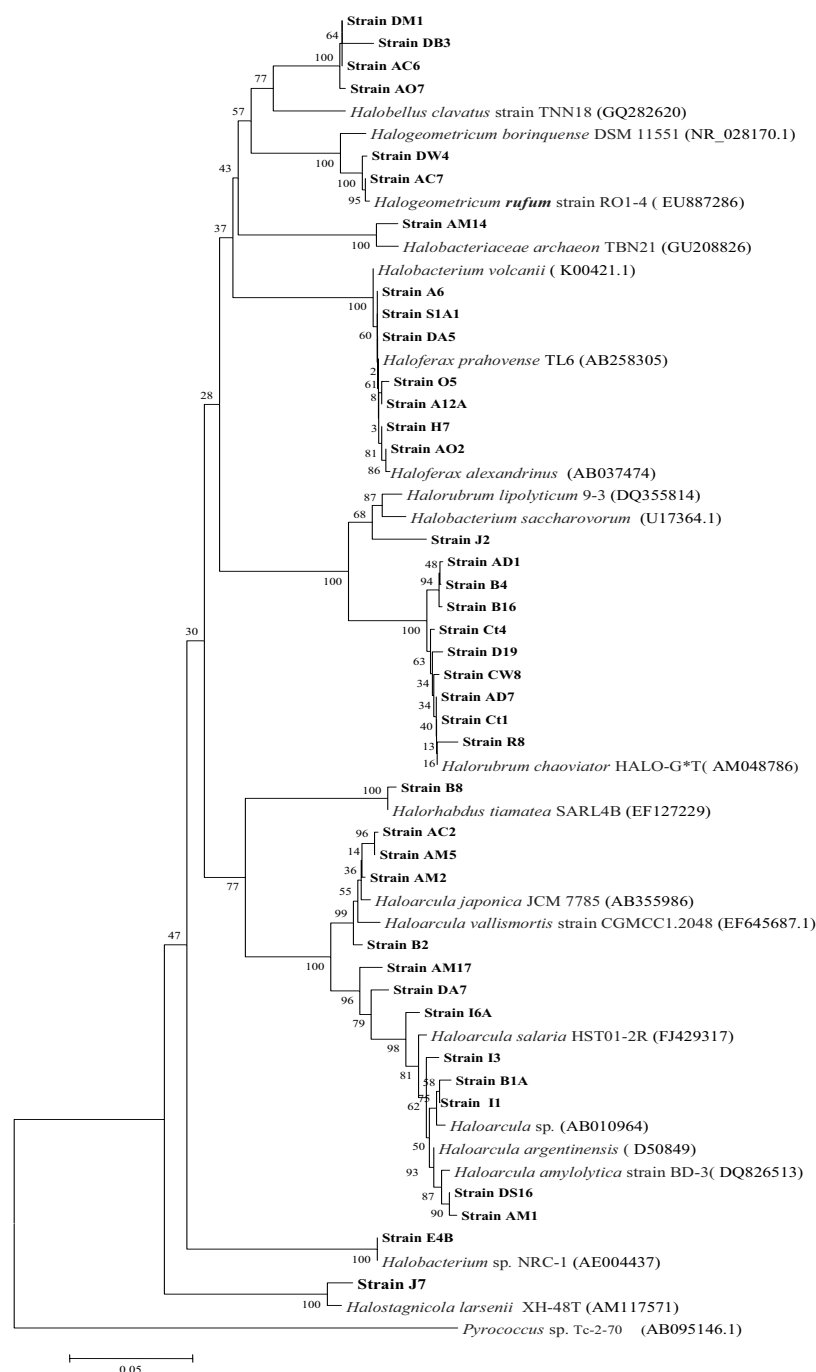
درصد فراوانی سویه‌های متعلق به جنس‌های آرکی در شکل ۳ نشان داده شده است که بیشترین فراوانی به جنس‌های *Haloarcula*، *Halorubrum* و *Haloferax* متعلق است. جدول ۴ جنس‌های آرکی جداسازی شده و تعداد سویه‌های مربوط به هر جنس را در دو نوبت نمونه‌برداری نشان می‌دهد.



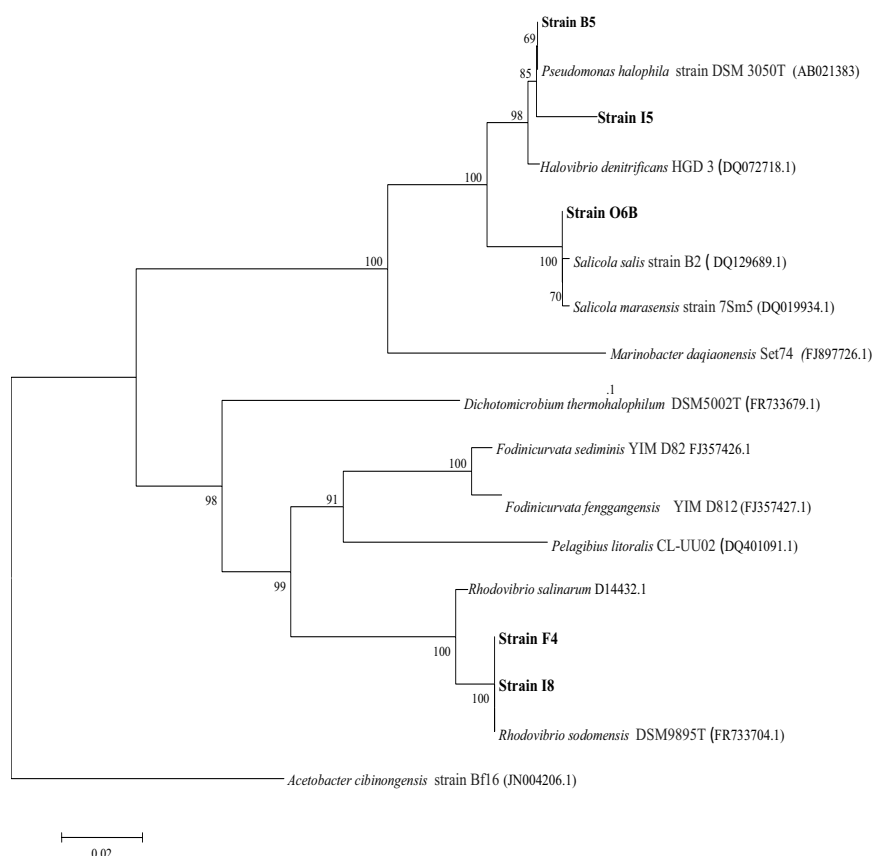
شکل ۳- درصد فراوانی جدایه‌های متعلق به هر جنس

جایگاه فیلوژنتیکی سویه‌ها در درخت‌های رسم شده با شباهت‌های rRNA 16S سویه‌ها مطابقت داشت. دندوگرام‌های ترسیم شده برای دو قلمرو آرکی‌ها و باکتری‌ها به ترتیب در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است.

پس از هم راستا کردن سویه‌های مترادف‌یابی شده با مترادف گونه‌های نزدیک درخت‌های فیلوژنتیکی سویه‌های باکتری و آرکی به صورت جداگانه با استفاده از الگوریتم‌های Maximum Likelihood و Neighbor-joining رسم شد که در هر دو روش



شکل ۴- درخت فیلوژنتیک جدایه‌های منتخب متعلق به قلمرو آرکی‌ها رسم شده به روش Neighbour-joining



شکل ۵- درخت فیلوژنتیک باکتری‌های مترادف‌یابی شده با روش Neighbour-joining. *Acetobacter cibinongensis* JN004206.1 به عنوان Outgroup در نظر گرفته شده است و اعداد ذکر شده در بخش انشعاب، نشانگر درصد نمونه‌گیری بوت‌استرپ از ۱۰۰ نمونه است.

بحث

به دلیل اهمیت و کاربرد وسیع آرکی‌ها، تحقیقات وسیعی برای بررسی تنوع و شناسایی این گروه از میکروارگانیسم‌ها در سراسر جهان در حال انجام است. مطالعات انجام شده در زمینه شناسایی این گروه در ایران بسیار اندک است و اهمیت بررسی‌های بیشتر در مورد این گروه بسیار محسوس است. دریاچه‌ها و تالاب‌های پُر شور در ایران به عنوان نمونه‌ای از زیستگاه‌های آرکی‌ها از تنوع بالایی برخوردار هستند.

در پژوهش حاضر، برای نخستین بار بررسی تنوع آرکی‌های نمک‌دوست قابل کشت در تالاب اینچه‌برون، به عنوان محیطی منحصر به فرد با هدف بررسی گوناگونی و شناسایی آرکی‌های نمک‌دوست

ساکن و تعیین نقشه زیستی این محل انجام شد. pH پایین این تالاب، آن را از سایر اکوسیستم‌های شور بررسی شده در ایران مانند: دریاچه آران و بیدگل و حوض سلطان با شوری بالا و pH خنثی و تالاب گمیشان با شوری پایین و pH قلیایی متمایز می‌کند. میزان یون Mg^{2+} در این دریاچه نسبت به دریاچه Tuz در ترکیه (Birbir et al., 2007) و دریاچه Maras پرو (Maturrano et al., 2006) پایین‌تر، اما میزان شوری آن مشابه با دریاچه نمک Maras است. در مقایسه با دریاچه‌های بررسی شده در ایران، میزان یون Mg^{2+} در دریاچه ارومیه ۳/۵ برابر و دریاچه آران و بیدگل ۱/۵ برابر بیشتر از تالاب اینچه‌برون است. میزان شوری آن از دریاچه آران و بیدگل که شوری اشباع

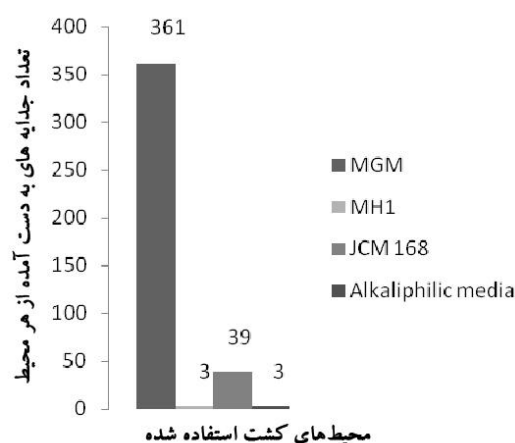
در مجموع، محیط‌های JCM 168 و MGM از نظر جداسازی آرکی‌ها و باکتری‌های نمک دوست اجباری محیط‌های مناسبی بودند، اما از نظر تنوع، اغلب باکتری‌های جداسازی شده، باکتری‌هایی با کلونی‌های باسیلوسی و اسپوردار بودند و بیشتر آنها در محیط‌های حاوی ۵ درصد نمک تام نسبت به محیط‌های حاوی ۲۳ درصد نمک تام رشد مناسب‌تری داشتند.

استفاده از محیط‌هایی نظیر JCM و MH1 در پژوهش‌های مشابه به جداسازی میکروارگانیسم‌های اسید دوست یا قادر به رشد بهینه در pH اسیدی منجر شد (Minegishi et al., 2008; 2009).

به دلیل اسیدی بودن مناطقی از تالاب بررسی شده، در این پژوهش نیز از این دو محیط مناسب، برای جداسازی احتمالی میکروارگانیسم‌های اسید دوست استفاده شد. سویه‌های به دست آمده از محیط JCM برای بررسی توانایی رشد در pH خنثی در محیط MGM با pH=7/2 نیز کشت داده شدند، اما تمام این سویه‌ها قادر به رشد در pH خنثی بودند، بنابراین اسید دوست واقعی در نظر گرفته نمی‌شوند.

استفاده از روش‌های رقیق‌سازی متوالی همراه با گرماگذاری طولانی مدت، سبب جداسازی بیشترین تعداد میکروارگانیسم‌های نمک دوست شد. کلونی‌های به دست آمده اغلب دارای رنگیزه‌های قرمز و یا نارنجی بودند. با این وجود، کلونی‌های سفید یا بی‌رنگ و حتی صورتی نیز در برخی از محیط‌ها مشاهده شد. متوسط تعداد کلونی‌های میکروارگانیسم‌های نمک دوست اجباری به دست آمده در روش کشت cfu/ml، ۲/۱×۱۰۶ بود. تنوع آرکی‌های نمک دوست توصیف شده در پژوهش حاضر، بدون شک تنها بخش اندکی از تنوع حقیقی تالاب اینچه برون را نشان می‌دهد. در

دارد پایین‌تر بوده، اما در نوبت دوم نمونه برداری، از مناطق سواحل غربی دریاچه ارومیه بالاتر بوده است. شوری هر کدام از مناطق در نوبت دوم نمونه برداری نسبت به نوبت اول بیش از ۱/۵ برابر افزایش داشت که تقریباً ۱۰ برابر شوری آب دریا است و این مسأله شرایط را برای جداسازی باکتری‌ها که معمولاً نمک دوست نسبی هستند، در نوبت اول مناسب‌تر ساخت. در منطقه ۴ بالاترین میزان یون آهن وجود داشت و کمترین جداسازی از این منطقه انجام شد. با توجه به این که پس از منطقه ۲ این منطقه بالاترین میزان یون سولفات را دارد، می‌توان رنگ سیاه موجود در بخش‌هایی از این منطقه را به احیای سولفات و تشکیل رسوب با آهن به دلیل نزدیکی این مناطق به ویژه منطقه ۴ به معدن ید نسبت داد. لذا، این منطقه برای جداسازی باکتری‌های احیا کننده سولفات مناسب‌تر است. در این پژوهش، به منظور افزایش احتمال جداسازی میکروارگانیسم‌های نمک دوست اجباری، از محیط‌های کشت متنوعی استفاده شد. شکل ۶ کارآیی محیط‌های کشت استفاده شده برای جداسازی میکروارگانیسم‌ها را نشان می‌دهد.



شکل ۶- کارآیی محیط‌های کشت استفاده شده در جداسازی میکروارگانیسم‌ها

آب‌های شور به ویژه شورابه‌های قرمز رنگ (red brines) انتظار ۱۰^۷-۱۰^۸ کلونی آرکی وجود دارد که تعداد کلونی‌های بازایی شده در این پژوهش پایین‌تر است و علت آن احتمالاً پایین بودن میزان شوری این تالاب در مقایسه با سایر تالاب‌ها و دریاچه‌های پُر شور است. همچنین، محیط‌های دارای نمک و مواد غذایی فراوان که در این پژوهش برای شمارش و جداسازی کلونی‌ها استفاده شد بسیار انتخابی عمل می‌کنند. بازایی قوی‌تر تاکسون‌های موجود با استفاده از محیط‌های دارای مواد غذایی کم و گرماگذاری طولانی‌تر امکان‌پذیر است (Burns et al., 2004).

در قلمرو آرکی‌ها بیشتر جدایه‌ها به اعضای جنس‌های *Haloarcula* و *Halorubrum* (به ترتیب با ۳۰ و ۲۷/۵ درصد سویه‌ها) مربوط بود. نتایج پژوهش‌های انجام شده در سایر مناطق پُر شور دنیا از این قرار است: *Halorubrum* و *Haloarcula* گروه‌های اصلی جدا شده از دریاچه نمک Tuz در ترکیه بوده‌اند (Birbir et al., 2007)؛ اعضای جنس *Haloarcula*، ۵۰ درصد جدایه‌های به دست آمده از دریاچه Maras در پرو را تشکیل داده‌اند (Maturrano et al., 2006)؛ در حوضچه‌های نمکی استرالیا بیش از ۷۰ درصد جدایه‌ها به جنس *Halorubrum* متعلق بوده است (Burns et al., 2004). همچنین، بررسی‌های انجام شده در دریاچه Ayakekumu در چین ۴۷ درصد توالی‌ها به جنس *Halorubrum* و ۲۴ درصد توالی‌ها به جنس *Natrinema* متعلق بوده است (Kuwei et al., 2007).

بر خلاف تالاب اینچه‌برون، در دریاچه‌های آران و بیدگل و ارومیه بیشتر جدایه‌ها به ترتیب اعضای جنس‌های *Halorubrum* و *Haloarcula* بوده‌اند و در

جنس‌های آرکی به دست آمده از تالاب اینچه‌برون با این مناطق تفاوت‌هایی دیده می‌شود. از این تفاوت‌ها می‌توان به عدم جداسازی اعضای جنس *Haloferax* از دریاچه‌های ارومیه و آران و بیدگل اشاره نمود (Asadi, 2011; Makhdoumi-Kakhki et al., 2012).

در این پژوهش، ۷ سویه متعلق به جنس *Haloferax* (۱۷/۵ درصد سویه‌ها) جداسازی شد که بررسی‌ها نشان داد که اعضای این جنس پایین‌ترین میزان بهینه نمک را در میان آرکی‌های نمک‌دوست دارند و به کمترین میزان NaCl برای حفظ ساختار سلولی خود نیازمندند (DSouza et al., 1997). با وجود پایین بودن میزان یون‌های سدیم و منیزیم در منطقه ۱، برخلاف انتظار بیشترین تعداد جداسازی میکروارگانیسم‌ها از این منطقه انجام شد، با توجه به این که از تعداد ۷ جدایه متعلق به جنس *Haloferax*، ۶ جدایه از این منطقه جداسازی شده است، می‌توان تعداد بالا و غیر قابل انتظار جداسازی از این منطقه را توجیه نمود.

بر اساس نظر Bardavid و همکاران (۲۰۰۸)، تلقیح آب نمک دریاچه بر روی پلیت حاوی غلظت بالای نمک و غنی از مواد غذایی پیچیده موجب جداسازی سویه‌های متعلق به جنس‌های *Halorubrum*، *Haloarcula* و *Haloferax* می‌شود. این مسأله بیشتر به دلیل توانایی رشد آنها در این شرایط است تا اینکه به واسطه فراوانی آنها در محیط باشد (Bardavid et al., 2008). همچنین، با توجه به pH پایین تالاب اینچه‌برون نسبت به دریاچه‌های آران و بیدگل و ارومیه، عدم جداسازی اعضای جنس‌های *Natronomonas* و *Natronococcus* که آرکی‌های نمک‌دوست و قلیادوست هستند دور از انتظار نیست.

جنس *Halobacterium* به عنوان گروه چیره در جمعیت های آرکیایی دریاچه های نمک شناخته نشده است (Oren, 2006). در میان جدایه های متعلق به اعضای *Halobacteriaceae* در این پژوهش تنها یک جدایه متعلق به جنس *Halobacterium* با نام E4B با شباهت توالی ۹۹/۶ درصد جداسازی شد. درصد نمک و ترکیبات آلی فراوان موجود در محیط جداسازی می تواند یک عامل انتخابی برای جداسازی اعضای این جنس باشد (Birbir *et al.*, 2007).

در مجموع، میزان شباهت توالی 16S rRNA برای ۱۲ سویه بین ۹۷-۹۸/۷ درصد بود که با انجام هیبریداسیون DNA-DNA با گونه های نزدیک و بررسی

صفات فنوتیپی ممکن است در گونه جدیدی قرار گیرند. برای ۵ سویه درصد شباهت کمتر از ۹۷ درصد با اعضای جنس های *Halobellus* و *Halorubrum* نشان داده شده که بیانگر تفاوت شایان توجه در سطح گونه و یا حتی جنس بین این سویه ها و گونه های ثبت شده بود، این سویه ها می توانند بدون انجام هیبریداسیون DNA-DNA با گونه های نزدیک در گونه های جدید قرار گیرند (Stackebrandt, 2006). در ۷ سویه درصد شباهت ۱۰۰ درصد بود و به عنوان سویه های بومی گونه های مشابه خود در نظر گرفته می شوند. در جدول ۵، سویه هایی که می توانند معرف جنس ها و گونه های جدید باشند نشان داده شده است.

جدول ۵- سویه هایی که می توانند معرف جنس ها و گونه های جدید باشند

نام سویه	شباهت ترادف 16S rRNA
AC6, AO7, DB3, DM1, J2	۹۳-۹۷ درصد
AC2, AM1, AM5, AM14, AM17, B16, DA7, DS16, I3, I5, I6A, R8	۹۷-۹۸/۹ درصد

با توجه به تأکید این پژوهش بر جداسازی میکروارگانیسم های نمک دوست اجباری، محیط های کشت مناسب برای جداسازی نمک دوست های نسبی و تحمل کننده نمک انتخاب نشده بود، در نتیجه امکان جداسازی مناسب اعضا این گروه وجود نداشت. با وجود این، در قلمرو باکتری ها بیشترین گروه های جداسازی شده اعضای جنس *Rhodovibrio* بود که باکتری های نمک دوست نسبی هستند و نخستین بار از رسوبات و آب های دریای مرده جداسازی شده اند و به *aproteobacteria* متعلق هستند. اعضای جنس های *Salicola* و *Pseudomonas* از دیگر جنس های جداسازی شده از قلمرو باکتری ها در این پژوهش بود. *Salicola* باکتری بدون رنگدانه و نمک دوست اجباری است که نخستین بار از دریاچه های نمک کم عمق در

الجزایر جداسازی شده است (Kharroub *et al.*, 2006). *Pseudomonas halophila* نیز باکتری نمک دوست نسبی است و نخستین بار از دریاچه Great Salt Lake در آمریکا جداسازی شد (Fendrich, 1988).

در مجموع، جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم ها به عنوان گنجینه ای از ذخایر زیستی کشور از اهمیت ویژه ای برخوردار است و دانش تنوع زیستی ابزار قدرتمندی برای رسیدن به این مهم فراهم می کند. در این پژوهش برای نخستین بار بررسی تنوع آرکی های نمک دوست اجباری از تالاب اینچه برون انجام شد که با توجه به تعداد محدود جنس های آرکی نمک دوست شناسایی شده، بررسی ها بیانگر تنوع نسبتاً بالای آرکی های نمک دوست در این تالاب است.

منابع

- Amoozegar, M. A., Ghasemi, A., Razavi, M. R. and Naddaf, S. (2007) Evaluation of hexavalent chromium reduction by chromate-resistant moderately halophile, *Nesterenkonia* sp. Strain MF2. *Process Biochemistry* 42: 1475-1479.
- Amoozegar, M. A., Malekzadeh, F. and Malik, K. A. (2003) Production of amylase by newly isolated moderate halophile, *Halobacillus* sp. Strain MA-2. *Journal of Microbiological Methods* 52: 353-359.
- Asadi, B. (2011) Diversity of aerobic extremely halophilic prokaryotes from western coastal line of Urmiah Lake using culture-dependent and culture-independent methods. MSc thesis, University of Tehran, Tehran, Iran (in Persian).
- Bardavid, R. E., Khristo, P. and Oren, A. (2008) Interrelationships between *Dunaliella* and halophilic prokaryotes in saltern crystallizer ponds. *Extremophiles* 12: 5-14.
- Birbir, M., Calli, B., Mertoglu, B., Bardavid, E. R., Oren, A., Mehmet, N.O. and Ogan, A. (2007) Extremely halophilic archaea from Tuz Lake, Turkey and the adjacent Kadirim and Kayacil salterns. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 23: 309-316.
- Burns, D. G., Camakaris, H. M., Janssen, P. H. and Dyll-Smith, M. L. (2004) Combined use of cultivation-dependent and cultivation-independent methods indicates that members of most haloarchaeal groups in an Australian crystallizer pond are cultivable. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 5258-5265.
- DSouza, S. E., Altekar, W., DSouza, S. F. (1997) Adaptive response of *Haloferax mediterranei* to low concentration of NaCl (<20%) in the growth medium. *Archives of Microbiology* 168: 682-689.
- Dussault, H. (1955) An improved technique for staining red halophilic bacteria. *Journal of Bacteriology* 70: 484-485.
- Dyll-Smith, M. L. (2008) The halo handbook: protocols for haloarchaeal genetics. Retrieved from <http://www.haloarchaea.com/resources/halohandbook>. On 2 April 2009.
- Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Fendrich, C. (1988) *Halovibrio variabilis* gen. nov. sp. nov., *Pseudomonas halophila* sp. nov. and a new halophilic aerobic coccoid Eubacterium from Great Salt Lake, Utah, USA. *Systematic and Applied Microbiology* 11: 36-43.
- Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Wood, W. A. and Krieg, N. R. (1994) Methods for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Jiang, H., Dong, H., Zhang, G., Yu, B., Chapman, L. R. and Fields, M. (2006) Microbial diversity in sediments of lake Chaka, an athalassohaline lake in northwestern China. *Applied and Environmental Microbiology* 72(6): 3832-3845.
- Kharroub, K., Aguilera, M., Quesada, T., Morillo, J. A., Ramos-Cormenzana, A., Boulharouf, A. and Monteoliva-Sánchez, M. (2006) *Salicola salis* sp. nov., an extremely halophilic bacterium isolated from Ezzemoul sabkha in Algeria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56: 2647-2652.
- Kolmodin, L. A. and Williams, J. F. (1994) PCR cloning protocols. In: *Methods in molecular biology*. (Ed. White, B. A.) 192: 3-15. Humana Press, New Jersey.
- Kumar, S., Nei, M., Dudley, J. and Tamura, K. (2008) MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics* 9(4): 299-306.

- Kuwei, K., Min, W., Yuehong, W. and Huibin, Zh. (2007) Culturable halophilic archaeal diversity of Ayakekumu salt lake located in Xinjiang, China. *Acta Ecologica Sinica* 27(8): 3119-3123.
- Ma, Y., Galinski, E. A., Grant, W. D., Oren, A. and Ventosa, A. (2010) Halophiles 2010: Life in saline environmen. *Applied and Environmental Microbiology* 76(21): 6971-6981.
- Makhdoumi-Kakhki, A., Amoozegar, M. A., Kazemi, B., Pasic, L. and Ventosa, A. (2012) Prokaryotic diversity in Aran-Bidgol Salt Lake, the largest hypersaline playa in Iran. *Microbes and Environments* 27(1): 87-93.
- Marmur, J. (1961) A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from micro-organisms. *Journal of Molecular Biology* 3: 208-218.
- Maturrano, L., Santos, F., Rossello-Mora, R. and Anton, J. (2006) Microbial diversity in Maras salterns, a hypersaline environment in the Peruvian Andes. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 3887-3895.
- Minegishi, H., Echigo, A., Nagaokam S. h., Kamekura, M. and Usami, R. (2009) *Haloarchaeum acidophilum* gen. nov., sp. nov., a moderately acidophilic haloarchaeon isolated from commercial solar salt. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Minegishi, H., Mizuki, T., Echigo, A., Tadamasa, F., Kamekura, M. and Usami, R. (2008) Acidophilic haloarchaeal strains are isolated from varios solar salts. *Saline Systems* 4: 16.
- Oren, A. (2006) The order Halobacteriales. In: *The Prokaryotes* (Eds. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H. and Stachkebrandt, E.) 3: 113-164. Springer, New York.
- Rohban, R., Amoozegar, M. A. and Ventosa, A. (2009) Screening and isolation of halophilic bacteria producing extracellular hydrolyses from Howz Soltan Lake, Iran. *The Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 36: 333-340.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987) The neighbor joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Stackebrandt, E. and Ebers, J. (2006) Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiology Today* 33(4): 152-155.

منابع

- Amoozegar, M. A., Ghasemi, A., Razavi, M. R. and Naddaf, S. (2007) Evaluation of hexavalent chromium reduction by chromate-resistant moderately halophile, *Nesterenkonia* sp. Strain MF2. *Process Biochemistry* 42: 1475-1479.
- Amoozegar, M. A., Malekzadeh, F. and Malik, K. A. (2003) Production of amylase by newly isolated moderate halophile, *Halobacillus* sp. Strain MA-2. *Journal of Microbiological Methods* 52: 353-359.
- Asadi, B. (2011) Diversity of aerobic extremely halophilic prokaryotes from western coastal line of Urmiah Lake using culture-dependent and culture-independent methods. MSc thesis, University of Tehran, Tehran, Iran (in Persian).
- Bardavid, R. E., Khristo, P. and Oren, A. (2008) Interrelationships between *Dunaliella* and halophilic prokaryotes in saltern crystallizer ponds. *Extremophiles* 12: 5-14.
- Birbir, M., Calli, B., Mertoglu, B., Bardavid, E. R., Oren, A., Mehmet, N.O. and Ogan, A. (2007) Extremely halophilic archaea from Tuz Lake, Turkey and the adjacent Kadirim and Kayacil salterns. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 23: 309-316.
- Burns, D. G., Camakaris, H. M., Janssen, P. H. and Dyll-Smith, M. L. (2004) Combined use of cultivation-dependent and cultivation-independent methods indicates that members of most haloarchaeal groups in an Australian crystallizer pond are cultivable. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 5258-5265.
- DSouza, S. E., Altekar, W., DSouza, S. F. (1997) Adaptive response of *Haloferax mediterranei* to low concentration of NaCl (<20%) in the growth medium. *Archives of Microbiology* 168: 682-689.
- Dussault, H. (1955) An improved technique for staining red halophilic bacteria. *Journal of Bacteriology* 70: 484-485.
- Dyll-Smith, M. L. (2008) The halo handbook: protocols for haloarchaeal genetics. Retrieved from <http://www.haloarchaea.com/resources/halohandbook>. On 2 April 2009.
- Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Fendrich, C. (1988) *Halovibrio variabilis* gen. nov. sp. nov., *Pseudomonas halophila* sp. nov. and a new halophilic aerobic coccoid Eubacterium from Great Salt Lake, Utah, USA. *Systematic and Applied Microbiology* 11: 36-43.
- Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Wood, W. A. and Krieg, N. R. (1994) Methods for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Jiang, H., Dong, H., Zhang, G., Yu, B., Chapman, L. R. and Fields, M. (2006) Microbial diversity in sediments of lake Chaka, an athalassohaline lake in northwestern China. *Applied and Environmental Microbiology* 72(6): 3832-3845.
- Kharroub, K., Aguilera, M., Quesada, T., Morillo, J. A., Ramos-Cormenzana, A., Boulharouf, A. and Monteoliva-Sánchez, M. (2006) *Salicola salis* sp. nov., an extremely halophilic bacterium isolated from Ezzemoul sabkha in Algeria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56: 2647-2652.
- Kolmodin, L. A. and Williams, J. F. (1994) PCR cloning protocols. In: *Methods in molecular biology*. (Ed. White, B. A.) 192: 3-15. Humana Press, New Jersey.
- Kumar, S., Nei, M., Dudley, J. and Tamura, K. (2008) MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatics* 9(4): 299-306.

- Kuwei, K., Min, W., Yuehong, W. and Huibin, Zh. (2007) Culturable halophilic archaeal diversity of Ayakekumu salt lake located in Xinjiang, China. *Acta Ecologica Sinica* 27(8): 3119-3123.
- Ma, Y., Galinski, E. A., Grant, W. D., Oren, A. and Ventosa, A. (2010) Halophiles 2010: Life in saline environmen. *Applied and Environmental Microbiology* 76(21): 6971-6981.
- Makhdoumi-Kakhki, A., Amoozegar, M. A., Kazemi, B., Pasic, L. and Ventosa, A. (2012) Prokaryotic diversity in Aran-Bidgol Salt Lake, the largest hypersaline playa in Iran. *Microbes and Environments* 27(1): 87-93.
- Marmur, J. (1961) A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from micro-organisms. *Journal of Molecular Biology* 3: 208-218.
- Maturrano, L., Santos, F., Rossello-Mora, R. and Anton, J. (2006) Microbial diversity in Maras salterns, a hypersaline environment in the Peruvian Andes. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 3887-3895.
- Minegishi, H., Echigo, A., Nagaokam S. h., Kamekura, M. and Usami, R. (2009) *Haloarchaeum acidophilum* gen. nov., sp. nov., a moderately acidophilic haloarchaeon isolated from commercial solar salt. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Minegishi, H., Mizuki, T., Echigo, A., Tadamasa, F., Kamekura, M. and Usami, R. (2008) Acidophilic haloarchaeal strains are isolated from varios solar salts. *Saline Systems* 4: 16.
- Oren, A. (2006) The order Halobacteriales. In: *The Prokaryotes* (Eds. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H. and Stachkebrandt, E.) 3: 113-164. Springer, New York.
- Rohban, R., Amoozegar, M. A. and Ventosa, A. (2009) Screening and isolation of halophilic bacteria producing extracellular hydrolyses from Howz Soltan Lake, Iran. *The Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 36: 333-340.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987) The neighbor joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Stackebrandt, E. and Ebers, J. (2006) Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. *Microbiology Today* 33(4): 152-155.

Isolation and identification of culturable extremely halophilic archaea of Inche-Boroun wetland

Mehrnoosh Rasooli ^{1,2}, Mohammad Ali Amoozegar ^{3*} and Abbas Akhavan Sepahy ¹

¹ Department of Microbiology, Faculty of Biology Sciences, Islamic Azad University North Tehran Branch, Tehran, Iran

² Microorganisms Bank, Iranian Biological Resource Centre, Karaj, Iran

³ Department of Microbiology, Center of excellence in Phylogeny of Living Organisms, College of Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

Abstract

Haloarchaeal diversity of Inche-Boroun wetland in north of Iran in Golestan province was investigated by using culture-dependent methods. Sampling was carried out in May and September 2010. In each sampling, 4 distinct region of wetland were analyzed by using complex media like MGM, JCM168, MH1 and an alkaliphilic medium containing 23% salts. After incubation at 40°C, a total of 406 isolates were prepared and 2.1×10^6 CFU/ml were obtained in culture media. Among all isolates, 361 isolates were obtained from MGM and 39 isolates from JCM 168, 3 isolates from MH1 and 3 isolate from alkaliphilic media. Initial morphological, biochemical and physiological tests were performed. According to the results, 45 isolates were selected and phylogenetic analysis of 16S rRNA was performed for them. Among selected strains, 40 isolates belonged to *Halobacteriaceae* and were related to *Haloarcula*, *Halorubrum*, *Haloferax*, *Halobellus*, *Halogeometricum*, *Halobacterium*, *Halolamina*, *Halorhabdus* and *Halostagnicola* (respectively 30, 27.5, 17.5, 10, 5.2, 2.6, 2.6, 2.6 and 2.6 percent of Haloarchaeal strains). A total of 5 strains belonged to the kingdom of Bacteria and were related to *Rhodovibrio*, *Pseudomonas* and *Salicola* (respectively 40, 40 and 20 percent of bacterial strains). According to our results and the limited numbers of haloarchaeal genera that having been discovered until now, it seemed that the culturable prokaryotic populations in this hypersaline environment was diverse.

Key words: Halophilic archaea, Biodiversity, 16S rRNA gene

* amozegar@khayam.ut.ac.ir

Flora, life form and chorology of plants of the Helali protected area in Khorasan-e Razavi province

**Fatemeh Sokhanvar¹, Hamid Ejtehadi¹, Jamil Vaezi^{2*}, Farshid Memariani³
Mohammad Reza Joharchi³ and Zahra Ranjbar¹**

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

² Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

³ Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

“Helali protected area” has been officially announced as a no-hunting zone since 1997 and then, became a protected area in 2006. This area with *ca.* 63495 hectares, is located in the west of Gonabad and southeast of Bajestan, Khorasan-e Razavi province. The area includes mountains, plains and foothills and has a dry and desert climate with warm summers and cold winters based on De Martonne’s aridity index. In investigation of the flora, 318 vascular plant species belonging to 205 genera and 53 families were identified. The most dominant families were Asteraceae, Poaceae, and Brassicaceae with 53, 30, and 26 plant species, respectively. Chorological classification of the flora showed that the majority of the species (56.3%) belonged to the Irano-Turanian region. Pluri-regional, cosmopolitan and sub-cosmopolitan elements made up 14.1% of the flora which reflected a disturbance history in the area. Therophytes (47.5%) and hemicryptophytes (26.1%) were the most important life forms according to Raunkiaer classification.

Key words: Life form, Flora, Chorology, Helali protected area, Khorasan-e Razavi

* j.vaezi@scu.ac.ir

The use of protein patterns in genetic diversity analysis in some *Brassica napus* cultivars

Roya Razavizadeh * and Fatemeh Rostami

Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697 Tehran, Iran

Abstract

In this study, protein variations of seeds and five-day old cotyledonal leaves of four selected *Brassica napus* cultivars including Elite, Ocapy, Tasilo and Zarfam were analyzed by SDS-PAGE to identify protein markers. The amount of total soluble protein of seed storage proteins did not show significant differences in all cultivars whereas it was different in cotyledonal leaves. Protein patterns of seeds and cotyledonal leaves showed significant differences using SDS-PAGE and consequence analysis of bands by ImageJ program. Relative expression of six protein bands in seeds and five-day old cotyledonal leaves were significantly different. Three protein markers were identified by protein patterns of seed and cotyledonal leaves. The results of relationship analysis based on presence and absence of the specific protein bands in protein pattern of seed storage proteins showed that Tasilo and Elite cultivars had the highest similarities.

Key words: Canola, Cotyledonal leaves protein, Seed storage protein, Protein markers

* razavi.roya@gmail.com

Taxonomic study of *Festuca* L. subgenus *Schedonorus* (P. Beauv.) Peterm. in Iran

**Sayed Zabihollah Hosseini ^{1*}, Mohammad Reza Rahiminejad Ranjbar ¹, Hojatollah Saeidi ¹
and Mostafa Assadi ²**

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

² Botany Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

Abstract

This study was based upon a taxonomic review of the subgenus *Schedonorus* in Iran. A collection of 30 specimens belonging to the herbaria: W, B and HUI (herbarium of the University of Isfahan) were studied. Based on the results of this study, this subgenus included three species: *Festuca arundinacea*, *F. gigantea* and *F. pratensis* in Iran. Furthermore, this study showed that *F. arundinacea*, occurred in this country with two subspecies: *orientalis* (Hack.) Tzvelev and *fenas* (Lag.) Arcang. with the greatest area of distribution compared to the other two species. Our examination of the type specimen of *F. elatior* subsp. *pratensis* var. *elbursiana* confirmed its synonymy with *F. arundinacea*.

Key words: *Schedonorus*, *Festuca arundinacea*, *F. gigantea*, *F. pratensis*, Iran

* zhossini@sci.ui.ac.ir

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

Hajar Salehi, Abdolkarim Chehregani Rad *, Morteza Atri and Fariba Mohsenzadeh

Department of Biology, Faculty of Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Abstract

Interspecific and intraspecific variations are the main reserves of biodiversity and both are important sources of speciation. On this basis, identifying and recognizing the intra and interspecific variations is important in order to recognition of biodiversity. This research was done to study biodiversity and electrophoresis comparison of seed storage proteins in the populations of the two species of the genus *Achillea* in Hamadan and Kurdistan provinces using of the method of determination of special station (DSS). For this purpose, 12 and 9 special stations were selected for the species *A. tenuifolia* and *A. biebersteinii* using the data published in the related flora. Seed storage proteins were extracted and then studied using electrophoresis techniques (SDS-PAGE). In survey of all special stations, 120 plant species were distinguished as associated species. The results of the floristic data for the both species determined six distinctive groups that indicated the existence of intraspecific diversity in this species. The result of analysis of ecological data and seed storage proteins for the two species was in accordance with the floristic data and showed six distinctive groups. The existence of the bands of no. 4, 5, 8, 12 and 13 in the special stations of *A. tenuifolia* and the bands of 14, 15 and 16 in the special stations of *A. biebersteinii* separated the populations of the species in two quite different and distinctive groups.

Key words: Intraspecific diversity, Interspecific diversity, Protein profile, Asteraceae

* chehregani@basu.ac.ir

Use of intron-exonic marker in assessment of genetic diversity of two subspecies of *Thymus daenensis*

Ahmad Ismaili ^{1*}, Farzaneh Mojiri ¹ and Seyedeh Zahra Hosseini ²

¹ Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, KhoramAbad, Iran

² Department of Plant Biology, Faculty of Basic Sciences, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran

Abstract

Study of genetic diversity in medicinal plant is very important for improvement and evolutionary variations. In this study, assessment of genetic diversity in two subspecies of *Thymus daenensis* was evaluated, using intron-exonic markers. Thirty primers produced 633 polymorphic bands (98% polymorphism). The highest polymorphic information content (PIC) included ISJ₅ and ISJ₉ primers and the lowest PIC also included IT₁₅₋₃₂ primer. The highest marker index (MI) produced by IT₁₀₋₆ primer. Results of Analysis of Molecular Variance (AMOVA) showed that intra-sub specific variation was more than inter-sub specific variation. Dendrogram obtained from Cluster analysis, using NTSYS-pc software and UPGMA method based on Dice's similarity matrix, divided accessions into 4 groups. The maximum range of genetic similarity was observed between two accessions of sub-species *daenensis*. Two accessions of Fars and Semnan formed a separate group. Results showed that clustering based on molecular data and principal coordinate analysis had a medium alignment. Grouping based on cluster analysis also could separate two subspecies of *Thymus daenensis*. Results obtained from this study showed that intron-exonic markers had an effective potential in assessment of genetic relationships between the two sub-species of *daenensis*.

Key words: *Thymus daenensis*, Genetic Diversity, Polymorphism

* ismaili.a@lu.ac.ir

Introduction of Seed Accumulation Index as new approach in soil seed bank classification

Azam Noraiy, Omid Esmaeilzadeh *, Seyed Gholamali Jalali and Hamed Asadi

Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

Abstract

The purpose of this study was the introduction of seed accumulation index as a new approach in the evaluation of soil seed bank consistency in the *Populus caspica* in Noor reserved forest park. Sampling were made above ground vegetation at peak vegetation cover during June 2010 by systematic- selective method. Soil samples were collected during late June, late November and early February by hammering a hollow metal frame 400 cm² into two depths with 4 replicate in each sample plot and the species composition of seed bank was determined using seedling emergence method. Results showed that 42.2% of the plants species were classified in transient soil seed bank and only 57.8% species, which were mainly composed of early successional species, were able to produce persistent seed bank. In this case, only 3 tree species including; *Ficus carica*, *Morus alba* and *Alnus glutinosa* were able to produce persistent soil seed bank. Chi- square goodness of fit test ($\chi^2= 60.2$) in reviewing the independence of SAI index and seed depth distribution model as the two methods of seed bank classification showed that the results of these two methods were not independent and they were applicable together with 99% probability. In this case, conformity and correlation between the two mentioned methods were assessed 85.2% based upon Kappa index and Spearman correlation coefficient. Therefore, it was concluded that seed accumulation index, which namely SAI, could be used as a new approach in soil seed bank classification of forest habitats.

Key words: Soil seed bank classification, Persistence, Seed Accumulation Index (SAI)

* oesmailzadeh@modares.ac.ir

**Sexual dimorphism in skull morphology of the brown bear
(*Ursus arctos* Linnaeus, 1758) in Iran
using geometric morphometric technique**

Farzaneh Ghanbari ¹, Mohammad Kaboli ^{1*}, Soheil Eagderi ² and Bagher Nezami Balouchi ³

¹ Department of Natural Environment, Faculty of Natural Resources, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

² Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

³ Department of Environment, Faculty of Environment and Energy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Sexual dimorphism is a common phenomenon in many animal species. This study was conducted to investigate the patterns of sexual dimorphism in skull of Iranian brown bears (*Ursus arctos*) using geometric morphometric technique. The ventral, dorsal and lateral faces of 79 collected skulls were photographed using digital camera and seventeen, thirteen and sixteen landmark points were defined and digitized on images, respectively. Landmark data after generalised procrustes analysis (GPA) were analyzed using CVA (Canonical Variate Analysis) and MANOVA (Multivariate Analysis of Variance). Results showed significant difference between skull shape of male and female ($P < 0.05$) and adults and youngs as well. Observed differences in the shape of skull could confirm sexual shape dimorphism in the cranium of brown bears. According to the results, sexual dimorphism of bear's skull was more pronounced in occipital crest, zygomatic arc, parietal bones and teeth row. These differences could display the allometric growth pattern in both genders' skull as a result of different functional morphology.

Key words: Shape analysis, Brown bear *Ursus arctos*, Sexual dimorphism, Landmark-based geometric morphometrics

* mkaboli@ut.ac.ir

Lizard's fauna of the Sabzevar with particular emphasis on the syntopic lizard and presentation of a framework for reptile distribution of Iran

Masoud Yousefi¹, Ali Khani², Sayyad Shaykhi Ilanloo³ and Eskandar Rastegar Pouyani^{4*}

¹ Department of Natural Environment, Faculty of Natural Resources, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

² Khorasan-e Razavi Provincial Office of the Department of the Environment (DOE), Mashhad, Iran

³ Department of Environment, Faculty of Fishery and Environmental Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

⁴ Department of Biology, Faculty of Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran

Abstract

Sabzevar is one of the most biologically diverse regions in northeast Iran, with the area of 19500 km² and an elevational of 950-2977 m. During a long term study of lizards in this area which lasted 3 years, 21 species and subspecies of lizards belonging to 13 genera and 5 families were collected, recognized and reported. The families Anguidae, Eublepharidae and Uromastycidae were not represented in the area. The genus *Eremias* with 6 species was the most diverse genus in Sabzevar district. More emphasis was given to the syntopic reptiles. This showed that *Trapelus agailis* with having 18 syntopic species and *Cyrtopodion caspium* with no syntopic species were in the extreme sides. Due to our little knowledge on the distribution of reptiles in Iran, we designed a framework for providing a reptile's distribution map in Iran.

Key words: Lizard's fauna, Syntopic reptiles, Sabzevar, Distribution map

* e.rastegar@sttu.ac.ir

Taxonomy and Biosystematics
5th Year, No. 16, Autumn 2013
ISSN (Print): 2008-8906
ISSN (Online): 2322-2190

Contents

- **Lizard's fauna of the Sabzevar with particular emphasis on the syntopic lizard and presentation of a framework for reptile distribution of Iran 1**
Masoud Yousefi, Ali Khani, Sayyad Shaykhi Ilanloo and Eskandar Rastegar Pouyani
- **Sexual dimorphism in skull morphology of the brown bear (*Ursus arctos* Linnaeus, 1758) in Iran using geometric morphometric technique 2**
Farzaneh Ghanbari, Mohammad Kaboli, Soheil Eagderi and Bagher Nezami Balouchi
- **Introduction of Seed Accumulation Index as new approach in soil seed bank classification 3**
Azam Noraiy, Omid Esmailzadeh, Seyed Gholamali Jalali and Hamed Asadi
- **Use of intron-exonic marker in assessment of genetic diversity of two subspecies of *Thymus daenensis* 4**
Ahmad Ismaili, Farzaneh Mojiri and Seyedeh Zahra Hosseini
- **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 5**
Hajar Salehi, Abdolkarim Chehragani Rad, Morteza Atri and Fariba Mohsenzadeh
- **Taxonomic study of *Festuca* L. subgenus *Schedonorus* (P. Beauv.) Peterm. in Iran 6**
Sayed Zabihollah Hosseini, Mohammad Reza Rahiminejad Ranjbar, Hojatollah Saeidi and Mostafa Assadi
- **The use of protein patterns in genetic diversity analysis in some *Brassica napus* cultivars 7**
Roya Razavizadeh and Fatemeh Rostami
- **Flora, life form and chorology of plants of the Helali protected area in Khorasan-e Razavi province 8**
Fatemeh Sokhanvar, Hamid Ejtehadi, Jamil Vaezi, Farshid Memariani, Mohammad Reza Joharchi and Zahra Ranjbar
- **Isolation and identification of culturable extremely halophilic archaea of Inche-Boroun wetland 9**
Mehrnoosh Rasooli, Mohammad Ali Amoozegar and Abbas Akhavan Sepahy

Referees to this issue (5th Year, No. 16, Autumn 2013)

We express our deep gratitude to the following faculty members of the universities and of educational-research Institutes who have co-operated in evaluation and assessment of the articles of this issue of Journal of Taxonomy and Biosystematics (TBJ):

Dr. Mansour Aliabadian

Ferdowsi University of Mashhad

Dr. Marahem Ashengroph

University of Kurdistan

Dr. Younes Asri

Research Institute of Forests and Rangelands

Dr. Soheil Eagderi

University of Tehran

Dr. Ali Akbar Ehsanpour

University of Isfahan

Dr. Mohammad Hossein Ehtemam

Isfahan University of Technology

Dr. Hamidreza Esmacili

University of Shiraz

Dr. Zahra Etemadifar

University of Isfahan

Dr. Hossein Fathpour

University of Isfahan

Dr. Farrokh Ghahremaninejad

Kharazmi University

Dr. Shahrokh Kazempour Osaloo

Tarbiat Modares University

Dr. Navaz Kharazian

University of Shahrekord

Dr. Ahmadreza Khosravi

University of Shiraz

Dr. Seyed Masoud Madjdzadeh

Shahid Bahonar University of Kerman

Dr. Mohammad Javad Mehdipour Moghaddam

University of Guilan

Dr. Seyed Mansour Mirtadzadini

Shahid Bahonar University of Kerman

Dr. Alireza Naqinezhad

University of Mazandaran

Dr. Mehdi Rahim Malek

Isfahan University of Technology

Dr. Majid Sharifi Tehrani

University of Shahrekord

Taxonomy and Biosystematics

5th Year, No. 16, Autumn 2013

ISSN (Print): 2008-8906

ISSN (Online): 2322-2190

Scientific Research Journal

Editor-in-Chief:

Dr. Mohammad Reza Rahiminejad Ranjbar University of Isfahan

Editorial Board

Dr. Hamid Ejtehad	Professor - Ferdowsi University of Mashhad
Dr. Ali Akbar Ehsanpour	Professor - University of Isfahan
Dr. Ali Asghar Maassoumi	Professor - Research Institute of Forests and Rangelands
Dr. Jamshid Darvish	Professor - Ferdowsi University of Mashhad
Dr. Mohammad Reza Rahiminejad Ranjbar	Professor - University of Isfahan
Dr. Homa Rajaei	Associate Professor - University of Shiraz
Dr. Badrodin Ebrahim Seyed Tabatabaee	Professor - Isfahan University of Technology
Dr. Mehrdad Abbasi	Associate Professor - Iranian Research Institute of Plant Protection
Dr. Hossein Fathpour	Associate Professor - University of Isfahan
Dr. Iraj Nahvi	Professor - University of Isfahan
Dr. Sadegh Vallian Boroujeni	Professor - University of Isfahan

Executive and Manuscript Manager: Fariba Hadian (Msc)

Scientific English Editor: Fereidoon Parvizian

Scientific Editor: Fariba Hadian

Professional Layout Designer: Fariba Hadian

Publisher: University of Isfahan

Address: Taxonomy and Biosystematics Office, Technology and Research Department, University of Isfahan, Hezar Jerib Street, Postal Code 81746-73441, Isfahan, Islamic Republic of Iran.

Email: TBJ@ui.ac.ir

Website: <http://uijs.ui.ac.ir/tbj>

Tel: 98 -311-7934255

Fax: 98 -311-7932177

Taxonomy and Biosystematics has been ranked as a **scientific-research** journal based on the document number 3/11/955 issued by the Evaluation Committee of Scientific Journals of Research and Technology Ministry in September, 2009; also it has been registered with **International Standard Serial Number (ISSN): 2008-8906** for Print and **ISSN: 2322-2190** for Online by National Library and Archives of Islamic Republic of Iran.

Taxonomy and Biosystematics is indexed and listed in these Databases:

TBJ electronic database	http://uijs.ui.ac.ir/tbj
EBSCOhost databases	http://www.ebscohost.com
DOAJ: Directory of Open Access Journals	http://www.doaj.org
Index Copernicus (IC Journal Master List)	http://journals.indexcopernicus.com
ISC: Islamic World Science Citation center	http://www.isc.gov.ir
Magiran: Journals database	http://www.magiran.com
SID: Scientific Information Database	http://www.sid.ir
Ulrichsweb: global serials directory	http://ulrichsweb.serialssolutions.com

Publication and Lithography: University of Isfahan Publications

Publisher: University of Isfahan

Published in: Autumn 2013

Taxonomy and Biosystematics

5th Year, No. 16, Autumn 2013

Published by
University of Isfahan Research Center