بررسی روند تکامل صفات ریخت‌شناسی در گونه‌های ایرانی سردهٔ *Stachys* از نعنائیان براساس توالی هسته ای nrITS

یاسمن سلمکی

دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱۱/ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۱۰/ چاپ: ۱۳۹۵/۱۲/۲۸

قطب تبارزایی موجودات زنده و گروه علوم‌گیاهی، دانشکدهٔ زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران
ایمیل: ysalmaki@ut.ac.ir

چکیده. تکامل صفات ریخت‌شناختی در چارچوب مطالعات تبارزایشی و براساس داده‌های توالی nrITS صورت گرفت. در این تحلیل ۲۸ آرایه شامل دو برون گروه (*Betonica officinalis*, *Melittis mellisophyllum*) و ۲۶ آرایه از گونه‌های سرده *Stachys* که در ایران رویش دارند به‌منزلهٔ درون‌گروه انتخاب شدند. به‌منظور بررسی روند تکامل صفات، ده صفت رویشی و زایشی انتخاب شد. این صفات شامل زیستگاه، شکل رویشی، ریخت‌شناسی برگ، گل‌آذین، کاسه، جام و کرک‌پوش بودند. بازسازی روابط تبارزایشی داده‌های توالی nrITS براساس روش استنباط بیزی انجام شد. سپس، بررسی روند تکامل صفات ریخت‌شناختی با استفاده از نرم‌افزار Mesquite و ماتریس داده‌های ریخت‌شناسی انجام گرفت. نوع صفت، حالت‌های صفت، تعداد گام‌ها و ضرایب لازم برای هریک از صفات محاسبه شد. از میان صفات ریخت‌شناختی بررسی‌شده، صفات مربوط به شکل رویشی و وجود کرک‌پوش ساده از جمله صفاتی بودند که دارای بالاترین ضریب سازگاری بود و کمترین جورگرایی را نشان می‌دادند. کمترین میزان ضریب سازگاری به صفاتی همچون کاسهٔ متقارن، برگ‌های قاعده‌ای پایا و وجود کرک غده‌ای اختصاص داشت و به عبارت دیگر بیشترین میزان جورگرایی را نشان می‌دادند. بررسی روند تکامل صفات ریخت‌شناختی نشان داده است که بخشهٔ *Eriostomum* و بخشهٔ *Fragilicaulis* به‌ترتیب از جمله ابتدایی‌ترین و پیشرفته‌ترین بخشه‌های سرده *Stachys* به شمار می‌رود.

واژه‌های کلیدی. روابط تبارزایشی، جورگرایی، صفات پیشرفته مشترک، طایفهٔ Stachydeae، نشان‌گرهای مولکولی

Investigation of the evolutionary trend of morphological characters of *Stachys* (Lamiaceae) in Iran based on nrITS sequences data

Yasaman Salmaki

Received 01.08.2016/ Accepted 31.08.2016 /Published 18.03.2017

Center of Excellence in Phylogeny of Living Organisms and Department of Plant Science, School of Biology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran
Email: ysalmaki@ut.ac.ir

Abstract. The evolutionary trend of the morphological characters of the genus *Stachys* in Iran, on the basis of nrITS sequence data, was investigated. A total of 28 nrITS sequences, representing 26 species of *Stachys* as well as *Betonica officinalis* and *Melittis mellisophyllum*, were obtained from GenBank. Patterns of character evolution were assessed for 10 vegetative and reproductive characters with emphasis on taxonomic treatments of *Stachys* performed earlier to infer its history and interpret processes of change. The most important characters included habitat, growth form, leaf morphology, inflorescence, calyx and corolla as well as trichome morphology. Phylogenetic tree, based on the nrITS dataset, were constructed by Bayesian analysis. Parsimony mapping was performed in Mesquite v. 1.12. The present analysis revealed that the state of symmetrical calyx, the presence of basal leaves as well as the presence of glandular trichomes were not in agreement with the results of molecular data, which indicated the artificial nature of these characters in previous classification. The presence of simple trichomes as well as the growth forms were consistent with phylogeny based on nrITS sequences. Evolutionary trend of morphological characters demonstrated that the sect. *Eriostomum* and sect. *Fragilicaulis* were the most primitive and the most advanced sections in Iran, respectively.

Keywords. phylogenetic relationship, homoplasy, synapomoprphy, Stachydeae, nuclear marker

مقدمه

سردهٔ *Stachys* L. با ۲۷۵ تا ۳۰۰ گونه از جملهٔ بزرگ‌ترین و پیچیده‌ترین سرده‌های نعنائیان (Lamiaceae) به‌شمار می‌رود. از اصلی‌ترین مراکز تنوع این سرده می‌توان نواحی کوهستانی جنوب غربی و مرکزی آسیا را نام برد که در این میان ایران، با ۳۴ گونه، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Salmaki *et al.*, 2012). اکثر گونه‌های این سرده با آشیانه‌های بوم‌شناختی اختصاصی سازش یافته‌اند. گونه‌های مختلف این سرده از کوه‌های مرتفع اروپایی با دامنه‌های مرطوب تا چمن‌زارهای مرتفع هیمالیا، در کوهستان‌های آسیای مرکزی و نیز در شن‌زارهای حاشیهٔ رودخانه-

ها یافت می‌شوند (Bhattacharjee, 1980). ایران با وجود اینکه تنها ۱۰٪ گونه‌های این سرده را در خود جای داده است اما بزرگ‌ترین نمایندهٔ گونه‌ای بخشه‌های معرفی‌شده در سرده به‌شمار می‌رود. براساس منابع مختلف، ۱۸ بخشه (Bhattacharjee, 1980; Koeva-Todoravska 1978) برای این سرده در دنیا شناخته می‌شود. از این میان ۱۰، بخشه یعنی بیش از نیمی از آنها، در ایران حضور دارند.

گونه‌های این سرده گیاهانی یک‌ساله (*S. melampyroides* Hand.-Mazz.)، چندساله، ایستاده (*S. spectabilis* Choisy ex DC.)، پشته‌ای با انشعابات متراکم (*S. multicaulis* Benth.) یا درختچه‌ای کوتاه با انشعابات تنک (*S. fruticulosa* M.Bieb.) هستند که می‌توانند در انتها به گل‌آذین (*S. persica* S.G.Gmel. ex C.A.Mey.) یا به خار (*S. acerosa* Boiss.) ختم شوند. این تنوع زیستگاهی در بین گونه‌های پراکنده در ایران نیز درخورتوجه است، به‌طوری‌که برخی گونه‌ها نظیر اعضای بخشهٔ *Fragilicaulis* Bhattacherjee صخره‌زی هستند، ولی اغلب اعضای بخشهٔ *Eriostomum* (Hoffmanns. & Link) Dum. در دامنه‌های مرطوب کوهستانی یا در حاشیه یا حتی داخل جنگل یافت می‌شوند. مثال‌های دیگر از سازش با رویشگاه‌های اختصاصی، گونه‌های بخشه، *Aucheriana* Bhattacherjee ویژهٔ شیب‌های واریزه‌ای با خاک‌های آهکی و گونه‌های بخشهٔ *Thamnostachys* Kapeller با توانایی رویش بر خاک‌های شور یا قلیایی هستند (شکل ۱).

اولین رده‌بندی درون‌سرده‌ای *Stachys* به کوشش Dumortier (1826) ارائه شد. آرایه‌های زیرسرده‌ای او به‌دلیل مشخص‌نبودن رتبه معتبر نبودند، تا اینکه Bentham (1848) آنها را به‌صورت معتبر منتشر کرد. مهم‌ترین مرجع جدیدی که برای تعیین لکتوتیپ برای آرایه‌ها و ارائهٔ یک رده‌بندی منسجم شامل تعداد زیادی از گونه‌های *Stachys* اقدام کرده، Bhattacharjee (1980) بوده است. او علاوه‌بر درنظرگرفتن دو زیرسرده برای این سرده، تعدادی بخشهٔ جدید به بخشه‌های سابق افزوده و برای بخشه‌های بزرگ *Stachys* آرایهٔ زیربخشه را نیز منظور کرده است. برطبق رده‌بندی Rechinger (1982) در"فلورا ایرانیکا" ۳۴ گونهٔ *Stachys* در ۹ بخشه قرار می‌گیرند. همچنین ۴ دورگ نیز برای این سرده گزارش شده است.

امروزه، مطالعات تبارزایشی متعددی دربارهٔ سردهٔ *Stachys* با استفاده از نشانگرهای متنوع هسته‌ای و کلروپلاستی صورت گرفته است. نتایج حاصل از تمام این پژوهش‌ها مبین آن است که سردهٔ *Stachys* تک‌تبار نیست و نیاز مبرمی به بررسی‌های عمیق‌تر تبارزایشی دارد (Salmaki *et al.*, 2013; Bendiksby *et al.*, 2011; Scheen *et al.*, 2010, Lindqvist & Alberts, 2002). در نخستین مطالعهٔ تبارزایشی که درباب نعنائیان انحصاری جزایر هاوایی صورت گرفت، تنها تعداد کمی از گونه‌های *Stachys* مطالعه شدند (Lindqvist & Albert, 2002). در این بررسی، نشان داده شده که *Stachys* و خویشاوندان آن گروهی غیرطبیعی را تشکیل داده‌اند و تک‌تبار نیستند. نتایج این تحقیق به‌خوبی نشان می‌دهد که سرده‌هایی همچون *Prasium* L.، *Phlomidoschema* (Benth.) Vved. و *Sideritis* به همراه نعنائیان بومی جزایر هاوایی [*Stenogyne* Benth.، *Phyllostegia* Benth.، *Haplostachys* (A. Gray) Hillebr.] با حمایت بالادر درون شاخهٔ *Stachys* با مفهوم وسیع جای می‌گیرند (Lindqvist & Albert, 2002). پس‌از آن، مطالعات تبارزایشی Scheen و همکاران (2010)، نتایج تحقیق Albert و Lindqvist (2002) را تأیید و تأکید کردند که این طایفه متشکل از سرده‌هایی با قرابت بالا با یکدیگر است که مرز مشخصی بین آنها وجود ندارد. در این مطالعه، نشان داده شد که سرده‌های آسیایی *Chamaesphacos* Schrenk ex Fisch. & C.A.Mey.، *Suzukia* Kudô و *Thuspeinanta* T. Durand نیز در درون شاخهٔ *Stachys* با مفهوم وسیع جای می‌گیرند. Bendiksby و همکاران (2011) نتایج مشابهی به‌دست آورده‌اند. براساس پژوهش اخیر سرده‌ی *Hypogomphia* Bunge نیز به مجموعه‌ی سرده‌هایی که مرز مشخصی با *Stachys* ندارند، افزوده شد.

به‌تازگی و براساس جامع‌ترین مطالعات تبارزایشی دربارهٔ نشانگرهای هسته‌ای و کلروپلاستی که Salmaki و همکاران (2013) انجام داده‌اند، تک تبار بودن طایفه مورد تأیید قرار گرفت و به شاخه تبارزایشی که شامل تمام سرده‌های این طایفه به‌جز *Melittis* L. بود نام *Eurystachys* نسبت داده شد. واژه "*Eurystachys*" به‌معنای درنظرگرفتن سرده *Stachys* با مفهوم وسیع (شامل ۱۰ سردهٔ دیگر این طایفه) به‌کار برده شد. امروزه، با

وجود تمام این تلاش‌ها هم‌چنان تصمیم‌گیری در بارهٔ مرز سرده‌های این طایفه در هاله‌ای از ابهام باقی مانده است و دو فرضیه در زمینهٔ حل روابط بین سرده‌ای در شاخهٔ Eurystachys مطرح می‌شود: ۱) کاهش تعداد یازده سردهٔ موجود در این شاخه به یک سرده که تمام سرده‌ها را در بر می‌گیرد (این سرده معادل همان شاخه تبارزایشی Eurystachys خواهد بود)، ۲) تغییر مرز بین سرده‌های موجود و بازنگری آنها براساس وجود گروه‌های تک‌تبار در شاخهٔ *Eurystachys* (در این حالت Eurystachys به سرده‌های کوچک‌تری شکسته خواهد شد). مطالعهٔ صفات ریخت‌شناختی که قابل انطباق بر درخت‌های مولکولی موجود باشند، راه را برای انتخاب یکی از دو فرضیه بالا هموار می‌نماید.

هدف این پژوهش بررسی روند تکامل صفات ریخت‌شناختی گونه‌های *Stachys* در ایران در چارچوب مطالعات تبارزایی مولکولی است که تاکنون تحت بررسی قرار نگرفته است. بررسی الگوهای جورگرایی صفات مختلف به‌منظور شناسایی صفات قابل اعتماد و استفاده از آنها در رده‌بندی درون سرده‌ای از اهداف دیگر این مطالعه است.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر به بازسازی مطالعات تبارزایی ۲۶ آرایه از سرده *Stachys* براساس داده‌های حاصل از صفات ریخت‌شناختی پرداخته شد. براساس مطالعات Salmaki و همکاران در سال 2013، گونه‌های *Betonica officinalis* L. و *Melittis melissophylum* L. به ترتیب به عنوان برون‌گروه دور و برون‌گروه نزدیک انتخاب و استفاده شدند. جدول ۱ نمایه‌ای است از گونه‌های *Stachys* موجود در ایران و موقعیت آنها را در برخی رده‌بندی‌های مهم نشان می‌دهد. پس‌از انجام مطالعات ریخت‌شناختی، ده صفت رویشی و زایشی انتخاب شدند و حالت‌های مختلف این صفات براساس مطالعات انجام‌شده دربارهٔ نمونه‌های گیاکده‌ای به دست آمد. جدول ۲ شامل اطلاعات نهایی دربارهٔ وضعیت صفات برای کلیه گونه‌ها است.

تهیهٔ ماتریس

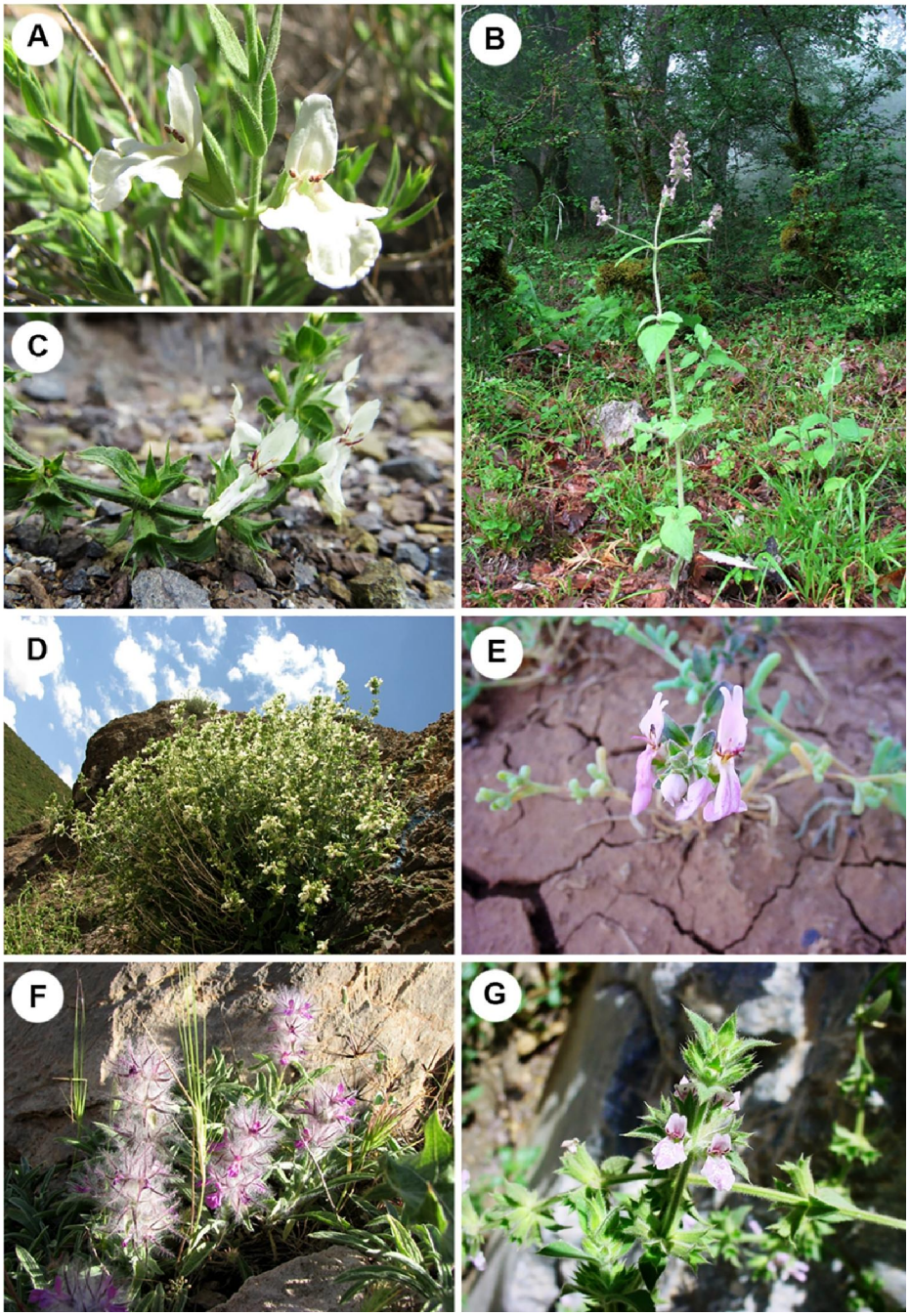
درمجموع، ۲۸ آرایه، ۲۶ درون‌گروه و ۲ برون‌گروه از لحاظ ۱۰ صفت مورد بررسی قرار گرفتند. این صفات شامل زیستگاه، شکل رویشی، ریخت‌شناسی برگ، گل‌آذین، کاسه، جام و کرک‌پوش بودند.

صفات با مطالعهٔ نمونه‌های موجود در گیاکده‌های مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع (TARI)، دانشگاه تهران (TUH) و پژوهشکدهٔ علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد (FUMH) و نمونه‌های جمع‌آوری شده که در مراحل بعد به دقت مطالعه اندازه‌گیری شده بودند، انتخاب و سپس کدگذاری شدند. حالت نهایی صفات و کدهای مربوط به ماتریس داده‌های ریخت‌شناختی در جدول ۳ آمده است. حالت‌های صفات با ارزش‌گذاری عددی به‌صورت نامرتب کدگذاری شد.

ارزش‌های داده شده به حالت‌های مختلف صفات، هیچ‌گونه برتری به یکدیگر نداشتند و نیایی یا پیشرفته‌بودن آنها تنها پس‌از مکان‌نگاری در قالب تبارزایی مشخص شدند. قطبیت صفات با توجه به روش برون‌گروه مشخص شد (Maddison *et al.*, 1984). در این روش، اگر صفتی در دو برون‌گروه جفت واقع در مجاورت درون‌گروه به طور مشترک مشاهده می‌شد آن وضعیت صفت ابتدایی در نظر گرفته شد و برای آن وضعیت صفر و برای حالت متقابل با آن وضعیت یک در نظر گرفته شد.

تحلیل اطلاعات

بازسازی روابط تبارزایشی داده‌های توالی nrITS براساس روش بیشینهٔ صرفه‌جویی در نرم افزار PAUP* 4.b10 (Swofford, 2003) و روش استنباط بیزی در نرم‌افزار Mrbayes نسخهٔ 3.1 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) انجام شد. مدل تکاملی با استفاده از برنامهٔ JModeltest (Posada, 2008) براساس معیار اطلاعاتی Akaike (AIC) انتخاب شد. براساس این تحلیل، داده‌های حاصل از ژن هسته‌ای nrITS با استفاده از مدل GTR+G+I بررسی شدند. سپس، با استفاده از نرم‌افزار Mesquite نسخهٔ 2.74 ماتریس داده‌های ریخت‌شناختی بر درخت حاصل از داده‌های مولکولی روش استنباط بیزی مکان‌نگاری شد (Maddison & Maddison, 2010).



شکل ۱- نمایش رویشگاه‌ها و شکل رویشی متنوع گونه‌های ایرانی سرده *Stachys*. **A:** *S. acerosa*- استپ کوهستانی، ایستاده؛ **B:** *S. atherocalyx*- استپ کوهستانی، ایستاده؛ **C:** *S. persica*- جنگل، ایستاده؛ **D:** *S. benthamiana*- صخره‌زی، ایستاده؛ **E:** *S. fruticolusa*- استپ کوهستانی، ایستاده؛ **F:** *S. lavandulifolia*- استپ کوهستانی، ایستاده؛ **G:** *S. setifera*- استپ کوهستانی (کنار رودخانه، بستر ماسه‌ای)، خوابیده برروی زمین.

Fig. 1. Habitat and habit of Iranian species of *Stachys*. **A:** *S. acerosa*- mountain steppes (Gravelly slopes), erect; **B:** *S. atherocalyx*- mountain steppes, erect; **C:** *S. persica*- margin of forests, erect; **D:** *S. benthamiana*- rocky places, erect; **E:** *S. fruticolosa*- mountain steppes, erect; **F:** *S. lavandulifolia*- mountain steppes, erect; **G:** *S. setifera*- mountain steppes (beside streams, sandy river beds), creeping.

جدول ۱- نمایهٔ گونه‌های *Stachys* مورد مطالعه، موقعیت آنها براساس رده‌بندی Bhattacharjee در سال 1980 و کدهای توالی‌های استخراج شده از بانک ژن براساس مطالعهٔ Salmaki و همکاران در سال 2013.

Table 1. Alphabetical list of *Stachys* specimens examined here included infrageneric classification sensu Bhattacharjee (1980) and GenBank accession numbers based on Salmaki *et al.* (2013).

Species	Section	GenBank Accessions
Outgroup		
***Betonica officinalis* L.**	–	KF529533
***Melittis melissophyllum* L.**	–	KF529544
Ingroup		
***Stachys acerosa* Boiss. (1)**	sect. *Aucheriana*	KF529554
***S. acerosa* (2)**	sect. *Aucheriana*	KF529555
***S. alpina* L.**	sect. *Eriostomum*	KF529562
***S. annua* (L.) L.**	sect. *Olisia*	KF529563
***S. atherocalyx* K. Koch.**	sect. *Olisia*	KF529569
***S. balansae* Boiss. & Kotschy**	sect. *Eriostomum*	KF529571
***S. ballotiformis* Vatke**	sect. *Fragilicaulis*	KF529702
***S. benthamiana* Boiss.**	sect. *Fragilicaulis*	KF529572
***S. byzantina* K.Koch**	sect. *Eriostomum*	KF529578
***S. fruticulosa* fruticulosa M.Bieb.**	sect. *Thamnostachys*	KF529591
***S. inflata* Benth.**	sect. *Ambleia*	KF529601
***S. kermanshahensis* Rech.f**	sect. *Fragilicaulis*	KF529603
***S. kurdica* Boiss. & Hohen.**	sect. *Fragilicaulis*	KF529604
***S. lavandulifolia* Vahl**	sect. *Zitenia*	KF529609
***S. megalodonta* Hausskn. & Bornm.**	sect. *Fragilicaulis*	KF529613
***S. palustris* L.**	sect. *Stachys*	KF529625
***S. persica* S.G.Gmel. ex C.A.Mey.**	sect. *Eriostomum*	KF529626
***S. pubescens* Ten.**	sect. *Olisia*	KF529629
***S. recta* L.**	sect. *Olisia*	KF529630
***S. setifera* C.A.Mey. subsp *setifera* (1)**	sect. *Setifolia*	KF529635
***S. setifera* subsp. *iranica* (Rech.f.) Rech.f. (2)**	sect. *Setifolia*	KF529636
***S. spectabilis* Choisy ex DC.**	sect. *Eriostomum*	KF529638
***S. subapylla* Rech.f.**	sect. *Ambleia*	KF529641
***S. sylvatica* L.**	sect. *Eriostomum*	KF529644
***S. trinervis* Aitch. & Hemsl.**	sect. *Ambleia*	KF529647
***S. turcomanica* Trautv.**	sect. *Ambleia*	KF529649

جدول ۲- صفات و حالت‌های بررسی‌شده در بررسی روند تکامل صفات *Stachys*.

Table 2. Characters and character states used in evolutionary trend of morphological characters of *Stachys*.

صفات	حالت‌های صفات
۱- زیستگاه	جنگل (۰)، استپ کوهستانی (۱)، صخره‌زی (۲)
۲- شکل رویشی	علفی ایستاده (۰)، پشته‌ای (۱)، خوابیده (۲)
۳- برگ‌های قاعده‌ای پایا	وجود (۰)، فقدان (۱)
۴- گل‌آذین انتهائی	فشرده (۰)، تنک (۱)، فقدان (۲)
۵- کاسهٔ متقارن (دارای دو لوب مساوی)	فقدان (۰) وجود (۱)
۶- رنگ جام‌گل	قرمز-ارغوانی (۰) صورتی (۱)، سفید (۲)، زرد (۳)
۷- کرک ساده	وجود (۰) فقدان (۱)
۸- کرک بسیار بلند و کرمی‌شکل	وجود (۰) فقدان (۱)
۹- کرک غده‌ای	وجود (۰) فقدان (۱)
۱۰- کرک منشعب	فقدان (۰) وجود (۱)

جدول ۳- ماتریس صفات مورد استفاده در بررسی روند تکامل صفات ریخت‌شناختی *Stachys*

Table 3. Character matrix used in evolutionary trend of morphological characters of *Stachys*.

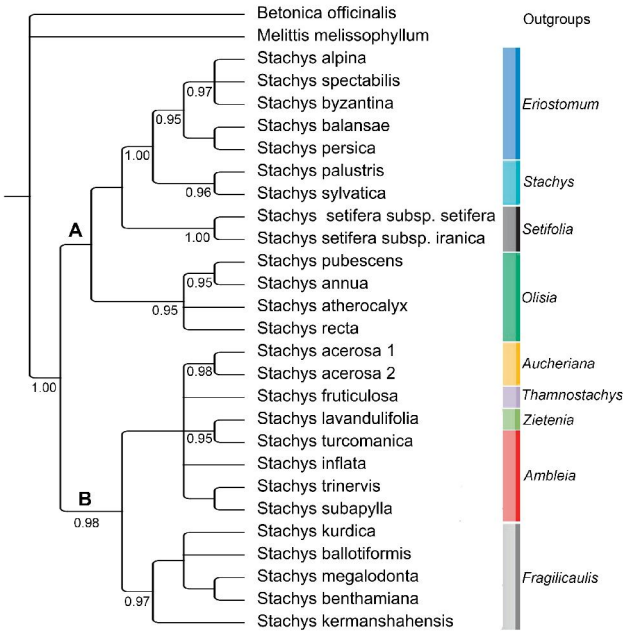
نام آرایه	کد صفات	نام آرایه	کد صفات
Betonica officinalis	0000000000	*S. acerosa* 1	1112120100
Melittis melissophyllum	0000000100	*S. acerosa* 2	1112120100
Stachys pubescens	1012030100	*S. kurdica*	2012130110
S. annua	1012030100	*S. ballotiformis*	2012130110
S. atherocalyx	1012130110	*S. megalodonta*	2012130100
S. recta	1012130110	*S. benthamiana*	2012130100
S. setifera	1212110100	*S. kermanshahensis*	2012110100
S. setifera	1212110100	*S. alpina* subsp. *alpina*	0000000000
S. fruticulosa	1012110110	*S. spectabilis*	0000000000
S. lavandulifolia	1002101100	*S. byzantina*	0000000000
S. turcomanica	1012101101	*S. balansae*	0000000000
S. inflate	1012111101	*S. persica*	0000000000
S. trinervis	1012111101	*S. palustris*	0001100100
S. subapylla	1012111101	*S. sylvatica*	0001100100

نتایج

درخت حاصل از روابط تبارزایشی داده‌های توالی nrITS براساس روش استنباط بیزی بازسازی شد (شکل ۲).سپس به تجزیه و تحلیل روند تکامل ۱۰ صفت انتخاب شده برای گونه‌های سرده *Stachys* پرداخته شد. نوع صفت، حالت‌های صفت، تعداد گام‌های لازم و ضریب سازگاری برای هریک از صفات محاسبه شد (جدول ۴). چون در تمام درخت‌ها تعداد گونه‌ها ثابت بودند، ضریب سازگاری تا حد زیادی می‌تواند میزان جورگرایی صفات را نشان دهد و در نتیجه، ضریب گروه‌پذیری برای صفات محاسبه نشد. از میان ده صفت ریخت‌شناختی بررسی شده، صفات مربوط به شکل رویشی (شکل ۳ B) و وجود کرک‌پوش ساده (شکل ۵ A)، ازجمله دارای بالاترین ضریب سازگاری بودند (CI=1) و کمترین جورگرایی را نشان می‌دادند. پس‌از آن، صفت‌های زیستگاه (شکل ۳ A) و گل‌آذین انتهایی (شکل ۳ D) با دارابودن ضریب سازگاری برابر با ۰/۶۶ از جورگرایی کمتری برخوردار بودند. صفاتی نظیر وجود رنگ جام‌گل (شکل ۴ B)، وجود کرک‌های کرمی‌شکل (شکل ۵ B) و کرک‌های منشعب (شکل ۵ D) از جمله صفاتی بودند که ضریب سازگاری ۰/۵۰ را نشان دادند. کمترین میزان ضریب سازگاری به صفاتی همچون کاسه متقارن (شکل ۴ A)، برگ‌های قاعده‌ای پایا (شکل ۳ C) و وجود کرک غده‌ای (شکل ۵ C) اختصاص داشت که از ضریب سازگاری ۰/۳۳ برخوردار بودند و به‌عبارت دیگر، بیشترین میزان جورگرایی را نشان دادند. باید توجه کرد که در شاخه‌هایی که روابط به‌صورت پلی‌تومی برقرار است، درختی در نظر گرفته شده است که به کمترین گام‌ها برای تغییر نیاز داشته است.

روند تکامل صفت زیستگاه انتخابی گونه‌های *Stachys* در شکل ۳A نشان داده شده است. گونه‌های برون‌گروه اغلب در زیستگاه‌های جنگلی یافت می‌شوند. از بین گونه‌های تحت مطالعه *S. sylvatica* و *S. palustris* متعلق به بخشهٔ *Stachys* و تمام گونه‌های بخشهٔ *Eriostomum* این وضعیت را نشان می‌دهند. در شکل ۳B انواع شکل‌های رویشی گونه‌های ایرانی این سرده به تصویر کشیده شده است. انواع حالت‌های شکل‌های رویشی شامل ایستاده و خوابیده روی زمین و پشته‌ای بود که در این میان، شکل رویشی ایستاده صفتی نیایی است. در شکل ۳C صفت وجود برگ‌های قاعده‌ای پایا نشان داده شده است. وجود برگ‌های قاعده‌ای پایا در بین گونه‌های مطالعه‌شده، حالتی نیایی است و گونه‌های بخشه‌های *Stachys* و *Eriostomum* این وضعیت را نشان می‌دهند.روند تکامل گل‌آذین در شکل ۳ D نشان داده شده است. در بین حالت‌های وجود گل‌آذین فشردهٔ انتهایی، گل‌آذین تنک انتهایی و عدم گل‌آذین فشردهٔ انتهایی (وجود گل‌آذین تنک)، گل‌آذین فشردهٔ انتهایی وضعیتی نیایی است.

در شکل ۴A صفت متقارن‌بودن کاسه به تصویر کشیده شده است و وجود کاسهٔ نامتقارن در بین گونه‌های ابتدایی دیده می‌شود. و از میان جام‌های گل به رنگ قرمز تا ارغوانی، صورتی، سفید و زرد، حالت قرمز تا ارغوانی حالتی نیایی به‌شمار می‌آید (شکل ۴ B).



شکل ۲- درخت حاصل از بازسازی روابط تبارزایشی داده‌های توالی nrITS براساس روش استنباط بیزی. مقدار احتمال پسین بیزی بالاتر از ۰/۹۵ در زیر هریک از شاخه‌ها نمایان است. بر طبق طبقه‌بندی Bhattacharjee در سال 1980 بخشه‌های نشان‌دهندهٔ هر گونه در مقابل آنها آمده است.

Fig. 2. The Bayesian 50% majority rule consensus cladogram based on nrITS. Bayesian posterior probability values ≥0.95 are reported below the branches. The sections of *Stachys* species are represented on the left according to Bhattacharjee (1980).

جدول ٤- شاخص‌های آماری، نوع، حالت و تعداد گام‌های لازم برای تغییرات هر صفت.

Table 4. Statistics, types, states and number of steps for each character.

صفت	نوع صفت	وضعیت صفت	تعداد گام	ضریب سازگاری
۱- زیستگاه	نامرتب	۳	۳	۰/۶۶
۲- شکل رویشی	نامرتب	۳	۲	۱
۳- برگ‌های قاعده‌ای پایا	نامرتب	۲	۳	۰/۳۳
۴- گل‌آذین انتهائی	نامرتب	۳	۳	۰/۶۶
۵- کاسه متقارن (دارای دو لوب مساوی)	نامرتب	۲	۳	۰/۳۳
۶- رنگ جام گل	نامرتب	۴	۶	۰/۵۰
۷- کرک ساده	نامرتب	۲	۱	۱
۸- کرک بسیار بلند و کرمی‌شکل	نامرتب	۲	۲	۰/۵۰
۹- کرک غده‌ای	نامرتب	۲	۳	۰/۳۳
۱۰- کرک منشعب	نامرتب	۲	۲	۰/۵۰

صفت مهم دیگری که به‌دفعات در تفکیک بخشه‌ها و گونه‌های این سرده به‌کار می‌رود و در این بررسی نیز به آن پرداخته شده است، صفت کرک‌پوش است. وجود کرک‌های ساده، کرمی-شکل بسیار بلند، غده‌ای و منشعب، و وجود کرک‌های بسیار بلند کرمی‌شکل ازجمله حالاتی است که در گره‌های ابتدایی دیده می-شود (شکل‌های A ۵ تا D ۵).

بحث

وقتی در مورد سردهٔ *Stachys* صحبت می‌شود، باید تمام وقایع و عواملی را باعث پیچیدگی رده‌بندی یک گروه می‌شود آن را در نظر بگیریم (Salmaki *et al.*, 2013). عواملی چون تعداد زیاد و پراکنش وسیع گونه‌ها درکنار تنوع بسیار زیاد صفات ریخت-شناختی و سطوح پلوئیدی مختلف و وقوع دورگه‌ها در طبیعت، تنها برخی از وقایعی است که از طرفی پیچیدگی و دشواری کار در بارهٔ این گروه را دوبرابر می‌کند و از طرف دیگر، جذابیت تحقیق در این زمینه را افزایش می‌دهد. براساس مطالعات کلادیستیک ریخت‌شناسی (Abu-Assab & Cantino, 1994) و مطالعات متعدد سازگان‌شناسی مولکولی (Bendiksby *et al.*, 2011; Scheen *et al.*, 2010; Lindqvist & Albert, 2002) نتیجه‌گیری می‌شود که روابط تبارزایشی هیچ‌گونه تطابقی با رده‌بندی‌های سنتی این سرده ندارند و نمی‌توانند پاسخگوی سؤالات در زمینهٔ روابط درون‌سرده‌ای آن باشند.

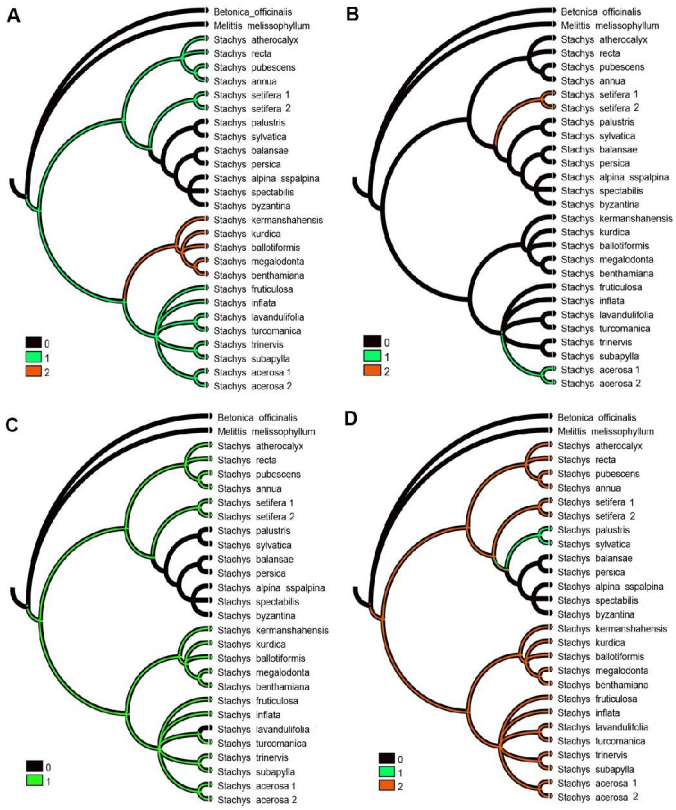
در پژوهش حاضر به بررسی چگونگی روند تکامل مهم‌ترین صفات ریخت‌شناختی در گونه‌های ایرانی سردهٔ *Stachys* می-پردازیم.

زیستگاه. گونه‌های سردهٔ *Stachys* که در ایران پراکنده هستند، در زیستگاه‌های متنوعی همچون جنگل‌ها، استپ‌های کوهستانی و نواحی صخره‌ای رویش می‌یابند. برای مثال، تمامی اعضای بخشهٔ *Eriostomum* در دامنه‌های مرطوب کوه‌ها یا حاشیه و داخل جنگل‌ها یافت می‌شوند. اعضای بخشهٔ *Fragilicaulis* صخره‌زی هستند و اغلب گونه‌های بخشهٔ *Aucheriana* که در استپ‌های کوهستانی می‌رویند در شیب‌های سنگریزه‌ای با خاک‌های آهکی یافت می‌شوند. حالت زیستگاه جنگلی در بین گونه‌های تحت مطالعه حالتی نیایی است که به‌وضوح در اعضای بخشهٔ *Eriostomum* و بخشهٔ *Stachys* که تیپ سرده نیز در آن حضور دارد (*S. sylvatica*) دیده می‌شود (شکل ۳ A). پیشرفته‌ترین زیستگاه، زیستگاه صخره‌زی است که تمام اعضای بخشهٔ *Fragilicaulis* از آن برخوردارند.

شکل رویشی. گونه‌های سردهٔ *Stachys* در ایران به‌شکل‌های رویشی گوناگونی یافت می‌شود. شکل رویشی ایستاده که حالت نیایی دارد در اغلب گونه‌های این سرده و به‌وضوح در گونه‌های متعلق به بخشهٔ *Eriostomum* و بخشهٔ *Stachys* دیده می‌شوند. شکل رویشی خوابیده روی زمین تنها به گونه‌های بخشهٔ *Setifolia* اختصاص دارد. شکل رویشی پشته‌ای تنها در گونه‌های بخشهٔ *Aucheriana* دیده می‌شود (شکل ۳ B). از آنجایی که در پژوهش حاضر تنها گونهٔ *S. acerosa* از این بخشه وارد بررسی است نمی‌توان در مورد تک‌تباری این بخشه اظهارنظر کرد. اما چنانچه اعضای این بخشه یک شاخهٔ تک‌تبار را در مطالعات تبارزایشی آتی تشکیل دهند، با توجه به اینکه وضعیت پیشرفته برای صفت شکل رویشی، حالت پشته‌ای است، این صفت نوعی صفت پیشرفتهٔ مشترک برای این بخشه به‌شمار خواهد آمد. شایان ذکر است شکل رویشی ارتباط مستقیمی با ارتفاع گیاه نشان می-دهد. در بین گونه‌های *Stachys* ارتفاع از بسیار بلند (تا ارتفاع ۱۰۰ الی ۱۲۰ سانتی‌متر) در بخشهٔ *Eriostomum* و بخشهٔ *Stachys*، متوسط (ارتفاع بین ۲۰ الی ۵۰ سانتی‌متر) در اغلب گونه‌ها، تا کوتاه (ارتفاعی کمتر از ۲۰ سانتی‌متر) در اغلب گونه-هایی که حالت پشته‌ای دارند متغیر است. ارتفاع بلند برای این صفت وضعیتی ابتدایی محسوب می‌شود، ولی قد کوتاه حالت پیشرفته است.

برگ‌های قاعده‌ای پایا. از بین اغلب گونه‌های *Stachys* که دارای برگ‌های قاعده‌ای هستند، تنها در تعداد محدودی از آنها برگ‌ها به‌صورت پایا هستند. فقدان برگ‌های قاعده‌ای پایا وضعیت پیشرفتهٔ مشترک برای اغلب شاخه‌های درخت‌های حاصل محسوب می‌شود. وجود برگ‌های قاعده‌ای پایا در گونه‌های تحت مطالعه وضعیت نیایی به شمار می‌رود و در تمام گونه‌های بخشه-های *Eriostomum* و *Sylvatica* و همچنین بخشهٔ تک‌گونه‌ای *Zietenia* (*S. lavandulifolia*) دیده می‌شود. شکل و حاشیه برگ از دیگر صفاتی است که از اهمیت ویژه‌ای در شرح گونه‌ها برخوردار است و می‌تواند ساده، کنگره‌دار یا دندانه‌دار باشد. با توجه به اینکه صفاتی نظیر شکل و حاشیه برگ جورگرایی بالایی نشان می‌دهند در پژوهش حاضر بررسی نشده‌اند.

گل آذین. شکل گل‌آذین، تعداد گل‌ها در هر چرخهٔ گل-آذینی و طول محور گل‌آذین از جملهٔ مهم‌ترین صفات تشخیصی در بخشه‌های این سرده هستند. ارزش این صفات در حد تفکیک بخشه‌ها، گونه‌ها و حتی زیرگونه‌ها است. در بخشهٔ *Eriostomum* وجود گل‌آذین فشردهٔ انتهایی نوعی صفت نیایی و ازجمله مهم-ترین صفات بخشه به‌شمار می‌رود. این وضعیت گل‌آذین یک

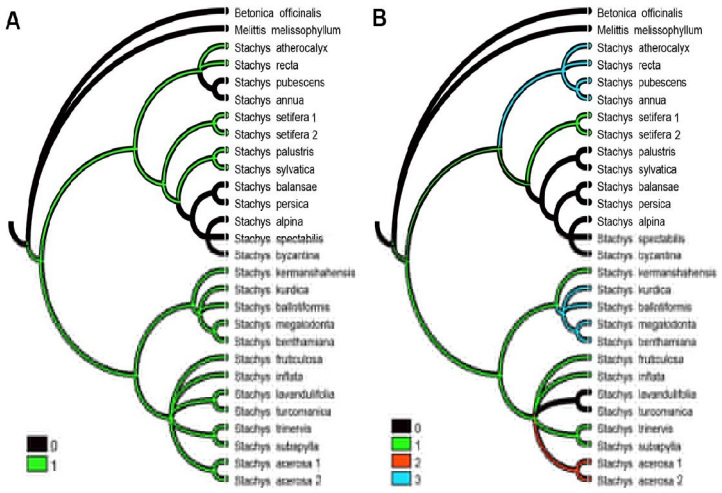


شکل ۳- ردیابی صفات روی درخت حاصل از بازسازی روابط تبارزایشی داده‌های توالی nrITS براساس روش استنباط بیزی. **A**: زیستگاه: جنگل (۰)، استپ کوهستانی (۱)، صخره‌زی (۲)؛ **B**: شکل رویشی: علفی ایستاده (۰)، پشته‌ای (۱)، خوابیده (۲)؛ **C**: برگ قاعده‌ای پایا: وجود (۰)، فقدان (۱)؛ **D**: گل‌آذین: فشرده (۰)، تنک (۱)، فقدان (۲).

Fig. 3. Map of selected characters on the Bayesian 50% majority rule consensus cladogram based on nrITS. **A**: habitat: forests (0), mountain steppes (1), rocky places (2); **B**: habit: erect (0), cushion form (1); creeping (2); **C:** permanent basal leaves: present (0), absent (1); **D**: inflorescence: compact (0), lax (1), absent (2).

صفت ابتدایی مشترک در میان اعضای این بخشه است. همچنین، وجود محور گل‌آذین تنک انتهایی صفت بارزی است که در بخشهٔ *Stachys* دیده می‌شود و آن‌را از بخشهٔ *Eriostomum* متمایز می‌سازد. فقدان گل‌آذین فشردهٔ انتهایی به‌معنای وجود چرخه‌های تنک گلی در طول محور ساقه یا وجود دو گل در انتهای محور ساقه است که این وضعیت به‌منزلهٔ حالت پیشرفته در بیشتر گونه‌های تحت مطالعه دیده می‌شود.

کاسهٔ گل. صفات مربوط به کاسه نیز از رایج‌ترین صفات در رده بندی گونه‌های این سرده محسوب می‌شود (Rechinger, 1982; Bhattacharjee, 1982). کاسه در اغلب موارد لوله‌ای-شکل و متقارن است. اندازه و شکل دندانه‌های کاسه از جمله صفاتی است که در تفکیک گونه‌ها کاربرد دارد. برای مثال، دندانه‌های کاسه می‌توانند مثلثی کوتاه (*S. inflata*, *S. subaphylla*)، مثلثی کشیده (*S. turcomanica*)، سرنیزه‌ای کوتاه یا بلند باشند. همچنین، رأس دندانه‌های کاسه می‌تواند دارای خار (*S. acerosa*, *S. multicaulis*) یا فاقد خار باشد. اما ازآنجایی‌که اغلب این صفات جورگرایی بالایی از خود نشان می-دهند، در این پژوهش ردیابی نشدند.

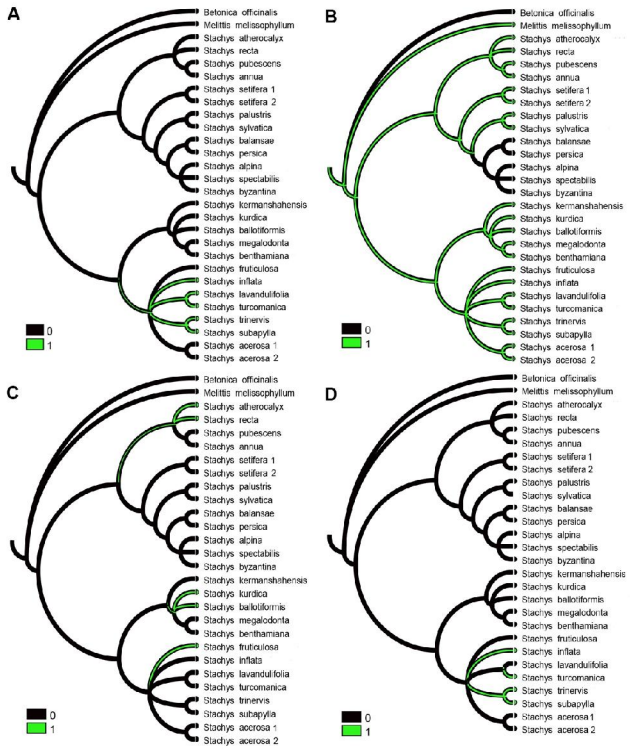


شکل ٤- ردیابی صفات روی درخت حاصل از بازسازی روابط تبارزایشی داده‌های توالی nrITS براساس روش استنباط بیزی. **A**: کاسهٔ متقارن: فقدان (۰) وجود (۱)؛ **B**: رنگ جام‌گل: قرمز-ارغوانی (۰) صورتی (۱)، سفید (۲)، زرد (۳).

Fig. 4. Map of selected characters on the Bayesian 50% majority rule consensus cladogram based on nrITS. **A**: symmetrical calyx: absent (0), present (1); **B**: corolla color: red to purple (0), pink (1), white (2), yellow (3).

بخشهٔ *Olisia* (*S. pubescens*, *S. annua*) و بیشتر اعضای بخشهٔ *Eriostomum* گزارش شده است (Rechinger, 1982).

جام گل. صفت جام‌گل از چند لحاظ مهم است: ۱- اندازهٔ جام‌گل در تفکیک بخشه‌ها یا گونه‌ها نقش مهمی دارد، برای مثال، گونه‌های متعلق به بخشهٔ *Aucheriana* اغلب دارای بزرگ‌ترین گل‌ها هستند. با توجه به اینکه این صفت از جورگرایی به نسبت بالایی برخوردار بود، در این پژوهش به آن پرداخته نشده است. ۲- طول لولهٔ جام‌گل در بین گونه‌ها از اهمیت شایانی برخوردار است، برای مثال، یکی از ویژگی‌هایی که بخشهٔ *Fragilicaulis* را به دو زیربخشهٔ مجزا تقسیم می‌کند، اندازهٔ لولهٔ جام‌گل است. گونه‌های زیربخشهٔ *Multibracteolate* به‌واسطهٔ دارابودن لولهٔ جام‌گل بسیار بلند و بیرون‌زده از کاسهٔ گل از گونه‌های زیربخشهٔ *Fragiles* جدا می‌شوند. اما ازآنجایی‌که *S. kermanshahensis* تنها نمایندهٔ زیربخشهٔ *Multibracteolate* در این پژوهش بود و بررسی این صفت نوعی صفت پیشرفتهٔ منفرد برای این گونه به‌شمار می‌رفت، این صفت در این بررسی لحاظ نشد. ۳- کرک‌پوش جام‌گل نیز از جمله صفات مهم در طبقه‌بندی به‌شمار می‌رود. تمام گونه‌های بخشهٔ *Eriostomum* بر روی لوب فوقانی جام‌گل دارای کرکهای بلند و خوابیده هستند. ۴- صفت مهم دیگر جام‌گل، رنگ آن است که اگرچه حتی در برخی نمونه‌های مربوط به یک گونه هم می‌تواند تنوع نشان دهد، در اغلب مواقع می‌تواند استفادهٔ زیادی داشته باشد. برای مثال، یکی از تفاوت‌های موجود که گونه‌های زیربخشهٔ *Multibracteorata* بخشهٔ *Fragilicaulis* را از گونه‌های زیربخشهٔ *Fragiles* متمایز می‌کند، رنگ صورتی جام گل است. این در حالی است که تمام گونه‌های زیربخشهٔ *Fragiles* دارای جام گل زردرنگ با رگه‌های قرمزرنگ هستند (شکل ۴-۲). وجود رنگ جام‌گل به رنگ قرمز تا ارغوانی که حالتی نیایی است در بخشهٔ *Eriostomum* و بخشهٔ *Stachys* دلیل دیگری برای ابتدایی‌بودن این بخشه‌ها است.



شکل ۵- ردیابی صفات در روی درخت حاصل از بازسازی روابط تبارزایشی داده های توالی nrITS براساس روش استنباط بیزی. **A**: کرک ساده: وجود (۰) فقدان (۱)؛ **B**: کرک بسیار بلند و کرمی‌شکل: وجود (۰) فقدان (۱)؛ **C**: کرک غده‌ای: وجود (۰) فقدان (۱)؛ **D**: کرک منشعب: فقدان (۰) وجود (۱).

Fig. 5. Map of selected characters on the Bayesian 50% majority rule consensus cladogram based on nrITS. **A**: simple trichome: present (0), absent (1); **B**: vermiform trichome: present (0), absent (1); **C**: glandular trichome: present (0), absent (1); **D**: branched trichome: absent (0), present (1).

کرک‌پوش: صفات مربوط به کرک‌ها از اهمیت خاصی در رده‌بندی‌های نعنائیان برخوردارند (Eiji & Salmaki, 2016; Salmaki *et al*., 2009a; El Oualidi *et al.*, 2000). چهار ویژگی مهم کرک‌ها که در این تحقیق مورد توجه قرار گرفتند شامل نوع، اندازه، حالت و سطح کرک است. در گونه‌های *Stachys* کرک‌های متنوعی چون کرک‌های بسیار بلند و کرمی-شکل، کرک منشعب، کرک‌های غده‌ای پایه‌دار یا فاقد پایه، کرک‌های کوتاه و کرک‌های بلند ساده دیده می‌شود. برای مثال، تمام گونه‌های بخشهٔ *Ambleia* با داشتن کرک‌های منشعب از دیگر گونه‌ها و بخشه‌های این سرده در ایران متمایز می‌شوند. بنابراین، وجود کرک‌های منشعب برای این گونه‌ها یک صفت پیشرفتهٔ مشترک به‌شمار می‌رود. همچنین، گونه‌های بخشهٔ *Eriostomum* به‌واسطه وجود بلندترین کرک‌های سادهٔ که ظاهر نقره‌ای به گیاه می‌بخشد، از دیگر گونه‌ها و بخشه‌ها تفکیک می-شوند. کوتاه‌ترین کرک‌ها را می‌توان در بخشهٔ تک‌گونه‌ای *Thamnostachys* و همچنین بخشهٔ *Olisia* در گونه‌هائی چون *S. pubescens* و *S. iberica* مشاهده کرد. اندازه و سطح کرک‌ها می‌تواند در شناسایی برای جداساختن بخشه‌ها یا گونه‌ها مورد استفاده قرارگیرد. سطح کرک‌ها می‌تواند صاف (فاقد زگیل)، دارای کمی زگیل یا دارای زگیل‌های فراوان باشد. برای مثال، بخشهٔ *Thamnostachys* شامل گونهٔ *S. fruticulosa* به‌راحتی به-واسطهٔ دارابودن کرک‌های کوتاه خوابیدهٔ پوشیده از زگیل‌های فراوان، از دیگر گونه‌های سرده جدا می‌شود. تراکم کرک‌ها از دیگر صفاتی است که از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تراکم کرک‌ها از حالت بسیار متراکم تا کم‌تراکم در بین گونه‌ها تغییرمی‌کند.

نتیجه‌گیری

همان‌طور که در مطالعات سازگان‌شناسی مولکولی پیشین و پژوهش حاضر دیده می‌شود، رده‌بندی‌های سنتی ارائه‌شده در اغلب موارد با الگوهای تبارزایشی موجود مطابقت ندارد. این موضوع جذابیت این سرده را برای بازنگری ریخت‌شناسی درون‌سرده‌ای به‌منظور بررسی تک‌نیایی بودن بخشه‌های معرفی‌شده و نیز ارائهٔ فرضیه‌ای تبارزایشی برای سرده دوچندان می‌کند.

طبق جامع‌ترین رده‌بندی ارائه‌شده در سردهٔ *Stachys* به‌کوشش Bhattacharjee (1980)، سردهٔ *Betonica* زیرسرده‌ای نسبتاً ابتدایی از *Stachys* در نظر گرفته شده بود. امروزه، با اینکه مطالعات متعدد تبارزایشی مولکولی نشان داده است که *Betonica* نه‌تنها مستقل از سردهٔ *Stachys* بوده و به طایفهٔ Stachydeae تعلق ندارد، و بایست در طایفهٔ مستقل دیگری جای داده شود. در فلور فارسی نعنائیان (Jamzad, 2012) همچنان این سرده یکی از دو زیرسردهٔ *Stachys* در نظر گرفته شده است. در این مطالعه گونهٔ *B. officinalis* (برون‌گروه دور) درکنار *M. mellisophyllum* (برون‌گروه نزدیک) دارای ویژگی‌های ریخت‌شناسی نیایی هستند. از جمله صفات ابتدایی مشترک موجود در این گروه می‌توان به زیستگاه و شکل رویشی مشترک (ارتفاع بلند گیاه)، برگ‌های قاعده‌ای پایا، تعداد گل‌های زیاد در هر چرخه و کرک‌پوش آنها اشاره کرد.

در میان گونه‌های مطالعه‌شده، دو شاخهٔ متمایز تک‌نیا به چشم می‌خورد (شکل ۲). اولین گروه گونه‌های موجود در شاخهٔ A هستند که به بخشهٔ *Eriostomum*، بخشهٔ *Stachys* و بخشهٔ *Olisia* تعلق دارند. همان‌گونه که مطالعات سازگان‌شناسی مولکولی نیز نشان داده است که بخشهٔ *Eriostomum* از جملهٔ بخشه‌های ابتدایی *Stachys* به‌شمار می‌رود (Salmaki *et al.*, 2013; Lindqvist & Albert, 2002)، بررسی روند تکامل صفات نیز ابتدایی بودن اغلب ویژگی‌های ریخت‌شناسی اعضای این بخشه را تأیید می‌کند. شایان ذکر است که در میان دیگر بخشه‌های این سرده، بخشهٔ *Stachys* بیشترین میزان قرابت را با بخشهٔ *Eriostomum* از خود نشان می‌دهد. این بخشه براساس مطالعات تبارزایی مولکولی گروه خواهری بخشهٔ *Eriostomum* است (شکل ۲- شاخه A).

دومین گروه شامل بخشهٔ *Ambleia*، بخشهٔ *Fragilicaulis*، بخشهٔ *Aucheriana*، بخشهٔ *Thamnostachys* و بخشهٔ *Zietania* است (شکل۲- شاخه B). هرچند اعضای بخشهٔ *Ambleia* از دیگر گونه‌های این سرده در ایران به‌راحتی به‌واسطهٔ وجود کرک‌های منشعب، گوش‌واره‌های پایا، حاشیهٔ برگ ساده و تعداد گل‌های کم موجود در هر چرخهٔ گل‌آذین تفکیک می‌شوند، اما مطالعات سازگان‌شناسی مولکولی صورت‌گرفته (Salmaki *et al.*, 2013) نشان داده است که این بخشه تک‌تبار نیست و به بازنگری اساسی نیاز دارد. از جمله گروه‌هایی که تک‌تباری آن براساس مطالعات تبارزایشی مولکولی تأیید شده است، بخشهٔ *Fragilicaulis* است که بیشترین صفات پیشرفتهٔ مشترک را نشان می‌دهد (شکل ۲- شاخه B). در این شاخه گونه‌هایی چون *S. benthamiana*، *S. kurdica*، *S. ballotiformis*، *S. megalodonta* و *S. kerma-nshahensis* یافت می‌شوند. تمام گونه‌های این بخشه صخره‌زی، دارای ساقه‌های بسیار ترد و شکننده، گل‌های زرد و برگ‌های تخم‌مرغی هستند. این گونه‌ها نیز اغلب در نواحی غربی ایران یافت می‌شوند. مهم‌ترین صفت متمایزکنندهٔ درنظرگرفته‌شده برای تفکیک این گونه‌ها، چه در گروه‌بندی Rechinger (1982) در فلورا ایرانیکا و چه در طبقه‌بندی Bhattacharjee (1982) در فلور ترکیه، صفات مربوط به کرک است. کرک در بین گونه‌های این بخشه از تنوع بسیار زیادی برخوردار است. وجود تعداد زیادی نمونه‌های حدواسط در بین گونه‌های این بخشه به فقدان مرز مشخص بین گونه‌ها اشاره دارد. مطالعات ایزوآنزیمی صورت‌گرفته دربارهٔ هم‌تافت‌های گونه‌ای نیز قرابت بسیار زیاد گونه‌های این بخشه را تأیید می‌کند (Salmaki *et al.*, 2009b). برای مثال، تنها صفت جداکنندهٔ ریخت‌شناختی در دو گونهٔ *S. ball-otiformis* و *S. kurdica* به تفاوت کرک‌های ساده و کوتاه آنها محدود می‌شود، با این تفاوت که کرک‌ها در گونهٔ *S. ball-otiformis* بلندتر و متراکم‌تر از گونهٔ *S. kurdica* هستند. به‌طورکلی می‌توان گفت بررسی روند تکامل صفات ریخت‌شناختی نشان داده است که بخشهٔ *Eriostomum* و بخشهٔ *Fragilicaulis* به‌ترتیب از جملهٔ ابتدایی‌ترین و پیشرفته‌ترین بخشه‌های سرده *Stachys* به‌شمار می‌روند.

با مقایسهٔ تمام مطالعات تبارزایشی انجام‌شده تا به‌امروز و نیز مقایسهٔ آخرین طبقه‌بندی درون‌سرده‌ای *Stachys*

(Bhattacharjee, 1980) نتیجه‌گیری می‌شود که این رده‌بندی-های سنتی نمی‌تواند پاسخگوی سؤالات در زمینهٔ روابط درون-سرده‌ای باشد. همچنین، به‌دلیل نبود صفات ریخت‌شناختی کافی و تنوع در بین آنها، مطالعات تبارزایی موجود قادر به نتیجه‌گیری در باب تک‌تباری گروه‌های طبیعی پیشنهادی (بخشه‌ها و زیربخشه‌ها) نیز نبوده‌اند. پژوهش حاضر نخستین گام در جهت بازنگری حد و مرز بین بخشه‌ها براساس صفات ریخت‌شناختی به‌شمار می‌رود. پیشنهاد می‌شود تا در آینده تعداد گونه‌های بیشتری تحت بررسی صفات ریخت‌شناختی قرارگیرند تا بدین‌ترتیب بتوان برای گروه-های تک‌تبار شناخته شده در مطالعات تبارزایشی مولکولی صفات پیشرفتهٔ مشترکی یافت. بدین‌ترتیب می‌توان حد و مرز بین بخشه‌ها را مطابق با شواهد مولکولی و ریخت‌شناختی بازنگری کرد.

سپاسگزاری

بر خود لازم می‌دانم از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور که امکانات لازم را برای این پژوهش (شمارهٔ طرح ۹۳۰۳۸۵۲۴) در اختیار مؤلف گذاشتند سپاسگزاری نمایم. همچنین از معاونت پژوهشی پردیس علوم دانشگاه تهران برای حمایت از این پژوهش کمال تشکر را دارم.

REFERENCES

Abu-Asab, M.S. and Cantino, P.D. 1994. Systematic implications of pollen morphology in subfamilies Lamioideae and Pogostemonoiedae (Labiatae). – Ann. Missouri Bot. Gard. 81: 635-686.

Bendiksby, M., Thorbek, L., Scheen, A. C., Lindqvist, C. and Ryding, O. 2011. An updated phylogeny and classification of Lamiaceae subfamily Lamioideae. – Taxon 60: 471-484.

Bentham, G. 1848. Labiatae. In: De Candolle AP, ed. Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis. Pars 12. – Paris: Victor Masson, pp: 27-603.

Bhattacharjee, R. 1980. Taxonomic studies in *Stachys*: II. A new infrageneric classification of *Stachys* L. – Notes Roy. Bot. Gard. 38: 65-96.

Bhattacharjee, R. 1982. *Stachys*. In: Davis, P.H., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 4. – Edinburgh University Press, Edinburgh. pp. 199-261.

Dumortier, B.C. 1827. Florula Belgica. – Staminacia: Tornaci Nerviorum, J. Custerman, pp: 44-45.

Eiji, S. and Salmaki, Y. 2016. Evolution of trichomes and its systematic significance in *Salvia* (Mentheae; Nepetoideae; Lamiaceae). – Bot. J. Linn. Soc. 180: 241-257.

El Oualidi, J., Verneau, O., Puech, S. and Dubuisson, J.Y. 1999. Utility of rDNA ITS sequences in the systematics of *Teucrium* section *Polium* (Lamiaceae). – Pl. Syst. Evol. 215: 49-70.

Jamzad, Z. 2012. *Stachys*. In: Assadi M, Maassoumi AA, Mozaffarian V, eds. Flora of Iran, Vol. 76. – Tehran: Research Institute of Forests and Rangelands, 799-950.

Koeva-Todoravska, J. 1978. *Pontostachys* a new section of the genus *Stachys* L. – Fitologiya. 10, pp. 33-40.

Lindqvist, C. and Albert, A.V. 2002. Origin of the Hawaiian endemic mints within North American *Stachys* (Lamiaceae). – Am. J. Bot. 89: 1709-1724.

Maddison, W.A., Donoghue, M.J. and Maddison. D.R. 1984. Ou-tgroup analysis and parsimony. – Syst. Zool. 33: 83-103.

Maddison, D.R. and Maddison, W.P. 2010. MacClade4: Analysis of phylogeny and character evolution. Version 4.03. – Sinauer Associates, Sunderlands, Massachusetts.

Posada, D. 2008. JModelTest: phylogenetic model averaging. – Mol. Biol. Evol. 25: 1253-1256.

Rechinger, K.H. 1982. *Stachys*. In: Rechinger, K.H. (ed.), Flora Iranica, Vol. 150. – Akademische Druck- und Verlagsanstalt, Graz, pp. 354-396.

Ronquist, F. and Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: bayesian phylogenetic inference under mixed models. – Bioinformatics 19: 1572-1574.

Salmaki, Y., Zarre, S., Jamzad, Z. and Bräuchler, C. 2009a. Trichome micromorphology of Iranian *Stachys* (Lamiaceae) with emphasis on its systematic implication. – Flora 204: 371-381.

Salmaki, Y., Zarre, S., Jamzad, Z. and Matinizadeh, M. 2009b. Circumscription of taxa in the chasmophilous Iranian *Stachys* species (Lamiaceae: sect. *Fragilicaulis*, subsect. *Fragiles*) inferred from isoenzyme variation patterns. – Biochem. Syst. Ecol. 36: 907-914.

Salmaki, Y., Zarre, S., Govaerts, R. and Bräuchler, C. 2012. A taxonomic revision of the genus *Stachys* (Lamiaceae: Lamioideae) in Iran. – Bot. J. Linn. Soc. 170: 573-617.

Salmaki, Y., Zarre, S., Ryding, O., Lindqvist, C., Bräuchler, C., Heubl, G., Barber, G. and Bendiksby, M. 2013. Molecular phylogeny of tribe Stachydeae (Lamiaceae subfamily Lamioieae). – Mol. Phylogenet. Evol. 69: 535-551.

Scheen, A.C., Bendiksby, M., Ryding, O., Mathiesen, C., Albert, V.A. and Lindqvist, C. 2010. Molecular phylogenetics, character evolution and suprageneric classification of Lamioideae (Lamiaceae). – Ann. Missouri Bot. Gard. 97: 191-219.

Swofford, D.L. 2003. PAUP* Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods). Version 4beta10. – Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

*****

Salmaki, Y. 2017. Investigation of the evolutionary trend of morphological characters of *Stachys* (Lamiaceae) in Iran based on nrITS sequences data. – Nova Biol. Rep. 3: 327-340.

سلمکی، ی. ۱۳۹۵. بررسی روند تکامل صفات ریخت‌شناسی در گونه‌های ایرانی سرده *Stachys* از نعنائیان بر اساس توالی هسته ای nrITS. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۳: ۳۴۰-۳۲۷.