

بررسی بیوسیستماتیکی تیره‌های *Loranthaceae* و *Viscaceae* بر اساس ترادف ITS هسته‌ای و *trnL-F* کلروپلاستی

پگاه زنجانچی^۱، شهریار سعیدی مهرورز^{۲*}، ایرج مهرگان^۳

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۲۲

تاریخ تصویب: ۹۳/۳/۵

چکیده

تیره *Loranthaceae* دارای سه سرده با پنج گونه نیمه انگل در ایران است. سرده های این تیره، اساساً در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان گسترش دارند. اعضای این تیره، در دو منطقه‌ی جغرافیایی از جمله نواحی البرز و قسمت های مرکزی ایران پراکنش دارند. تاکسون هایی که در این آنالیز مورد بررسی قرار گرفتند شامل سرده *Loranthus* است که خود دو گونه دارد: *L. europaeus* که انگل درختان بلوط است و *L. grewinkii* که میزبان آن درختان گلابی

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، دانشگاه گیلان

بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول به راهنمایی دکتر شهریار سعیدی مهرورز ارائه شده به دانشگاه گیلان

^۲ دانشیار، سیمتاتیک گیاهی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، دانشگاه گیلان؛ saeidimz@guilan.ac.ir

^۳ استادیار، سیمتاتیک گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

و بادام است، جنس *Viscum* با دو گونه: *V. album* و *V. laxum*، که به درختان مختلفی حمله می‌کنند و *Arceuthobium oxycedri* که بخش وسیعی از جنگل‌های سرو در استان سمنان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. DNA تام با استفاده از روش CTAB تغییر یافته، از نمونه‌های تازه و هرباریومی استخراج شده و قطعات *nrDNA ITS* و *cpDNA trnL-F* تکثیر و توالی‌یابی شدند. در این مطالعه ۲۷ تاکسون (۲۴ تاکسون در آنالیز *trnL-F*، ۲۳ تاکسون در آنالیز *ITS* و ۲۰ تاکسون در آنالیز ترکیبی) به عنوان درون‌گروه و ۳ تاکسون به عنوان برون‌گروه انتخاب شدند. به منظور بازسازی روابط فیلوژنی تیره *Loranthaceae* و بررسی میزان خویشاوندی این تیره با سایر تیره‌های راسته *Santalales*، داده‌های مولکولی با استفاده از روش بیشینه صرفه جویی (*Maximum Parsimony*)، روش *Bayesian* و روش بیشینه احتمال (*Maximum Likelihood*) آنالیز شدند. نتایج ما نشان می‌دهد تیره *Loranthaceae* تک‌تبار است. درخت اجماع مطلق مرکزی با بیشترین پارسیمونی برای داده‌های ترکیبی *ITS* و *trnL-F* دو کلاد تک‌تبار با ارزش حمایت ۱۰۰٪ برای اعضای دو تیره *Viscaceae* و *Loranthaceae* را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: فیلوژنی مولکولی، *Viscaceae Loranthaceae*، گیاهان انگل، *ITS*، *trnL-F*.

مقدمه

تیره نیمه انگل (*Loranthaceae* Juss. (1808)) با ۷۳ سرده و ۹۱۰ گونه اساساً در مناطق گرمسیری پراکنش داشته، در مناطق معتدل اروپا، آسیا، جنوب آمریکا، استرالیا و نیوزلند نیز مشاهده می‌شوند. برخی از مؤلفین برای تیره *Loranthaceae* دو زیرخانواده در

نظر می‌گرفتند، *Loranthoideae* و *Viscoideae* (Eichler, 1868; Engler, 1889; Engler and Kranse, 1935; Rizzini, 1982). اگرچه در طبقه‌بندی کلاسیک گذشته زیر تیره *Viscoideae* جزئی از تیره *Loranthaceae* در نظر گرفته می‌شد، ولی بر اساس مطالعات ریخت‌شناسی (Kujit, 1969)، سلولی و

1996; Nickrent et al., 1998; Nickrent and Malécot, 2001; Vidal-Russell and Nickrent, 2008). آخرین مطالعات مولکولی صورت گرفته تک نیایی بودن این تیره را شدیداً حمایت می‌کند و سرده *Nuytsia* را به عنوان خواهر باقی سرده‌های موجود در این تیره معرفی می‌کند (Nickrent et al., 2010). همچنین نتایج بدست آمده از آنالیز داده‌های مولکولی، نشان داد که ۳ انگل ریشه در این تیره؛ *Gaiadendron* و *Atkinsonia Nuytsia* در پایه درخت فیلوژنی تیره *Loranthaceae* به عنوان خواهر برای کل تاکسون‌های این تیره در نظر گرفته می‌شوند (Vidal-Russell and Nickrent, 2008). تیره *Viscaceae* با ۷ جنس و تقریباً ۳۵۰ گونه، اغلب در نواحی گرمسیری، نیمه گرمسیری و معتدله دنیای قدیم و جدید پراکنش دارند و می‌توان گفت به طور کلی همه جازی هستند و تنها در نواحی شدیداً خشک یا سرد یافت نمی‌شوند (Kuijt, 1969; Raven and Axelrod, 1974; Barlow, 1983). این تیره بر خلاف *Loranthaceae* منشأ گرفته از آسیای شرقی و متعلق به لورآسیا (مجموعه‌ی قاره‌های شمالی است، که اکنون به صورت آمریکای شمالی، اروپا، آسیا و گرینلند جدا شدند) می‌باشد و در درجه‌ی دوم در قاره‌های جنوبی پراکنش دارند (Raven and Axelrod, 1974; Barlow 1983). برخلاف نظریه برخی از دانشمندان

جنین‌شناسی (Johri and Bhatnagar, 1960; Dixit, 1962; Barlow, 1964; Barlow and Wiens, 1971) جغرافیای زیستی (Barlow, 1983) و به دنبال آن مشاهده تفاوت‌هایی در این دو گروه، این دو زیر تیره به عنوان دو تیره مجزا در نظر گرفته شدند و زیر تیره *Viscoideae* به عنوان تیره‌ای مجزا از *Loranthaceae* در نظر گرفته شد. (Kuijt و Polhill (1969) و (1998) و Wiens با استفاده از تفاوت‌های میان دو تیره *Viscaceae* و *Loranthaceae* از جمله وجود پوشش چسبناک و یسین بر روی دانه سرده‌های تیره *Viscaceae* و وجود گل‌های درشت و رنگی با ساختار فنجان‌ی شکل در بیشتر سرده‌های تیره *Loranthaceae*، این دو تیره را از هم جدا کردند. بررسی طول شاخه‌های درخت فیلوژنی، تک نیایی بودن این دو تیره را تأیید می‌کند، زیرا *Loranthoideae* از میزان موتاسیون کمتری نسبت به *Viscoideae* برخوردار است (Nickrent and Duff, 1996). مطالعات مولکولی اخیر بر اساس ITS، LSU و SSU هسته‌ای و *trnL-F*، *matK* و *rbcL* کلروپلاستی، تک تباری بودن تیره *Loranthaceae* را اثبات کرد و همچنین این تیره به عنوان خواهر دو تیره *Schoepfiaceae* و *Misodendraceae* در نظر گرفته شد (Nickrent and Duff,

F استفاده می شود. همچنین در این مطالعه به بررسی روابط فیلوژنیک اعضای تیره *Loranthaceae* در ایران و ارزیابی تک تباری بودن دو تیره *Loranthaceae* و *Viscaceae* پرداخته می شود.

مواد و روش‌ها

۱-۲ جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

در مجموع ۲۷ تاکسون (۲۴ تاکسون در آنالیز cptrnL-F، ۲۳ تاکسون در آنالیز nrDNA ITS ترکیبی) به عنوان درون گروه و ۳ تاکسون (*Olax acuminata* (*Olacaceae*), *Chaunochiton kappleri* (*Aptandraceae*) و *Ximения americana* (*Ximeniaceae*) به عنوان برون گروه انتخاب شدند. اطلاعات کلی گونه‌های آنالیز شده در این مطالعه در جدول شماره ۱-۲ نشان داده شده است. استخراج DNA برای تمامی ۵ گونه از تیره *Loranthaceae* موجود در ایران (*Loranthus europaeus*, *Loranthus* و *Viscum laxum*, *Viscum album*, *grewinkii* و *Arceuthobium oxycedri*) صورت گرفت و اطلاعات مربوط به باقی نمونه‌ها از بانک ژنی بدست آمد (Wilson and Calvin, 2006).

(Bhandari and Vohra, 1983) این تیره از *Loranthaceae* جدا شده در حالی که در ارتباط با آن است و نتایج بدست آمده حاکی از سرعت بالای تکاملی در این تیره است. آنالیزهای صورت گرفته بر روی تیره *Viscaceae* از گذشته تا کنون، توسط انواع توالی‌های هسته‌ای مانند SSU، LSU و ITS، و توالی‌های کلروپلاستی مانند *rbcL*، *trnL-F* و *matK* تک تباری بودن این تیره را نشان می دهد (Nickrent and Soltis, 1995; Nickrent et al., 1998; Nickrent and Malécot, 2001; Der and Nickrent, 2008). با توجه به آخرین سیستم APG III (2009)، تیره *Viscaceae* در *Santalaceae* قرار داده شده است ولی بر اساس آخرین نتایج حاصل از مطالعات مولکولی، تیره *Viscaceae* به عنوان تیره‌ای مجزا در نظر گرفته می شود (Nickrent et al., 2010).

با توجه به اینکه روش‌های فیلوژنی مولکولی نتایج گرانبهایی را جهت پاسخگویی به شماری از سوالات تکاملی نشان داده اند، در این مطالعه جهت بازسازی روابط فیلوژنی تیره و سرده از چارچوب فیلوژنی مولکولی بر مبنای داده‌های مولکولی حاصل از توالی‌های nrDNA ITS و cpDNA *trnL*-

جدول شماره ۲-۱. فهرست گونه های آنالیز شده برای توالی کلروپلاستی trnL-F و هسته ای ITS

Species	Voucher, Source	Gen Bank accession number cpDNA trnL-F / nrDNA ITS
<i>Alnus viridis</i> ssp. <i>sinuata</i>	Chen & Hong, China	AY147067 / AJ251680
<i>Arceuthobium oxycedri</i>	Taherian, GUH-3994	- / HQ917109
<i>Arceuthobium verticilliflorum</i>	D.L. Nickrent, 2065 (SIU)	EF464482 / L25700
<i>Arjona tuberosa</i>	D. L. Nickrent, 4546 (SIU)	EF464483 / -
<i>Atkinsonia ligustrina</i>	Calvin & Wilson, AU00-01	DQ788714 / DQ333865
<i>Chanochiton kappleri</i>	D. N. Nickrent, 3052 (SIU)	EF464485 / -
<i>Dendromyza reinwardtiana</i>	Calvin & Wilson, AU02-11	DQ340621 / DQ333870
<i>Dendrotrophe varians</i>	Nickrent & Calvin, 4014 (SIU)	DQ340622 / DQ333871
<i>Gaiadendron punctatum</i>	Calvin & Wilson, CR01-08	DQ788715 / DQ333866
<i>Korthalsella latissima</i>	Molvray & Kores, 309 (SIU)	AF055684 / AF051965
<i>Korthalsella lindsayi</i>	Molvray & Kores, 352 (SIU)	AF055678 / AF051958
<i>Leptomeria cunninghamii</i>	Verboom, Africa (1274)	GU294671 / GU256865
<i>Loranthus europaeus</i> Jacq.	Asadi & massumi TUH-76308	HQ917114/ HQ917110
<i>Loranthus grewingkii</i> Boiss & Buhse	Por Mirzaie & Sharifi KUH-6205	HQ917111/HQ917115
<i>Loranthus odoratus</i>	D. L. Nickrent, 4977 (SIU)	- EU544494 /
<i>Misodendrum punctulatum</i>	D. L. Nickrent, 4593 (SIU)	DQ788711 / DQ788702
<i>Nuytsia floribunda</i>	D. L. Nickrent, 2747 (SIU)	DQ788716 / DQ788705
<i>Olox acuminata</i>	Yang & Peng, China	- AF534674 /
<i>Osyris alba</i>	A. Worberg, 015 (BONN)	AM397176 / EF569287
<i>Santalum album</i>	Harbaugh, 33 (UC)	- / EF569317
<i>Schoepfia schreberi</i>	Nickrent, 4915(SIU)	DQ788717 / DQ788706
<i>Stellaria alsine</i>	Zheng, Zhao & Zhou, China	EU785987 / EU785983
<i>Stellaria media</i>	Zheng, Zhao & Zhou, China	EU785989 / EU785985
<i>Tupeia antarctica</i>	Cham. & Schltld., NZ98-02	- / DQ333850
<i>Tripodanthus acutifolius</i>	Calvin & Wilson, AR03-04	DQ340615 / DQ333864
<i>Viscum album</i>	Zanjanchi, GUH-3990	HQ917112 / HQ917107
<i>Viscum album abietis</i>	D. Zuber, Switzerland	AF180533 / AF180529
<i>Viscum cruciatum</i>	D. Zuber, Switzerland	AF180541 / AF419257
<i>Viscum laxum</i>	Mohammadi, GUH-3991	HQ917113 / HQ917108
<i>Ximenia americana</i>	Calvin & Wilson, AU01-13	DQ340620 / DQ333869

۲-۲ استخراج DNA ژنومی و تکثیر آن

از نیتروژن مایع جهت پودر کردن بافت برگ نمونه های تازه و یا هرباریومی استفاده شد. جهت استخراج DNA، از روش CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide) (Doyle & Doyle, 1987) با

کمی تغییرات استفاده شد. واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)، تخلیص محصول PCR و تعیین توالی قطعات تکثیر یافته بر اساس پروتوکول های کلاسیک انجام شد (Gielly and Taberlet, 1994b). ناحیه

فاصله انداز ITS با پرایمر های ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') به عنوان پرایمر "رفت" و ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') به عنوان پرایمر "برگشت" تکثیر یافت (White, 1990). ناحیه ژنی trnL-F با

پرایمر های trnL-F "P" (5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3') به عنوان پرایمر "رفت" و trnL-F "c" (5'-ATTTGAACTGGTGACCGAG-3') به عنوان پرایمر "برگشت" تکثیر یافت (Taberlet, 1991). پروتوکول برنامه واکنش

PCR برای هر دو ناحیه ژنی یه شرح ذیل اجرا شد: 93°C به مدت ۵ دقیقه (واسرشته سازی اولیه)؛ 35°C چرخه حرارتی شامل 93°C به مدت ۴۵ ثانیه (واسرشته سازی)، 56°C به مدت ۴۵ ثانیه (اتصال)، 72°C به مدت $1:30$ دقیقه (بسط)؛ 72°C به مدت ۵ دقیقه (بسط نهایی). جهت اطمینان از تکثیر DNA و

سنجش کیفیت آن، محصول PCR بر روی

ژل آگارز ۱٪ برده شده و الکتروفورز انجام شد. خالص سازی محصولات PCR با استفاده از کیت تخلیص^۱ PCR از شرکت بیونیر صورت گرفت.

۲-۳ آنالیز فیلوژنی

همردیف سازی و ویرایش توالی های DNA، با استفاده از نرم افزار Sequencher version 4.10 به صورت چشمی و دستی صورت گرفت. توالی نمونه ها به همراه توالی های بدست آمده از بانک ژنی، به کمک برنامه آنالیز MAFFT (<http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/index.html>) و مطابقت داده شدند. پس از تطبیق توالی ها به صورت اتوماتیک با استفاده از برنامه MAFFT با فرمت clustal ذخیره شده و ویرایش نهایی توالی ها، به صورت دستی و با استفاده از نرم افزار Mesquite version 2.01 (Maddison and Maddison, 2007) صورت گرفت. جهت تعیین ارتباط میان سرده های مورد مطالعه و رسم درخت فیلوژنتیکی، ماتریکس داده های مولکولی همردیف سازی شده، با استفاده از روش بیشینه صرفه جویی^۲ توسط نرم افزار PAUP* 4.b10 (Swofford, 2002)، روش بیشینه احتمال^۳ با استفاده از نرم افزار

^۱ PCR purification Kit

^۲ Maximum Parsimony

^۳ Maximum Likelihood

اساس معیار اطلاعاتی hLRT انتخاب شدند. بر طبق این آنالیز مجموعه داده ها مطابق با مدل های TrN+I+G و K81uf+I+G، به ترتیب برای داده های ITS و trnL-F بودند. مجموعه داده های ترکیبی نیز با مدل TrN+I+G مطابقت داشت. بعد از بدست آوردن داده های نهایی از برنامه PAUP* (Swofford, 2002) 4.b10 برای آنالیزهای فیلوژنتیکی با بیشینه احتمال استفاده شد. برنامه MrBayes v 3.0B4 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) برای آنالیزهای فیلوژنتیکی Bayesian استفاده شد. تخمین جانمایی ها و طول شاخه ها به طور مستقل در هر بخش متغیر می باشد. احتمالات ثانویه بر روی پارامتر های مدل از داده ها با استفاده از پیش فرض های اولیه بر آورد شدند. آنالیزهای ترکیبی و جدا از هم در ۲ میلیون نسل تکرار شدند. ۴ زنجیره مارکوف موتته کارلو (MCMC) در یک زمان از درخت به طور تصادفی شروع به کار کرد. یک درخت در هر ۱۰۰ نسل نمونه برداری کرد. درختان نمونه برداری شده بعد از رسیدن به فاز خطی جمع آوری شدند و برای ایجاد یک درخت توافقی با بیشینه ۵۰٪ همراه با ارزش های احتمال ثانویه استفاده شدند.

(Swofford, 2002) 4.b10 PAUP* و همچنین روش Bayesian توسط نرم افزار MrBayes v 3.0B4 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) آنالیز شدند. درخت های رسم شده با نرم افزار Tree view (Page, 1996) مشاهده شد. بر اساس روش بیشینه صرفه جویی (MP) مناسب ترین درخت که کمترین تغییرات را در مسیر تکامل متحمل شده و کمترین میزان هموپلازی ناشی از همگرایی یا برگشت را دارد و کوتاه ترین درخت است، بدست می آید. در این آنالیز این احتمال می رود که چندین درخت کوتاه بدست آید، در این صورت درخت توافقی برای آنها تعریف می شود. تمامی سری داده های ITS، trnL-F و ترکیب این دو ژن با استفاده از روش جستجوی ابتکاری^۱ توسط نرم افزار PAUP* صورت گرفت. برای تعیین حدود اطمینان کلادها در درخت توافقی حاصل از هر یک از آنالیزهای مذکور، آنالیز Bootstrap (felsenstein, 1985) با روش جستجوی ابتکاری با تعداد تکرار ۱۰۰۰۰ صورت گرفت.

در روش بیشینه احتمال (ML) و بایسین (Bayesian) نیاز به یک مدل تکاملی است. برای آنالیز داده های ITS، trnL-F و ترکیبی، مدل های تکاملی با استفاده از برنامه MrModeltest 3.7 (Posada, 2004)

¹ Heuristic search

نتایج

و ترکیب آنها در جدول شماره ۲-۳ نشان داده شده است.

نتایج آماری حاصل از آنالیزهای فیلوژنی مختلف برای دو ناحیه ژنی به صورت مجزا

جدول شماره ۲-۳. نتایج آماری حاصل از آنالیزهای پارسیمونی و مدل‌های تکاملی انتخاب شده بر اساس معیار hLRT، برای هر دو ناحیه ژنی به صورت مجزا (ITS و trnL-F) و ترکیب آنها.

توصیف	دو ژن (trnL-F, ITS)	هسته‌ای (ITS)	کلروپلاستی (trnL-F)
مشخصات توالی‌ها			
تعداد تاکسون‌ها	۲۳	۲۶	۲۷
طول ماتریس	۱۴۶۰	۸۳۷	۶۲۳
صفات غیر اطلاعاتی پارسیمونی	۲۳۴	۵۶۹	۱۳۶
مشخصات درخت‌ها			
تعداد درخت مرکزی مطلق	۲	۱	۱۶
طول	۳۰۳۰	۲۶۶۷	۸۳۵
CI	۰/۶۴۷	۰/۵۶۲	۰/۷۳۳
RI	۰/۶۸۹	۰/۶۲۷	۰/۷۷۱
مدل ML	TrN+I+G	TrN+I+G	K81uf+I+G

۳-۱ بخش ITS هسته‌ای

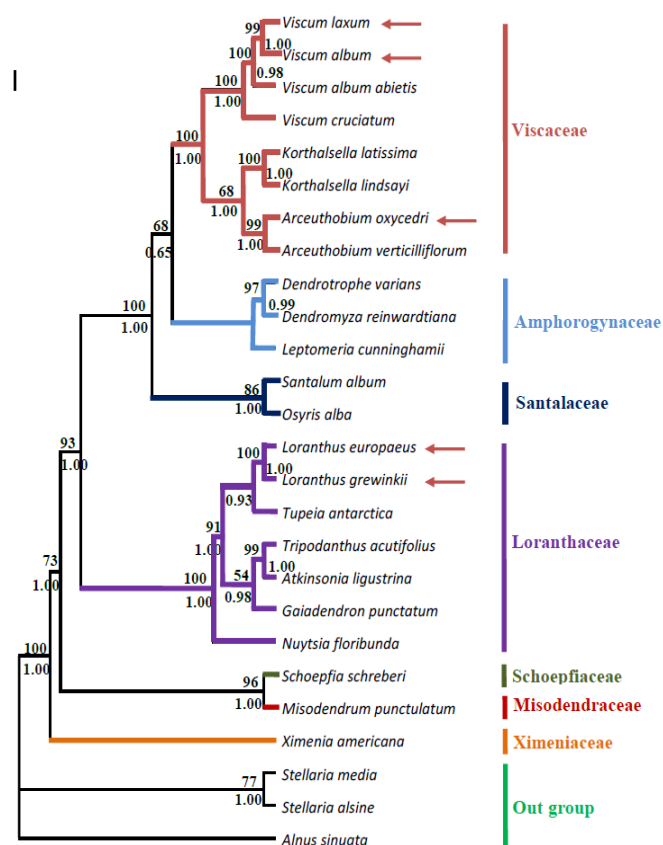
درخت‌های بدست آمده از آنالیزهای مختلف ژن ITS، از نظر توپولوژی مشابه یکدیگرند. درخت توافقی بدست آمده از روش بیشینه صرفه جویی روابط اعضاء را بهتر و با حمایت بالاتری حل کرده است (شکل ۱-۳). نتایج بدست آمده از آنالیزهای فیلوژنی مختلف برای ناحیه ژنی ITS نشان دادند، *Ximenia americana* در قاعده درخت قرار گرفته و با حمایت

بالا (Bootstrap Support=100, Bootstrap Support for ML =100, Posterior Probability=1.0) به عنوان خواهر برای باقی اعضاء این درخت در نظر گرفته می‌شود. در شاخه بعد *Schoepfia schreberi* (*Schoepfiaceae*) و *Misodendrum punctulatum* (*Misodendraceae*) با حمایت بالا (Bootstrap Support=96, Bootstrap Support for ML=80, Posterior Probability=0.97) عنوان گروه خواهری برای دو شاخه باقی

Gaiadendron punctatum با حمایت ۵۴٪ در موقعیت خاوه‌ری نسبت به این دو گونه قرار گرفته است و این زیر شاخه با حمایت ۹۱٪ با زیر شاخه بعدی تشکیل گروه خاوه‌ری می‌دهد. زیر شاخه بعدی گونه‌های *L. grewinkii* و *L. europaeus* با حمایت ۱۰۰٪ گروهی تک نیا تشکیل داده‌اند. گونه *Tupeia antarctica* خاوه‌ر این دو گونه می‌باشد.

زیرشاخه اول گونه‌های *Korthalsella* و *Arceuthobium* با شاخه *Viscum* با حمایت ۱۰۰٪ تشکیل یک گروه خاوه‌ری می‌دهند. گونه‌های *V. laxum* و *V. album* با حمایت ۹۹٪ گروهی تک نیا تشکیل داده‌اند و *V. album* spp. *abietis* با حمایت ۱۰۰٪ در موقعیت خاوه‌ری دو گونه فوق‌تر قرار گرفته است. گونه *V. cruciatum* با حمایت ۱۰۰٪ به عنوان آرایه خاوه‌ری برای این زیرشاخه می‌باشد.

مانده شدیداً حمایت می‌شوند. با توجه به شکل ۱-۳، دو شاخه بعدی با حمایت ۹۳٪ قرابت دارند و شاخه اول متعلق به تیره بزرگ *Loranthaceae* می‌باشد که *Nuytsia floribunda* با حمایت ۱۰۰٪ خاوه‌ر تمام اعضای این تیره می‌باشد. گونه‌های *Tripodanthus acutifolius* و *Atkinsonia ligustrina* با حمایت ۹۹٪ گروهی تک نیا تشکیل داده‌اند. گونه شاخه تک تبار دوم تشکیل یک پلی‌تومی با حمایت ۱۰۰٪ را می‌دهد که از ۳ زیرشاخه تشکیل شده است. زیرشاخه اول متعلق به تیره *Santalaceae* می‌باشد که دو گونه آن *Santalum album* و *Osyris alba* با حمایت ۸۶٪ خاوه‌رند و با حمایت ۶۸٪ خاوه‌ر کل زیر شاخه‌های فوق می‌باشند. زیرشاخه دوم *Amphorogynaceae* است که با حمایت ۶۸٪ با شاخه سوم *Viscaceae* قرابت دارد. تیره *Viscaceae* که تشکیل یک پلی‌تومی با حمایت ۱۰۰٪ می‌دهد. در



شکل شماره ۳-۱. درخت بیشینه صرفه جویی ترسیم شده حاصل از آنالیز ITS nrDNA با نرم افزار PAUP با ۱۰۰۰۰ تکرار. اعداد بالای شاخه‌ها، ارزش حمایت Bootstrap و اعداد زیر شاخه‌ها حمایت ثانویه Bayesian (Posterior Probability) را نشان می‌دهند. فلش‌ها نمونه‌های ایرانی مورد مطالعه را نشان می‌دهند.

۲-۳ بخش *trnL-F* کلروپلاستی

درخت‌های بدست آمده از آنالیزهای مختلف ژن *trnL-F*، از نظر توپولوژی مشابه یکدیگرند. از آنجا که درخت حاصل از آنالیز Bayesian، روابط اعضا را بهتر و با حمایت بالاتری حل کرده است، به بررسی این درخت پرداخته می‌شود. در قسمت قاعده درخت، *Olax acuminata* با احتمال پسین ۱، خواهر کل اعضای راسته *Santalales* می‌باشد و به دنبال آن *Ximenia americana* و

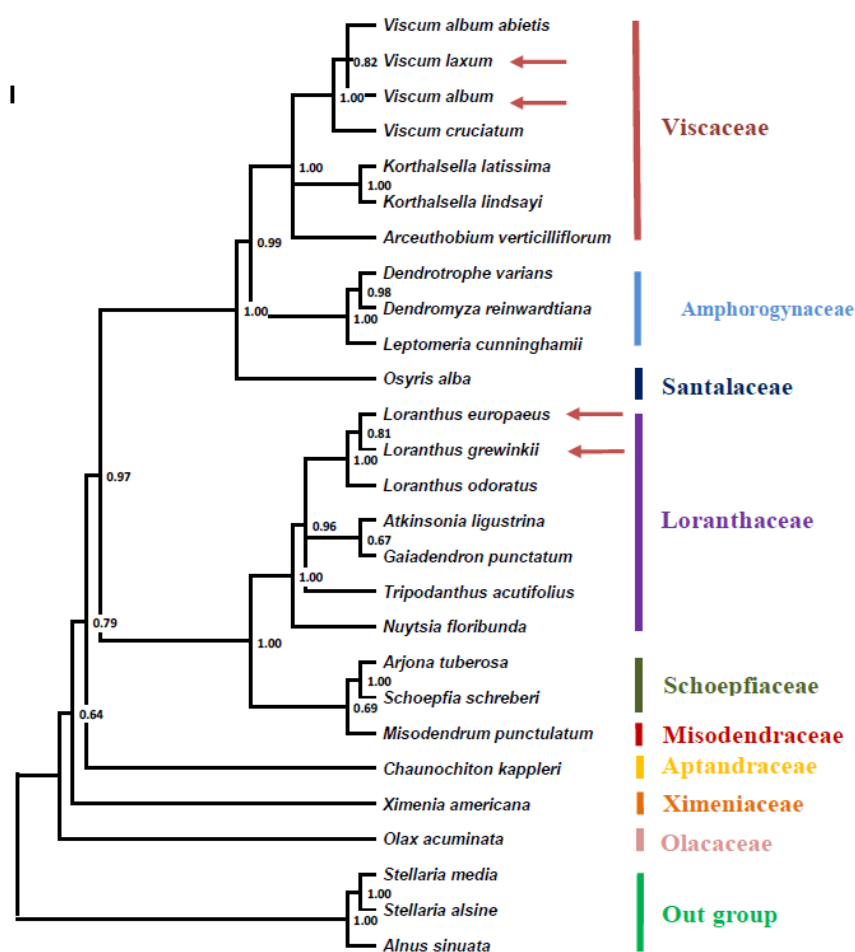
۱، خواهر زیر شاخه بزرگ *Loranthaceae* می‌دهد که شامل دو تیره *Misodendraceae* و *Schoepfiaceae* با احتمال ۰/۶۹ و با احتمال ۰/۷۹ خواهران متوالی باقی اعضای این راسته می‌باشند (شکل ۳-۲). در حالیکه در درخت ترسیم شده توسط نرم‌افزار PAUP روابط بین این ۳ جنس به صورت حل نشده باقی مانده است. شاخه بعدی دو زیر شاخه را به خود اختصاص می‌دهد که شامل دو تیره *Misodendraceae* و *Schoepfiaceae* با احتمال ۰/۶۹ و با احتمال ۰/۷۹ خواهران متوالی باقی اعضای این راسته می‌باشند (شکل ۳-۲). در حالیکه در درخت ترسیم شده توسط نرم‌افزار PAUP روابط بین این ۳ جنس به صورت حل نشده باقی مانده است. شاخه بعدی دو زیر شاخه را به خود اختصاص می‌دهد که شامل دو تیره *Misodendraceae* و *Schoepfiaceae* با احتمال ۰/۶۹ و با احتمال ۰/۷۹ خواهران متوالی باقی

دوم گونه های *K. lindsayi* و *K. latissima* و شاخه سوم متعلق به گونه های *Viscum* حل نشده باقی ماند و این سه با احتمال ۱ در کنار یکدیگر قرار گرفتند. سه گونه *Viscum* در یک پلی تومی متشکل از *V. album* و *V. album abietis* حل نشده باقی ماند و این سه با احتمال ۰/۸۲ در کنار یکدیگر قرار گرفتند و *V. cruciatum* با احتمال ۱ در موقعیت خواهری آن شاخه قرار گرفته است.

۳-۳ بخش ترکیبی داده های مولکولی ITS و trnL-F

درخت های بدست آمده از آنالیز های مختلف ترکیب دو ژن، از نظر توپولوژی مشابه یکدیگرند. از آنجا که درخت حاصل از آنالیز Bayesian، روابط اعضا را بهتر و با حمایت بالاتری حل کرده است، به بررسی این درخت پرداخته می شود. سرده *Ximenia americana* با احتمال پسین ۱ به عنوان آرایه خواهری برای کل اعضای راسته *Santalales* می باشد که تشکیل یک پلی تومی دو شاخه ای را می دهد (شکل ۳-۳). شاخه اول که با احتمال ۱ در ارتباط با شاخه دوم می باشد، متشکل از دو زیرشاخه است.

می باشند. اعضای این تیره تشکیل یک زیر شاخه تک تبار *Nuytsia floribunda* با احتمال پسین ۱ را می دهند که خواهر تمام گونه های متعلق به این تیره می باشد. شاخه بعدی تشکیل یک تریکوتومی را می دهد که با احتمال ۰/۹۶ از هم قرار دارند. شاخه اول تریکوتومی متعلق به *Tripodanthus acutifolius* است. در شاخه دوم گونه های *Atkinsonia* و *Gaiadendron punctatum* با احتمال ۰/۶۷ گروهی تک نیا را تشکیل داده اند. در شاخه سوم گونه های *L. grewinkii* و *L. europaeus* با احتمال ۰/۸۱ گروهی تک نیا تشکیل داده اند و *L. odoratus* با احتمال ۱، در موقعیت خواهری شاخه فوق قرار گرفته است. شاخه بعدی که شامل سه زیر کلاد متعلق به سه تیره *Amphorogynaceae*، *Viscaceae* و *Santalaceae* است. شاخه اول متعلق به تیره *Santalaceae* است که دارای گونه *Osyris alba* است که با احتمال ۱ خواهر تمام سرده های باقیمانده می باشد. در شاخه بعدی سرده های متعلق به تیره *Amphorogynaceae* قرار گرفتند و این تیره با احتمال ۰/۹۹ در قرابت با *Viscaceae* می باشد. شاخه سوم متعلق به تیره *Viscaceae* است. موقعیت این سه شاخه شامل شاخه اول متعلق به گونه *Arceuthobium verticilliflorum*



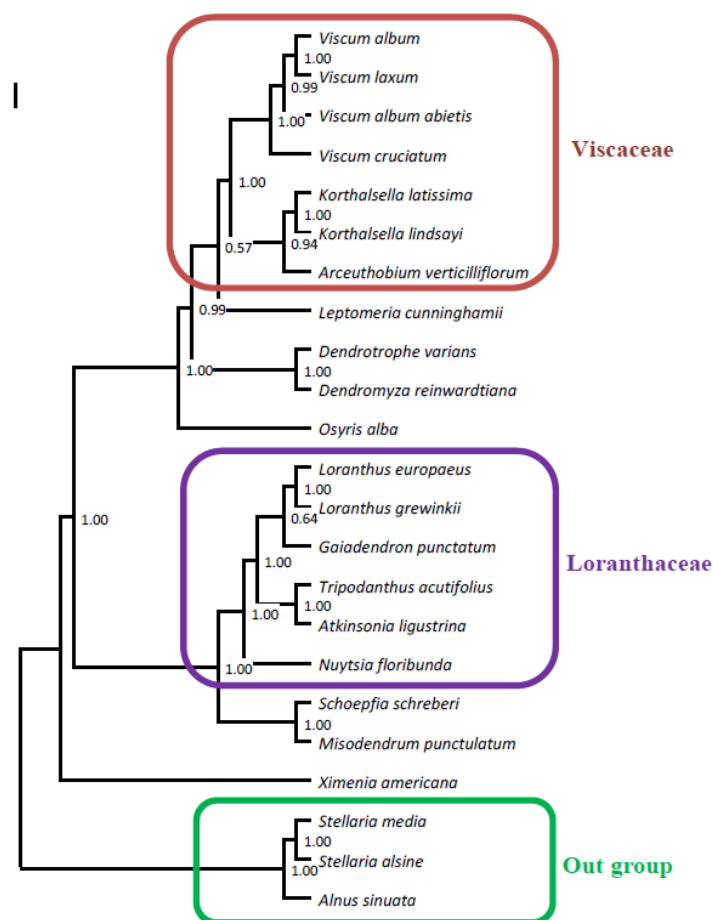
شکل شماره ۳-۲. درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز توالی های بین ژنی cpnrnL-F با استفاده از روش Bayesian. اعداد بالای شاخه ها، ارزش حمایت Posterior probability را نشان می دهند. فلش ها، نمونه های ایرانی مورد مطالعه را نشان می دهند.

گونه‌های *Tripodanthus acutifolius* و *Atkinsonia ligustrina* تشکیل زیرکلادی با احتمال ۱ را می دهند. دو گونه *Loranthus* با احتمال ۱ گروهی تک نیا تشکیل داده اند. گونه *Gaiadendron punctatum* با احتمال ۰/۶۴ در موقعیت خواهری نسبت به دو گونه فوق قرار گرفته است.

زیرشاخه اول مرکب از گونه‌های *Misodendrum* و *Schoepfia schreberi* است که با احتمال ۱ از هم قرار گرفته اند و با زیرشاخه دوم تشکیل یک گروه خواهری با احتمال ۱ را می دهند. زیر شاخه دوم متعلق به تیره *Loranthaceae* می باشد. گونه *Nuytsia floribunda* مشابه سایر آنالیز های ذکر شده با احتمال ۱ خواهر کل اعضای *Loranthaceae* می باشد.

حالی که در درخت حاصل از بیشینه صرفه جویی این تاکسون خواهر *Dendrotrophe varians* و *Dendromyza reinwardtiana* می باشد و کل این زیرشاخه با زیرشاخه *Viscaceae* تشکیل گروه خوهری می دهد. در زیر شاخه متعلق به تیره *Viscaceae* در شاخه اول گونه های *K. latissima* و *K. lindsayi* با احتمال ۱ گروهی تک نیا تشکیل داده اند. گونه *Arceuthobium verticilliflorum* با احتمال ۰/۹۴ در موقعیت خوهری نسبت به دو گونه فوق قرار گرفته است. گونه های *V. album* و *V. laxum* با احتمال ۱ گروهی تک نیا تشکیل داده اند. گونه های *V. album* و *spp. abietis* به ترتیب با احتمال های ۰/۹۹ و ۱ در موقعیت خواهران متوالی نسبت به این شاخه قرار گرفته‌اند.

شاخه دوم شامل سه تیره *Viscaceae*، *Amphorogynaceae* و *Santalaceae* که تشکیل آرایه خوهری می دهند. زیرشاخه اول متعلق به تیره *Santalaceae* می باشد که شامل گونه *Osyris alba* است و با احتمال ۱ خواهر کل اعضای این شاخه است. زیرشاخه بعدی متشکل از گونه های *Dendromyza reinwardtiana* و *Dendrotrophe varians* متعلق به تیره *Amphorogynaceae* با احتمال ۱ می باشد. تفاوت دو درخت بیشینه صرفه جویی و Bayesian در موقعیت قرار گیری *Leptomeria cunninghamii* می باشد. این گونه در Bayesian به صورت مجزا از دو گونه دیگر با احتمال ۰/۵۷ خواهر برای کل اعضای شاخه *Viscaceae* می باشد، در



شکل شماره ۳-۳. درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز ترکیبی داده های *cptrnL-F* و *nrDNA ITS* با استفاده از روش Bayesian. اعداد بالای شاخه ها، ارزش حمایت *Posterior probability* را نشان می دهند.

بحث

به منظور دسترسی بیشتر به توالی های *trnL-F* و *ITS* هسته ای، تصمیم گرفته شد که برای تفکیک دقیق سرده های *Loranthaceae* در ایران و تا حدودی ارتباطات فیلوژنتیکی بین آنها، از توالی های *trnL-F* و *ITS* استفاده شود. نتایج بدست آمده از نشان داد توالی کلروپلاستی *trnL-F* در حل روابط و ایجاد یک ساختار فیلوژنتیکی قوی در سطح تیره، از توالی

به منظور روشن ساختن ارتباطات فیلوژنتیکی در گروهی از گیاهان بسیار نزدیک، نشانگرهای مولکولی که بیشتر مورد استفاده قرار گرفته اند، توالی های کلروپلاستی همچون *trnL-F*، *matK* و *rbcL* و توالی های هسته ای مانند *ITS*، *SSU* و *LSU* می باشند (Vidal-Russell and Nickrent, 2008).

به *Loranthaceae* با حمایت ۹۳٪ تشکیل گروه خواهری می دهد ولی در درخت ITS، این شاخه با حمایت ۷۳٪ خواهر بقیه اعضای این راسته می باشد. نتیجه بدست آمده از درخت کلروپلاستی مورد مطالعه با نتایج حاصل از یکسری مطالعات مولکولی صورت گرفته بر روی توالی های کلروپلاستی و توالی های هسته ای SSU و LSU مطابقت دارد در حالی که درخت ITS با این نظریات متناقض است (Nickrent and Duff, 1996; Nickrent et al., 1998; Malécot and Nickrent, 2008; Nickrent et al., 2010).

در شاخه متعلق به *Loranthaceae* در هر دو درخت حاصل از آنالیز trnL-F و ITS، *Nuytsia* به عنوان نیای تمام گونه های این تیره دیده شد. این در حالی است که درصد حمایت در درخت کلروپلاستی پایین تر (۷۷٪) از درخت هسته ای (۱۰۰٪) است. وجود حالات ابتدایی صفات در این گونه که از جمله می توان به نوع میوه آن که از نوع سامار سه بال است و همچنین هاستوریومی با چنگک های اسکرانشیمی اشاره کرد، نیز تایید کننده این وضعیت است (Beyer et al., 1989; Calladine et al., 2000).

نتایج بدست آمده در این مطالعه با نتایج حاصل از آنالیز مولکولی بر اساس ITS هسته ای و trnL-F کلروپلاستی توسط Wilson و Calvin (2006) و

هسته ای ITS موفق تر است در حالیکه برای حل روابط میان گونه ای توالی ITS ارجحیت دارد. نتایج بدست آمده از داده های ترکیبی، نتایج تقریباً مشابهی با داده های بدست آمده از توالی کلروپلاستی دارد.

در آنالیز پارسیمونی قطعه کلروپلاستی trnL-F سه تیره *Aptandraceae*، *Ximeniaceae* و *Olacaceae* به صورت حل نشده در قاعده درخت قرار گرفتند و با حمایت ۸۶٪ خواهر کل تاکسون های راسته Santalales می باشند. در درخت پیشینه صرفه جویی حاصل از داده های ITS، تیره *Ximeniaceae* با حمایت ۱۰۰٪ به عنوان خواهر باقی اعضای این راسته قرار می گیرد. درخت کلروپلاستی حمایت بالاتری را برای این شاخه نشان می دهد. این نتیجه با نتایج مولکولی بدست آمده توسط Nickrent و همکارانش (2010) با استفاده از آنالیز های صورت گرفته بر روی توالی های هسته ای SSU و LSU، و همچنین توالی های کلروپلاستی trnL-F، matK و rbcL سازگار بود.

کلاذ بعدی متعلق به دو تیره *Schoepfiaceae* و *Misodendraceae* می باشد که در هر دو درخت فیلوژنی بدست آمده از توالی ITS و trnL-F، با یکدیگر خواهرند با این تفاوت که در درخت پیشینه صرفه جویی trnL-F این کلاذ با کلاذ متعلق

این ارتباطات باشد. در شاخه متعلق به سرده *Loranthus* هر دو درخت نتایج مشابهی را نشان می‌دهند. سرده *Loranthus* متعلق به قبیله *Loranthae* می‌باشد که بزرگترین قبیله داخل این تیره می‌باشد و در زیر قبیله *Loranthinae* قرار می‌گیرد که دارای ۲ سرده است؛ *Cecarria* و *Loranthus* که *Loranthus* تقریباً با ۱۰ گونه از اروپا تا جنوب چین و سوماترا پراکنش دارد (Huaxing and Gilbert, 2003). در این مطالعه دو گونه *L. europaeus* و *L. grewinkii* با حمایت ۱۰۰٪ خواهرند. *L. grewinkii* اندمیک ایران است و تنها در ایران و افغانستان پراکنش دارد ولی *L. europaeus* بومی شرق اروپا می‌باشد و در نواحی گرمسیری ایران پراکنش دارد. بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی، این دو گونه تفاوت‌هایی با یکدیگر دارند که آنها را در سطح گونه از یکدیگر مجزا می‌کند؛ که شامل تفاوت‌هایی در اندازه برگ، شکل پهنک برگ، وجود برگه یا عدم وجود آن در محل انشعاب ساقه، شکل میوه و دانه هستند. در *L. grewinkii* اندازه برگ‌ها کوچکتر، پهنک برگ باریک‌شونده و نوک منقار دار می‌باشد، در محل انشعاب ساقه براکته‌های ۴ تایی نوک تیز مشهود است، میوه سته تخم مرغی کشیده زرد رنگ و دانه نیز تخم مرغی شکل می‌باشد و این در حالی است که در

همچنین آخرین نتایج مولکولی بدست آمده توسط Nickrent و همکارانش (2010) مطابقت دارد و نشان می‌دهد اعضا دیگر این تیره که از نوع انگل ساقه هستند، از نیاکانشان که انگل ریشه هستند بوجود آمده‌اند. دو سرده *Gaiadendron* و *Atkinsonia* در هر دو آنالیز، بعد از *Nuytsia*، خواهر تمام سرده‌ها می‌باشند با این تفاوت که در درخت trnL-F، این دو سرده با حمایت ۷۲٪ با یکدیگر خواهرند ولی در درخت ITS، *Atkinsonia* و *Tripodanthus* با حمایت ۹۹٪ خواهرند و *Gaiadendron* با حمایت ۵۴٪ خواهر این دو سرده می‌باشد و این شاخه خواهر کل سرده‌های این تیره می‌باشد. درخت ITS مطابق درخت بدست آمده از ترکیبی از توالی‌های trnL-F و ITS توسط Calvin (2006) و Wilson می‌باشد و نتیجه حاصل از آنالیز توالی trnL-F با نتایج برگرفته از مطالعات مولکولی Nickrent و همکارانش (2010) بر روی توالی‌های LSU، matK، rbcL و trnL-F سازگار است. ولی همانطور که در مطالعات Nickrent و همکارانش (2010) به آن اشاره شد، سرده‌های متعلق به این قبیله، نیاز به مطالعات بیشتری جهت تعیین مرزهای درون سرده‌ای دارد، که در این مطالعه عدم سازگاری با نتایج مطالعات Nickrent شاید بتواند بیانگر پیچیده بودن

یا معتدل و نیم دیگر در مناطق حاره ای معتدل پراکنده اند. این گیاهان به صورت درختی یا درخچه ای از نوع نیمه انگل ریشه یا ساقه می باشند. گل آذین در انواع مختلف شامل گل های منفرد، سنبله، گرز، خوشه ای مرکب و چتری و فاقد کاسه و کاسک می باشند که این صفت می تواند از صفات متمایز کننده ریخت شناسی برای این تیره از *Loranthaceae* باشد که دارای کاسه و کاسک است. دو تیره *Viscaceae* و *Amphorogynaceae* نیز با یکدیگر خاهرند. در تیره *Amphorogynaceae* وجود بساک ها و جفت های غیر معمول به عنوان صفات متمایز کننده برای این تاکسون ها تشخیص داده شده اند. بساک ها دارای حفره های پسین و پسینی با اندازه های متفاوت هستند که بر روی میله های کوتاه زاییده می شوند برخلاف آنچه در *Santalaceae*، *Viscaceae* و *Loranthaceae* مشاهده می شود که اندازه این حفره ها برابرند و همچنین هر کیسه بساک به طور مستقل و مورب شکوفا می شوند ولی در سرده های موجود در *Santalaceae* در طول یک شیار طولی منفرد شکوفا می شوند. همچنین جفت در این تیره بسیار کوچک و یا تحلیل یافته و به شدت با بافت تخمدان آمیخته شده است. در تمام آنالیزها دو سرده *Dendromyza* و *Dendrotrophe varians*

L. europaeus اندازه برگ ها بزرگ، پهنک برگ گوه ای شکل، نوک کند و فاقد براکته در محل انشعابات ساقه است، میوه سته تخم مرغی سرگرد، قهوه ای مایل به قرمز و شکل دانه گرد و مدور می باشد. نتایج حاضر با نتایج فیلوژنی مولکولی (Nickrent و همکارانش ۲۰۱۰)، مبنی بر پیشرفته تر بودن این سرده نسبت به سایر سرده های موجود در این تیره که در این مطالعه مورد آنالیز قرار گرفتند و قرار گیری این دو گونه در قسمت رأسی درخت، سازگار است. شاخه *Loranthaceae* با حمایت بالایی با شاخه بعدی خواهر است.

کلاد بعدی گروه خواهری برای کلاد فوق می باشد. در هر دو درخت الگوی قرار گیری تیره ها نسبت به هم مشابه و با نتایج بدست آمده از (Nickrent و همکارانش 2010) مطابقت دارد. این کلاد به صورت یک آرایه خواهری می باشد که در قاعده ی آن تیره *Santalaceae* قرار گرفته، که در درخت کلروپلاستی با حمایت ۹۴٪ و در درخت هسته ای با حمایت ۱۰۰٪ گروه خواهری برای دو تیره *Viscaceae* و *Amphorogynaceae* می باشد (Nickrent and Soltis, 1995; Nickrent et al., 1998; Nickrent and Malécot, 2001; Der and Nickrent, 2008). تیره *Santalaceae* با ۱۱ سرده پراکنش وسیعی دارد، نیمی از سرده هایش در نواحی خشک

این دو سرده می‌توان به تفاوت در برگ‌ها و میوه‌هایشان اشاره داشت، به طوری که سرده *Viscum* دارای برگ‌های چرمی باریک شونده با نوک کند و پایک کوتاه و میوه ناشکوفای می‌باشد در صورتی که *Arceuthobium* برگ‌های فلسی شکل، قاعده‌ی آن ساقه در آغوش پیوسته با نوک تیز و بدون دم‌برگ و میوه *Viscum* نا شکوفای می‌باشد. شاخه *Viscum* تک تبار می‌باشد. بر اساس نتایج حاضر از این مطالعه، دو گونه *V. album* و *V. laxum* با حمایت بالایی با یکدیگر خواهرند و طبق نتایج مولکولی و شواهد مورفولوژیکی می‌توان آنها را در دو گونه مجزا قرار داد.

در درخت *trnL-F* شاخه *Korthalsella* در قاعده درخت قرار گرفته و خواهر تمام اعضای این تیره می‌باشد و سپس بعد از آن *Arceuthobium* که با حمایت ۵۰٪ خواهر شاخه متعلق به *Viscum* می‌باشد، ولی در درخت ITS، شاخه *Korthalsella* با شاخه *Arceuthobium* با حمایت ۱۰۰٪ خواهر است و این شاخه با حمایت ۱۰۰٪ گروه خواهری برای شاخه *Viscum* می‌باشد. این نتیجه با نتایج بدست آمده توسط Nickrent و همکارانش (2010) سازگار است. در درخت کلروپلاستی *V. album*، *V. laxum* و *V. album spp. abietis* با حمایت ۹۱٪ در یک تریکوتومی قرار گرفتند و به عنوان سه

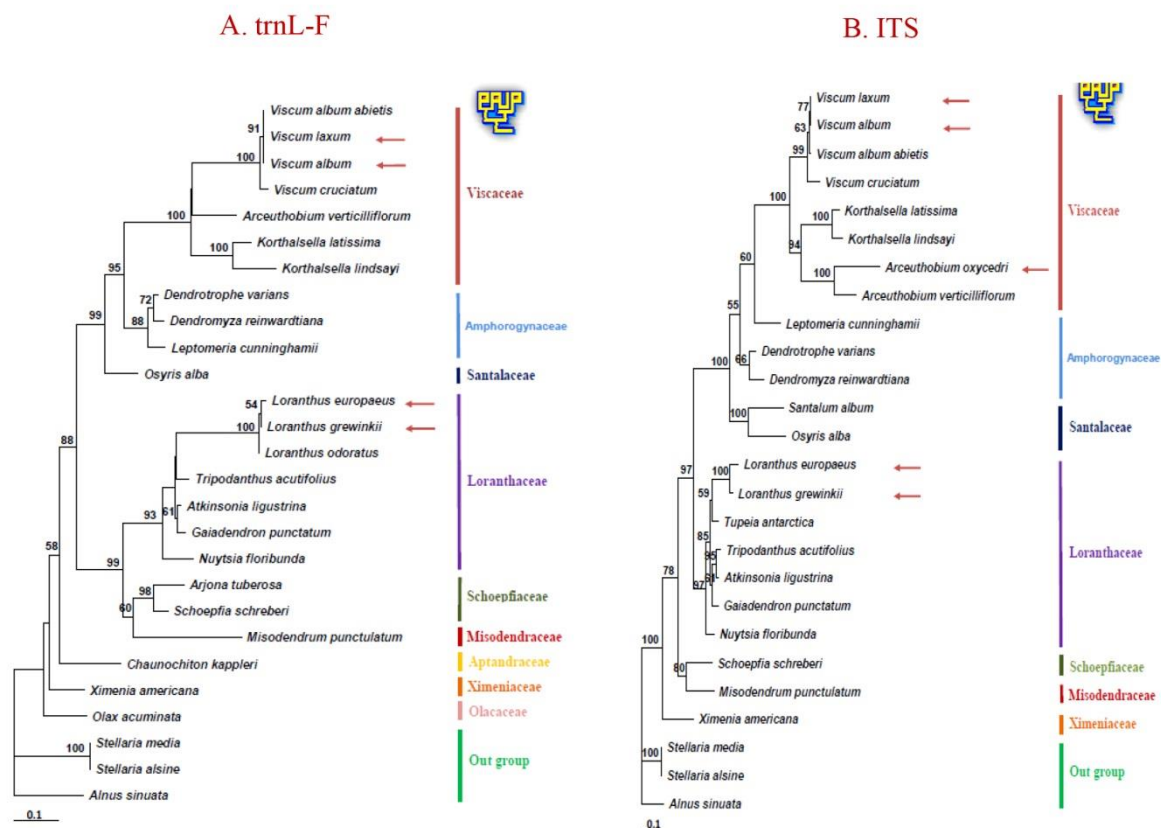
با حمایت بالایی قرابت دارند و *Leptomeria cunninghamii* خواهر دو گونه فوق می‌باشد که با نتایج بدست آمده توسط (2008) Nickrent و Der بر اساس ترکیبی از توالی‌های *SSU*، *rbcL* و *matK* و همچنین آخرین اطلاعات مولکولی بدست آمده توسط Nickrent و همکارانش (2010) مطابقت دارد. دو سرده *Dendrotrophe* و *Dendromyza* از لحاظ ریخت‌شناسی نیز مشابهت‌هایی با یکدیگر دارند، هر دو انگل هوایی از نوع ساقه هستند که در اندونزی و مالزی پراکنش دارند. در حالیکه سرده *Leptomeria* انگل ریشه می‌باشد و در استرالیا پراکنش دارد و در درجه‌ی بعد به عنوان خواهر دو گونه‌ی فوق در نظر گرفته می‌شود.

از تفاوت‌های درخت‌های حاصل از ITS و *trnL-F* در الگوی شاخه‌بندی سرده‌های تیره *Viscaceae* می‌باشد. این تیره دارای صفات پیشرفته‌ای است که می‌توان به علفی بودن گیاه، انگل از نوع ساقه، وجود برگ‌های تحلیل‌یافته و فلسی شکل، وجود تخمدان تحتانی، حضور گل‌های بسیار کوچک و تک‌جنسی اشاره کرد. مطالعات مورفولوژیکی صورت گرفته توسط (1969) Kuijt بر روی سرده‌های این تیره از جمله *Viscum* و *Arceuthobium*، نتایج بدست آمده از این مطالعه را حمایت می‌کند. از جمله تفاوت‌های

گوشتی و ضخیم اند و میوه سته کروی، شفاف، بی رنگ و چسبناک است. همچنین باید متذکر شد *V. album* پراکنش وسیعی در ایران

دارد در صورتی که *V. laxum* تنها در جنگل های مازندران و بندر گز پراکنش دارد. قابل ذکر است تفاوت دیگری که در درختان مشاهده می شود عدم وجود *A. oxycedri* در آنالیز trnL-F می باشد که علت آن، حذف ژن کد کننده trnL-F در نمونه های دنیای قدیم *Arceuthobium* می باشد که *A. oxycedri* متعلق به دنیای قدیم می باشد. این نتیجه با نتایجی که توسط Nickrent و همکارانش (2004) بدست آمد کاملاً مطابقت دارد و این روش می تواند یکی از راه های شناسایی این گونه نسبت به گونه های دیگر *Arceuthobium* باشد. از آنجا که در درخت بیشینه احتمال، طول هر شاخه میزان سرعت تکاملی آن تاکسون را نشان می دهد، در آنالیز توالی trnL-F، *Misodendrum* از تیره *Misodendraceae* اولین تیره ای بود که متحمل تکامل سریع شد در حالیکه در درخت *Arceuthobium* ITS از تیره *Viscaceae*، بیشترین سرعت تکاملی را نشان می دهد (شکل ۴-۴).

زیرگونه *Viscum* در نظر گرفته می شوند، که با مطالعات پسین (Nagl and Stein, 1989) مطابقت می کند. در حالیکه در درخت بدست آمده از *V. album* و *V. laxum* با حمایت ۹۹٪ بایکدیگر خواهرنند و *V. album* spp. *abietis* با حمایت ۱۰۰٪ خواهر این دو گونه می باشد و *V. cruciatum* با حمایت ۱۰۰٪ خواهر متوالی این سه گونه می باشد. این نتیجه بدست آمده نشان می دهد که این سه تاکسون بهتر است به عنوان سه گونه مجزا برای *Viscum* در نظر گرفته شوند و این نظریه با آخرین مطالعات صورت گرفته بر روی ایزوآنزیم های این سه گونه (Mejnartowicz, 2006) مطابقت دارد. همچنین تفاوت های ریخت شناسی این سه نمونه گیاهی می تواند از علل بعدی جداسازی این گونه ها به صورت مستقل باشند. از صفات تمایزی *V. laxum* می توان اشاره کرد به انشعابات ساقه به صورت نیمه دو شاخه ای، وجود فلس هایی در محل انشعاب ساقه ها، برگ ها بلند و باریک و میوه از نوع سته زرد رنگ تخم مرغی شکل است، در حالی که انشعابات ساقه در *V. album* دو شاخه ای است و در محل انشعابات ساقه فلس وجود ندارد، برگ ها دراز و پهن،



شکل شماره ۴-۴. درخت فیلوژنی حاصل از آنالیز توالی‌های بین ژنی A. *trnL-F* و B. *ITS* با استفاده از روش بیشینه احتمال. اعداد بالای شاخه‌ها، ارزش حمایت Bootstrap را نشان می‌دهند. فلش‌ها، نمونه‌های ایرانی مورد مطالعه را نشان می‌دهند.

سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله بدین وسیله کمال تشکر و قدر دانی خود را از ریاست محترم مرکز تحقیقات جنگلداری و مراتع تهران و همچنین کارکنان آن مرکز، ریاست محترم موسسه تحقیقات اصفهان، کارکنان موسسه تحقیقاتی

کرمان و ریاست محترم موسسه تحقیقات سمنان و کارکنان آن مرکز که در به ثمر رساندن این پژوهش بسیار همکاری نموده‌اند، اعلام می‌دارند. همچنین از جناب آقای مهندس طاهریان به واسطه همیاری در انجام نمونه برداری کمال تشکر را دارند.

REFERENCE

- APGIII. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Bot. J. Linn. Soc. 161: 105-121.
- Barlow, B.A. (1964). Classification of the Loranthaceae and Viscaceae. Proc. Linn. Soc. N. S. W. 89: 268-272.
- Barlow, B.A. (1983). Biogeography of Loranthaceae and Viscaceae. Pp. 19-45. in: D.M. Calder and P. Bernhardt (eds). The biology of mistletoes, Academic Press. New York
- Barlow, B.A. and Wiens, D. (1971). The cytogeography of the loranthaceous mistletoes. Taxon. 20: 291-312.
- Beyer, C., Forstreuter, W. and Weber, H.C. (1989). Anatomical studies of haustorium ontogeny and remarkable mode of penetration of the haustorium in *Nuytsia floribunda* (Labill.) R. Br. Bot. Acta. 102(3): 229-235.
- Bhandari, N.N. and Vohra, S.C.A. (1983). Embryology and Affinities of Viscaceae. Pp. 69-86. in: M. Calder and P. Bernhardt (eds). The biology of mistletoes, Academic Press New York.
- Calladine, A. and Pate, J.S. (2000). Haustorial structure and functioning of the root hemiparasitic tree *Nuytsia floribunda* (Labill.) R. Br. and water relationships with its hosts. Ann. Bot. (London). 85: 723-732.
- Der, J.P. and Nickrent, D.L. (2008). A molecular phylogeny of Santalaceae (Santalales). Syst. Bot. 33: 107-116.
- Dixit, S.N. (1962). Rank of the subfamilies Loranthoideae and Viscoideae. Bot. Surv. India Bull. 4: 49-55.
- Doyle J.J. and Doyle J.L. (1987). A rapid DNA isolation of fresh leaf tissue. Phytochemistry bulletin. 19: 11-15.
- Eichler, A. G. (1868). Loranthaceae. Pp. 1-136. in: C. F. P. Martius, A. W. Eichler and I. Urban (eds). Flora brasiliensis, vol. 5(2), Leipzig. München.
- Engler, A. (1889). Loranthaceae. Pp. 98-203. in: Die Natürlichen Pflanzenfamilien, vol. 16, Leipzig: Wilhen Engelmann.
- Engler, A. and Krause, K. (1935). Loranthaceae. Pp. 98-203. in: A. Engler and K. Prantl (eds). Die natürlichen Pflanzenfamilien, vol. 16b, Leipzig. Engelmann.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution. 39: 783-791.
- Gielly, L. and Taberlet, p. (1994). The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: noncoding versus rbcL sequences. Mol. Biol. Evol. 11: 769-777.
- Katoh, k. (2006). MAFFT: multiple sequence alignment program. Website <http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/index.html>

- Huaxing, Q. and Gilbert, M.G. (2003). Loranthaceae. Flora of China 5: 220-239.
- Johri, B.M. and Bhatnagar, S.P. (1960). Embryology and taxonomy of the Santalales I. Proc. Natl. Inst. Sci. India, B. 26: 199-220.
- Kuijt, J. (1969). The biology of parasitic flowering plants. Univ. of California Press, Berkeley.
- Maddison, D.R. and Maddison, W.P. (2007). Mesquite: A modular system for evolutionary analysis, version 2.01. Website <http://mesquiteproject.org>.
- Malécot, V. and Nickrent, D.L. (2008), Molecular phylogenetic relationships of Olacaceae and related Santalales. Syst. Bot. 33: 97-106.
- Mejnartowicz, L. (2006). Relationship and genetic diversity of Mistletoe (*Viscum album* L.) subspecies. Acta Soc. Bot. poloniae. 75(1): 39-49.
- Nagl, W. and Stein, B. (1989). DNA characterization in host specific *Viscum album* subspecies (Viscaceae). Pl. Syst. Evol. 166: 243-248.
- Nickrent, D.L. and Duff, R.J. (1996). Molecular studies of parasitic plants using ribosomal RNA. Pp. 28-52. in: M. T. Moreno, J. I. Cubero, D. Berner, D. Joel, L. J. Musselman and C. Parker (eds). Advances in parasitic plant research. Junta de Andalucía, Dirección General de Investigación Agraria, Cordoba.
- Nickrent, D.L., Duff, R.J., Colwell, A.E., Wolfe, A.D., Young, N.D., Steiner, K.E. and Pamphilis, C.W. (1998). Molecular phylogenetic and evolutionary studies of parasitic plants. Pp. 211-241. in: D. E. Soltis, P. S. Soltis and J. J. Doyle (eds). Molecular systematics of plants II: DNA sequencing, 2nd ed., Kluwer Academic Publishers, Boston
- Nickrent, D.L., García, M.A., Martín, M.P. and Mathiasen, R.L. (2004). A phylogeny of all species of *Arceuthobium* (Viscaceae) using nuclear and chloroplast DNA sequences. Am. J. Bot. 91:125-138.
- Nickrent, D.L. and Malécot, V. (2001). A molecular phylogeny of Santalales. Pp. 69-74. in: A. Fer, P. Thalouarn, D. M. Joel, L. J. Musselman, C. Parker and J. A. C. Verkleij (eds). 7th International Parasitic Weed Symposium: Proceedings. Nantes: Faculté des Sciences, Université de Nantes.
- Nickrent, D.L., Malécot, V., Vidal-Russell, R. and Der, J.P. (2010). A revised classification of Santalales. Taxon. 59(2): 538-558.
- Nickrent, D.L. and Soltis, D.E. (1995). A comparison of angiosperm phylogenies based upon complete 18S rDNA and *rbcl* sequences. Ann. Missouri Bot. Gard. 82: 208-234.
- Page, R.D.M. 1996, Tree View: An application to display phylogenetic trees on personal computers. Comput. Appl. in Biosci. 12: 357-358.
- Polhill, R. and Wiens, D. (1998). Mistletoes of Africa. Royal Botanic Gardens, Kew.

- Posada, D. and Buckley, T. (2004). Model selection and Model averaging in Phylogenetics: Advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over Likelihood ratio rates. *Syst. Biol.* 53: 793-808.
- Raven, P.H. and Axelrod, D.I. (1974). Angiosperm biogeography and past continental movements. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 61: 539-673.
- Rizzini, C.T. (1982). Loranthaceae. Pp. 7-316. in: Z. F. Luces and J. A. Steyermark (eds). *Flora de Venezuela*, vol. 4(2).
- Ronquist, F. and Huelsenbeck, J.P. (2003). Mrbayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics.* 19: 1-210.
- Swofford, D.L. (2002). PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods). Version 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G. and Bouvet J. (1991). Universal Primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* 17: 1105-1109.
- Vidal-Russell, R. and Nickrent, D.L. (2008). Evolutionary relationships in the showy mistletoe family (Loranthaceae). *Am. J. Bot.* 95(8): 1015-1029.
- Wilson, C.A. and Calvin, C.L. (2006). Character divergences and convergences in canopy dwelling Loranthaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 150: 101-114.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322. in: M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky and T. White (eds). *PCR protocols: a guide to methods and applications*, Academic Press, San Diego, California, USA.