

مطالعه سطح پلوئیدی پنج گونه درمنه (*Artemisia*) در شمال ایران

مینا ربیعی^۱، عادل جلیلی^۲ و عباس قمری زارع^۳

چکیده

گیاه درمنه (*Artemisia* spp.) از تیره Asteraceae با حدود ۳۴ گونه در ایران یکی از با اهمیت‌ترین جنسهای گیاهی می‌باشد. گسترش گونه‌های جنس درمنه و تعدد و شباهت نزدیک گونه‌ها به هم مشکلاتی را در شناخت آنها پیش می‌آورد. این جنس گونه‌های متنوعی دارد، به طوری که در پستترین نقاط ایران یعنی حاشیه دریای خزر تا ارتفاعات بالای کوههای جبال بارز (۴۰۰۰ متر) گسترش داشته و رشد می‌یابند. در این مطالعه، *A. scoparia* Waldst & Kit *A. annua* L. (*A. absinthium* L. *A. vulgaris* L. *A. spicigera* C. Koch) مختلف شمال ایران شمارش شد. عدد کروموزومی پایه در این پنج گونه $x=8$ و $x=9$ می‌باشد. *A. annua*: $2n=2x=18$ *A. vulgaris*: $2n=2x=16$ *A. spicigera*: $2n=4x=36$ *A. scoparia*: $2n=2x=16$ *A. absinthium*: $2n=2x=18$

واژه‌های کلیدی: سطح پلوئیدی، خصوصیات سیتولوژیکی، *A. scoparia* *A. annua* *A. absinthium* *A. vulgaris* *A. spicigera*

۱- دانشجوی دکتری دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران.

۲- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلهای و مراتع، تهران، صندوق پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵.

مقدمه

در ایران حدود ۳۴ گونه از جنس درمنه *Artemisia* وجود دارد که در نواحی جغرافیایی و اکولوژیکی متنوعی انتشار دارند. این گونه‌ها از خشکترین کویرهای مرکزی تا مرطوبترین نقاط آن در شیوهای شمالی البرز و از پستترین مناطق یعنی حاشیه دریای خزر تا ارتفاعات کوههای جبال بارز گسترش دارند. گسترش گونه‌های جنس درمنه، تعدد و شباهت نزدیک گونه‌ها به هم مشکلاتی را در شناخت آنها پیش می‌آورد. این جنس گونه‌های متنوعی دارد. بر اساس آخرین اطلاعات موجود حدود ۴۰۰ گونه برای این جنس در جهان معرفی شده که پراکنش جغرافیایی آنها در اروپا، آسیا، شمال آمریکا و جنوب آفریقا می‌باشد. البته رویشگاه اصلی و بیشترین تعداد گونه آن در آسیا معرفی شده است (Hamphries و Heywood, ۱۹۷۷ و Zohary و Feindbrum, ۱۹۸۶).

ویژگیهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان که تحت کنترل صفات سیتوولوژیکی و شرایط محیطی قرار دارند، انتشار و استقرار گونه‌های گیاهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. به طور معمول هیبریدهای بین گونه‌ای و بین جنسی با تجمع صفات والدین، امکان سازگاری بیشتری به تنوع اقلیمی دارند (Humphreys, ۱۹۹۶ و Ghamari Zare, ۱۹۹۶). تنوع در سازگاری به شرایط مختلف اقلیمی، امکان توسعه پراکنش را فراهم می‌نماید که این خاصیت به طور وسیعی در گونه‌های درمنه حاکی از گستردگی رویشگاههای مطالعه عوامل اکولوژیک حاکم بر رویشگاههای درمنه حاکی از گستردگی رویشگاههای اکثر گونه‌ها به دلیل سازگاری با شرایط اقلیمی، خصوصیات خاکی و سایر شرایط محیطی مختلف می‌باشد. دلایل سازگاری گونه‌های درمنه، وجود سیستم ریشه‌ای خاص می‌باشد. در این گیاهان قطر ریشه اصلی بالغ بر ۲ سانتیمتر در عمق ۱/۵ متری خاک است و ریشه‌های افقی جانبی در عمقهای مختلف جهت استفاده از رطوبت لایه‌های سطحی و عمقی خاک گسترش می‌یابند. علاوه بر این کاهش فصلی قسمتهای

سبز گیاه باعث کاهش میزان تعرق می‌گردد. این گیاهان با ریزش تدریجی برگهای درشت بهاری در طول تابستان و رشد برگهای کوچک تابستانی به جای آنها به شرایط دشوار محیطی عکس العمل نشان می‌دهند. درمنه‌ها بخش عمده انرژی خود را صرف تولید مثل جنسی می‌کنند، به طوری که قادرند دهها میلیون بذر در هکتار تولید نمایند. ادامه فرایند رسیدن بذر بعد از انتشار آن در پاییز و افزایش قوه نامیه تا اوایل بهار سال بعد، حفظ قوه نامیه در محیط خشک به مدت طولانی و انتشار گسترده آنها از عوامل دیگری است که موجب سازگاری این گیاهان با محیط‌های نامساعد شده است. نیاز به حداقل بارندگی جهت بقا و ادامه رشد و مقاومت اکثر گونه‌های این جنس به چرای دام موجب استقرار آنها در شرایط خشک شده است. گونه‌های درمنه به دلیل شکل رویشی بوته‌ای نیمه خشبي به عنوان مانع در مقابل جریانهای سطحی آب (هرزاب) عمل کرده و از فرسایش خاک و هدر رفتن آبهای سطحی جلوگیری می‌کنند.

درمنه‌ها از دوران گذشته در طب سنتی دارای اهمیت و مصارف گوناگون در سطح دنیا بوده‌اند. از نظر حفظ مراعع و آبخیزها درمنه‌ها دارای ارزش فوق العاده‌ای هستند. به خصوص که اکثر گونه‌های آن دائمی و چندساله بوده، دارای شکلهای رویشی پشتہ‌ای و گسترده روی زمین هستند و روی خاکهای فقیر و عاری از مواد آلی می‌رویند. اکثر شیوه‌ای تند و دامنه‌های کوهستانی و دشتی‌ای با خاکهای سنگین و شور تحت پوشش این گیاهان هستند. از لحاظ تثیت تپه‌های شنی، احیا شوره‌زارها و مناطق دارای خاکهای آهکی، تولید علوفه، تولید اسانس و مواد معطر نیز درمنه‌ها دارای قابلیت بالایی هستند (ربیعی، ۱۳۸۰).

در این مطالعه تعداد کروموزومهای پنج گونه درمنه (*A. scoparia* *A. annua*) و (*A. absinthium* *A. vulgaris* *A. spicigera*) بررسی شد.

مواد و روشها

جهت شمارش تعداد کروموزومهای سوماتیکی پنج گونه درمنه شامل گونه‌های شمال ایران (استانهای گیلان و گلستان) جمع‌آوری شدند و سلولهای متافازی مربیستمی انتهای ریشه آنها مورد بررسی قرار گرفت. بذرهای گونه‌های مورد مطالعه پس از ضدغونی شدن، درون پتی دیش کشت شده و در ژرمنیاتور (دماه ۲۲/۵ درجه سانتیگراد) قرار گرفت. چون در گیاهان زمان برداشت مربیستم ریشه در میزان تقسیم سلولی موجود موثر است و سلولهای زیادی در مرحله متافاز لازم می‌باشد، لذا زمانهای متعددی مورد آزمایش قرار گرفت که در مورد گونه‌های تحت بررسی، ساعات اولیه صبح (۹-۱۱) مناسبترین زمان برای متوقف کردن تقسیمات سلولی شناخته شد.

در این آزمایشها از ۲ نوع پیش‌تیمار محلول آلفا برومونفتالین (به مدت ۵-۴ ساعت) و مخلوط آب و یخ (به مدت ۴۸-۲۴ ساعت) استفاده شد. در مرحله بعد جهت فیکس کردن ریشه‌ها، از مخلوط اسید استیک و الكل اتیلیک خالص (به نسبت ۳ الكل و ۱ اسید) به مدت ۲۴ ساعت استفاده و سپس در الكل اتیلیک ۷۰ درصد برای همیشه ثابت و در یخچال نگهداری شدند. برای نرم و له نمودن ریشه‌چه‌ها و رنگ‌آمیزی بهتر آنها، ریشه‌چه‌ها با استفاده از اسید کلریدریک ۱ نرمال به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه و درون حمام آب گرم با دماه ۶۰ درجه سانتیگراد هیدرولیز شدند.

در مرحله بعد، پس از جدا نمودن قسمت انتهایی مربیستم ریشه‌چه توسط اسکالپل، با ریختن یک قطره رنگ استواورسین و قرار دادن لامل روی آن پس از ۲۰ دقیقه نمونه‌ها رنگ‌آمیزی شدند. سپس با فشار دست و ضربه ته خودکار، سلولها از هم جدا و تعداد کروموزومها در زیر میکروسکوپ شمارش گردید.

نتایج

در این تحقیق تعداد کروموزومهای سه گونه *A. annua* و *A. scoparia* از استان گیلان و ۲ گونه *A. vulgaris* و *A. absinthium* و *A. spicigera* از استان گلستان بر اساس شمارش حداقل پنج سلول با تعداد کروموزومهای مساوی تعیین گردید (جدول شماره ۱ و شکلهای شماره ۱ الی ۵). جهت مقایسه تعداد کروموزومهای گونه‌های مذکور در ایران و سایر نقاط دنیا خلاصه‌ای از نتایج تحقیقات محققان مختلف در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

بحث

براساس مطالعات انجام شده در سال ۱۹۷۲، معمولترین عدد پایه کروموزومی در قبیله *Anthemideae* $x=9$ می‌باشد، ولی $17, 13, 10, 8$ هم مشاهده شده است. در این قبیله حالت دیسپلوبئیدی (Disploidy) نیز با فراوانی کم مشاهده می‌گردد. بهترین نمونه‌های وراثت دیسپلوبئیدی در جنس درمنه با عدد پایه $x=9$ و 8 دیده شده است ($2002, Wright$). پلی‌پلوئیدی که به عنوان یکی از مکانیسمهای اصلی تکامل شناخته شده، به طور خیلی وسیع در قبیله *Anthemideae* و به ویژه در جنس *Artemisia* مشاهده می‌شود (*Oliva and valles, 1993*). در جنس درمنه تعداد کروموزومهای دیپلوبئید از ۱۴ تا ۱۱۰ متغیر می‌باشد (*Heywood and Hamphries, 1977*).

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان می‌دهد که عدد کروموزومی پایه این پنج گونه $n=9$ و $n=8$ می‌باشد. این اختلاف حتی در بین جمعیتهای داخل یک گونه در مورد گیاه *A. vulgaris* گزارش شده است (جدول شماره ۲). البته مطالعات بیشتری لازم است تا مشخص گردد آیا به واقع جمعیتهای مورد مطالعه متعلق به گونه *A. vulgaris* بوده‌اند یا اینکه اشتباه در شناسایی آنها بوده و یا عوامل طبیعی و جهش باعث ۲ تا ۳ برابر شدن کروموزومها شده است.

مطالعات نشان می‌دهد که عدد کروموزومی هر دو گونه دیپلوبloid *A. annua* و *A. absinthium* ثابت و برابر $2n=2x=18$ می‌باشد (جداول شماره ۱ و ۲ و شکلهای شماره ۱ و ۵). این نتایج میان عدم تاثیر شرایط اقلیمی و ارتفاع در سطح پلوئیدی این دو گونه می‌باشد که می‌تواند نشانه ثبات ژنتیکی در سطح ژنوم باشد. این ثبات می‌تواند گونه‌زایی و ایجاد تنوع در ژرم پلاسم را کند نماید.

تعداد کروموزومهای جمعیتهای جمع‌آوری شده از گونه *A. scoparia* و *A. vulgaris* برابر $2n=2x=16$ کروموزوم و دیپلوبloid بودند (جدول شماره ۱ و شکلهای شماره ۲ و ۴). این تعداد کروموزوم توسط سایر محققان نیز تأیید شده است (امین‌زاده و همکاران، ۱۳۷۹، Bakshi و Kaul، ۱۹۸۴ و Kawatani، ۱۹۸۴ و Ohno، ۱۹۸۶ و Mendelak، ۱۹۸۶ و Schweizer، ۱۹۸۶ و Ehrendorfer و Schwizer، ۱۹۸۳). عدد کروموزومی $2n=4x=36$ نیز در گونه *A. scoparia* گزارش گردیده است (Kuzmanov، ۱۹۸۳). در گونه *A. vulgaris* علاوه بر جمعیت دیپلوبloid با تعداد کروموزوم $2n=2x=18$ (Gupta و Clausen، ۱۹۸۳) و همکاران، (Bakshi و Kaul، ۱۹۸۴)، جمعیتهای تراپلوبloid $2n=4x=36$ و هگزاپلوبloid $2n=6x=54$ (Clausen و همکاران، ۱۹۸۳) نیز گزارش شده است. همچنین جمعیتهای مورد مطالعه گونه *A. spicigera* تراپلوبloid و دارای $2n=4x=36$ کروموزوم بودند (جداول شماره ۱ و ۲ و شکل شماره ۳).

در این مطالعه با توجه به امکانات در دسترس تنها تعداد کروموزومها مورد بررسی قرار گرفت. همچنین بر اساس آزمایش‌های انجام شده، استفاده از پیش تیمار مخلوط آب و یخ برای گونه‌های مورد مطالعه مورد تأیید قرار گرفت و چون از لحاظ اقتصادی استفاده از این پیش تیمار مقرر به صرفه بوده و تعداد کروموزوم در حال تقسیم بیشتری از این روش به دست آمد، جهت انجام آزمایش‌های مشابه پیشنهاد می‌گردد.

جدول شماره ۱ - تعداد کروموزومهای گونه‌های *Artemisia* مورد مطالعه در ارتفاعات مختلف استانهای گیلان و گلستان

نام گونه	محل جمع آوری	ارتفاع از سطح دریا (متر)	تعداد کروموزومها
<i>A. annua</i>	کپورچال	-۲۰	$2n = 2x = 18$
<i>A. annua</i>	لاهیجان	۲۰	$2n = 2x = 18$
<i>A. annua</i>	راسمر	۵۰	$2n = 2x = 18$
<i>A. annua</i>	اسالم	۵۰	$2n = 2x = 18$
<i>A. annua</i>	تمیجان (رودرس)	۷۰	$2n = 2x = 18$
<i>A. scoparia</i>	رسنم آباد	۲۶۰	$2n = 2x = 16$
<i>A. scoparia</i>	عمارلو	۳۲۰	$2n = 2x = 16$
<i>A. spicigera</i>	مایکروویو (رودبار)	۵۳۰	$2n = 4x = 36$
<i>A. spicigera</i>	جوبن (رودبار)	۲۸۰	$2n = 4x = 36$
<i>A. vulgaris</i>	تنگه گل (جنگل گلستان)	۷۰۰	$2n = 2x = 16$
<i>A. absinthium</i>	تنگه گل (جنگل گلستان)	۷۵۰	$2n = 2x = 18$

جدول شماره ۲ - تعداد کروموزومهای گونه‌های *Artemisia* مورد مطالعه در تحقیقات سایر پژوهشگران

نام گونه	تعداد کروموزومها	منع
<i>A. annua</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۹۳) Derakhshandeh, Tavassoli
<i>A. annua</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۴۹) Polya
<i>A. annua</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۵۰) Susuka
<i>A. annua</i>	$2 = 2x = 18$	(۱۹۷۲) Masumori
<i>A. annua</i>	$2n = 2x = 18$	امین زاده و همکاران (۱۳۷۹)
<i>A. annua</i>	$2n = 4x = 36$	امین زاده و همکاران (۱۹۸۲) Bennet
<i>A. scoparia</i>	$2n = 2x = 16$	(۱۹۹۳) Derakhshandeh, Tavassoli
<i>A. scoparia</i>	$2n = 2x = 16$	(۱۹۶۴) Ohno, Kawatani
<i>A. scoparia</i>	$2n = 4x = 36$	(۱۹۶۴) Ohno, Kawatani
<i>A. scoparia</i>	$2n = 2x = 16$	(۱۹۸۳) Ehrendorfer, Schweizer
<i>A. scoparia</i>	$2n = 2x = 16$	(۱۹۸۴) Bakshi, Kaul
<i>A. scoparia</i>	$2n = 2x = 16$	(۱۹۸۱) Schweizer, Mendelak
<i>A. scoparia</i>	$2n = 2x = 16$	و همکاران (۱۹۸۶)
<i>A. scoparia</i>	$2n = 2x = 18$	امین زاده و همکاران (۱۳۷۹)
<i>A. spicigera</i>	$2n = 4x = 36$	امین زاده و همکاران (۱۳۷۹)
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 2x = 16$	(۱۹۹۳) Derakhshandeh, Tavassoli
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 2x = 18$	و همکاران (۱۹۸۳)
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 4x = 36$	و همکاران (۱۹۸۳)
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 6x = 54$	و همکاران (۱۹۸۳)
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 2x = 16$	(۱۹۴۹) Polya
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 2x = 16$	(۱۹۶۴) Ohno, Kawatani
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 2x = 16$	(۱۹۸۴) Bakshi, Kaul
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۸۴) Bakshi, Kaul
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 2x = 16$	و همکاران (۱۹۸۶)
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۸۷) Gray, Gupta
<i>A. vulgaris</i>	$2n = 2x = 16$	امین زاده و همکاران (۱۳۷۹)
<i>A. absinthium</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۹۳) Derakhshandeh, Tavassoli
<i>A. absinthium</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۶۴) Ohno, Kawatani
<i>A. absinthium</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۵۰) Susuka
<i>A. absinthium</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۴۹) Polya
<i>A. absinthium</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۸۴) Bakshi, Kaul
<i>A. absinthium</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۸۶) Schweizer, Mendelak
<i>A. absinthium</i>	$2n = 2x = 18$	و همکاران Verlaque (۱۹۸۷)
<i>A. absinthium</i>	$2n = 2x = 18$	(۱۹۹۷) Murin
<i>A. absinthium</i>	$2n = 2x = 18$	امین زاده و همکاران (۱۳۷۹)



شکل شماره ۱ - کروموزومهای گونه *A. annua* ($2n=2x=18$)



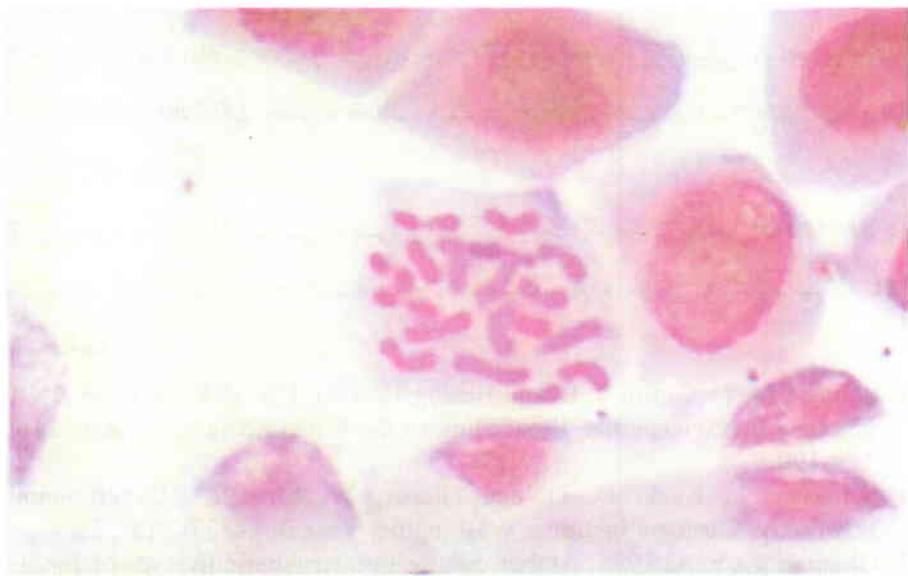
شکل شماره ۲ - کروموزومهای گونه *A. scoparia* ($2n=2x=16$)



شکل شماره ۳ - کروموزومهای گونه *A. spicigera* ($2n=2x=36$)



شکل شماره ۴ - کروموزومهای گونه *A. vulgaris* ($2n=2x=16$)



شکل شماره ۵ - کروموزومهای گونه ($2n=2x=18$) *A. absinthium*

سپاسگزاری

بدینوسیله از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراعع به دلیل فراهم نمودن امکانات لازم برای این پژوهش و همچنین از آقایان دکتر یونس عصری و مهندس بهنام حمزه جهت همکاری در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- امین زاده، ز.، آقایی، ی. و ظریفی، ع. ۱۳۷۹. مطالعه کاریولوژیکی گونه‌های جنس درمنه (*Artemisia*). چکیده مقالات ششمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، دانشگاه مازندران - بابلسر.
- ربیعی، م.، ۱۳۸۰. بررسی خصوصیات اکولوژیک گونه‌های جنس *Artemisia* در استان گیلان. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۱۴۴ صفحه.
- 3- Bennett, M. D., Smith, J. B. and Heslop-Harrison, J. S. 1982. Nuclear DNA amounts in angiosperms. Proceeding of the Royal Society, London, 216: 179-199.
- 4- Clausen, J., Keck, D. D. and Hiesey, W. M. 1983. Experimental taxonomy. Carnegie Institute, Washington, Year Book, 37: 218-222.
- 5- Ghamari Zare, A. 1996. Anther culture in intergeneric hybrids of forage grasses. Ph.D. Thesis, The University of Liverpool, UK, 320 p.
- 6- Gupta, R. C. and Gray, P. K. 1987. Index to Plant Chromosome numbers. 1986-1987. Missouri Botanical Garden, U.S.A.
- 7- Heywood, V. H. and Hamphries , C. J. 1977. Anthemideae - Systematic Review. In: Heywood, V. H., Harborne, J. B. and Turner, B. L. (eds.), The Biology and Chemistry of the Compositae. vol. 2. Academic Press, London. PP. 852-888.
- 8- Humphreys, M. W., Thomas, H. M., Morgan, W. G., Meredith, M. R., Harper, J. A., Thomas, H., Zwierzykowski, Z. and Ghesquiere, M. 1994. Discriminating the ancestral progenitors of hexaploid *Festuca arundinaceae* using gonomic in situ hybridization. Heredity, 75: 171-174.
- 9- Kaul, M.K. and Bakshi, S. K. 1984. Studies on the genus *Artemisia* L. in north-west Himalaya with particular references to Kashmir. Folia Geobotanica et Phytotaxonomica, 19: 299 -316.
- 10- Kawatani, T. and Ohno, T. 1964. Chromosome numbers in *Artemisia*. Bull. Natural. Inst. Hygienic Science., 82: 183-193.
- 11- Kuzmanov, B. A., Georgieva, S. B. and Nikolova, V. A. 1986. Chromosome numbers of Bulgarian flowering plants. vol. I: Asteraceae . Fitologija (Sofia), 31: 71-74.
- 12- Masumori, S. 1972. On the karyotype of *Artemisia annua*. Bulletin of the Faculty of Education (Yamaguchi University), 22 (2): 35 -38.

- 13- Mendelak, M. and Schwizer, D. 1986. Giemsa c-bonded karyotypes of some diploid *Artemisia* species. Plant Systematics and Evolution, 152: 195-210.
- 14- Murin, A. 1997. Karyotaxonomy of some medicinal and aromatic plants. *Thaiszia - Journal of Botany*, 7: 75-88.
- 15- Oliva, M., and Valles, J. 1993. Karyological studies in some taxa of the genus *Artemisia* (Asteraceae). *Canadian Journal of Botany*, 72: 1126-1135.
- 16- Polya, L. 1949. Chromosome numbers of some Hungarian plants. *Acta Geobot. Hungarica*, 6(2): 124-137.
- 17- Schweizer, D. and Ehrendorfer, F. 1983. Evolution of c-band pattern in Asteraceae-Anthemideae. *Biol. Zbl.*, 102: 637-655.
- 18- Susuka, O. 1950. Chromosome numbers in the genus *Artemisia* L. *Japanese Journal of Genetics*, 25: 17-18.
- 19- Tavassoli, A., and Derakhshandeh, P. 1993. Chromosome numbers of some *Artemisia* L. species from Iran. *The Iranian Journal of Botany*, vol. 6(1): 169-175.
- 20- Verlaque, R., Seidenbinder, M. and Donadille, P. 1987. Recherches cytotoxonomiques sur la speciation en region Mediterraneenne. vol. I: Espèces à nombre chromosomique stable, *Biology and Ecology Medit.*, 10: 273-289.
- 21- Wright, C. W. (ed.) 2002. *Artemisia*. Taylor and Francis Inc., New York. 344P.
- 22- Zohary, M. and Feindbrum, D. 1986. *Flora Palaestina*, vol. 3. The Jerusalem Academic Press, Israel.

