Research Article

Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research DOI: 10.22092/IJRFPBGR.2023.361041.1431
Vol. 31, No. 1, Page 1-18 (2023) DOR: 20.1001.1.17350891.1402.31.1.1.2

Study of some *Artemisia* L. species based on ecological, micro-morphological, and molecular evidence in rangelands of Golestan province, Iran

N. Tavakkoli Dashliboroon[1], A. Tahmasebi[2*], M. Mohammad Esmaeili[3] and F. Nasrollahi[4]

1-M.Sc. Graduate, Dep. Range and Watershed Management, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, I.R. Iran
2*- Corresponding Author, Assist. Prof. Dept. Range and Watershed Management, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, I.R. Iran, Email: ab_tahmasebi@gonbad.ac.ir.
3- Assoc. prof., Dept. Range and Watershed Management, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, I.R. Iran
4- Ph.D. Graduate, Dept. Biology, Faculty of Sciences, University of Qom, Qom, I.R. Iran

Received: 31.12.2022 Accepted: 19.03.2023

Extended Abstract

Background and objectives:

A study of indicator species to manage rangeland ecosystems and preserve the vegetation of natural areas in dry regions is necessary. The knowledge of the ecological requirements of the range species is important for planning and managing plant communities and protecting and exploiting their ecosystems. Golestan province, with its particular geographical position, is the habitat of many plant species. By identifying the factors affecting the growth and adaptation of these species, it is possible to avoid spending money and wasting time planning to improve and restore pastures. One of the valuable genera that grow in rangelands is *Artemisia* L., which is distributed in arid and semi-arid regions of the country and plays an essential role in soil protection, fodder supply for livestock and medicinal value.

Methodology:

In this study, 12 populations of four species of the genus Artemisia in the rangeland area in the north of Gonbad Kavos in Golestan province, Iran, were studied based on ecological, micro-morphological, and molecular evidence. The ecological studies were carried out using climate data and soil characteristics of the species' habitat. Also, the morphology of the species' pollen grain was investigated using a scanning electron microscope (SEM). The molecular relationships of four species *(A. annua, A. sieberi, A. aucheri, and A. fragrans*) were investigated using nuclear nrDNA ITS and chloroplast rpl32-trnL(UAG) sequences and their combinations.

Results:

The results of the ecological studies showed that many of the Artemisia species were grown in dry climates and in silty and silty loam soils. EC measurements indicated that the soils of area were saline and had poor organic matter. According to the results, many pollen grains of the species were medium-sized and tricolporate. In all studied species, according to the P/E ratio, the outline of the pollen grains, those seen in the polar view were circular, triangular, and equatorial with an elliptical outline and their exine decorations were echinate. The results of molecular studies indicated that all the species formed a monophyletic group with high support (PP=1.00, ML BS=100, MP BS=100). The combined analysis of data showed more supported relationships than the analyses of a part. The results of the cluster tree showed two separate clades. The annual species *A. annua* was placed in clade 1 and the rest of the studied species with high support (PP=0.88, ML BS=90, MP BS=94) were placed in clude 2.

Conclusion:

The results of current research showed that the ecological, micro-morphological characteristics

and molecular data were useful in the distinction between the Artemisia species. Such a study allows us to select suitable and adapted genes for the environment and transfer them to the crop species to produce stress-tolerant cultivars. Artemisia is widely distributed in Iran due to its ecological adaptation and high adaptation intensity in natural conditions. Unfortunately, the change in land use and the transformation of natural areas into agricultural lands have caused to shrink the steppic areas and led to limitation of the species formation and diversity. Examining the kinship relationships between species and the evolution of traits can be used to determine the probability of success in interspecies crosses. Therefore, the obtained information can help maintain and balance the Artemisia habitat.

Keywords: Ecology, pollen grain, Artemisia, rangeland, molecular studies.

مطالعه برخی از گونه‌های جنس درمنه (*Artemisia* L.) با تکیه بر شواهد بوم‌شناختی، ریزریخت‌شناسی و مولکولی در مراتع استان گلستان

نظر توکلی داشلی برون[۱]، ابوالفضل طهماسبی[۲*]، مجید محمداسمعیلی[۳] و فاطمه نصراللهی[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

۲*- نویسنده و مسئول مکاتبات، استادیار، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

پست‌الکترونیک: ab_tahmasebi@gonbad.ac.ir

۳- دانشیار، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

۴- دانش‌آموخته دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۸

چکیده

سابقه و هدف: به‌منظور مدیریت اکوسیستم‌های مرتعی و حفظ پوشش گیاهی عرصه‌های طبیعی مناطق خشک، مطالعه گونه‌های شاخص ضروریست. دانش نیازهای اکولوژیک گونه‌های مرتعی برای برنامه‌ریزی و مدیریت جوامع گیاهی و حفاظت و بهره‌برداری از اکوسیستم‌های آن حائز اهمیت است. استان گلستان با جایگاه جغرافیایی ویژه خود، رویشگاه بسیاری از گونه‌هاست که در صورت شناخت عوامل مؤثر بر رشد این گونه‌ها و سازگاری آنها، می‌توان از صرف هزینه و اتلاف زمان در برنامه‌ریزی برای اصلاح و احیاء مراتع جلوگیری کرد. یکی از سرده‌های با ارزش مرتعی *Artemisia* L. است که در مناطق خشک و نیمه‌خشک پراکنش دارد و از نظر حفاظت خاک، تأمین علوفه احشام و ارزش دارویی نقش مهمی ایفا می‌کند.

مواد و روش‌ها: در این بررسی، ۱۲ جمعیت از چهار گونه از جنس درمنه (*Artemisia*) در ایران در محدوده مراتع شمال شهرستان گنبد کاووس در استان گلستان بر اساس شواهد بوم‌شناختی، ریزریخت‌شناسی و مولکولی مطالعه گردید. مطالعات بوم‌شناسی بر اساس مشخصات اقلیمی و خاک رویشگاه گونه‌های جنس درمنه در مراتع استان گلستان انجام شد. ریخت‌شناسی دانه گرده گونه‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) بررسی شد. بررسی روابط مولکولی چهار گونه درمنه شامل *A. annua, A. sieberi, A. aucheri, A.fragrans* با استفاده از توالی‌های هسته‌ای nrDNA ITS و کلروپلاستی *rpl*32-*trn*L(UAG) و ترکیب آنها انجام گردید.

یافته‌ها: نتایج مطالعات اکولوژیکی نشان داد که بیشتر گونه‌های درمنه در منطقه مورد مطالعه در اقلیم خشک و در خاک‌های سیلتی و سیلتی کلی لوم حضور داشتند. اندازه‌گیری EC بیانگر این بود که این خاک‌ها جزو خاک‌های شور بوده و از نظر ماده آلی فقیر هستند. بررسی‌ها نشان داد که اندازه بسیاری از دانه‌های گرده گونه‌ها متوسط و از نوع سه‌شیاردار بودند. در تمام گونه‌های مورد بررسی با توجه به نسبت P/E، طرح کلی دانه‌های گرده که در نمای قطبی دیده می‌شوند، دایره‌ای، مثلثی و استوایی با طرح کلی بیضوی است. همانطور که توسط میکروسکوپ الکترونی SEM مشاهده شد، تزئینات اگزین از نوع اکینات است. نتایج مطالعات مولکولی بیانگر این بود که همه گونه‌های مورد بررسی یک گروه تک‌نیا با حمایت بالا (PP =1.00, ML BS =100, MP BS=100) را تشکیل دادند. تجزیه‌های حاصل از داده‌های ترکیبی، روابط حمایت‌شده‌تری نسبت به تجزیه‌های حاصل از قطعات به صورت جداگانه نشان دادند. نتایج حاصل از درخت ترکیبی دو کلاد مجزا نشان داد که در کلاد I با حمایت بالا گونه یکساله *A. annua* و در کلاد II بقیه گونه‌های مورد مطالعه با حمایت بالا (PP=0/88, ML BS=90, MP BS=94) قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری: این تحقیق بیانگر این بود که خصوصیات بوم‌شناختی، ریزریخت‌شناسی و داده‌های مولکولی در تمایز و شناسایی گونه‌های درمنه مفید و کاربردیست. مطالعه گونه‌های مورد نظر امکان انتخاب ژن‌های مناسب و سازگارشده با هر محیط و انتقال آنها به گونه زراعی به‌منظور تولید ارقام متحمل به تنش را برای به‌نژادگران و متخصصان بیوتکنولوژی فراهم می‌کند.

سرده درمنه با توجه به سازش اکولوژیکی و شدت سازگاری بالا در شرایط طبیعی به فراوانی در ایران پراکنش دارد. اما متأسفانه تغییر کاربری اراضی و تبدیل عرصه‌های طبیعی به محیط‌های زراعی موجب شده عرصه‌های درمنه‌زارها کوچک شده و گونه‌زایی و تنوع محدود شود. بررسی روابط خویشاوندی بین گونه‌ها و تکامل صفات، می‌تواند به‌عنوان ابزاری در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقی‌های بین گونه‌ای استفاده شود. بنابراین اطلاعات بدست‌آمده می‌تواند در جهت حفظ و تعادل درمنه‌زارها کمک فراوانی بکند.

واژه‌های کلیدی: بوم‌شناختی، دانه‌گرده، درمنه، مرتع، مطالعه مولکولی.

مقدمه

مدیریت و بهره‌برداری صحیح از مراتع، مستلزم شناسایی خصوصیات گونه‌های گیاهی تشکیل‌دهنده و تعیین عوامل مؤثر بر پراکنش آنهاست. بخش وسیعی از مساحت کشور ایران، به‌ویژه مناطق دشتی و کوهستانی را گیاهان بوته‌ای تشکیل می‌دهند. اکوسیستم‌های مرتعی حدود ۵۳٪ از سطح خاک کشور را شامل می‌شوند که پوشش گیاهی این اکوسیستم‌ها گونه های مختلفی دربردارد که ارزش علوفه‌ای، دارویی و صنعتی فوق‌العاده‌ای دارند (Moghadam, 2009).

مراتع کشور از نظر اقتصادی، اجتماعی و مسائل زیست‌محیطی از اهمیت خاصی برخوردارند، اگر به‌صورت صحیحی مدیریت و بهره‌برداری شوند، می‌توانند نقش مهمی در شکوفایی اقتصاد جامعه داشته باشند. افزایش سریع جمعیت و امنیت غذایی انسان‌ها که یکی از حقوق اولیه بشر می‌باشد، ازجمله مشکلات اساسی است که جهان با آن روبرو شده است. به همین دلیل پژوهشگران سعی در یافتن راهکارهای مختلفی در این زمینه دارند. از سویی رشد بی‌رویه جمعیت و نیاز به امکانات زیستی، رفاهی، دفاعی، کشاورزی، صنعتی و غذایی موجب شده که هر روزه از سطح مراتع کشور کاسته شود. مدیریت و بهره‌برداری درست از مراتع به شناسایی ویژگی‌های گونه های تشکیل‌دهنده مراتع نیاز دارد. شناخت این خصوصیات می‌تواند در بهره‌برداری اصولی از مراتع و استمرار تولید آن نقش مهمی ایفا کند (Magurran, 1988).

استان گلستان با جایگاه جغرافیایی ویژه خود، رویشگاه بسیاری از گونه‌هاست که در صورت شناخت عوامل مؤثر بر رشد این گونه ها و سازگاری آنها، می‌توان از صرف هزینه و اتلاف زمان در برنامه‌ریزی برای اصلاح و احیاء مراتع جلوگیری کرد. برای این منظور، شناسایی روابط گیاهان بومی مستقر در عرصه و عوامل مؤثر بر استقرار و بقای آنها ضروریست (Gavili Kilaneh & Vahabi, 2012). دانش نیازهای اکولوژیک گونه‌های مرتعی به‌ویژه در مناطق خشک برای برنامه‌ریزی و مدیریت جوامع گیاهی و حفاظت و بهره‌برداری از اکوسیستم‌های مناطق خشک بسیار اهمیت دارد. تدوین و اجرای برنامه‌های مؤثر در راستای احیاء، حفاظت و بهره‌برداری سودمند از گونه‌های گیاهی فقط با شناخت خصوصیات و نیازهای اکولوژیک آنها امکان‌پذیر است (Farsi & Zolali, 2004). مطالعات نشان داده که در مناطق بیابانی و خشک، ویژگی‌های بافت خاک و هدایت الکتریکی بیشترین نقش را در پراکنش پوشش گیاهی دارند. این ویژگی‌ها بر رطوبت قابل دسترس و جذب مواد غذایی خاک توسط گیاهان تأثیرگذارند (*et al.*, Zare Chahouki 2008). بررسی‌های انجام شده توسط پژوهشگران نشان می‌دهد گونه هایی که می‌توانند در زیستگاه‌های مختلف با شرایط اکولوژیک و فلوریستیک متفاوت حضور داشته باشند، دارای دامنه انتشار گسترده‌ای هستند. ازاین‌رو، حضور این گونه‌ها در چنین شرایطی نشان‌دهنده تطابق و سازگاری بالای این گیاهان نسبت به شرایط متفاوت اکولوژیک است (Chehregani

.(Rad *et al.*, 2011

یکی از سرده‌های با ارزش مرتعی .*Artemisia* L است که در مناطق خشک و نیمه‌خشک پراکنش دارد و از نظر حفاظت خاک، تأمین علوفه احشام و ارزش دارویی نقش مهمی ایفا می‌کند (Mozaffarian, 1988). این گیاهان دارای ویژگی‌های ارزشمندی مانند دائمی بودن، مقاومت به سرما و خشکی محیط، خوشخوراکی و قابلیت هضم نسبی علوفه، طولانی بودن دوره رشد و امکان بهره‌برداری در فصول پاییز و زمستان، تولید علوفه قابل ملاحظه از نظر کمی و کیفی و مقاوم در مقابل آفات هستند. سرده درمنه (*Artemisia*) از تیره کاسنی (Asteraceae)، از عناصر اصلی رویشگاه‌های ایران و تورانی محسوب شده و ۳۴ گونه از آن در ایران شناسایی شده‌است (Mozaffarian, 1988). گونه‌های مختلف این سرده دارای مصارف دارویی، بهداشتی و آرایشی هستند و با داشتن ماده‌ای به نام آرتمیزنین (Artemisinin) خاصیت آللوپاتی دارند (*et al.*, 2014; Gholami *et al.*, SeyedRahmani 2011). پراکنش وسیع گونه‌های سرده *Artemisia*، به‌ویژه گونه *A. sieberi* در کشور به‌حدی است که این گیاه به‌عنوان عنصر اصلی رویشگاه‌های ایران و تورانی تلقی شده است (Zohary, 1973). درمنه به‌لحاظ سازش‌های اکولوژیک و تغییر راهبرد ساختاری و تغییر توان و ظرفیت فیزیولوژیک بالا، به‌طور گسترده در تمام سطح کره زمین از شمال تا جنوب و از شرق تا غرب به‌فراوانی پراکنش داشته و به‌عنوان یک سرده جهان‌شمول در ایجاد ریختار رویشی مورد توجه است (Jalili, 2016).

تاکنون مطالعاتی بر روی جمعیت‌های وحشی درمنه در ایران انجام شده است. تکامل و بیوجغرافیایی درمنه شامل مباحث اکولوژی، تکامل، کاریوتیپ، خاک، آناتومی و اسانس درمنه توسط Jalili (۲۰۱۶) گزارش شده است. Dolatyari و همکاران (۲۰۱۳) به مطالعه کاریولوژی ۲۸ گونه از سرده درمنه در ایران پرداختند که طی آن دو عدد پایه کروموزومی X=8, 9 با سطوح پلوئیدی، دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید تشخیص دادند. Mirhaji و همکاران (۲۰۰۱) شرایط اکولوژیک و تأثیر عوامل محیطی، بر روی ریخت‌شناسی و آناتومی گونه‌های درمنه در استان سمنان را بررسی کردند و نشان دادند که تغییرات خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نقش بسیار مهمی در پراکنش استقرار گونه‌های مورد مطالعه دارد. Bagheri و همکاران (۲۰۱۳) نیازهای اکولوژیک گونه دارویی درمنه ایرانی (*Artemisia persica* Boiss.) را در رویشگاه‌های طبیعی استان کرمان مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیقات آنان نشان داد که این گونه کوهسری در طبقه ارتفاعی ۳۵۴۶-۲۵۴۷ متر از سطح دریا، شیب‌های تند ۶۲- ۳۵ درصد و در کلیه جهت‌های جغرافیایی حضور دارد. Jafari-Parizi و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی اکولوژیکی جوامع درمنه کوهی در مراتع اصفهان پرداختند و نشان دادند که از میان عوامل محیطی مورد بررسی، ارتفاع مؤثرترین عامل در پراکنش گونه‌های گیاهی بود. Molaei و Ghorbani (۲۰۲۱) فاکتورهای اکولوژیکی را بر روی دو گونه درمنه در دامنه‌های جنوب‌شرق سبلان بررسی کردند و نشان دادند که پارامترهای فیزیوگرافیکی نسبت به ویژگی‌های خاک مهمتر هستند.

Ghahreman و همکاران (۲۰۰۷) به مطالعه ساختار دانه گرده سرده *Artemisia* در ایران پرداختند و بر اساس مطالعات آنان، تزئینات اگزین به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی، دو تیپ دانه گرده را تشخیص دادند. Lu و همکاران (۲۰۲۲) به مطالعه دانه گرده سرده *Artemisia* و شاخص‌های اکولوژیکی در طول زمان پرداختند و تجزیه‌وتحلیل صفات ریختی گرده سه نوع دانه گرده را برای این سرده مشخص کردند.

در رابطه با مطالعات مولکولی، Ahadi Dolatsara و همکاران (۲۰۱۵) تنوع DNA کلروپلاستی و روابط تبارزایی میان ۲۸ گونه درمنه ایران را بررسی کردند و نتایج حاصل از مارکر کلروپلاستی trnL-trnF نشان داد که این مارکر به تنهایی در تعیین روابط بین گونه‌ها مفید

نیست. Mahmood و همکاران (۲۰۱۱) آنالیز تبارزایی ۸ گونه *Artemisia* را بر اساس نشانگر کلروپلاستی (rps11) بررسی کردند و نتایج حاصل، عدم تطابق بین زیرگروه‌های مولکولی و ریخت‌شناسی را نشان داد. Watson و همکاران (۲۰۰۲) روابط تبارزایی زیرقبیله Artemisiinae شامل *Artemisia* و سرده‌های خویشاوند را به کمک نشانگر هسته‌ای (nrDNA ITS) بررسی کردند و نتایج حاصل تک‌نیایی زیرسرده‌های درمنه را تأیید نکرد. Hussain و همکاران (۲۰۱۹) به مطالعه روابط تبارزایی گونه‌های درمنه در پاکستان بر اساس نشانگرهای هسته‌ای و کلروپلاستی پرداختند و نشان دادند که ویژگی‌های ریختی به همراه نشانگرهای مولکولی در تعیین روابط بین گونه‌ها بسیار مفید است.

مطالعه رفتار اکولوژیکی گیاهان مرتعی به‌عنوان یکی از عناصر اصلی اکوسیستم و ویژگی‌های رویشگاهی آنها گامی اساسی برای یافتن راه‌حل‌های مناسب برای حفظ، اصلاح و احیاء این بخش مهم از منابع طبیعی تجدیدشونده است. از آنجایی که در ارتباط با این سرده تحقیقات اندکی در کشور انجام شده، در این مطالعه، به بررسی خصوصیات بوم‌شناختی، ریزریخت‌شناسی و مولکولی گونه‌های مختلف درمنه به عنوان یکی از مهمترین گیاهان علوفه‌ای و مرتعی مرغوب با دامنه وسیعی از سازگاری و خصوصیات منحصربه‌فرد از نظر ارزش غذایی و خوشخوراکی برای دام و به‌عنوان گزینه‌ای مناسب برای اصلاح و احیای مراتع منطقه پرداخته خواهد شد.

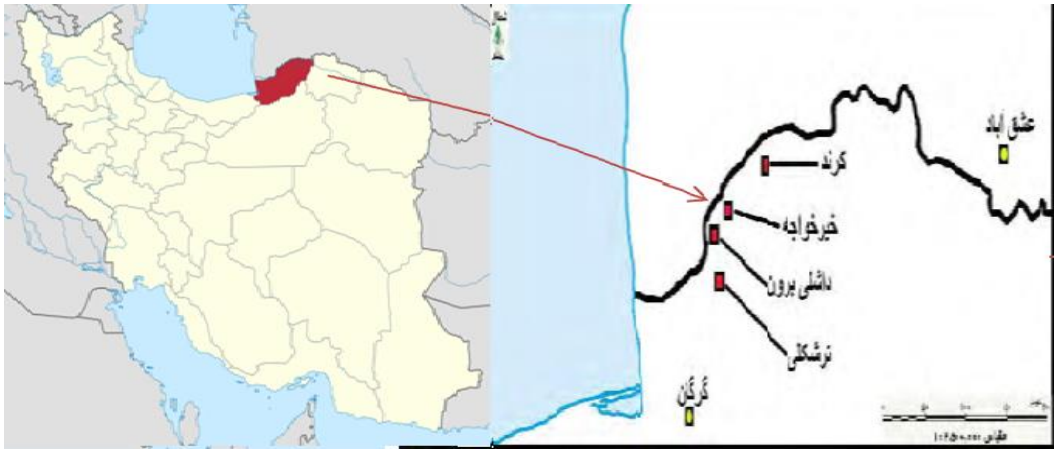
مواد و روش‌ها

تهیه و جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

در این بررسی، ۱۲ جمعیت از چهار گونه از جنس *Artemisia* در ایران در محدوده مراتع شمال شهرستان گنبد کاووس در استان گلستان بررسی شد (جدول ۱). این جمعیت‌ها از زیستگاه‌های مختلف جمع‌آوری (شکل‌های ۱ و ۲) و با مراجعه به فلور ایران (Parsa, 1978) شناسایی شدند. کلیه نمونه‌های بررسی‌شده، در هرباریوم دانشگاه گنبد کاووس (GKUH) نگهداری می‌شوند. در این مطالعه به بررسی خصوصیات اکولوژیکی، ریزریخت‌شناسی و مولکولی جمعیت‌های مذکور پرداخته شده است که در ذیل به تفکیک به آنها اشاره می‌گردد.

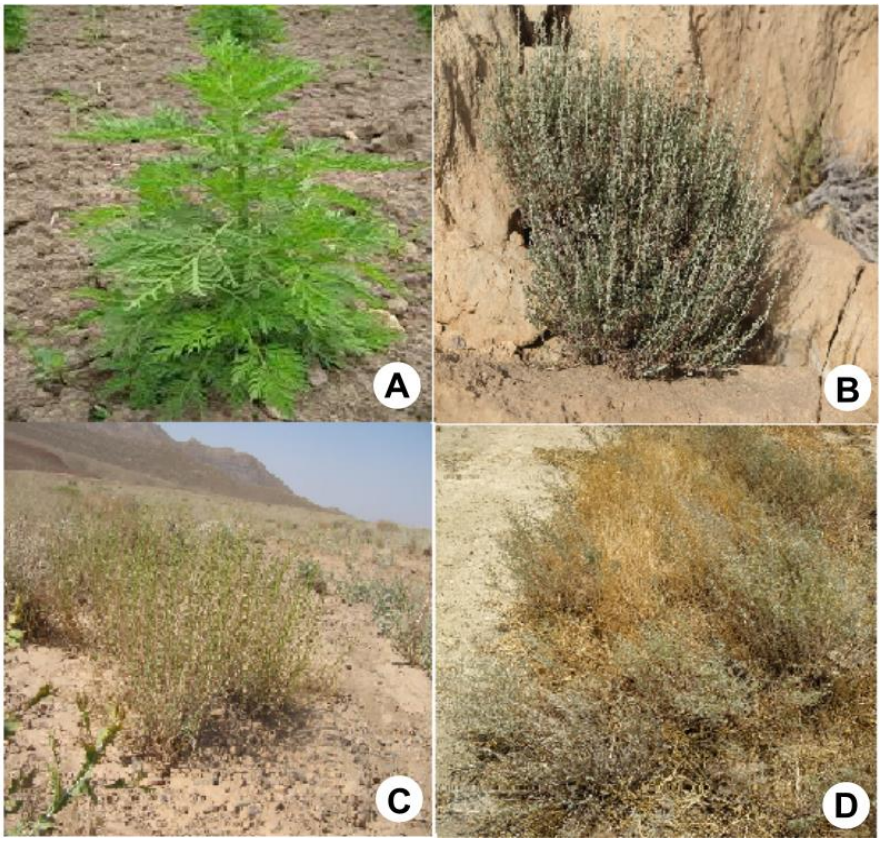
منطقه مورد مطالعه

منطقه مورد مطالعه خیرخواجه‌نجف بخش داشلی‌برون است. این منطقه در شمال استان گلستان و در بخش جنوبی حوضه آبخیز اترک و فاصله حدود ۶۰ کیلومتری شمال‌غربی شهر گنبد کاووس و در نوار مرزی با کشور ترکمنستان و در مختصات جغرافیایی ۵۴ درجه و ۴۶ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۳۹ دقیقه عرض شمالی واقع شده است. در بخشی از منطقه در قالب طرح مرتع‌داری گیاه درمنه کشت شده است که به‌عنوان مراتع قشلاقی استان مورد تعلیف دام مرتع‌داران قرار دارد. مراتع منطقه به صورت تپه ماهور و جلگه‌ای بوده و ارتفاع متوسط منطقه از سطح دریای آزاد ۳۰ متر و شیب ۳-۲/۵ درصد است. شکل (۱) مربوط به منطقه مورد مطالعه می‌باشد.



شکل ۱- محدوده منطقه مطالعاتی در کشور ایران و استان گلستان

Figure 1. Location map of the study area



شکل ۲- گونه‌های مورد مطالعه درمنه

Figure 2. The studied species of *Artemisia*
a) *A. annua*, b) *A. sieberi*, c) *A. aucheri*, d) *A. fragrans*

جدول ۱- اطلاعات هرباریومی گونه‌های درمنه مورد بررسی

Table 1. Herbarium information of the *Artemisia* species

Species	Locality	Collector	Voucher no.	GenBank Accession no. ITS	GenBank Accession no. rpl32-trnL$_{UAG}$
Artemisia annua L.	Gonbad Kavous	Tavakoli	808312/1-GKUH 808312/2-GKUH 808312/3-GKUH	OQ640197	Submitted
A. sieberi Besser	Gonbad Kavous	Tavakoli	808323/1-GKUH 808323/2-GKUH 808323/3-GKUH	OQ640198	Submitted
A. aucheri Boiss.	Gonbad Kavous	Tavakoli	808334/1-GKUH 808334/2-GKUH 808334/3-GKUH	OQ640199	Submitted
A. fragrans Wild	Gonbad Kavous	Tavakoli	808345/1-GKUH 808345/2-GKUH 808345/3-GKUH	OQ640200	Submitted

مطالعات اکولوژیکی

برای بررسی اکولوژیکی گونه‌های مورد نظر اطلاعات جامع محل‌های جمع‌آوری یادداشت شد و اطلاعات میانگین دما و بارندگی سالانه و درجه حرارت متوسط طی یک دوره زمانی بر اساس گزارش‌های سازمان هواشناسی کشور ثبت شد. سپس مشخصات و نوع خاک و اقلیم مناطق به آن اضافه گردید. نمونه‌برداری از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری انجام شد. نمونه‌های برداشت شده در عرصه به آزمایشگاه منتقل شده و پارامترهای بافت و pH خاک آن مشخص گردید.

مطالعات گرده‌شناسی

به‌طور میانگین از هر جمعیت ۳۰ دانه گرده، از گونه‌های مورد نظر بررسی شد. برای مشاهده دانه گرده از میکروسکوپ نوری به روش استولیز (Erdtman, 1943) استفاده گردید. پس از استولیزکردن دانه‌های گرده با میکروسکوپ نوری Nickon مدل E100 و بزرگ‌نمایی ۴۰ و ۱۰۰ از ۳۰-۲۰ دانه گرده از نمای قطبی و استوایی با دوربین دیجیتال Canon عکس‌برداری و با استفاده از نرم‌افزار Image Tools اندازه‌گیری‌ها انجام شد. به‌منظور تهیه میکروگراف‌های الکترونی، دانه‌های گرده مناسب با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM مدل VEGA//TESCAN-LMU تحت ولتاژ 22KV در پژوهشکده رازی تهران تصویربرداری شدند. صفات طول محور قطبی (P)، طول محور استوایی (E)، نسبت P/E، ضخامت و نوع تزئینات اگزین اندازه‌گیری شد. میانگین و انحراف معیار نیز توسط نرم‌افزار Minitab 14 محاسبه گردید. برای تعیین اندازه و شکل گرده از طبقه‌بندی ارتمن (Erdtman, 1943) و برای واژه‌گزینی از سایت معتبر گرده‌شناسی Paldat (Halbritter et al., 2018) استفاده شد.

مطالعات مولکولی

چهار گونه *Artemisia* به عنوان درون‌گروه و *Chrysanthemum indicum* براساس مطالعات مولکولی پیشین (Hussain *et al*., 2019) به عنوان برون‌گروه در این مطالعه تجزیه شدند تا روابط تبارزایی میان آنها بررسی شود.

استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و توالی‌یابی

DNA ژنومی از برگ‌های نمونه‌های هرباریومی استخراج شد. روش استخراج بوسیله کیت استخراج DNA گیاهی

شرکت تیان ژن چین (DNA secure Plant Kit) انجام شد. در این تحقیق، از توالی ناحیه nrDNA ITS ژنوم هسته‌ای و rpl32-trnL$_{(UAG)}$ کلروپلاستی برای ارزیابی تبارزایی آرایه‌ها استفاده شد. به‌منظور انجام واکنش PCR از آغازگرهای ITS4 و ITS5 و کلروپلاستی rpl32-trnL$_{(UAG)}$ (Shaw *et al*. 2007) استفاده شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۲ ارائه شده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از برنامه بهینه شده برای آغازگر هسته‌ای { 72) (50 72) (40 54) (50 94)30 (5 (2:30 94)} و آغازگر کلروپلاستی { (50 54) (60 95) 30 (5 65) (50 65) (30:2 80) } با دستگاه‌های ترموسایکلر (Eppendorf, Germany; Astec, Japan) دارای ۹۶ چاهک انجام شد. پس از اطمینان از صحت PCR و تکثیر قطعه مورد نظر به کمک الکتروفورز روی ژل آگارز، تک باندهای قوی (۲۰ نانوگرم) و فاقد باند اضافی و کشیدگی به‌منظور تعیین توالی به شرکت ژنتیک کدون ارسال شدند.

جدول ۲- توالی پرایمرهای استفاده شده برای واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز و توالی‌یابی

Table 2. Sequence of primers used for polymerase chain reaction and sequencing.

Primer	Sequences	Anealing Temprature	Sequence Lenght
ITS5	5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG -3'	54 °C	680
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'	54 °C	680
rpl32	5'–CAGTTCCAAAAAAACGTACTTC–3'	54 °C	930
trnL$_{(UAG)}$	5'–CTGCTTCCTAAGAGCAGCGT–3'	54 °C	930

تحلیل تبارزایی

کروماتوگرام‌های توالی نمونه‌ها، با استفاده از نرم‌افزار Bioedit ویرایش شد و بعد توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Clustal X هم ردیف گردیدند. سپس داده‌های هم‌ردیف‌سازی شده به کمک نرم‌افزار MrBayes نسخه ۳/۱۲ (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) بررسی شدند. تطابق مجموعه داده‌های هسته‌ای و کلروپلاستی با استفاده از آزمون ILD ارزیابی شد. برای تحلیل تبارزایی بر اساس روش Bayesian، از برنامه MrModeltest، نسخه ۲/۳ استفاده شد و براساس معیار اطلاعاتی AIC (Akaike Information Criterion)، مدل‌های تکاملی مناسب برای داده‌های مورد نظر انتخاب شدند (Posada & Buckley, 2004). برای برازش مدل مناسب در زنجیره MCMC تعداد ۱۰ میلیون تکرار لحاظ شد و ۵۰ درصد آنها (= Burn-in 500.000) کنار گذاشته شد. حمایت شاخه‌ها در روش Bayesian با اعداد مربوط به احتمال پسین بیان می‌شود. برای تجزیه داده‌ها به روش بیشینه درست‌نمایی Maximum (Likelihood) از برنامه raxmlGUI نسخه ۱,۳ و به‌روش بیشینه صرفه‌جویی از برنامه PAUP نسخه 4.0a157 (Swofford, 2002) استفاده شد.

نتایج

نتایج مطالعات اکولوژی

در این مطالعه اثر اقلیم و مشخصات خاک رویشگاه در پراکنش گونه‌ها بررسی شد. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۳ آورده شده است. اندازه‌گیری EC در این خاک‌ها نشان داد که این خاک‌ها جزو خاک‌های شور بوده و از نظر ماده آلی فقیر هستند (کمتر از یک درصد). بافت خاک نیز شنی تا رسی لومی است و جزو خاک‌های تقریباً قلیایی است. بیشترین همجواری سرده درمنه با گونه‌های گیاهی از سرده‌های *Zygophyllum* L.، *Astragalus* L. *Salsola* و *Scariola* F.W.Schmidt بود.

فرم‌های رویشی مختلف به دلیل اختلاف در ساختار، دارای اثر متفاوتی بر پایداری خاک هستند. فرم بوته‌ای به دلیل داشتن تاج پوشش مناسب و سیستم ریشه‌ای توسعه‌یافته نقش قابل توجهی را در حفاظت خاک ایفا می‌کند. تاج

پوشش گونه‌های بوته‌ای در اکوسیستم‌ها با کاهش سرعت برخورد قطرات باران به خاک و توزیع مناسب آنها روی خاک، موجب کاهش فرسایش سطحی خاک، افزایش نفوذپذیری و در نهایت کاهش میزان رواناب می‌شود. گونه *A. sieberi* از نظر کیفیت لاشبرگ، سرعت تجزیه‌پذیری و آثار آن بر کیفیت و پایداری خاک نسبت به گونه‌های دیگر مناسب‌تر ارزیابی شد. این گونه به دلیل داشتن سیستم ریشه‌ای توسعه‌یافته و فرم تاج پوشش، از نظر شاخص‌های پایداری، نفوذپذیری و چرخه عناصر غذایی، به عنوان گونه‌ای بسیار مهم و مؤثر در اکوسیستم‌های مرتعی تشخیص داده شد. با توجه به غالب بودن بوته‌ای‌ها و میزان نفوذپذیری بالای آنها در اکوسیستم‌های مرتعی خشک، به‌ویژه سطح قابل توجه پراکنش *A. sieberi*، این گونه در این مناطق، گونه‌ای کلیدی برای الگوهای اکوهیدرولوژیک به‌شمار می‌رود که موجب خروج کمتر منابع به خارج از اکوسیستم می‌شود.

نتایج مطالعات گرده‌شناسی

نتایج بررسی میکروسکوپی دانه‌های گرده، در جدول ۴ و شکل ۳ آورده شده است. نتایج بررسی‌های میکروسکوپی بیانگر این بود که دانه گرده در کلیه گونه‌های سرده *Artemisia* که در استان گلستان رویش دارند، به صورت شعاعی متقارن، ایزوپولار، معمولاً از نوع سه شیار روزن‌دار هستند. شیارها بلند و به سمت هر دو انتها باریک هستند. غشاهای آنها صاف یا خاردار هستند. اگزین ضخیم و دانه‌دار است. خارها کوچک‌اند. دانه‌های گرده معمولاً به شکل مثلثی گرد شده در نمای قطبی به نظر می‌رسند که منافذ آن از سه طرف بیرون زده است. ضخامت اگزین در وسط لومن دیده می‌شود و ضخامت آن به تدریج کاهش می‌یابد. شاید قابل‌توجه‌ترین ویژگی دانه‌های گرده درمنه ریز بودن خارهای آنها باشد. این ویژگی در بین گونه‌ها متغیر بوده و دارای ارزش طبقه‌بندی است.

جدول ۳- مناطق انتشار، اقلیم و مشخصات خاک گونه‌های مختلف *Artemisia* در منطقه مورد مطالعه

Table 3. The distribution, climate and soil caracteristics of *Artemisia* species in this study

Coordinates & Climate	Species			
	A.annua	*A.sieberi*	*A.aucheri*	*A.fragrans*
Longitude	55°35'55"E	55°47'32" E	55°64'36" E	55°78'26" E
Latitude	37°35'55"N	37°27'76" N	37°22'31" N	37°11'41" N
Climate	Steppe & desert	Semi-arid	Steppe & desert	Steppe a& desert
Temperature °C	17.78	16.88	17.32	17.43
Rainfall (mm)	192.7	200.2	190.3	188.4
Soil caracteristics				
Acidity (pH)	7.9	7.5	7.7	7.6
EC (mmhos/cm)	1.25	2.53	1.73	1.61
Clay %	33	18	21	20
Sil t%	43	27	27	22
Sand %	24	55	52	50
CaCO3 %	14.2	12.6	14.4	13.4
Soil Texture	Silty	Silty loam to silty clay loam	Clay loam to salin alkaline	Medium to heavy soil

اندازه دانه‌های گرده از کوچک تا متوسط متفاوت است. کوچک‌ترین دانه گرده (*A. annua*) دارای محور قطبی ۱۳/۱۸ میکرومتر و محور استوایی ۱۱/۸ میکرومتر است. بزرگ‌ترین دانه گرده (*A. fragrans*) دارای محور قطبی ۲۷/۲۵ میکرومتر و محور استوایی ۱۴/۱۵ میکرومتر است (جدول ۴).

شکل دانه‌های گرده با توجه به نسبت P/E تعیین شد. در تمام گونه‌های مورد بررسی، طرح کلی دانه‌های گرده که در نمای قطبی دیده می‌شوند، دایره‌ای، مثلثی و استوایی با طرح کلی بیضوی است. دو کلاس شکل گرده متمایز را می‌توان تشخیص داد: Prolate P/E: 1/53-1/76 (دوکی) و Perprolate (P/E: 1/92).

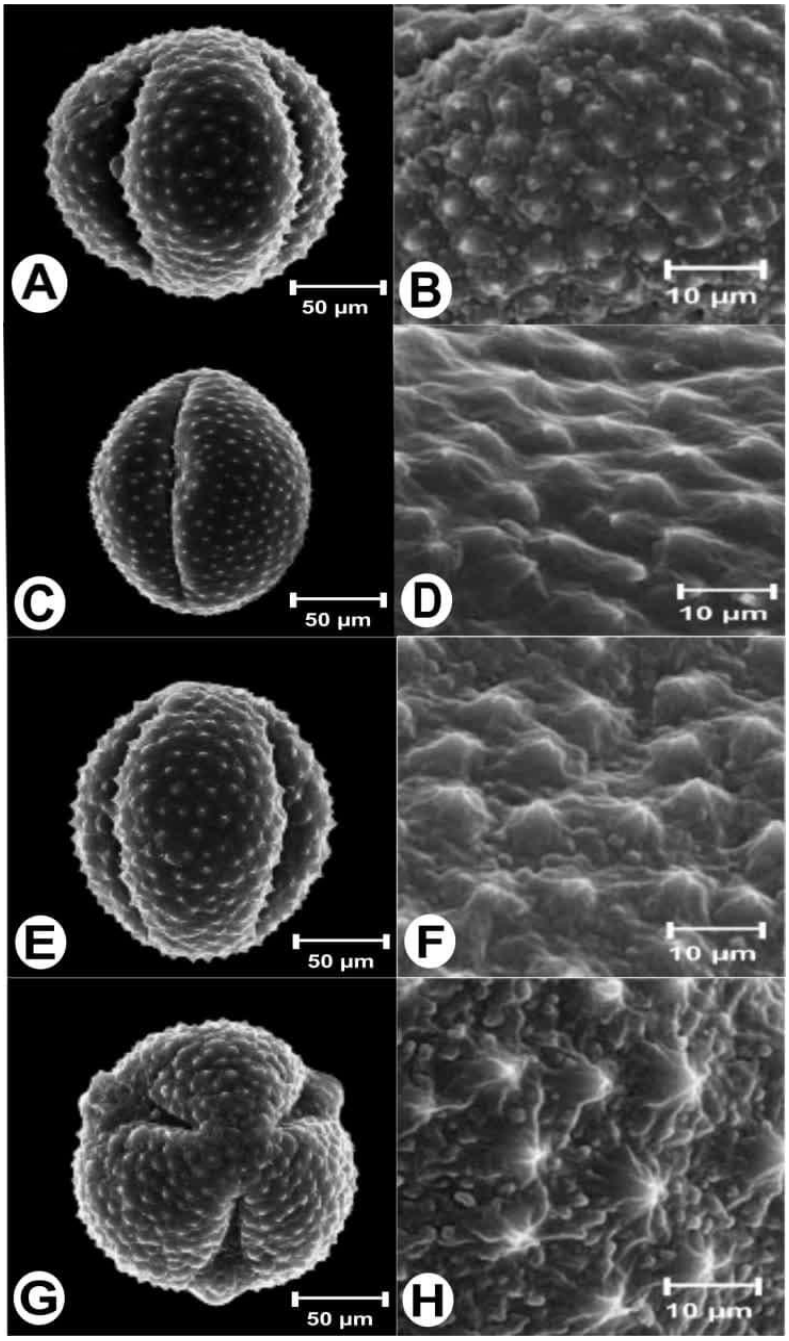
همانطور که توسط میکروسکوپ الکترونی SEM مشاهده شد، تزئینات اگزین از نوع اکینات است (شکل۳). تزئینات اکینات با میکروگرانولا یا در سطح وجود دارد یا وجود ندارد. براساس تزئینات اگزین مشاهده شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM، دو نوع دانه گرده شناسایی شد: نوع I، سطح اگزین ممکن است دارای خارهای نوک تیز باشد، مانند *A. aucheri* و *A. annua*. نوع II، سطح اگزین ممکن است دارای تراکم کمی از خارها باشد، مانند: *A. sieberi* و *A. fragrans*. نتایج نشان‌دهنده آن است که خصوصیات کمی و کیفی دانه گرده برای شناسایی و تفکیک گونه‌های مورد مطالعه حائز اهمیت است. نتایج به‌دست‌آمده در مورد مطالعه دانه گرده گونه‌های مختلف سرده *Artemisia* در استان گلستان بیانگر آن بود که دانه‌های گرده از نوع سه شیاردار (Tricolporate) هستند (جدول ۴ و شکل ۳).

نتایج مطالعات مولکولی

تجزیه داده‌های nrDNA ITS

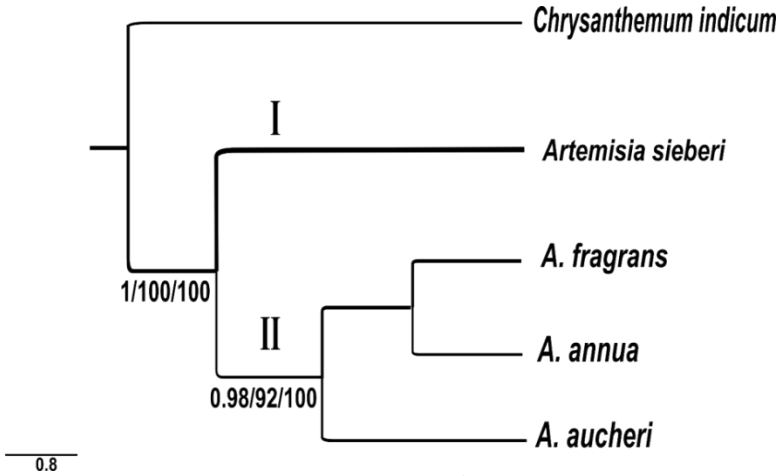
توالی‌های هم‌ردیف‌سازی شده nrDNA ITS مربوط به ۵ تاکسون، ماتریسی به طول ۶۸۶ جایگاه نوکلئوتیدی ایجاد کرد که از این میان ۱۱۹ جایگاه از لحاظ پارسیمونی اطلاع‌ساز و بقیه غیراطلاعاتی بودند. در این تجزیه گونه *Chrysanthemum indicum* براساس مطالعات قبلی (Hussain *et al*., 2019) به عنوان برون‌گروه انتخاب شد. نتایج، تجزیه تک‌نیایی بودن گونه‌های *Artemisia* را در این فیلوگرام با حمایت بالا (PP=1, ML BS=100, MP BS=100) نشان داد (شکل ۴).

بعد از برون‌گروه به ترتیب دو کلاد اصلی I و II در درخت هسته‌ای مشخص شد. کلاد اول (I) شامل گونه *A. sieberi* است. همچنین کلاد دوم (II) شامل ۳ گونه *A. fragrans*، *A. annua* و *A. aucheri* با حمایت بالا در کنار هم قرار گرفتند (PP=0.98, ML BS=92, MP BS=100).



شکل ۳- بررسی صفات ریزریخت‌شناسی سطح گرده‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (**SEM**)

Figure 3. The micromorphological features of the pollen surface using an electron microscope (SEM)
A-B : ***A. annua*** **, D-C :** ***A. fragrans*****, F-E :** ***A. Sieberi*****, H-G :*****A. aucheri***



شکل ۴- درخت تبارزایی حاصل از آنالیز توالی **nrDNA ITS** با استفاده از روش بیزین

اعداد روی شاخه‌ها، ارزش حدود اطمینان آنها را نشان می‌دهند (به ترتیب **PP Bayesian, BS Likelihood, BS Parsimony**). مقدار حمایت بالای ۵۰ نشان داده شده است.

Figure 4. Fifty percent majority rule consensus tree resulting from resulting from Bayesian analysis of the nrDNA ITS dataset. The numbers above branches are posterior probability (PP) and bootstrap values from maximum likelihood (LBS) and maximum parsimony (PBS) analyses respectively. Values< 50% are not shown

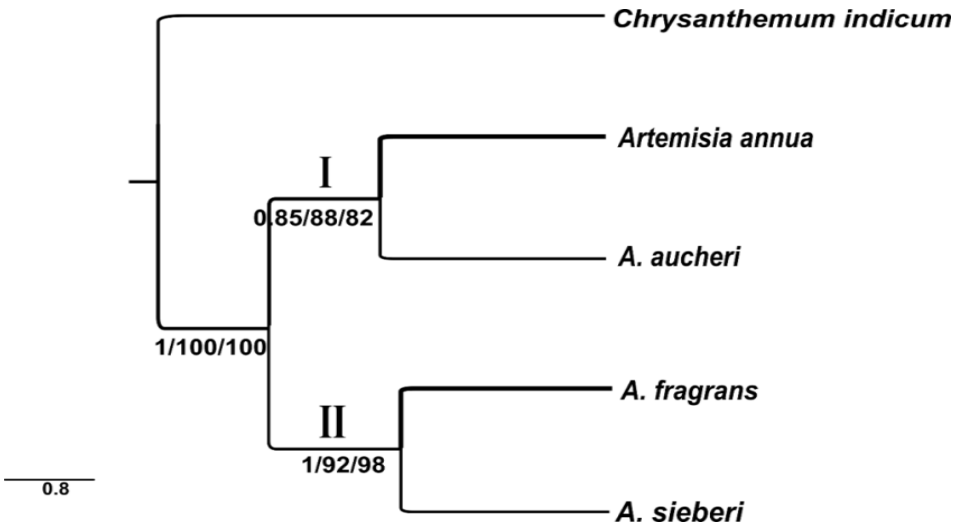
تجزیه داده‌های rpl32-trnL$_{(UAG)}$

توالی‌های هم‌ردیف‌سازی شده *rpl*32-*trn*L$_{(UAG)}$ مربوط به ۵ تاکسون، ماتریسی به طول ۱۱۵۸ جایگاه نوکلئوتیدی ایجاد کرد که از این میان ۲۳۱ جایگاه از لحاظ پارسیمونی اطلاع‌ساز و بقیه غیراطلاعاتی بودند. نتایج تجزیه کلروپلاستی مانند آنالیز هسته‌ای، تک‌نیایی بودن گونه‌های *Artemisia* را در این فیلوگرام با حمایت بالا (PP= 1, ML BS=100, MP BS=100) نشان داد (شکل ۵).

بعد از برون‌گروه همانند درخت هسته‌ای به ترتیب دو کلاد اصلی I و II در درخت کلروپلاستی مشخص شد. کلاد اول (I) شامل گونه‌های *A. annua* و *A. aucheri* با حمایت بالا در کنار هم قرار گرفتند (PP=0/85, ML BS=88, MP BS=82). همچنین کلاد دوم (II) شامل گونه‌های *A. fragrans* و *A. sieberi* یک گروه با حمایت بالا تشکیل دادند (PP=1, ML BS=92, MP BS=98).

تجزیه داده‌های ترکیبی nrDNA ITS, cpDNA rpl32-trnL$_{(UAG)}$

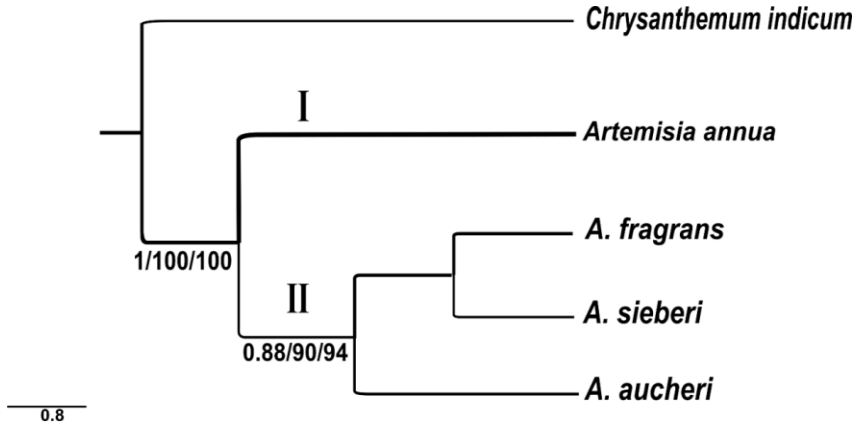
تجزیه حاصل از داده‌های ترکیبی، روابط حمایت‌شده‌تری نسبت به تجزیه حاصل از قطعات به صورت جداگانه نشان دادند. حمایت‌های مطرح شده به ترتیب احتمال پسین، بوتسترپ حاصل از تجزیه بیشینه درست‌نمایی و بوتسترپ حاصل از روش بیشینه صرفه‌جویی هستند (شکل ۶). توالی-های نوکلئوتیدی هم‌ردیف‌سازی شده تجزیه ترکیبی مربوط به ۵ آرایه به طول ۱۸۴۴ جایگاه نوکلئوتیدی ایجاد کرد که از این میان ۲۴۰ جایگاه از لحاظ پارسیمونی اطلاعاتی بوده و بقیه جایگاه‌ها غیراطلاعاتی بودند. درختان حاصل از تجزیه داده‌های ترکیبی با روش‌های بیشینه صرفه‌جویی، بیشینه درست‌نمایی و بیزین الگوی یکسانی نشان می‌دهند. درخت بیزین به دلیل حل شدن بهتر روابط گونه‌ها و حمایت‌های بالاتر نشان داده شده است. نتایج حاصل از درخت ترکیبی دو کلاد مجزا را نشان داد که در کلاد I با حمایت بالا گونه یکساله *A. annua* و در کلاد II بقیه گونه-های مورد مطالعه با حمایت بالا PP=0/88, ML BS=90, (MP BS=94) قرار گرفتند.



شکل ۵- درخت تبارزایی حاصل از آنالیز توالی **rpl32-trnL(UAG)** با استفاده از روش بیزین

اعداد روی شاخه‌ها، ارزش حدود اطمینان آنها را نشان می‌دهند (به ترتیب **PP Bayesian, BS Likelihood, BS Parsimony**). مقدار حمایت بالای ۵۰ نشان داده شده است.

Figure 5. 50% majority rule consensus tree resulting from Bayesian analysis of the rpl32-trnL(UAG) dataset. The numbers above branches are posterior probability (PP) and bootstrap values from maximum likelihood (LBS) and maximum parsimony (PBS) analyses, respectively. Values < 50% are not shown.



شکل ۶- درخت تبارزایی حاصل از آنالیز توالی‌های ترکیبی با استفاده از روش بیزین

اعداد روی شاخه‌ها، ارزش حدود اطمینان آنها را نشان می‌دهند (به ترتیب **PP Bayesian, BS Likelihood, BS Parsimony**). مقدار حمایت‌های بالای ۵۰ نشان داده شده است.

Figure 6. Fifty percent majority rule consensus tree resulting from Bayesian analysis of the combined dataset. The numbers above branches are posterior probability (PP) and bootstrap values from maximum likelihood (LBS) and maximum parsimony (PBS) analyses, respectively. Values < 50% are not shown.

بحث

مطالعه رفتار اکولوژیکی گیاهان به عنوان عناصر اصلی اکوسیستم و ویژگی‌های رویشگاهی آنها گامی مهم برای یافتن راه‌حل‌های مناسب برای حفظ، اصلاح و احیاء این بخش مهم از منابع طبیعی تجدیدشونده است. با توجه به پدیده‌های گرمایش زمین و تغییر اقلیم، سرده درمنه به همراه گونه‌هایی که راهبرد زیستی مشابهی از نظر ذخیره آب دارند، جزو گیاهان پیشگام در عرصه‌های طبیعی کشور به‌شمار می‌آیند. متأسفانه پیوستگی این رویشگاه‌ها، به‌دلیل برنامه‌ریزی‌های توسعه‌ای و عمرانی گسسته شده و با پیدایش موانع، عرصه‌های یکپارچه درمنه‌زارها تخریب شده‌است. این رخدادهای انسانی، ظرفیت تبدیل و توازن ژنتیکی را برای گونه‌زایی و ایجاد مراکز تنوع و اندمیسم محدود می‌کنند. براساس بررسی‌های به‌عمل آمده در این مطالعه، مشخص شد که گونه‌های مختلف سرده درمنه با اقلیم منطقه مورد مطالعه به‌خوبی سازگار شده‌اند. گیاهان بوته‌ای درمنه، گیاهانی مناسب برای کشت در مناطقی هستند که دچار مشکل فرسایش خاک‌اند و از آنجا که این مناطق محدودیت منابع آبی دارند، درمنه‌ها در مقابل تنش خشکی مقاوم هستند که این عامل موجب می‌شود گیاهان مزبور در مناطق با بارندگی کم نیز از رویش مناسبی برخوردار باشند. به عبارتی مقاوم بودن این گونه‌ها در برابر تنش خشکی، نقش مهمی در استقرار آنها دارد (Kamali *et al*., 2021).

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق مشخص گردید که گونه‌های مختلف سرده درمنه در خاک‌هایی با بافت متوسط تا سنگین و اغلب لومی، سیلتی لوم، سیلتی کلی، سیلتی کلی لوم با اسیدیته قلیایی (۷/۷ تا ۷/۹ میلی‌موس بر سانتی‌متر) به خوبی استقرار یافته‌اند. این نتیجه با مطالعه Khorami Pour و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد. اندازه‌گیری EC در این مطالعه نشان داد که این خاک‌ها جزو خاک‌های شور بوده و کمتر از یک درصد ماده آلی فقیر دارند. بافت خاک نیز شنی رسی لومی تا رسی لومی است و جزو خاک‌های تقریباً قلیایی می‌باشد.

طبق نتایج بدست‌آمده، بررسی‌های میکروسکوپی بیانگر این بود که دانه گرده در کلیه گونه‌های سرده *Artemisia* که در استان گلستان رویش دارند، به صورت شعاعی متقارن، ایزوپولار، معمولاً از نوع سه‌شیار روزن‌دار هستند. این نتیجه با مطالعه Ghahreman و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی ریخت‌شناسی دانه گرده گونه‌های *Artemisia* در ایران هم‌خوانی دارد. براساس مطالعات تزئینات اگزین بوسیله میکروسکوپ الکترونی SEM، دو تیپ دانه گرده تشخیص داده می‌شود: در نوع I سطح اگزین دارای خارچه‌های نوک تیز و متراکم و نوع II سطح اگزین دارای تراکم کمی از خارچه‌ها بود. شکل دانه گرده مثلثی گرد شده و اگزین ضخیم و دانه‌دار است. ریز بودن خارهای آن یک ویژگی قابل توجه است که دارای ارزش طبقه‌بندی در بین گونه‌ها می‌باشد. این نتایج با یافته‌های Wodehose (۱۹۳۵) مطابقت دارد که نوع گرده این سرده را به ۴ گروه تقسیم کرد. دانه‌های گرده درمنه مطالعه شده در ایران از دسته اول هستند. ویژگی‌های گرده در بین گونه‌ها مشابه است. خصوصیات دانه‌های گرده در درمنه از نظر طبقه‌بندی اهمیت چندانی ندارد. تقسیم این سرده به سه زیرسرده بر اساس ساختار گل توسط داده‌های گرده‌شناسی به دست نمی‌آید، زیرا ریخت‌شناسی گرده گونه‌های مورد بررسی از نظر اندازه، شکل و تزئینات بسیار مشابه است. این داده‌ها ارزش تشخیصی زیادی برای جداسازی همه گونه‌های سرده ندارند، اما می‌توانند در برخی از گونه‌ها مفید باشند. نتایج ما، مرتبط با داده‌های دیگر مانند ریخت‌شناسی، به ما امکان داد تا نتیجه بگیریم که درمنه یک گروه بسیار ناهمگن است.

مطالعه این تبارزایی نشان داد که همه گونه‌های مورد بررسی درمنه یک گروه تک‌نیا با حمایت بالا (PP =1.00, ML BS =100, MP BS=100) را تشکیل می‌دهند. در این مطالعه که روی چهار گونه انجام شد مطالعات هسته‌ای، کلروپلاستی و ترکیبی حاصل از تجزیه توالی نشان می‌دهد که همه گونه‌های مورد بررسی یک گروه تک‌نیا با حمایت بالا (PP =1.00, ML BS =100, MP BS=100) را تشکیل می‌دهند. در درخت مولکولی دو گروه اصلی تشخیص داده شد. گونه *A. annua* که گونه‌ای یکساله است در کلادی

مجزا در مجاورت گونه‌های چندساله قرار گرفت که نشان‌دهنده مونوفایلتیک بودن گونه‌های چندساله می‌باشد. مطالعات پیشین نشان داد که بر اساس صفات تشریحی برخی گونه‌ها در کمپلکس‌هایی قرار می‌گیرند که از نظر ریخت‌شناسی نیز به هم نزدیک‌اند. گونه‌های کمپلکس‌های *A.aucheri* و *A.sieberi* متعلق به زیرجنس *Serephidium* صفات مشترکی دارند که ارتباط نزدیک بین آنها را تأیید می‌کند (Noorbakhsh *et al*., 2008). برای طبقه‌بندی ۳۱ گونه درمنه Hayat و همکاران (۲۰۰۹) از نشانگر ITS استفاده کردند و نتیجه گرفتند که این نشانگر به تنهایی توانایی کمی در تشخیص صفات و خصوصیات سرده درمنه دارد. Lee و همکاران (۲۰۰۹) از ناحیه trnL-F برای بررسی تنوع در ۲۱ گونه درمنه استفاده کردند. نتایج آنان نشان داد این ناحیه به تنهایی برای طبقه‌بندی و بررسی رابطه میان گونه‌ها کافی نیست. این یافته‌ها در تأیید نتایج این مطالعه است که داده‌های هسته‌ای و کلروپلاستی به صورت ترکیبی قدرت تفکیک بهتری را نشان می‌دهند.

سطح پلوئیدی نیز در تشخیص روابط تکاملی میان گروه‌های مختلف گیاهی و روشن کردن گروه‌بندی‌های فیلوژنتیکی مهم است. پلی‌پلوئیدی یک فرایند تکاملی در گیاهان گلدار است، این نقش در تکامل و هدایت گونه‌زایی در سرده درمنه نیز مهم و اساسی است (Jalili, 2016). سطوح پلوئیدی متفاوت در سرده درمنه وجود دارد (Jackson, 1976; Ehrendorfer, 1980). پلی‌پلوئیدی به‌عنوان سازوکار تکاملی اصلی در گیاهان و به‌ویژه در درمنه شناخته شده است. در گونه‌های این سرده جمعیت‌های دیپلوئید و پلی‌پلوئید دیده می‌شود (McArthur,1981). همان‌طورکه Dolatyari و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه سیتولوژی ۲۸ گونه از سرده درمنه در ایران، سطوح پلوئیدی مختلف ازجمله دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید را تشخیص دادند. ۴۰ درصد از نمونه‌های مورد بررسی پلی‌پلوئید و ۱۷ درصد دارای کروموزوم B گزارش شدند. Jalili (۲۰۱۶) نیز به‌طور کامل اطلاعات کروموزومی و سطح پلی‌پلوئید درمنه در ایران و نقش پلی‌پلوئیدی را در تمام گونه‌های این سرده گزارش کرده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از روش مولکولی همراه با ترکیبی از نشانگرهای مختلف می‌تواند در شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات ریختی در درمنه مؤثر باشد. البته لازم است نشانگرهای شناسایی شده در چنین مطالعاتی در جمعیت‌های بزرگ مورد بررسی قرار گیرد تا از ارتباط آنها با صفات مورد مطالعه اطمینان حاصل شود و کارایی کاربرد این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی افزایش یابد. با توجه به اینکه بیشتر نشانگرهای تولیدی توسط آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق بر روی صفات مورد مطالعه مؤثر بودند، بنابراین احتمال دارد بتوان از این آغازگرها در برنامه‌های اصلاحی درمنه برای شناسایی والدین مناسب برای تهیه جمعیت‌های نقشه‌یابی و تولید ارقام هیبرید یا نیمه‌هیبرید استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که خصوصیات بوم‌شناختی، ریزریخت‌شناسی و داده‌های مولکولی در تمایز گونه‌های درمنه مفید است. سرده درمنه با توجه به سازش اکولوژیکی و شدت سازگاری بالا در شرایط طبیعی به فراوانی در ایران پراکنش دارد. اما متأسفانه تغییر کاربری اراضی و تبدیل عرصه‌های طبیعی به محیط‌های زراعی موجب شده عرصه‌های درمنه‌زارها کوچک شده و گونه‌زایی و تنوع محدود شود. بررسی روابط خویشاوندی بین گونه‌ها و تکامل صفات، می‌تواند به‌عنوان ابزاری در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقی‌های بین گونه‌ای استفاده شود. بنابراین اطلاعات بدست‌آمده می‌تواند برای حفظ و تعادل درمنه‌زارها کمک فراوانی بکند.

منابع مورد استفاده

– Ahadi Dolatsara, E., Salami, S. A., Shokrpour, M., Naghavi, M.R. and Soorni, A., 2015. Evaluation of chloroplast DNA diversity and phylogenetic relationship among 28 Iranian artemisia species. Iranian Journal of Horticultural Sciences, 45 (4):

of Biotechnology. 8(11): 2423-2428.
– Hussain, A., Potter, D., Kim, S., Hayat, M.Q. and Bokhari, S.A.I., 2019. Molecular phylogeny of Artemisia (Asteraceae-Anthemideae) with emphasis on undescribed taxa from Gilgit-Baltistan (Pakistan) based on nrDNA (ITS and ETS) and cpDNA (psbA-trnH) sequences. Plant Ecology and Evolution, 152(3): 507-520
– Jackson, R.C., 1976. Evolutionary and systematic significance of polyploidy. Annual Review of Ecology and Systematics. 7 (1): 209-234.
– Jafari, M., Zare Chahooki, M.A., Rahimzadeh, N. and Shafihzade Nasrabadani, M., 2008. Comparison of litter quality and its effect on habitat soil of three range species in Vardavard region. Range Journal, 12 (1): 1-10. (In Persian).
– Jafari-Parizi, M., Afsharzadeh, S., Akafi, H. and Abbasi, S., 2014. Ecological study of *Artemisia aucheri* communities in three rangelands of Isfahan province. Journal of Plant Ecosystem Conservation, 2 (4):79-94. (In Persian).
– Jalili, A., 2016. Ecology, Evolution and Biogeography of Artemisia L. Research institute of Forest and Rangeland. Tehran, Iran. (In Persian).
– Kamali, N., Jalili, A., Ashouri, P. and Khodagholi, M., 2021. Artemisia, the largest rangeland ecosystem in Iran. Iran nature, 6 (5): 35 – 43. (In Persian).
– Khorami Pour, S., Mafi Gholami, R. and Jahani, A., 2019. An investigation on the possibility of heavy metal (Pb and Ni) phytoremediation from plant *Artemisia Sieberi* In Mohammadabad Waste Disposal Site In Ghazvin. Journal of Environmental Science and Technology, 21 (89): 93 – 105. (In Persian).
– Lee, J.H., Lee, J.W., sung, J.S., bang, K.H. and Moon, S.G., 2009. Molecular Authentication of 21 Korean Artemisia Species (Compositae) by Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism Based on trnL–F Region of Chloroplast DNA. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 32, 1912-1916.
– Lu, L. L., Jiao, B. H., Qin, F., Xie, G., Lu, K. Q., Li, J. F., and Wang, Y. F., 2022. Artemisia pollen dataset for exploring the potential ecological indicators in deep time. Earth System Science Data, 14(9): 3961-3995.
– Magurran, A.E., 1988. Ecological diversity and its measurement, Princeton University Press, Princeton. New Jersey, 179 p.
– Mahmood, T., Hassan, N., Nazar, N. and Naveed, I., 2011. Phylogenetic analysis of different Artemisia species based on chloroplast gene rps11. Archives of 401- 415. (In Persian).
– Bagheri, R., Kharazmi, H. and Jaberi Ansari, S. 2013. Determining the ecological needs of Artemisia persica boiss in its natural habitats in Kerman. Plant and Ecosystem, 8: (33-1). 80 -90. (In Persian).
– Chamani, A., Heshmati, Gh. and Karimian, V., 2015. Assessing soil surface indicators in shrubland different patches (Case Study: Goob Gogjeh rangeland of Golestan province). Environmental Erosion Research, 4 (16): 1-11.
– Chehregani Rad, A., Atri, M. and Yousefi S., 2011. Study of intraspecific diversity of Artemisia incana (L.) Druce in east Azerbaijan. Journal of cell & tissue, 2 (3): 245 - 256. (In Persian).
– Dolatyari, A., Vallès, J., Naghavi, M.R. and Shahzadeh Fazeli, S.A., 2013. Karyological data of 47 accessions of 28 Artemisia (Asteraceae, Anthemideae) species from Iran, with first new reports for Iranian populations and first absolute counts in three species. Plant Systematics and Evolution, 299 (1): 1503–1518.
– Ehrendorfer, F., 1980. Polyploidy & distribution. In: Polyploidy: Biological Relevance (Lewis, W.H., ed.). Plenum Press, New York, pp. 45-60.
– Erdtman, G. 1943: An Introduction to Pollen Analysis.Waltham Mass., 239 pp.
– Farsi, M. and Zolali, J., 2004. Principle of Plant biotechnology. Ferdowsi Mashhad University Press, 495 pp. Mashad, Iran. (In Persian).
– Gavili Kilaneh, E. and Vahabi, M.R., 2012. The effect of some soil characteristics on range vegetation distribution in central zagros, Iran. Water and soil science (Journal Science Technology Agriculture and Natural Resources), 16 (59): 245-258.
– Ghahreman, A., Noorbakhsh, S., Mehdigholi, K. and Attar, F., 2007. Pollen morphology of Artemisia L. (Asteraceae) in Iran. The Iranian Journal of Botany. 13 (1): 21-29.
– Gholami, F., Dianati Tilak, G.A. and Behtari, B., 2011. Study of allelopathic effect of Artemisia herbaalba Asso. on seed germination and seedling growth of Onobrychis sativa L. and Medicago sativa L. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 19 (1): 181-191. (In Persian).
– Halbritter H, Ulrich S, Grímsson F, Weber M, Zetter R, Hesse M, Buchner R, Svojtka M, Frosch-Radivo A. (2018) Illustrated Pollen Terminology. Illustrated Pollen Terminology. Springer International Publishing, 487 pp.
– Hayat, M.Q., Ashraf, M., Khan, M.A., Mahmood, T., Ahmad, M. and Jabeen, S.H., 2009. Phylogeny of Artemisia L.: Recent developments. African Journal

– SeyedRahmani, R., Naghavi, M.R., Mohammadi, V. and Ranjbar, M., 2014. Relationship between expression of main MEP pathway genes and monoterpenes contents in *Artemisia annua*. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 22 (2): 192-200. (In Persian).
– Shaw, J. et al., 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in Angiosperms: the tortoise and the hare III. – American Journal of Botany, 94 (1): 275–288.
– Swofford, D. L., 2002. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods), ver. 4.0b10. - Sinauer Associates, Sunderland.
– Ter Braak, C.J.F. and Prentice, I.C., 1988. A theory of gradient analysis. Advances in Ecological Research, 18 (1): 271-317.
– Watson, L. E., Bates, P.L., Evans, T.M., Unwin, M.M. and Estes, J.R., 2002. Molecular phylogeny of Sub tribe Artemisiinae (Asteraceae), including Artemisia and its allied and segregate genera. Evolutionary Biology, 17 (2):1-12.
– Wodehose, R.P., 1935. Pollen grains; their structure, identification and significance in science and medicine. McGraw-Hill Book Company. First edition.
– Zare Chahouki, M.A., Jafari, M. and Azarnivand, H., 2008. Relationship between vegetation diversity and environmental factors in poshtkouh rangelands of Yazd Province. Pajouhesh-Va-Sazandegi, 21 (1): 192-199. (In Persian).
– Zohary, M., 1973. Geobotanical Foundation of the Middle East. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Germany. Biological Sciences. 63: 661-665.
– McArthur, E.D, Pope, C.L., and Freeman, D.C., 1981. Chromosomal studies of subgenus Tridentatae of Artemisia: evidence for autopolyploidy. American Journal of Botany, 68 (1): 589-605.
– Mirhaji, S.T., Jalili, A., Jafari, M., Akbarzadeh, M. and Farzaneh, Z., 2001. Ecological comparison of Artemisia species in Semnan Province. Pajouhesh-Va-Sazandegi. 14 (3): 95 - 102. (In Persian).
– Moghadam, M.R., 2009. Range and Range management. University of Tehran Pub., Tehran, 470 p. (In Persian).
– Molaei, M. and Ghorbani, A., 2021. Effects of ecological factors on the distribution of Artemisia melanolepis and Artemisia aucheri in southeast of Sabalan, Iran. Ecopersia, 9 (1): 95-104.
– Mozaffarian, V., 1988. Botanical Study of Artemisia L. in Iran. Thesis for master degree of science, - Faculty of Science, Tehran University. (In Persian).
– Noorbakhsh, S.N., Ghahreman, A., Attar, A. and Mahdigholi, K., 2008. Leaf anatomy of Artemisia (Asreraceae) in Iran and ITS taxonomic implications. Iranian Journal of Botany, 14 (1). 54-69
– Parsa, A., 1978. Flora of Iran. Ministry of Science and Higher Education of Iran. 500 pages.
– Posada, D. and Buckley, T.R., 2004. Model selection and model averaging in phylogenetics: Advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. Systematic Biology, 53: 793–808.
– Ronquist, F. and Huelsenbeck, J., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 19: 754–755.