فصلنامه‌ی داروهای گیاهی

Journal homepage: www.ojs.iaushk.ac.ir

مطالعه سیتوژنتیکی دو گونه خارشتر *Alhagi pseudoalhagi* و *Alhagi graecorum*

مریم ابراهیم پورنورآبادی[۱]، زهرا یزدان بخش[۲]، مریم کشاورزی[۳]*

۱. گروه زیست شناسی ، واحد علوم وتحقیقات فارس ، دانشگاه آزاد اسلامی ، شیراز، ایران؛

۲. ، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ابرکوه ، یزد، ایران؛

۳. گروه زیست شناسی دانشگاه الزهرا، ونک، تهران، ایران؛

** مسئول مکاتبات* **E-mail:** *neshat112000@yahoo.com*

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۶/۱۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۰۸/۲۷

نوع مقاله: پژوهشی-کوتاه

موضوع: گیاهشناسی-ژنتیک

کلید واژگان :

- ✓ *Alhagi pseudoalhagi*
- ✓ *Alhagi graecorum*
- ✓ *کروموزوم*
- ✓ *تنوع*

چکیده

مقدمه و هدف: دو گونه مهم خارشتر دارویی *A. pseudoalhagi* و *A. graecorum* به صورت خودرو در ایران پراکنش دارند. جوشانده ریشه خارشتر ضد هموروئید می باشد و مواد حاصل این گیاه مسهل و مدر هستند. در طب سنتی ایران ماده ترنجبین از فعالیت نوعی سخت بالپوش بر روی سر شاخه های این گیاه حاصل می شود. با توجه به خواص دارویی *Alhagi*، بررسی آن از جنبه های گوناگون ارزشمند است و در این تحقیق جمعیت های مختلف گونه های خارشتر از نظر رفتار میوزی مورد بررسی قرار گرفتند.

روش تحقیق: در این تحقیق ۱۷ جمعیت از دو گونه این گیاه در ایران برای اولین بار مورد بررسی سیتوژنتیکی قرار گرفتند. به این منظور سلولهای مادر گرده در مراحل مختلف میوز مطالعه و عکسبرداری شدند. آزمون تعیین باروری برای جمعیتهای مورد بررسی انجام شد. اطلاعات مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج و بحث: تعداد کروموزوم ها در همه گونه ها $2n = 2x = 16$ بود. جمعیت های مورد مطالعه رفتار منظمی طی میوز نشان دادند و ناهنجاریهایی مانند پل آنافازی در آنافاز I، چسبندگی در متافاز I ، کروموزوم-های سرگردان در متافاز I و آنافاز I ، وجود بیوالنت حلقه ای و میله ای، یونی والنت، کوادری والنت و تری پلار مشاهده شد که چنین تغییرات ساختاری در کروموزوم باعث افزایش تنوع ژنتیکی شده و سازگاری با شرایط محیطی را می تواند افزایش دهد. با تجزیه و تحلیل آماری متغیرترین صفات میوزی بیوالنت حلقه ای، کیاسمای انتهایی، کیاسمای میانی و تعداد کوآدری والنت و یونی والنت بودند. B کروموزوم از یک تا ۵ عدد در گونه های مورد بررسی مشاهده شد.

توصیه کاربردی صنعتی: نتایج این تحقیق می تواند راهگشای پژوهش های بعدی به منظور افزایش ترکیبات موثر دارویی و بهینه سازی آنها در گیاه خارشتر از طریق اصلاح ژنتیکی باشد.

۱. مقدمه

خانواده Fabaceae (باقلا) شامل ۵۵۰ جنس و بیش از ۱۳۰۰۰ گونه می باشد (Bolus, 2000). گونه های بسیاری در این خانواده به سبب خواص دارویی مورد استفاده قرار می گیرند (Lewis & Lewis, 1977). *Alhagi* با نام فارسی خارشتر، گونهی دارویی بسیار مهمی در طب سنتی و فارماکوپه گیاهی ایرن است که دارای دو گونه به نام های *A. pseudoalhagi* (M.B) Desv. و *A. graecorum* Boiss. میباشد (Sheidai et al., 2001) ماده موثره حاصل از این گیاه دارای خاصیت مسهل و مدر است (زرگری، ۱۳۷۰). جوشانده غلیظ ریشه های آن به عنوان دارو در درمان هموروئید کاربرد دارند. همچنین جوشانده اندام هوایی آن برای معالجه عفونت های روده کاربرد دارد (Khalmatov, 1964). علاوه بر آن به عنوان هضم کننده، مقوی و نیروبخش و در معالجه برونشیت، جذام و بیماری های پوستی مورد استفاده قرار می گیرد.

Archive of SID

www.SID.ir

این گیاه باعث تحریک سیستم عصبی مرکزی شده و فعالیت مغزی و قلبی را افزایش می دهد (Al-Yahya *et al.*, 1987).

A. graecorum دارای ترشحاتی به نام ترنجبین می باشد که از فعالیت نوعی حشره سخت بالپوش بر روی سر شاخه های جوان این گیاه حاصل می شود و موارد استفاده دارویی زیادی دارد (هاشمی، ۱۳۶۵؛ امین، ۱۳۷۰؛ زرگری، ۱۳۷۰). اصطلاح «مانا» (Mann) برای ترشحات قندی ترنجبین به کار میرود (Townsend & Guest, 1974).

نتایج مطالعات فیتوشیمیایی گونه های *Alhagi* نشان می دهد که این گیاه حاوی ترکیباتی نظیر استرولها و اسیدهای چرب (Ghosal *et al.*, 1973; Kudliki *et al.*,1991; Kalhoro *et al.* 1997)، فلاونوئیدها (Alyahya *et al.* 1987; El-Saayed *et al.*, 1993;Singh *et al.*, 1999)، کومارینها (Behari & Gupt,1980)، آلکالوئیدها (Behari & Gupt,1980) و ویتامینها می باشند.

امانی و همکاران (Amani *et al.*, 2006) شش فلاونوئید گلیکوزید اصلی را از عصاره اتانول گیاه *A. graecorum* استخراج کردند. شیدایی و همکاران (Sheidai *et al.*, 2002) دو گونه *A. pseudoalhagi*, *A. graecorum* را از نظر کاریوتیپی مورد بررسی قرار دارند. همچنین آنها پروتئین های ذخیره ای بذر این دو گونه را مطالعه کردند. با توجه به خواص دارویی *Alhagi*، بررسی آن از جنبه های گوناگون ارزشمند است و در این تحقیق جمعیت های مختلف گونه های خارشتر از نظر رفتار میوزی مورد مطالعه قرار گرفتند.

۲. مواد و روشها

غنچه های ۱۳ جمعیت از *A. pseudoalhagi* و *A. graecorum* از رویشگاههای طبیعی جمع آوری شدند (جدول ۱). غنچه ها در محلول فارمر (۱ قسمت اسیداستیک گلاسیال: ۳ قسمت اتانول ۹۶ درصد) به مدت ۲۴ ساعت تثبیت شدند. پس از ۲۴ ساعت غنچه ها به خوبی با آب مقطر شسته و تا زمان بررسی در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. سپس غنچه هایی که از نظر اندازه مناسب بودند، انتخاب و با کارمن زاجی رنگ آمیزی شدند. سلول های مادر گرده در مراحل مختلف میوز مورد مطالعه قرار گرفتند. برای تعیین باروری گرده حداقل ۱۰۰۰ دانه گرده به وسیله ۵۰٪ استواورسئین: ۵۰٪ گلیسرین (۱:۱) به مدت ۱۰ دقیقه رنگ آمیزی شدند. گرده - های کروی و کامل که به خوبی رنگ گرفته بودند، بارور و گرده های ناقص و چروکیده که به خوبی رنگ نگرفته بودند، نابارور در نظر گرفته شدند (Sheidai & Rashid, 2007).

به منظور تعیین نزدیکی خویشاوندی گونه ها و جمعیت های مورد مطالعه تجزیه خوشه ای انجام شد و برای مشخص شدن متنوع ترین صفات میوزی از تجزیه عامل استفاده گردید. تجزیه و تحلیل های آماری به وسیله نرم افزار SPSS Ver.15 انجام شد.

جدول ۱. مشخصات گونه ها و جمعیت های مورد بررسی *A. pseudoalhagi* و *A. graecorum*

گونه		محل جمع آوری
A. pseudoalhagi	۱.	فارس، شیراز، پارک آزادی، ابراهیم پور
	۲.	فارس، شیراز، مرودشت، ابراهیم‌پور
	۳.	فارس، لامرد، ابراهیم پور
	۴.	فارس، قیروکارزین، ابراهیم پور
	۵.	فارس، جهرم، ابراهیم پور
	۶.	فارس، آباده، ابراهیم پور
	۷.	یزد، فراغه، یزدان بخش
	۸.	تهران، چیتگر، کیانی
	۹.	خوزستان، اهواز، ابراهیم‌پور
	۱۰.	بوشهر، برازجان، سرطانه
	۱۱.	کرمان، کهنوج، رشیدی
	۱۲.	خوزستان، گچساران، محمدی
	۱۳.	اصفهان، سمیرم،ابراهیم پور

Archive of SID

www.SID.ir

A. graecorum	۱.	خوزستان، شوشتر، ابراهیم‌پور
	۲.	خوزستان، ایذه، کوه الهک، ابراهیم پور
	۳.	ایلام، ایلام، پارک جنگلی ارغوان،ابراهیم پور
	۴.	ایلام، مهران، دشت امیرآباد، ابراهیم پور

۳. نتایج و بحث

میانگین کیاسمای انتهایی، میانگین کیاسمای میانی، میانگین بیوالنت حلقه‌ای، میانگین بیوالنت میله ای، میانگین یونی والنت، میانگین کوادری والنت، میانگین B کروموزم در میوسیت، درصد باروری گرده در این پژوهش مورد بررسی واقع شدند.

رفتار کروموزومی در ۱۳ جمعیت از گونه *A. Pseudoalhagi* مورد مطالعه قرار گرفت. در جمعیت شیراز دانه های گرده 2n و n و نیز در آنافاز I کروموزوم B مشاهده شد. در سایر جمعیتهای این گونه نیز از ۱ تا ۵ کروموزوم B مشاهده شد. پدیده های تری پلار و کروموزوم سرگردان در جمعیتهای مختلف این گونه مشاهده شد.

صفات میوزی ۴ جمعیت مختلف از گونه *A. graecorum* مورد مطالعه قرار گرفت. در این جمعیتها نیز بی والانت میله ای و حلقوی، یونی والنت و B کروموزم به تعداد ۱ تا ۳ دیده شد.

در نمونه های مورد بررسی بالاترین کیاسمای انتهایی در جمعیت گچساران از *A. pseudoalhagi* و بیشترین کیاسمای میانی در جمعیت اهواز در گونه *A. pseudoalhagi* دیده شد. جمعیت مهران از *A. graecorum* و جمعیتهای مرودشت و گچساران گونه *A. pseudoalhagi* دارای بالاترین بیوالنت حلقه ای بودند. بیشترین بیوالنت میله ای در جمعیت لامرد در گونه *A. pseudoalhagi* مشاهده شد. در جمعیت های مورد بررسی دارای یونی والنت جمعیت سمیرم اصفهان نیز دارای بالاترین یونی والنت بود. کوادری والنت نیز در جمعیت های اصفهان، یزد و آباده در گونه *A. pseudoalhagi* و مهران گونه *A. graecorum* دیده شد. در جمعیت های مورد مطالعه باروری گرده ها بین ۹۵٪ تا ۹۸٪ بود.

جدول ۲. میانگین و دامنه صفات میوزی مطالعه شده در گونه ها و جمعیت های مورد بررسی *A. pseudoalhagi* و *A. graecorum*

گونه	جمعیت	میانگین B کروموزم	میانگین بیوالنت میله ای	میانگین بیوالنت حلقه‌ای	میانگین کوادری والنت	میانگین یونیوالنت	میانگین کیاسمای میانی	میانگین کیاسمای انتهایی
A. Pseudoalhagi	شیراز	۲	۳/۵	۴	۰	۰/۵	۳	۱۰/۵
	مرودشت	۱	۰/۸	۶/۵	۰	۱/۳	۵/۵	۱۲/۸
	فراغه	۳	۳/۸	۳/۷	۱	۰/۵	۲/۳	۹/۸
	چیتگر	۱	۴/۵	۳/۵	۰	۰	۱/۸	۱۰/۵
	اهواز	۲	۳/۲	۴/۸	۰	۰/۵	۵/۸	۱۱/۴
	برازجان	۳	۱	۵/۳	۰	۳/۳	۴/۸	۱۱
	کهنوج	۲	۲/۳	۳/۳	۰	۱/۳	۳	۱۰/۷
	لامرد	۱	۵	۲/۷	۰	۰/۷	۲	۸/۳
	گچساران	۲	۱/۵	۶/۵	۰	۰	۵/۵	۱۴
	قیروکارزرین	۱	۲/۵	۵/۵	۰	۰	۳	۱۱/۵
	جهرم	۲	۲/۵	۵	۰	۱	۴/۵	۱۰/۸
	سمیرم	۲	۳	۳	۱	۳/۵	۱/۸	۷/۸
	آباده	۳	۱/۷	۴	۰/۳	۰/۷	۲	۱۱
A. graecorum	شوشتر	۳	۲/۷	۴/۷	۰	۱/۳۳	۲/۳	۱۱
	ایذه	۲	۴	۳/۵	۰	۱	۱/۳	۱۰/۸
	ایلام	۲	¾	۳/۵	۰	۰	۲/۵	۹/۵
	مهران	۱	۱/۵	۶/۵	۱	۰	۵/۳	۱۳/۸

www.SID.ir

در میان گونه ها و جمعیت ها، تجزیه عامل به منظور شناسایی متغیرترین صفات میوزی مطالعه شده انجام گرفت. تجزیه های اولیه نشان می دهد که عامل اول و دوم در مجموع بیش از ۷۷٪ از کل تنوع را باعث شده اند. در عامل اول با ۵۵/۲۴٪ از تنوع شامل صفات: بیوالنت حلقه ای ، کیاسمای انتهایی، کیاسمای میانی و عامل دوم واجد صفات کوادری والنت و یونی والنت می باشد. دندروگرام های حاصل از تجزیه خوشه ای نشان می دهد که گروهبندی تاکسونهای مورد بررسی بر مبنای خصوصیات یاخته شناسی میوز با سطوح مرسوم رده بندی در این جنس تطابق نداشت.

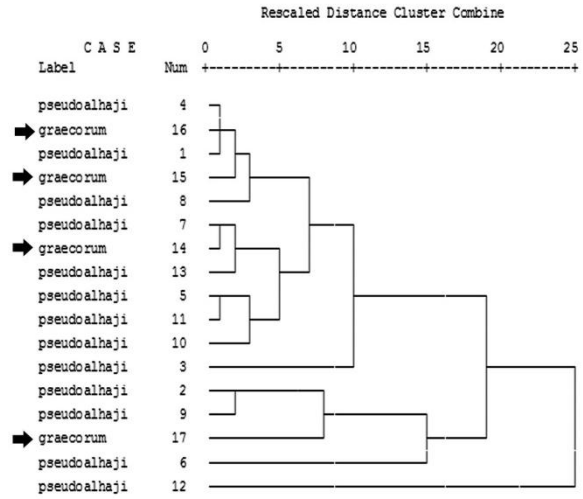
جدول ۳. رفتار کروموزومی در جمعیت های مورد بررسی *A. pseudoalhagi* و *A. graecorum* در مراحل مختلف میوز.

گونه	جمعیت	تری‌پلار	کروموزم سرگردان٪			چسبندگی٪		
			آنافاز II	آنافاز I	متافاز I	آنافاز II	آنافاز I	متافاز I
A. pseudoalhagi	شیراز	۱	۰	۰	۰/۵	۰	۰	۰/۶۶
	مرودشت	۰/۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	فراغه	۰/۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۸
	چیتگر	۳	۰	۲/۳	۰	۰	۰	۰/۴۳
	اهواز	۲	۰	۰	۰	۰	۰/۶۶	۰/۳۳
	برازجان	۴	۰	۱	۰/۲۵	۰	۰	۰/۳
	کهنوج	۱/۶۶	۰	۰	۰/۷۵	۰	۰/۲۵	۰
	لامرد	۳	۰	۲	۰/۴۴	۰	۰/۲۵	۰/۲۲
	گچساران	۱/۵	۰	۱/۲	۰/۲	۰	۰/۷۳	۰/۷۵
	قیروکارزین	۰/۳۳	۰	۰	۰/۴	۰	۱	۰
	جهرم	۲/۷۵	۰	۰	۰/۱۶	۰	۰	۰
	اصفهان	۰/۷۵	۰	۳	۰/۷	۰	۰	۰/۵
	آباده	۲/۳۳	۰	۰	۰/۳۳	۰	۰	۰
A.graecorum	شوشتر	۲/۴	۰	۰	۲	۰	۱/۶۶	۳/۳۳
	ایذه	۱/۲	۰	۱	۴/۲	۰	۰	۵
	ایلام	۳/۴	۰	۰	۳/۸	۰	۰	۲
	مهران	½	۰	۰/۵	۳	۰	۰	۲/۵

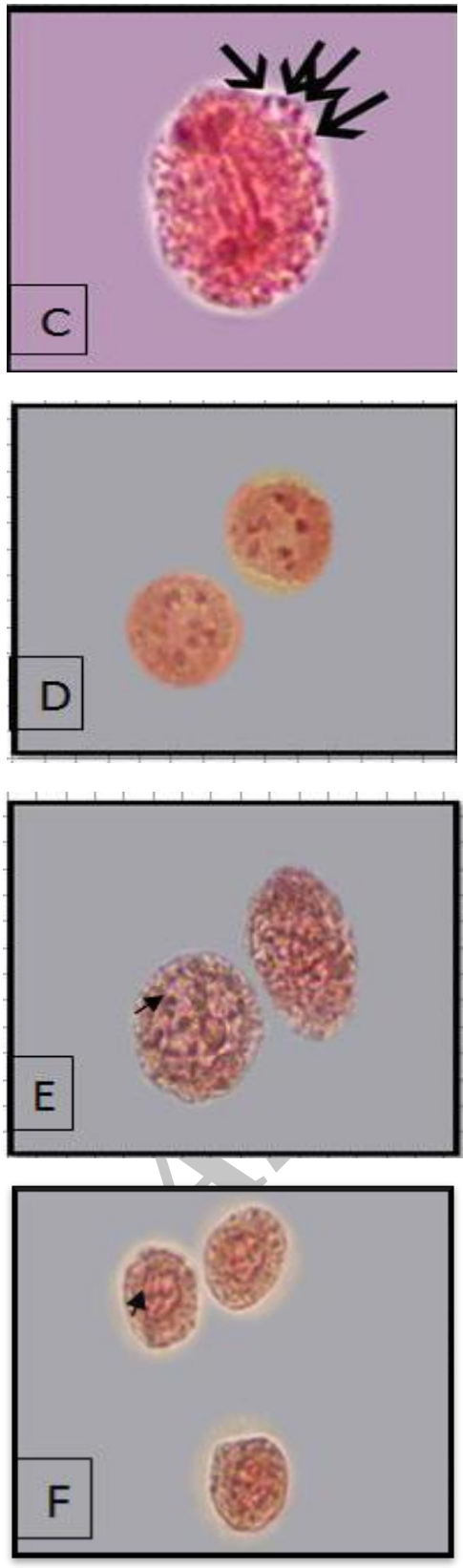
جدول ۴. مقادیر عامل اول و دوم حاصل از تجزیه به عامل ها در جنس *Alhagi*

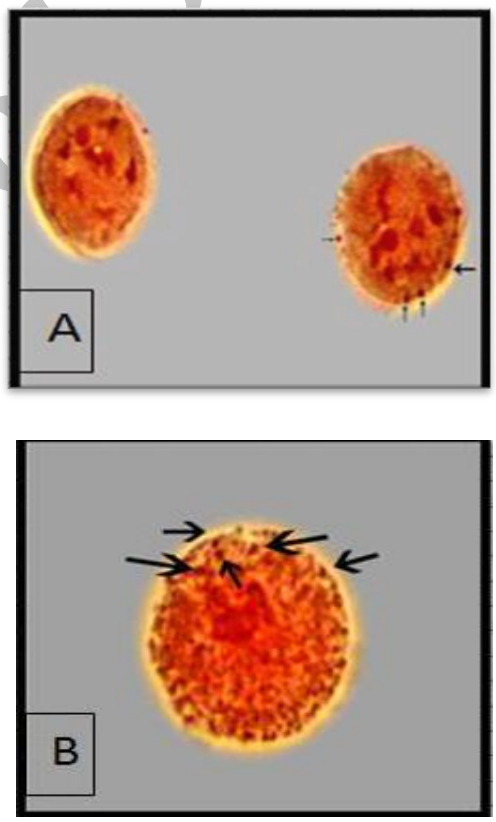
صفت	عامل اول	عامل دوم
بیوالنت حلقه ای	۰/۹۷۱	-
کیاسمای انتهایی	۰/۹۲۹	-
کیاسمای میانی	۰/۸۸۴	-
یونی والنت		۰/۸۷۵

www.SID.ir

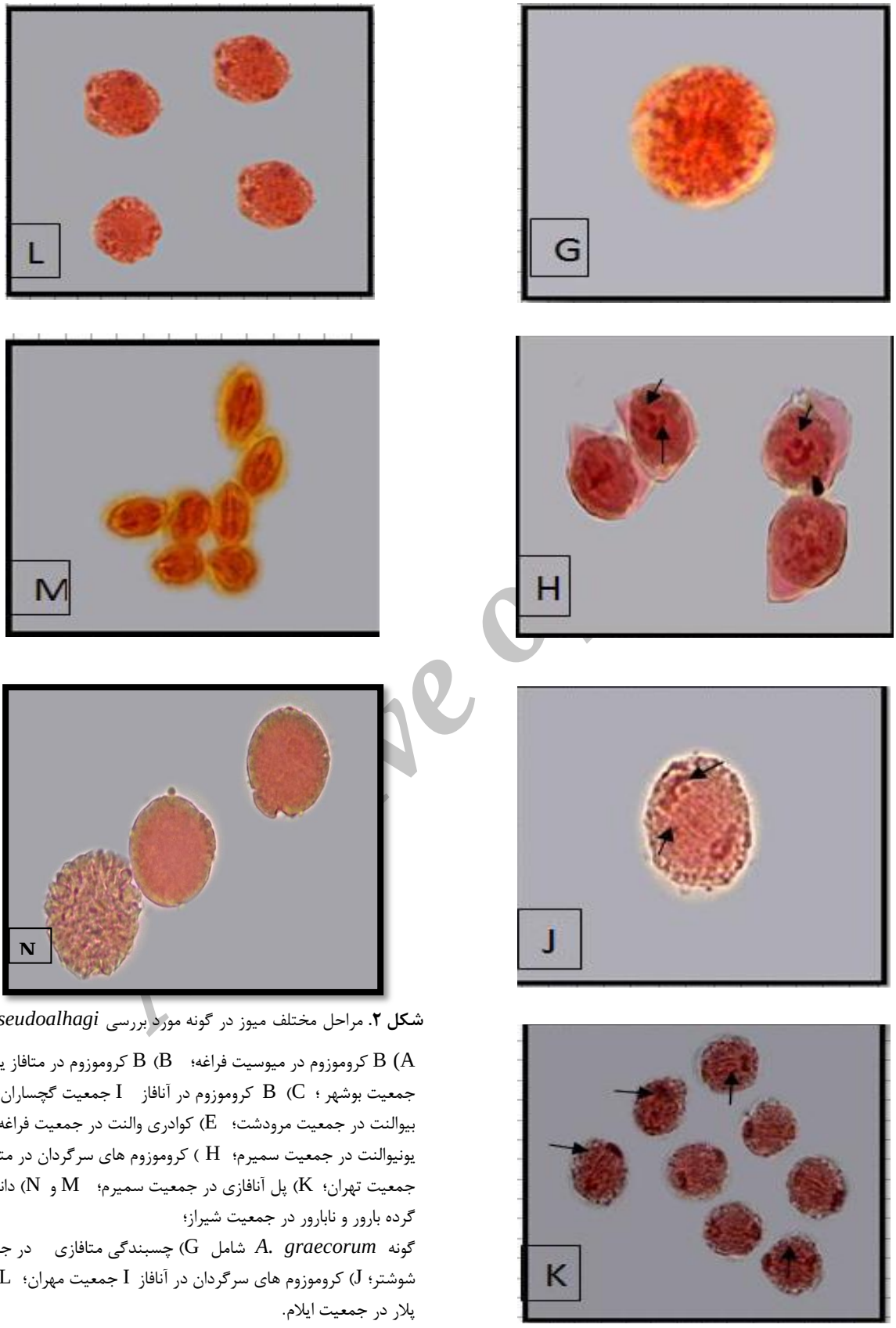


شکل ۱. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای براساس صفات میوزی در جمعیت های *Alhagi*





www.SID.ir



شکل ۲. مراحل مختلف میوز در گونه مورد بررسی *A. Pseudoalhagi*

A) کروموزوم در میوسیت فراغه؛ B) کروموزوم در متافاز یک در جمعیت بوشهر ؛ C) کروموزوم در آنافاز I جمعیت گچساران؛ D) بیوالنت در جمعیت مرودشت؛ E) کوادری والنت در جمعیت فراغه؛ F) یونیوالنت در جمعیت سمیرم؛ H) کروموزوم های سرگردان در متافاز I جمعیت تهران؛ K) پل آنافازی در جمعیت سمیرم؛ M و N) دانه های گرده بارور و نابارور در جمعیت شیراز؛

گونه *A. graecorum* شامل G) چسبندگی متافازی در جمعیت شوشتر؛ J) کروموزوم های سرگردان در آنافاز I جمعیت مهران؛ L) تری پلار در جمعیت ایلام.

www.SID.ir

۴. نتیجه گیری

جنس خارشتر با ۲n = 2x = ۱۶ کروموزوم، دیپلوئید بوده و حضور B کروموزومها در متافاز نیز در این جنس تایید شده است (Sheidai *et al.*, 2001). از نظر رفتار میوزی، برخی بی نظمی های میوزی مانند پل آنافازی، چسبندگی در متافاز I ، کروموزوم سرگردان در متافاز I ، B کروموزوم در میوسیت، وجود بیوالنت حلقه ای و میله ای، یونی والنت، کوادری والنت و تری پلار مشاهده شد. چنین تغییرات ساختاری کروموزومی باعث افزایش تنوع ژنتیکی و سازگاری با شرایط محیطی می شوند (Sheidai *et al.*, 2007). وجود اختلاف در شکل و اندازه کروموزوم ها و نیز رفتار کروموزوم ها در مراحل مختلف تقسیم میوز به ویژه تشکیل کیاسما می تواند بیانگر اختلافات ژنتیکی باشد (موسی پورگرجی و هم - کاران، ۱۳۸۴). در نهایت می توان گفت این تحقیق قدمی بنیادین جهت فهم و درک بهتر فرآیندهایی است که باعث تکامل و تنوع ژنتیکی در این گیاه شده است. این که آیا B- کروموزومها و هم- چنین تعداد و نوع کیاسماها رابطه ای با تولید متابولیت های ثانویه و ترکیبات دارویی دارند یا نه، مطالعات بیشتری را می طلبد.

۵. منابع

امین، غ. ۱۳۷۰. *گیاهان دارویی و سنتی ایران*. جلد اول. معاونت پژوهشی بهداشت درمان و آموزش پزشکی.

زرگری، ع. ۱۳۷۰. *گیاهان دارویی*. جلد دوم. انتشارات دانشگاه تهران.

هاشمی، م. ۱۳۶۵. *گیاه خارشتر*. انتشارات کمیته مشترک دفتر فنی مرتع و سازمان ترویج کشاورزی.

موسی پور گرجی، الف. شیدایی، م. احمدیان تهرانی، پ. میرزایی ندوشن، ح. ۱۳۸۴. بررسی تنوع ژنتیکی یونجه های یکساله با توجه به مطالعات کاریوتیپی. *نهال و بذر*. ۲۱: ۶۱۶- ۶۰۱.

Al-Yahya, M.A., Mossa, J.S., Albadr, A., Tariq, M. and Al- Mesai, I.A. 1987. Phytochemical and biological studies on Saudi medicinal Part 12, A study on Saudi plants of family Leguminosae. *Pharmaceutical Biology*, 25(2): 65-71.

Amani, A.S., Maitland, D.J. and Soliman, G.A. 2006. Antiulcerogenic activity of *Alhagi maurorum* Boiss. *Pharmaceutical Biology*,44(4):292-296.

Behari, M. and Gupt, S.C. 1980. The isolation and biogenesis of 24-alkylsterols in *Alhagi pseudoalhagi*. *Acta. Ciencia Indica Chemistry*, 6: 207-208.

Bolus, L. 2000. *Flora of Egypt*, Vol II, Cairo, Egypt, Al- Hadara Publishing, 449.

El- Saayed, N.H., Inshak, M.S., Kandil, F.I. and Mabry, T.J. 1993. Flavonoids of A. graecorum. *Pharmazie*., 48: 68- 89.

Ghosal, S. and Srivustava, R.S. 1973. Chemical investigation of *Alhagi pseudalhagi* (Bieb.) desv.: β-phenethylamine and tetrahydroisoquinoline alkaloids. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62: 1555-1556.

Kalhoro, M.A., Kapadia, Z. and Badar, Y. 1997. Physicochemical studies of indigenous medicinal plants. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 32: 418- 421.

Khalmatov, K.H. 1964. *Wild medicinal plants of Uzbakestan*. Tashkent.

Kudliki, W.P., William, D., Kramer, S.K., Makhamed, B.G. and Iskakov, B.K. 1991. Eukaryotic protein synthesis initiation factor 2. *European journal of Biochemistry*, 197: 623- 629.

Lewis, H.W. and Lewis, E.M. 1977. *Medical botany plants affecting mans health*. New York, Wiley-Inter science. 312-368.

Sheidai, M. and Rashid, S. 2007. Cytogenetic study of some *Hordeum* L. species in Iran. *Acta Biologica Szegediensis*, 51: 107- 112.

Sheidai, M., Yazdanbakhsh, Z., Assadi, M. and Moussavi, M. 2001. Cytology and morphometric study of *Alhagi* (Leguminosea) species in Iran. *Nordic Journal of Botany*, 21: 83-91.

Sheidai, M., Yazdanbakhsh, Z. and Bernard, F. 2002. Seed protein analysis of *Alhagi* (Leguminosea) species and populations. *Iranian Journal of Botany*, 9(2): 141-149.

Towsend, C.C. and Guest, E. 1974. *Flora of Iraq*. Vol 3. Ministry of agriculture and agrarian reform of the republic of Iraq.

Archive of SID

www.SID.ir