

بررسی سیتوژنتیک جمعیت‌های گونه *Plantago major* در شمال غرب ایران

فرزانه سادات قاسمی^{۱*}، عادل جلیلی^۲، سعیده سادات میرزاده واقفی^۳ و ساره سادات کاظمی^۳

*^۱ - نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

پست الکترونیک: fghasemi@rifr-ac.ir

^۲ - استاد پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

^۳ - کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۱۹

چکیده

جنس بارهنگ (*Plantago*) از خانواده Plantaginaceae در ایران دارای ۲۲ گونه علفی یکساله و چند ساله می‌باشد. گونه *Plantago major* L. از گیاهان رطوبت‌پسند و رایج در مانداب‌ها می‌باشد. سیتوژنتیک هفت جمعیت مختلف از گونه مذکور بررسی شد. بذر نمونه‌ها از رویشگاه‌های ماندابی شمال غرب ایران جمع‌آوری شدند. بذرها را در پتری‌دیش در آزمایشگاه کشت داده و ریشه‌دار شدند. مریستم نوک ریشه با استفاده از هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شد. تعداد کروموزوم در پنج جمعیت مورد بررسی $2n = 24$ و در دو جمعیت $2n = 24$ بودند. عدد پایه در این گونه $x=6$ بود. کاربوتیپ جمعیت‌های مورد مطالعه دو نوع کروموزوم متاساتریک و ساب‌متاساتریک داشتند. اندازه کروموزوم‌ها از $1/25$ تا $2/87$ میکرون متغیر بود. ایدیوگرام هر جمعیت تهیه و ویژگی‌های کروموزومی شامل تعداد کروموزوم، طول بازوهای کوچک و بزرگ و شاخص نسبت بازوها بررسی شد. بر اساس دسته‌بندی استبینز، کاربوتیپ این گونه با قرار گرفتن شش جمعیت در کلاس ۱A و یک جمعیت در کلاس ۲A، متقارن بود.

واژه‌های کلیدی: کاربوتیپ، کروموزوم، بارهنگ، مانداب.

مقدمه

(Mozaffarian, 2008). این جنس دارای عدد کروموزومی $(2n) 8, 10, 12, 20$ و ۲۴ می‌باشد (جدول ۱). گونه *P. major* L گیاهی است علفی، که دارای برگ‌هایی با پهنک بزرگ واقع در سطح زمین است. این گونه دارای ترکیبات شیمیایی مانند پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، مشتقات کافئیک‌اسید، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، آسکوربیک‌اسید، بنزوئیک‌اسید، فرولیک‌اسید و گالاکتورونیک‌اسید می‌باشد (Ghorbanli et al., 2011). این گونه به‌طور سنتی برای درمان بیماری‌های سرماخوردگی و هیپاتیت استفاده می‌شود

جنس بارهنگ (*Plantago*) از خانواده Plantaginaceae در ایران دارای ۲۲ گونه علفی یکساله و چند ساله می‌باشد که همه آنها با نام بارهنگ شناخته می‌شوند. گونه‌های *P. stocksii*, *P. Boissieri*, *P. evacina* و *P. sharifii* انحصاری ایران و دیگر گونه‌های آن علاوه بر ایران در افغانستان، پاکستان، آسیای مرکزی، هیمالیا، تبت، الجزایر، تونس، مصر، عربستان، فلسطین، مناطق مدیترانه‌ای، شبه جزیره بالکان، جزیره آژه و آناتولی نیز می‌رویند

قرار گرفته است (Ebadi-Almas, et al., 2012). این تحقیق به منظور بررسی عدد کروموزومی و کاریوتیپ هفت جمعیت از گونه *Plantago major* L. واقع در رویشگاه‌های ماندابی آذربایجان غربی و شرقی انجام شد.

(Chiang et al., 2002). تنوع در جمعیت‌های این گونه مربوط به نوآرایی کروموزومی می‌باشد (El-Bakatoushi, & Richards, 2005). در تحقیق دیگری، عدد پایه و تقارن کروموزومی ۱۲ جمعیت از گونه *P. major* L. مورد بررسی

جدول ۱- منابع اعداد کروموزومی جنس بارهنگ (*Plantago*)

نام گونه	منبع	عدد کروموزومی (2n)
<i>Plantago albicans</i> Boiss	Mohsenzadeh et al., 2008	۸
<i>Plantago albicans</i> Boiss	"	"
<i>Plantago coronopus</i> L	"	۱۰
<i>Plantago coronopus</i> L	Mohsenzadeh et al., 2008	۲۰
<i>Plantago daltonii</i> Decne.	Wiltshire & Jackson, 2003	۱۲
<i>Plantago evacina</i> Boiss	Sharifnia & Albouyeh, 2002	۱۰
<i>Plantago gentianoides</i> Sibth&Sm	Mohsenzadeh et al., 2008"	۱۲
<i>Plantago indica</i> L	"	"
<i>Plantago lagopus</i> L	Dhar, 2006	"
<i>Plantago lanceolata</i> L	"	"
<i>Plantago psyllium</i> L	Mohsenzadeh et al., 2008""	"
<i>Plantago major</i> L.	Aryavand, 1980; Peruzzi 2003; Mohsenzadeh et El-Bakatoushi & Richards, 2005; al., 2008	۱۲
<i>Plantago rhodosperma</i> Decne	Dhar, 2006	۲۴
<i>Plantago rugelii</i> Decne	"	"

مواد و روش‌ها

دریا نشان می‌دهد. زمان رسیدن طول ریشه چه بذرها به ۱- ۰/۵ سانتی متر تثبیت انجام شد. به این منظور بذرها را جوانه‌دار با آلفابروموفتالین به مدت سه ساعت پیش تیمار شدند. سپس بذرها با آب مقطر شستشو و داخل محلول فارمر (ترکیب الکل و اسیداستیک با نسبت ۱:۳) تثبیت و با آب مقطر شستشو و داخل الکل ۷۰ درصد در یخچال تا زمان تهیه نمونه و مطالعه میکروسکوپی نگهداری شدند. برای تهیه نمونه میکروسکوپی، هیدرولیز ریشه‌ها در اسیدکلریدریک یک نرمال به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. برای

در این پژوهش بذرها و نمونه هرباریومی هفت جمعیت مختلف از گونه *Plantago major* L. با سه تکرار از رویشگاه‌های مناطق ماندابی (wetland) شمال غرب ایران واقع در آذربایجان غربی و شرقی جمع‌آوری شدند. گیاهان در هرباریوم مرکزی ایران شناسایی شدند. بذرها گیاهان مورد مطالعه پس از ضدعفونی با الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه در ظروف پتری‌دیش کشت داده شدند. جدول ۲ مشخصات مناطق جمع‌آوری را به ترتیب ارتفاع از سطح

کاربوتیپی (Levan, et al., 1964) نسبت بلندترین کروموزوم به کوتاه‌ترین کروموزوم، دامنه نسبی طول کروموزوم‌ها، درصد فرم کلی کاربوتیپی، نامتقارنی درون کروموزومی، نامتقارنی بین کروموزومی و شاخص تقارن استیبینز (Stebbins, 1971) برای جمعیت‌های مورد مطالعه محاسبه گردید و تجزیه واریانس جمعیت‌ها با نرم‌افزار Minitab انجام شد (Shariat, 2013).

رنگ آمیزی ریشه‌ها از همتوکسیلین به مدت نیم ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد بن‌ماری استفاده شد. پس از تهیه لام با روش اسکواش، سلول‌های متافازی با میکروسکوپ نوری مشاهده و عکس‌برداری شدند. اندازه‌گیری میانگین سه سلول متافازی توسط نرم‌افزار Micromasure انجام گردید. ویژگی‌های کروموزومی و پارامترهای سنجش تقارن کاربوتیپی شامل فرمول

جدول ۲- مشخصات جمعیت‌های مورد بررسی گونه *Plantago major* L.

ارتفاع از سطح دریا (متر)	مختصات جغرافیایی منطقه جمع‌آوری	کد هرباریومی	تاریخ جمع‌آوری	محل جمع‌آوری
۱۶۰۰	N 37 51 5/1 E 47 58 92/6	(TARI) ۱۰۱۶۸۹	۹۲/۴/۲۴	اردبیل، بولاغ‌وار
۱۶۴۸	N 38 2 8/0 E 47 58 51/9	(TARI) ۱۰۱۶۹۵	۹۲/۶/۲۰	اردبیل، به طرف شهر نیر
۱۶۸۸	N 37 29 19/6 E 46 47 44/2	(TARI) ۱۰۱۶۹۳	۹۳/۶/۱۰	هشترود، زلبین
۱۹۰۰	N 37 54 41/ 8 E 46 41 50/8	(TARI) ۱۰۱۶۹۰	۹۲/۴/۲۵	آش، بوستان‌آباد
۲۲۶۶	N 37 10 56/ 0 E 44 52 25/5	(TARI) ۱۰۱۶۹۲	۹۲/۶/۲۰	آغ، جاده بند، زیوه
۲۲۸۱	N 38 8 61/0 E 44 27 54/5	(TARI) ۱۰۱۶۹۶	۹۲/۶/۱۷	آغ، سلماس
۲۵۳۰	N 38 20 10 E 48 18 27/9	(TARI) ۱۰۱۶۹۴	۹۳/۶/۱۰	اردبیل، دریاچه شورابیل

نتایج

بودند. فرمول کاربوتیپی جمعیت‌های بولاغ‌وارونیر دو نوع کروموزوم متاسانتریک و ساب متاسانتریک نشان دادند اما کروموزوم‌ها در دیگر جمعیت‌ها همه متاسانتریک بودند (جدول ۳). طول کروموزوم‌ها از ۱/۴۹۰ (جمعیت زیوه) تا ۲/۸۷۴ میکرون (بوستان‌آباد) متغیر بود. جدول ۵ تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی را در جمعیت‌های دیپلوئید مورد مطالعه بر اساس طرح کاملاً تصادفی نشان می‌دهد.

شکل‌های ۱ و ۲ به ترتیب مربوط به تصاویر و ایدیوگرام کروموزوم‌های متافازی جمعیت‌های مورد مطالعه می‌باشند. ویژگی‌های کروموزومی و پارامترهای سنجش تقارن کاربوتیپی جمعیت‌های مورد بررسی در جدول‌های ۳ و ۴ ارائه شد. نتایج نشان داد که جمعیت‌های ۱، ۲، ۵، ۶ و ۷ تعداد کروموزوم $2n=12$ و در دو جمعیت ۳ و ۴، $2n=24$

جدول ۳- ویژگی‌های کروموزومی جمعیت‌های مورد مطالعه از گونه *Plantago major* L

AR	TL (μm)	L (μm)	S (μm)	2n	جمعیت
۱/۴۲۸	۱/۸۸۴±/۰.۵	۱/۰۶±/۰.۴	۰/۸۲۳±/۰.۴	۱۲	بولغ‌وار
۱/۵۵۵	۱/۷۷۱±/۰.۸	۱/۰۷۹±/۰.۵	۰/۷۲۵±/۰.۵	۱۲	نیر
۱/۳۲۷	۲/۳۵۰±/۰.۶	۱/۳۳۶±/۰.۶	۱/۰۱۳±/۰.۵	۲۴	هشترود
۱/۳۸۵	۲/۲۶۱±/۰.۷	۱/۳۱۰±/۰.۶	۰/۹۵۰±/۰.۵	۲۴	بوستان‌آباد
۱/۳۷۲	۱/۷۱۴±/۰.۳	۰/۹۹۲±/۰.۵	۰/۷۲۲±/۰.۴	۱۲	زیوه
۱/۷۴۵	۱/۷۹۱±/۰.۸	۱/۱۲۸±/۰.۷	۰/۶۶۳±/۰.۶	۱۲	سلماس
۱/۴۲۳	۱/۹۶۳±/۰.۵	۱/۱۴۶±/۰.۵	۰/۸۱۶±/۰.۵	۱۲	شورابیل

عدد کروموزومی (2n)، میانگین طول بازوی کوتاه (S)، میانگین طول بازوی بلند (L)، میانگین طول کروموزوم (TL)، میانگین نسبت بازوها (AR)

جدول ۴- پارامترهای تقارن کاریوتیپ جمعیت‌های مورد مطالعه از گونه *Plantago major* L.

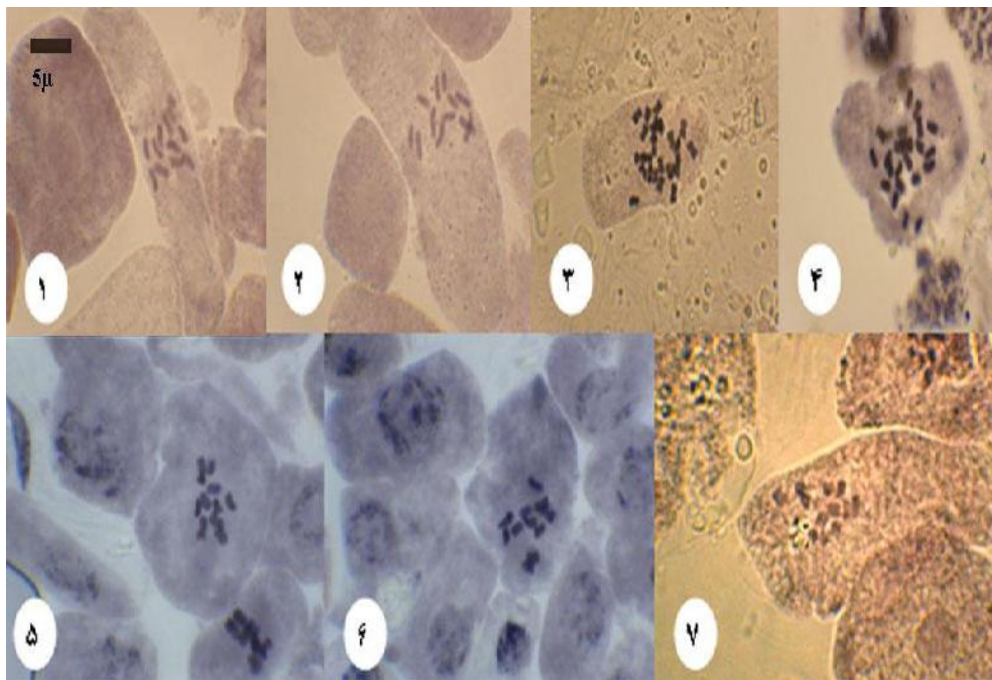
ST	A ₂	A ₁	TF%	DRL	R	فرمول کاریوتیپی	جمعیت
۱A	۰./۰۹	۰./۲۹۲	۴۱/۵	۶/۵۴۸	۱/۴۴۹	۵m+sm	بولاغ‌وار
۱A	۰./۱۱۴	۰./۳۵۰	۳۹/۰	۵/۵۵۷	۱/۳۶۷	۵m+sm	نیر
۱A	۰./۱۳۹	۰./۲۳۸	۴۳/۱	۲/۴۵	۱/۳۳۱	۱۲m	هشترود
۱A	۰./۱۵۲	۰./۲۷۰	۴۲/۳	۴/۷۹۹	۱/۸۳۴	۱۲m	بوستان‌آباد
۱A	۰./۰۸۴	۰./۲۶۳	۴۲/۱	۳/۸۲۲	۱/۲۶۲	۶m	زیوه
۲A	۰./۱۶۸	۰./۴۱۲	۳۶/۹۹	۷/۴۹۰	۱/۶۴۲	۳m+۳sm	سلماس
۱A	۰./۱۱۶	۰./۲۸۹	۴۱/۵۹	۵/۴۴۲	۱/۳۷۳	۵m+sm	شورابیل

نسبت بلندترین کروموزوم به کوتاه‌ترین کروموزوم (R)، دامنه نسبی طول کروموزومها (DRL)، درصد فرم کلی کاریوتیپ (TF%)، نامتقارنی درون کروموزومی (A1)، نامتقارنی بین کروموزومی (A2) و شاخص تقارن استیبینز (ST)

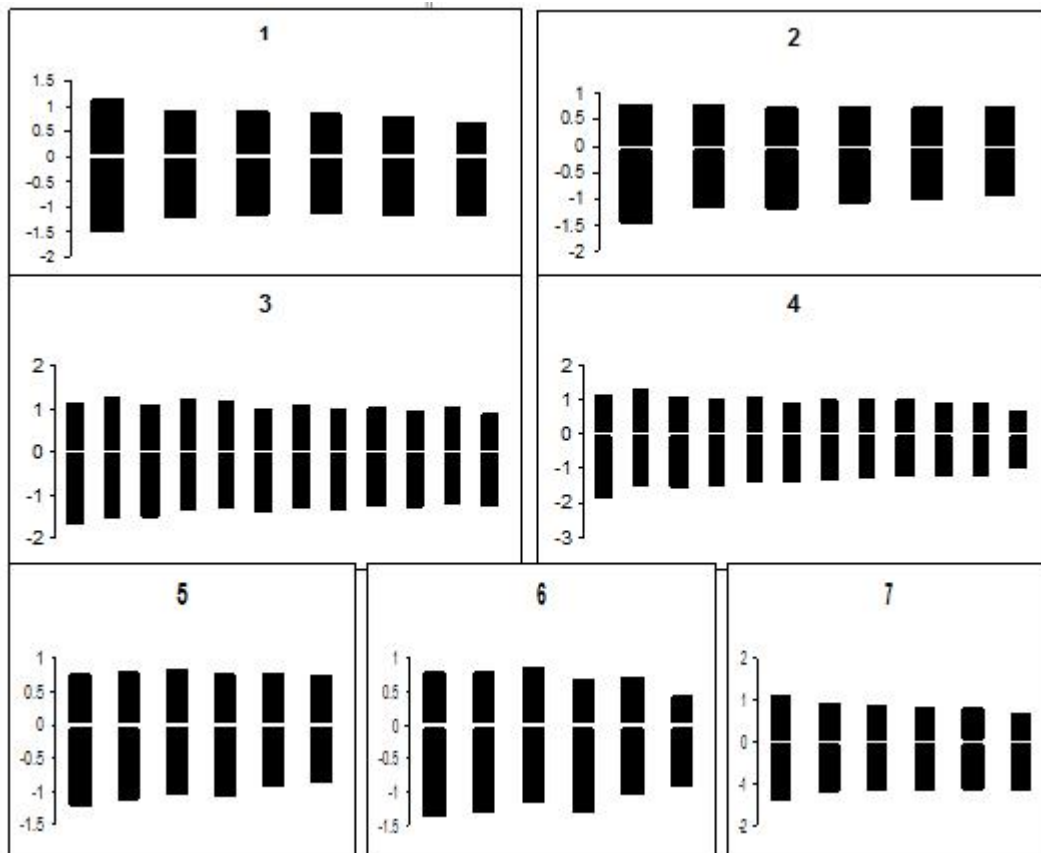
جدول ۵- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی جمعیت‌های *Plantago major* L.

AR	S	L	TL	درجه آزادی	منابع تغییر
/ **	/ **	/ *	/ *	۴	جمعیت
۰/۸۵۷	۰/۸۴۵	۰/۹۰۴	۰/۸۹۶	۸۵	خطا

ns = اختلاف غیر معنی‌دار، * = اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ** = اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪



شکل ۱- عکس متافاز میتوزی هفت جمعیت مورد مطالعه گونه *Plantago major L*، جمعیت‌ها: ۱- بولاغ‌وار، ۲- نیر، ۳- هشت‌رود، ۴- بوستان‌آباد، ۵- زیوه، ۶- سلماس و ۷- شورابیل



شکل ۲- ایدیوگرام متافاز میتوزی هفت جمعیت مورد مطالعه گونه *Plantago major L*

بحث

سیاسگزاری

شایسته است مراتب تشکر خود را از همکاران گروه زیست‌فناوری مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور به‌ویژه سرکار خانم دکتر آناهیتا شریعت که در اجرای این تحقیق مارا یاری کردند، ابراز داریم.

منابع مورد استفاده

- Aryavand, A. 1980. In: Love, A. (ed): IOPB chromosome number reports XIX.-Taxon 29: 704.
- Badr, A. and El-Kholy, M.A., 1987. Chromosomal studies in the Egyptian flora II. Karyotype studies in the genus *Plantago* L. *Cytologia*, 52: 725-731
- Chiang, L.C., Chiang, W., Chang M.N.L. and Lin, C.C., 2002. Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds *in vitro*. *Antiviral Research*, 55:1: 53-62.
- Dhar, K., 2006. Characterization and physical mapping of ribosomal RNA gene families in *Plantago*. *Annals Botany*, 97: 541-548.
- Ebadi-Almas, D., Karimzadeh Gh. and Mirzaghaderi, Gh., 2012. Karyotypic variation and karyomorphology in Iranian endemic ecotype s of *Plantago ovata*, *Cytologia*, 77: 215-223.
- El-Bakatoushi, R. and Richards, A.J., 2005. Karyological variation between two taxa of *Plantago major* L. ssp. *major* and ssp. *intermedia* (Gilib.) Lange. *Cytologia*, 70: 365-372.
- Ghorbanli, M., Sateei, A. and Nasiri- Savadkohi, S., 2011. Effect of various concentrations of copper on antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in leave and roots of *Plantago major* L., *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plant*, 26:4:50.
- Huziwara Y., 1962. Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosome of *Aster*. *American Journal of Botany*, 49: 116-119.
- Levan, A., Fredka, K. and Sandberg, A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosome.
- Mohsenzadeh, S., Nazeri, V. and Mirtadzadini, S.M., 2008. Chromosome numbers of fifteen species of *Plantago* L. (Plantaginaceae) from Iran. *Iran Journal of Botany*, 14 (1)

جنس بارهنگ دارای سه عدد پایه ۶ و ۵ و ۴ $x=$ می‌باشد. با توجه به بررسی‌های انجام شده، عدد پایه اصلی $X=6$ بوده که اعداد ۴ و ۵ از آن مشتق شده‌اند (Mohsenzadeh *et al.*, 2008). سیتوژنتیک ده گونه جنس بارهنگ از سوی Badr و El-Kholy (1987) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی‌ها نشان داد که گونه‌هایی با عدد پایه شش از جمله *Plantago major* L دیپلوئید و گونه‌هایی با عدد پایه چهار و پنج، پلی‌پلوئید بودند. در حالی‌که در این بررسی گونه *Plantago major* L در مناطق مورد مطالعه پنج جمعیت دیپلوئید و دو جمعیت تتراپلوئید با عدد پایه شش داشت. تجزیه واریانس نشان داد که جمعیت‌های دیپلوئید این گونه از لحاظ طول کروموزوم و طول بازوی بلند اختلافی معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و از لحاظ طول بازوی کوتاه و نسبت بازوی بلند به کوتاه اختلافی معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ داشتند. ویژگی‌های کروموزومی ده جمعیت *Plantago ovata* اندمیک ایران نیز تفاوت معنی‌داری نشان دادند (Ebadi-Almas, *et al.*, 2012) که با نتایج این تحقیق تطابق دارد. جمعیت‌های هشترود و بوستان‌آباد تتراپلوئید بودند. کاریوتیپ جمعیت سلماس در کلاس ۲A استبینز قرار داشت. در حالی‌که شش جمعیت دیگر در کلاس ۱A بودند. جمعیت سلماس با توجه به همه فاکتورهای سنجش تقارن کاریوتیپ اعم از فرمول کاریوتیپی، دامنه نسبی طول کروموزوم‌ها، درصد فرم کلی کاریوتیپ (Huziwara 1962)، کلاس استبینز (Stebbins) 1971 و نامتقارنی درون و برون کروموزومی (Romero- Zarco, 1986) نامتقارنترین کاریوتیپ را داشت. بنابراین با مطالعه ۱۲ جمعیت از گونه *Plantago ovata* -Almas Ebadi و همکاران (2012) کاریوتیپ این گونه را در کلاس ۲A استبینز قرار دادند. در مجموع نتایج نشان داد که جنس *Plantago* دارای کروموزوم‌های نسبتاً متقارنی بودند. این نتایج ضرورت بیش از پیش مطالعه کروموزومی را در جمعیت‌های گونه مورد مطالعه نشان می‌دهد.

- Sharifnia, F. and Albouyeh, R.M., 2002. Chromosome numbers of *Plantago boissierii* Hauskn. et Bornm. and Boiss. in Iran. *Chromosome Science*, 6: 47–48.
- Stebbins, G.L., 1971. *Chromosome Evolution in Higher Plants*. Edvard Arnold Publisher, London.
- Wiltshire, R.J.E. and Jackson, W.D., 2003. Index of chromosome numbers of Tasmanian spermatophytes. *Papers and Proceedings of the Royal Society Tasmania*, 137: 39–53.
- Mozaffarian, V., 2008. *A Dictionary of Iranian Plant Names*. Farhang Moaser, Tehran, Iran.
- Peruzzi, L., 2003. Mediterranean chromosome number reports 13 (1344-1347). *Flora Mediterranea*, 13: 370–373
- Romero-Zarco, C., 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry, *Taxon*, 35: 526-530.
- Shariat, A., 2013. Karyology of Iranian endemic *Satureja* (Lamiaceae) species. *Cytologia*, 78: 305–312.

Cytogenetic study of *Plantago major* populations in North West of Iran

F.S. Ghasemi^{*1}, A. Jalili², S.S. Mirzadeh Vaghefi³ and S.S. Kazemi³

1* – Corresponding author, M.Sc., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran, Email: fghasemi@rifr-ac.ir

2- Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran

3- M.Sc., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran

Received: 06.10.2015

Accepted: 08.02.2016

Abstract

Plantago genus of Plantaginaceae family has 22 annual and perennial herbaceous species in Iran. *Plantago major* is one of common plants in wetlands. Chromosomal characteristics of seven populations of *Plantago major* L. were studied. Seeds were collected from habitats of the species in NW of Iran. The seeds were grown in petri dishes. Root tip meristems were stained with Hematoxylin. Chromosome number of five populations was $2n=12$ and in two other populations was $2n=24$. Base Chromosome number of the species was $x=6$. In studied populations, Karyotype formula had metacentric and submetacentric chromosomes. Chromosome size of the species varied between 1.25 to 2.87 μm . Ideogram of each population was made and karyotypic characteristics including chromosome number, long and short arm length, and arm ratio indices were also estimated. The species had symmetrical karyotype in all of the examined populations; According to Stebbins classification, six of the studied populations located in 1A class and one of the populations located in 2A class.

Keywords: Chromosome, karyotype, *Plantago*, wetland.