

## بررسی تنوع کروموزومی برخی از گونه‌های جنس مرزه (*Satureja*)

فاطمه رهبری<sup>۱</sup>، نادر فرساد اختر<sup>۱\*</sup>، جابر پناهنده<sup>۲</sup>، احمد رزبان حقیقی<sup>۳</sup> و امیرحسین طالب‌پور<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> ایران، تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه زیست‌شناسی گیاهی

<sup>۲</sup> ایران، تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

<sup>۳</sup> ایران، آذربایجان شرقی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۲



### چکیده

جنس مرزه (*Satureja*) به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه مهم، از گیاهان عمده در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی به حساب می‌آید. در این مطالعه، سه گونه‌ی *S. hortensis*  $2n=2x=48$  و *S. atropatana*  $2n=2x=12$  و *S. sahendica*  $2n=2x=28$  مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میانگین طول کروموزوم از ۱/۳۹ میکرومتر در *S. sahendica* تا ۴/۸۲ میکرومتر در *S. atropatana* متغیر است. بزرگترین کروموزوم (۵/۹۴۰ میکرومتر) در *S. atropatana* و کوچکترین کروموزوم (۱/۰۲۲ میکرومتر) در *S. hortensis* مشاهده شد. از نظر پارامترهای کاریوتیپی نسبت بازوها (AR)، شاخص سانترمری (CI)، درصد شکل کلی (TF%)، درصد اختلاف طول نسبی (DRL%)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی ( $A_1$ ) و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی ( $A_2$ ) تفاوت معنی‌داری بین سه گونه مشاهده شد. انواع کروموزوم‌ها شامل متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک بودند، بطوریکه فرمول کاریوتیپی در گونه‌های *S. sahendica*، *S. hortensis* و *S. atropatana* به ترتیب به صورت  $14m$ ،  $20m+4sm$  و  $4m+2sm$  بود. گونه‌ی *S. sahendica* کمترین میزان شاخص‌های Romero-Zarco یعنی  $A_1$  و  $A_2$  را در بین سه گونه داشت که نشان دهنده‌ی تطابق پذیری بیشتر این گونه با شرایط سخت محیطی است. همچنین این گونه نسبت به دو گونه‌ی دیگر دارای بیشترین مقدار TF% و کمترین مقدار DRL% بود که این نیز نشان‌دهنده‌ی متقارن بودن کاریوتیپ و ابتدایی‌تر بودن این گونه نسبت به دو گونه‌ی دیگر می‌باشد. به دلیل تفاوت‌های بارز ژنومیک انتظار می‌رود که تلاقی مستقیم بین گونه‌های سهندیکا و آتروپاتانا با گونه‌ی زراعی امکان‌پذیر نباشد و استفاده از این گونه‌ها در اصلاح مرزه نیازمند توسل به روش‌هایی مانند استفاده از گونه‌های پل و دستوری پلوئیدی و نجات جنین باشد.

واژه‌های کلیدی: سیتوژنتیک، کاریوتیپ، *Satureja*

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۳۱۵۷۹۷۲، پست الکترونیکی: [nader\\_farsad@tabrizu.ac.ir](mailto:nader_farsad@tabrizu.ac.ir)

### مقدمه

سیتوژنتیکی به عنوان پایه‌ای برای رده‌بندی گیاهی و روابط تکاملی در گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۳). در میان خانواده‌های گیاهی، نعنایان دارای بیشترین گونه‌های گیاهی دارویی هستند و از جمله گیاهان این خانواده، جنس مرزه‌ها می‌باشند. جنس مرزه *Satureja* از تیره‌ی Lamiaceae و زیرخانواده‌ی Nepetoideae و طایفه‌ی

گیاهان منبع بالقوه‌ای برای ساخت ترکیبات دارویی هستند و از این رو در طول تاریخ به عنوان یک منبع ارزشمند دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۴ و ۷). باتوجه به اینکه خصوصیات گیاهی تا حد زیادی تحت کنترل مواد ژنتیکی هسته‌ای قرار دارند، برخی از روش‌های بررسی تنوع در ارقام و گونه‌های مختلف گیاهی، براساس مطالعات سیتوژنتیکی و کاریوتیپی آنها صورت می‌گیرد و یافته‌های

بررسی کروموزومی ۵ گونه از مرزهای جمع‌آوری شده ایران شامل گونه‌های بختیاریکا، خوزستانیکا، رشینگری، سهندیکا و اسپسیگرا چهار گونه اول را دیپلوئید با تعداد کروموزوم  $2n=2x=30$  و گونه اسپسیگرا را تتراپلوئید به صورت  $2n=4x=60$  گزارش کردند. در این مطالعه کوتاه-ترین کروموزوم مربوط به گونه سهندیکا با طول  $1/35$  میکرومتر و طویل‌ترین آن مربوط به گونه رشینگری با  $1/95$  میکرومتر بود. ایرانی و همکاران (۸) با مطالعه روی ۹ جمعیت متعلق به چهار گونه از مرزهای ایران شامل ساتوریا ماکروسیفونیا، موتیکا، سهندیکا و اسپسیگرا تعداد کروموزوم‌های سوماتیک برای این گونه‌ها را به ترتیب ۲۴، ۲۶، ۲۸ و ۴۴ گزارش نمودند که در مورد گونه‌های سهندیکا و اسپسیگرا متفاوت از آن چیزی است که شریعت و همکاران (۱۳) گزارش کردند. به رغم اهمیت روز افزون این جنس تاکنون در ایران مطالعات زیادی در زمینه‌های مختلف اصلاحی آن صورت نگرفته است. بنابراین به نژادی گیاهی به منظور اهلی سازی و حفظ ذخایر ژنتیکی این گیاهان ارزشمند، امری ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به اینکه اطلاعات سیتوژنتیکی برای حفاظت ذخایر ژنتیکی و نیز طرح ریزی برنامه‌های اصلاحی بسیار مهم می‌باشد از این رو در این تحقیق ویژگی‌های کاربوتیپی چند گونه مختلف جنس مرزه مورد مطالعه قرار گرفت.

### مواد و روشها

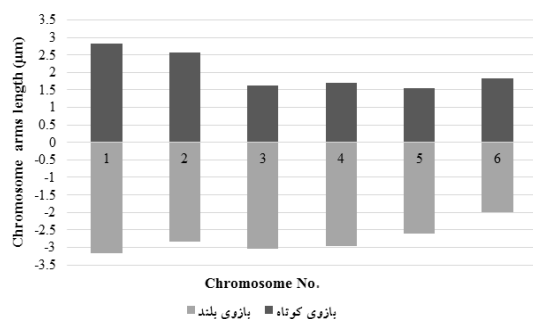
نمونه‌های بذر *Satureja atropatana* در مسیر تبریز به روستای اسپیران با ارتفاع ۱۶۴۰ متر از سطح دریا جمع-آوری شد. نمونه‌های بذر *Satureja sahendica* نیز از دامنه‌های سهند و اطراف روستای عنصرود با ارتفاع ۲۰۳۰ متر از سطح دریا تهیه گردید. همچنین بذر *Satureja hortensis* از مزارع سبزیکاری اطراف تبریز تهیه شد. بذرها با آب مقطر شسته شدند و برای جوانه‌زنی در محیط با دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی

Menthae است. گیاهان این جنس به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه‌ای نظیر تیمول، کارواکرول، پاراسیمن و گاماترپینن از خواص دارویی زیادی نظیر مسکن، تب‌بر، ضد نفخ، ضد ویروس و ضد قارچ برخوردارند (۵) و به همین دلیل بررسی ترکیبات ثانویه این گیاهان و نیز بررسی مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی آنها حائز اهمیت فراوانی می‌باشد. جنس مرزه به طور عمده در منطقه‌ی مدیترانه و حتی تا منطقه‌ی فیتوژئوگرافیکی ایران- توران گسترش یافته است. ایران یکی از مهم‌ترین منابع جنس مرزه می‌باشد به طوری که ۱۶ گونه از مرزه در آن یافت می‌شود که ۹ گونه از این ۱۶ گونه شامل *S. macrosiphonia*، *S. isophylla*، *S. rechingeri*، *S. bachtiarica*، *S. khuzistanica*، *S. sahendica*، *S. atropatana*، *S. edmondi* و *S. intermedia* فقط در ایران رشد می‌کنند. برای گونه‌های مختلف در این جنس نیز اعداد کروموزومی  $2n=12$ ،  $2n=20$ ،  $2n=24$ ،  $2n=28$ ،  $2n=30$ ،  $2n=48$  و  $2n=64$  گزارش شده است (۳).

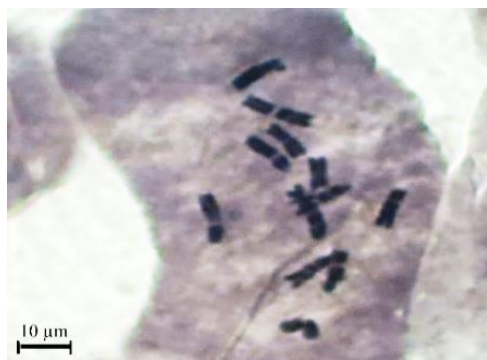
گونه‌ی *S. hortensis* گیاهی علفی و یک ساله است (۳) که بومی جنوب اروپا، قفقاز، عراق و غرب ایران می‌باشد و امروزه در اغلب کشورهای دنیا کشت می‌شود (۹). گونه‌ی *S. sahendica* گیاهی دارویی و بومی ایران است و به صورت خودرو در ارتفاعات صخره‌ای و کوه‌های غرب و شمال غرب ایران رشد می‌کند. مرزه سهندی گیاهی چندساله، بوته‌ای، منشعب و معطر با ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر است (۶). گونه‌ی *Satureja atropatana* گیاهی بوته‌ای با ساقه‌های متعدد است و به لحاظ اکولوژیکی رویشگاه آن در ارتفاع ۱۵۰۰ تا ۱۵۵۰ متر مناطق کوهستانی ناحیه‌ی ایرانی- تورانی قرار دارد (۳).

با وجود انجام تحقیقاتی در زمینه اثر عوامل مختلف بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مرزه‌های بومی ایران (۱ و ۲)، مطالعات کاربوتیپی محدودی در این زمینه صورت گرفته است. شریعت و همکاران (۱۳) با

افراد با فرمول کاریوتیپی  $4m+2sm$  دارای ۴ جفت کروموزوم متاساتریک و ۲ جفت کروموزوم ساب متاساتریک بودند. میانگین اندازه‌ی کروموزوم‌ها  $4/821$  میکرون و طول کروموزوم‌ها از  $3/895$  تا  $5/943$  میکرون متغیر بود. همچنین دامنه‌ی طول بازوی بلند از  $2/049$  میکرون در کروموزوم شماره‌ی ۶ تا  $3/170$  میکرون در کروموزوم شماره‌ی ۱ و دامنه‌ی طول بازوی کوتاه از  $1/596$  میکرون در کروموزوم شماره‌ی ۵ تا  $2/772$  میکرون در کروموزوم شماره‌ی ۱ متغیر بود. میانگین دامنه‌ی طول بازوی بلند و کوتاه نیز به ترتیب برابر  $2/019$  و  $2/80$  میکرون به دست آمد. همچنین میانگین نسبت بازوها  $1/495$  و  $TF\%$  در این گونه برابر با  $40/48$  بود (جدول ۲). ویژگی خاص این گونه وجود حالت تاب‌خوردگی برخی بازوهای کروموزومی بود که نمایی شبیه حالت چند سانترومری را به کروموزوم‌ها می‌داد. جدول ۱ ویژگی کروموزوم‌ها و شکل‌های ۱ و ۲ به ترتیب ایدیوگرام و گستره متافازی گونه‌ی *S. atropatana* را نشان می‌دهد.



شکل ۱- ایدیوگرام *Satureja atropatana*



قرار گرفتند. زمانیکه طول ریشه‌ها به حدود ۲ الی ۱۵ میلی‌متر رسید، مرحله پیش‌تیمار توسط ماده‌ی آلفا برومونفتالین ۰/۵ درصد در دمای  $4^{\circ}C$  انجام گرفت. از آن‌جایی که اندازه بذرها کوچک بودند و امکان جداسازی ریشچه از بذرها نبود، ریشچه‌ها به همراه بذر به مدت  $3/5$  ساعت در داخل محلول آلفا برومونفتالین پیش‌تیمار شدند. ریشه‌های متصل به پوسته‌ی بذر پس از اتمام مدت زمان لازم برای قرارگیری در آلفا برومونفتالین، به مدت ۱۵ دقیقه در آب مقطر شسته شدند و در محلول تثبیت‌کننده کارنوی I (یک حجم اسید استیک و ۳ حجم الکل اتیلیک) قرار گرفتند. پس از خارج کردن نمونه‌ها از محلول، شستشوی نمونه‌ها توسط آب مقطر انجام گرفت. بدنبال شستشو مراحل هیدرولیز، رنگ آمیزی و تهیه اسلایدهای میکروسکوپی انجام شد (۱۰) و سپس اسلایدها با میکروسکوپ نوری (Olympus BX 41, Japan) مطالعه شدند و از صفحات متافازی با کیفیت مناسب، عکس-برداری صورت گرفت. تصاویر گرفته شده از صفحات متافازی مناسب، پس از شمارش کروموزوم و تعیین سطح پلوئیدی نمونه‌های مورد مطالعه، با استفاده از نرم‌افزار ایدیوکار نسخه ۱،۲ برای اندازه‌گیری طول کلی کروموزوم-ها، طول بازوها و دیگر پارامترها نظیر اختلاف دامنه طول نسبی ( $DRL\%$ )، درصد شکل کلی ( $TF\%$ )، شاخص عدم تقارن استینز ( $SC$ )، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی ( $A_1$ ) و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی ( $A_2$ ) مورد استفاده قرار گرفتند (۱۱ و ۱۲). همچنین کروموزوم‌های همولوگ از لحاظ اندازه، شکل و محل سانترومر برای تهیه کاریوگرام‌ها به کمک روش برشی با استفاده از نرم‌افزار فتوشاپ مورد استفاده قرار گرفتند.

## نتایج

بعد از تهیه کاریوتیپ مشخص شد که افراد گونه‌ی *Satureja atropatana* دیپلوئید و دارای ۱۲ کروموزوم ( $2n=2x=12$ ) با عدد پایه‌ی کروموزومی  $x=6$  هستند. این

*Satureja atropatana*

شکل ۲- گستره‌ی متافازی کروموزوم‌های گونه (2n=2x=12)

جدول ۱- ویژگی‌های کروموزوم‌ها در *Satureja atropatana*

Type of chromosome	Arm length ratio	Short arm Length	long arm Length	Standard error	Maximum chromosome length	Minimum chromosome length	Average chromosome length	Chromosome No.
Metacentric	1.33	2.772	3.170	0.062	6.057	5.778	5.943	1
Metacentric	1.102	2.612	2.870	0.046	5.619	5.409	5.482	2
Submetacentric	1.922	1.658	3.167	0.061	4.951	4.678	4.825	3
Submetacentric	1.848	1.633	3.002	0.033	4.702	4.553	4.635	4
Metacentric	1.660	1.596	2.553	0.009	4.174	4.131	4.150	5
Metacentric	1.113	1.846	2.049	0.031	3.971	3.828	3.895	6

جدول ۲- مقایسه شاخص‌های تقارن کاریوتیپی گونه‌های مورد مطالعه

DRL%	TF%	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	SC	گونه
6	40.48	0.229	0.279	2A	<i>Satureja atropatana</i>
3.6	46.512	0.129	0.133	1A	<i>Satureja sahendica</i>
3.9	41.66	0.205	0.270	2B	<i>Satureja hortensis</i>

SC: شاخص عدم تقارن استیپنز، A<sub>1</sub>: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی، A<sub>2</sub>: شاخص عدم تقارن بین کروموزومی، TF%: درصد شکل کلی و DRL%: اختلاف دامنه طول نسبی

در نوسان بود. میانگین دامنه طول بازوی بلند و بازوی کوتاه به ترتیب برابر ۰/۷۴۶ و ۰/۶۴۹ میکرون به دست آمد. همچنین میانگین نسبت بازوها ۱/۱۵۹ میکرون و TF% برابر با ۴۶/۵۱۲ بود. جدول ۳ ویژگی‌های کروموزومی را در این گونه نشان می‌دهد. ایدیوگرام و گستره متافازی این گونه نیز به ترتیب در شکل‌های ۳ و ۴ آمده است.

گونه‌ی *S. hortensis* دارای ۴۸ کروموزوم (2n=2x=48) با عدد پایه‌ی کروموزومی x=24 بود. در این جمعیت ۲۰ جفت کروموزوم متاساتریک و ۴ جفت کروموزوم ساب-متاساتریک با فرمول کاریوتیپی 20m+4sm مشاهده شد.

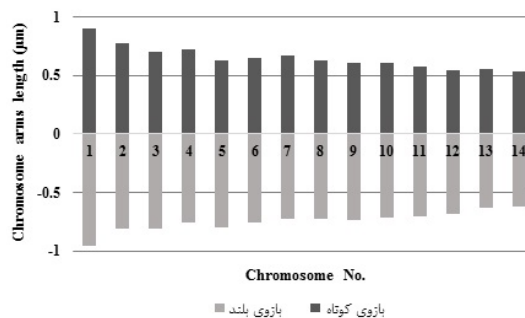
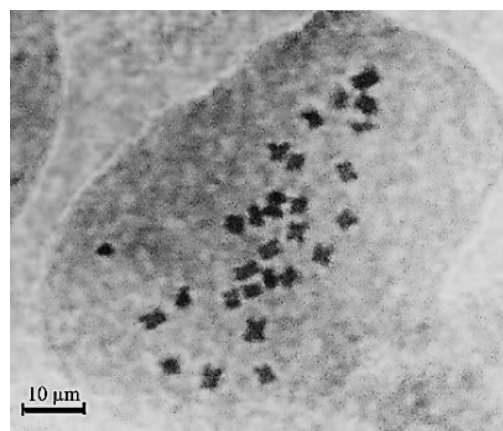
افراد گونه‌ی *S. sahendica* دارای ۲۸ کروموزوم (2n=2x=28) با عدد پایه‌ی کروموزومی x=14 و به شکل دیپلوئید بودند بطوریکه در این گونه ۱۴ جفت کروموزوم متاساتریک با فرمول کاریوتیپی به صورت 14m شناسایی شد. جدول ۳ ویژگی کروموزوم‌های این گونه را نشان می‌دهد. در افراد این گونه، طول کروموزوم‌ها از ۱/۱۶۳ تا ۱/۸۶۲ میکرون متغیر و میانگین اندازه‌ی کروموزوم‌ها برابر ۱/۳۹۵ میکرون بود. دامنه‌ی طول بازوی بلند در این گونه از ۰/۶۲۴ در کروموزوم شماره‌ی ۱۴ تا ۰/۹۵۹ در کروموزوم شماره‌ی ۱ و بازوی کوتاه از ۰/۵۳۹ میکرون در کروموزوم شماره‌ی ۱۴ تا ۰/۹۰۲ در کروموزوم شماره‌ی ۱

جدول ۳- ویژگی‌های کروموزوم‌ها در *Satureja sahendica*

Type of chromosome	Arm length ratio	Short arm Length	long arm Length	Standard error	Maximum chromosome length	Minimum chromosome length	Average chromosome length	Chromosome No.
Metacentric	1.063	0.902	0.959	0.005	1.873	1.848	1.862	1
Metacentric	1.039	0.777	0.808	0.029	1.632	1.498	1.585	2
Metacentric	1.153	0.701	0.808	0.018	1.593	1.512	1.509	3
Metacentric	1.046	0.722	0.755	0.025	1.529	1.416	1.477	4
Metacentric	1.289	0.625	0.804	0.013	1.452	1.390	1.429	5
Metacentric	1.135	0.650	0.756	0.010	1.428	1.382	1.407	6
Metacentric	1.084	0.671	0.727	0.015	1.427	1.356	1.398	7
Metacentric	1.183	0.624	0.726	0.018	1.389	1.307	1.350	8
Metacentric	1.226	0.603	0.733	0.023	1.388	1.282	1.336	9
Metacentric	1.189	0.603	0.717	0.017	1.351	1.273	1.321	10
Metacentric	1.245	0.573	0.709	0.017	1.325	1.248	1.282	11
Metacentric	1.245	0.549	0.687	0.017	1.287	1.207	1.236	12

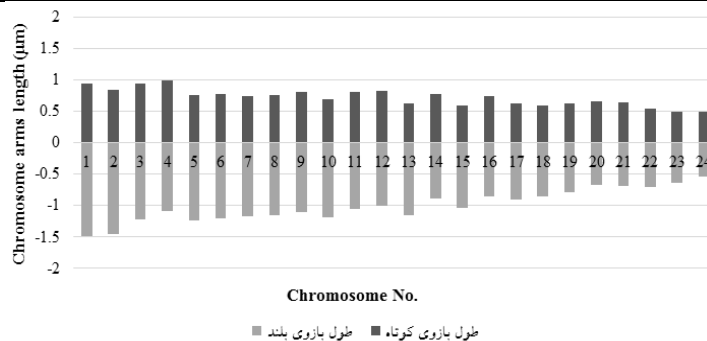
Metacentric	1.162	0.551	0.636	0.003	1.198	1.183	1.188	13
Metacentric	1.163	0.539	0.624	0.003	1.173	1.158	1.163	14

همچنین تغییرات طول کروموزوم‌ها در محدوده ۱/۰۲۲ تا ۲/۳۷۵ میکرون بود. طول کل کروموزوم‌های این مجموعه برابر با ۴۱/۳۲۳ و میانگین طول کروموزوم‌ها نیز ۱/۷۲۱ میکرون بود. دامنه‌ی طول بازوی بلند گونه‌ی مذکور از ۰/۵۶۱ میکرون در کروموزوم شماره‌ی ۲۴ تا ۱/۴۶۴ میکرون در کروموزوم شماره‌ی ۱ متغیر و دارای میانگین ۱/۰۰۵ میکرون بود. همچنین دامنه‌ی طول بازوی کوتاه از ۰/۴۶۱ میکرون در کروموزوم شماره‌ی ۲۴ تا ۰/۹۵۶ میکرون در کروموزوم شماره‌ی ۳ در نوسان بود و میانگین مربوط به آن ۰/۷۱۳ میکرون حاصل شد. میانگین نسبت بازوها ۱/۴۱۰ و %TF در این گونه برابر با ۴۱/۶۶ بود. جدول ۴ بیان‌کننده ویژگی کروموزوم‌های گونه‌ی *S. hortensis* و شکل‌های ۵ و ۶ به ترتیب نشان‌دهنده ایدیوگرام و صفحه متافازی کروموزوم‌های این گونه می‌باشند.

شکل ۳- ایدیوگرام *Satureja sahendica*شکل ۴- گستره‌ی متافازی کروموزوم‌های گونه‌ی *Satureja sahendica*جدول ۴- ویژگی‌های کروموزوم‌ها در *Satureja hortensis*

Type of chromosome	Arm length ratio	Short arm Length	long arm Length	Standard error	Maximum chromosome length	Minimum chromosome length	Average chromosome length	Chromosome No.
Metacentric	1.607	0.911	1.464	0.022	2.438	2.339	2.375	1
Submetacentric	1.753	0.821	1.440	0.014	2.288	2.223	2.261	2
Metacentric	1.283	0.956	1.227	0.006	2.204	2.173	2.184	3
Metacentric	1.219	0.932	1.137	0.011	2.096	2.043	2.070	4
Metacentric	1.682	0.743	1.250	0.002	1.999	1.988	1.994	5
Metacentric	1.592	0.769	1.225	0.000	1.979	1.978	1.978	6
Metacentric	1.584	0.744	1.179	0.002	1.927	1.917	1.923	7
Metacentric	1.515	0.760	1.152	0.001	1.916	1.908	1.913	8
Metacentric	1.310	0.821	1.076	0.001	1.900	1.894	1.898	9
Metacentric	1.766	0.680	1.201	0.003	1.889	1.873	1.882	10
Metacentric	1.257	0.819	1.030	0.002	1.854	1.842	1.849	11
Metacentric	1.266	0.807	1.022	0.001	1.832	1.827	1.829	12
Submetacentric	1.786	0.638	1.140	0.007	1.791	1.757	1.778	13
Metacentric	1.129	0.787	0.889	0.008	1.700	1.664	1.676	14
Submetacentric	1.836	0.570	1.047	0.003	1.628	1.613	1.618	15
Metacentric	1.196	0.726	0.869	0.005	1.604	1.581	1.596	16
Metacentric	1.486	0.610	0.907	0.003	1.526	1.509	1.517	17
Metacentric	1.692	0.536	0.907	0.008	1.489	1.452	1.467	18
Metacentric	1.182	0.652	0.771	0.003	1.429	1.414	1.423	19
Metacentric	1.045	0.660	0.690	0.007	1.362	1.330	1.348	20
Metacentric	1.096	0.629	0.690	0.002	1.323	1.312	1.319	21

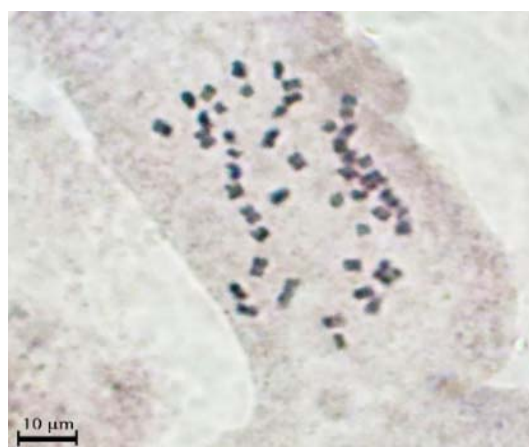
Metacentric	1.169	0.530	0.620	0.012	1.290	1.236	1.256	22
Metacentric	1.175	0.552	0.649	0.007	1.163	1.128	1.141	23
Metacentric	1.216	0.461	0.561	0.003	1.032	1.015	1.022	24



شکل ۵- ایدیوگرام گونه‌ی *Satureja hortensis*

*S. hortensis* و *S. sahendica* گونه‌های پلی‌پلوئید هستند اما با توجه به اندازه بسیار کوچک کروموزوم‌ها و کاریوتیپ تقریباً متقارن، تعیین نوع پلی‌پلوئیدی با روش‌های کلاسیک ممکن نیست و نیازمند انجام مطالعات از طریق سیتوژنتیک مولکولی همراه با مطالعات ژنتیکی (الگوهای تفکیک دیسومی یا پلی‌سومی) و هیبریداسیون‌های بین گونه‌ای خواهد بود. بر این اساس گزارشی از وجود اعداد پایه‌ی  $x=6$ ،  $x=7$  و  $x=8$  در *Satureja* ارائه شده است با این تفاوت که گونه‌ی *S. atropatana* با عدد پایه‌ی  $x=6$  دیپلوئید  $2n=2x=12$ ، گونه‌ی *S. sahendica* با عدد پایه‌ی کروموزومی  $x=7$ ، تتراپلوئید  $2n=4x=28$  و گونه‌ی *S. hortensis* با عدد پایه  $x=8$  هگزاپلوئید  $2n=6x=48$  می‌باشد.

در این مطالعه اندازه‌ی کوچک و شباهت بسیار زیاد کروموزوم‌ها به دلیل تقارن بالای کاریوتیپی در دو گونه‌ی *S. hortensis* و *S. sahendica* تجزیه دقیق کاریوتیپی این گونه‌ها را بسیار مشکل می‌نمود. با وجود این نتایج نشان داد که تیپ کروموزوم‌های مورد بررسی از نوع متاسانتریک تا ساب‌متاسانتریک می‌باشند. به طوری که تمام کروموزوم‌های گونه‌ی *S. sahendica* از نوع متاسانتریک و دو گونه‌ی دیگر تلفیقی از متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک بودند. ایرانی و همکاران (۸) نیز گزارش کردند که کروموزوم‌ها در گونه‌های مرزه عمدتاً متاسانتریک و در درجه بعدی



شکل ۶- گستره‌ی متافازی کروموزوم‌های گونه‌ی *Satureja hortensis*

## بحث

در این تحقیق اعداد پایه‌ی کروموزومی ۶، ۱۴ و ۲۴ به ترتیب برای گونه‌های *S. atropatana*، *S. sahendica* و *S. hortensis* مشاهده شد و مطالعات کروموزومی نشان داد که برای هر سه گونه‌چیدمان کروموزوم‌ها به صورت دو به دو مناسب‌تر است که این گفته در ظاهر به معنی دیپلوئید بودن گونه‌های مورد مطالعه است و با نتایج مطالعات برخی از محققین دیگر نیز همخوانی دارد (۸ و ۱۲) اما چنین تفاوت بزرگی در عدد پایه کروموزومی نمی‌تواند در درون گونه‌های یک جنس وجود داشته باشد. همچنین عقیده بر این است که اعداد پایه بالاتر از ۱۲ حکایت از پلی‌پلوئیدی دیرینه دارد (۱۴) بنابراین قطعاً گونه‌های

حالت متاسانتریک است. گونه‌ی *S. sahendica* با داشتن کمترین مقدار  $A_1$  و بیشترین مقدار %TF نسبت به دو گونه‌ی دیگر، دارای کاربوتیپ متقارنی بود. همچنین گونه-ی *S. hortensis* با داشتن مقدار  $A_1$  کمتر و %TF بیشتر نسبت به گونه‌ی *S. atropatana* کاربوتیپ متقارن‌تری داشت. بنابراین به طور کلی گونه‌ی *S. sahendica* دارای بیشترین تقارن کاربوتیپی و گونه‌ی *S. atropatana* دارای کاربوتیپ نامتقارن بودند. فرمول کاربوتیپی نیز این موضوع را تایید کرد، چرا که هر چه تعداد کروموزوم متاسانتریک بیشتر باشد تقارن کاربوتیپی بیشتر خواهد بود و همانطور که ملاحظه شد گونه‌ی *S. sahendica* از جمله گونه‌هایی بود که همه‌ی کروموزوم‌های آن متاسانتریک بودند و بیشترین مقدار %TF را نیز دارا بودند.

روند تغییرات دو شاخص  $A_2$  و %DRL به عنوان شاخص‌های عدم تقارن بین کروموزومی، یک رابطه‌ی خطی و مستقیم است. هرچه این شاخص‌ها مقادیر کمتری داشته باشند کاربوتیپ متقارن‌تر خواهد بود. در این بررسی نیز بیشترین مقدار  $A_2$  و %DRL مربوط به گونه‌ی *S. atropatana* و کمترین مقدار آن‌ها به گونه‌ی *S. sahendica* تعلق داشت (جدول ۲). بنابراین گونه‌ی *S. sahendica* دارای کاربوتیپ متقارن‌تری بود. داشتن کمترین مقدار شاخص‌های  $A_1$  و  $A_2$  در گونه‌ی *S. sahendica* احتمالاً با قابلیت بالای آن در انطباق با شرایط سخت محیطی مرتبط باشد (۱۱).

از لحاظ تکامل کاربوتیپی، براساس کلاس تقارن استبینز (۱۷) گونه‌ی *S. sahendica* در کلاس IA و گونه‌ی *S. atropatana* در کلاس 2A و گونه‌ی *S. hortensis* در کلاس 2B قرار گرفتند. با توجه قرارگرفتن گونه‌ی *S. sahendica* در کلاس IA می‌توان نتیجه گرفت که این امر بیانگر تقارن کاربوتیپی و وضعیت تکاملی ابتدایی در این گونه است که بررسی پارامترهای دیگر نیز این موضوع را تایید کردند ولی در مقایسه‌ی بین دو گونه‌ی دیگر از

ساب متاسانتریک هستند. گونه‌های مورد مطالعه از نظر ویژگی‌های کاربوتیپی و تعداد کروموزوم با هم تفاوت داشتند که نشان دهنده‌ی این است که این گونه‌ها در معرض پروسه‌های تکاملی مدیدی قرار گرفته‌اند و قادر به حضور و پایداری در شرایط متنوع محیطی هستند.

دامنه‌ی تغییرات طول کروموزوم از ۱/۰۲۲ میکرومتر در گونه‌ی *S. hortensis* تا ۵/۹۴۳ میکرومتر در گونه‌ی *S. atropatana* متفاوت بود که این نشان دهنده‌ی وجود تنوع در طول کل کروموزوم‌ها در بین گونه‌های مورد مطالعه بود. در بین سه گونه‌ی مورد مطالعه از نظر اندازه طول بازوی بلند و بازوی کوتاه تنوع بسیاری وجود داشت، به خصوص گونه‌ی *S. atropatana* از این نظر بسیار متفاوت از دو گونه‌ی *S. hortensis* و *S. sahendica* بود. دو گونه‌ی *S. hortensis* و *S. sahendica* از این نظر تقریباً به همدیگر نزدیک‌تر بودند که این موضوع نشان‌دهنده‌ی وجود تنوع در اندازه‌ی کروموزوم‌ها و بازوهای کروموزومی بین گونه‌ی *S. atropatana* با دو گونه‌ی دیگر می‌باشد در حالی که تنوع کمتری در اندازه‌ی بازوها در دو گونه‌ی *S. hortensis* و *S. sahendica* نسبت به همدیگر دیده شد. از نظر صفت نسبت بازوها نیز گونه‌ی *S. sahendica* نسبت به گونه‌ی *S. hortensis* و آن نیز نسبت به گونه‌ی *S. atropatana* مقدار کمتری داشتند و از نظر صفت شاخص سانترومیری نیز به ترتیب گونه‌های *S. sahendica*، *S. hortensis* و *S. atropatana* دارای بیشترین مقدار بودند که این امر بیانگر تقارن کروموزومی بیشتر *S. sahendica* نسبت به دو گونه‌ی دیگر می‌باشد.

فاکتورهای  $A_1$  و %TF به عنوان شاخص‌های تقارن درون کروموزومی هستند که رابطه‌ی آن‌ها با هم یک رابطه‌ی عکس می‌باشد. بنابراین با اندازه‌گیری یکی از دو شاخص فوق می‌توان به میزان تقارن و نامتقارن بودن کروموزوم‌ها پی برد. هرچه مقدار  $A_1$  بیشتر باشد دلیل بر حرکت سانترومیری به سوی قسمت انتهایی کروموزوم و دور شدن از

آشکار ژنومی (از نظر عدد پایه، سطح پلوئیدی و اندازه کروموزوم‌ها) موجود در بین گونه‌های مورد مطالعه انتظار می‌رود که امکان تلاقی مستقیم بین گونه‌های *سهندیکا* و *آتروپاتانا* با گونه زراعی مقدور نباشد و استفاده از این گونه‌ها در اصلاح مرزه نیازمند توسل به روش‌هایی نظیر نجات جنین، استفاده از گونه‌های پل و دست‌ورزی پلوئیدی باشد.

نظر کلاس تقارن استینز، گونه‌ی *S. atropatana* در کلاس 2A و گونه‌ی *S. hortensis* در کلاس 2B قرار داشتند که این امر نشان دهنده تقارن کاربوتیبی بیشتر *S. atropatana* نسبت به *S. hortensis* است در حالیکه بررسی پارامترهای دیگر نظیر  $A_1$ ،  $A_2$ ،  $TF\%$ ،  $DRL\%$ ،  $CI$  و  $AR$  خلاف این موضوع را نشان داد و این باعث شد تا حدودی دو گونه‌ی *S. hortensis* و *S. atropatana* از لحاظ تقارن و تکامل کاربوتیبی متمایز شوند. در مجموع با توجه به تفاوت‌های

## منابع

- ۱- آروین، پ، ۱۳۹۸. مطالعه سطوح مختلف نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر پارامترهای فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی و محتوای اسانس در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.)، مجله پژوهش-های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، دوره ۳۲، شماره ۲، صفحات ۴۶۳-۴۶۴.
- ۲- آریان، ز، مرآتی، م. ج، ابراهیم‌زاده، ح.، هادیان، ج.، و میرمعصومی، م. ۱۳۹۷. تحلیل اثر تنش شوری و سالیسیلیک اسید
- ۳- جم‌زاد، ز، ۱۳۸۸. آویشن‌ها و مرزه‌های ایران، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، ص ۱۷۲.
- 4- Daniel, S., Fabricant, R., and Norman, R., 2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery, *Environmental Health Perspectives*, 109, PP: 69-75.
- 5- Gulluce, M., Sokmen, M., Daferera, D., Agar, G., Ozkan, H., Kartal, N., Polission, M., Sokmen, A., and Sahin, F., 2003. In vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L., *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, PP: 3958-3965.
- 6- Hassanpour-Aghdam, M. B., Safi Shalamzari, M., Aazami, M. A., and MohajjelShoja, A., 2009.  $\gamma$ -terpinene and carvacrol rich volatile oil of *Satureja sahendica* Bornm. From Maragheh district in Northwest Iran, *Chemistry*, 20(3), PP: 186-189.
- 7- Huie, C., 2002. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 373, PP: 23-30.
- 8- Irani, P., Hesamzadeh Hejazi, M., and Tabaei Aghdaei, R., 2014. Karyological study on four species of *satureja* (Lamiaceae) in Iran, *International Journal of Biosciences*, PP: 229-240.
- 9- Novak, J., Bahoo, L., Mitteregger, U., and Franz, C. H., 2006. Composition of individual essential oil Glands of savory (*Satureja hortensis* L., Lamiaceae) from Syria, *Flavour and Fragrance Journal*, 21, PP: 731-734.
- 10- Panahandeh, J., and Mahna, N., 2011. The Karyomorphology of *Allium hirtifolium* Bioss., a Less Known Edible Species from Iran, *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 1(2), PP: 53-57.
- 11- Peruzzi, I., and Eroglu, H. F., 2013. Karyotype asymmetry: again, how to measure and what to measure? *Comparative cytogenetics*, 7(10), PP: 1-9.
- 12- Romero Zarco, C., 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry, *Taxon* 35, PP: 526-530.
- 13- Shariat, A., Karimzadeh, G. H., and Assareh, M., 2013. Karyology of Iranian Endemic *Satureja* (Lamiaceae) Species. *Cytologia*, 78(3), PP: 305-312.
- 14- Small, E., and Jample., E., 1988. A synopsis of the genus *Medicago*, *Canadian Journal of Botany*, 67 (11), PP: 3260-3294.
- 15- Stebbins, G., 1971. *Chromosomal evolution in higher plants*, Edward Arnold Publishers. pp216.



## The study of chromosomal diversity in some species of *Satureja*

Rahbari F.,<sup>1</sup> Farsad-Akhtar N.,<sup>1</sup> Panahandeh J.,<sup>2</sup> Razban Haghigi A.<sup>3</sup> and Talebpour A.H.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Plant Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, I.R. of Iran.

<sup>2</sup>Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, I.R. of Iran.

<sup>3</sup>East-Azərbayjan Research Center for Agriculture & Natural Resources, Tabriz, I.R. of Iran.

### Abstract

The genus *Satureja* is one of the main plants in food, pharmaceutical and healthcare industries by having important secondary metabolites. In this study, three *Satureja* species including *S. sahendica*, *S. hortensis*, *S. atropatana* were cytogenetically investigated. According to the results, the average chromosome lengths of the *Satureja* species ranged from 1.39  $\mu\text{m}$  in *S. sahendica* to 4.82  $\mu\text{m}$  in *S. atropatana*. The largest chromosome was observed in *S. atropatana* (5.940  $\mu\text{m}$ ) and the smallest in *S. hortensis* (1.022  $\mu\text{m}$ ). Between the studied species there were significant differences in long arm length (TL), arm ratio (AR), centromeric index (CI), total form percentage (TF%), difference of range relative length (DRL%), intra-chromosomal symmetry index ( $A_1$ ) and inter-chromosomal asymmetry index ( $A_2$ ). The chromosome types were determined "metacentric" and "submetacentric". The Karyotype formula in *S. sahendica*, *S. hortensis* and *S. hortensis* species were respectively 14m, 20m+4sm and 4m+2sm. The *S. sahendica* species had the smallest values of Romero-Zarco index ( $A_1$  and  $A_2$ ), which is probably linked to its high capability with hard environmental conditions. In compared to the other species, *S. sahendica* showed the smallest DRL% and the largest TF%. It can be concluded that *S. sahendica* has more symmetrical karyotype and is more primitive species than two others. Because of the obvious genomic differences, it is expected that the direct crossing between *S. atropatana* and *shandica* with cultivated savory would be impossible and use of these species in savory breeding may need the ploidy manipulation and bridge species.

**Key words:** Cytogenetic, Karyotype, *Satureja*