

العدد الكروموسومي الاحادي لبعض انواع الجنس *Nepeta* L. من العائلة الشفوية
(Labiatae) في العراق
خزعل ضبع وادي الجبوري , علي حسين عيسى الموسوي

العدد الكروموسومي الاحادي لبعض انواع الجنس *Nepeta* L. من العائلة الشفوية (Labiatae) في العراق

خزعل ضبع وادي الجبوري , علي حسين عيسى الموسوي
قسم علوم الحياة والاحياء المجهرية , كلية العلوم /جامعة ديالى , قسم علوم الحياة, كلية العلوم/ جامعة بغداد

تاريخ استلام البحث: 2011-02-17 - تاريخ قبول النشر: 2011-06-06

الخلاصة

تناولت هذه الدراسة حساب العدد الكروموسومي الاحادي لخمسة انواع من انواع الجنس *Nepeta* L. النامية نباتات انواعه برياً في العراق حيث جمعت براعمها في اثناء السفرات الحقلية التي أنجزت خلال هذه الدراسة الى مقاطعات العراق الجغرافية , وقد تم في هذا البحث حساب العدد الكروموسومي الاحادي للأنواع *N. betonicifolia* C. A. Mey. وكان 14 بينما اشترك النوعان *N. macrosiphon* Boiss. و *N. transcaucasica* Grossh. باحتوائهما 9 كروموسومات في حين كان عدد كروموسومات النوع *N. humilis* Benth. 11 كروموسوما لكن النوع *N. wettsteinii* H. Braun. كان له 13 كروموسوما . وقد بين البحث الحالي اهمية حساب العدد الكروموسومي الاحادي في تعزيز الدراسة المظهرية وساعد في عزل الانواع المتشابهة مظهرياً .

المقدمة Introduction

إن الدراسات التفصيلية للخلية وعضياتها المختلفة ولاسيما النواة Nucleus وبالذات الكروموسومات والتي تتضمن حساب عدد الكروموسومات ودراسة مظهرية الكروموسومات Karyotype morphology وسلوك الكروموسومات Chromosomes behavior في الانقسام الخيطي Mitosis والانقسام الاختزالي Meiosis جميعها لها أهمية كبيرة في حل كثير من المعضلات التصنيفية (Stebbins, 1971) و (Heywood, 1976) و (Al-Musawi, 1981) و (Sharma, 1993)، وقد بين (الموسوي, 1987) و (الجبوري, 2010) أهمية نتائج الدراسة الخلوية في أنها توازي الدراسة المظهرية للنبات أوبة دراسة مقارنة وهي تساعد في دعم وإسناد الدراسة التصنيفية والمظهرية بغية الوصول الى تصنيف أكثر إقناعاً للمراتب التصنيفية المدروسة، كما ذكر (Moore, 1968) و (Heywood, 1976) و (Davis & Heywood, 1973)، إن استخدام العدد الكروموسومي وصفات الهيئة الكروموسومية لهما أهمية كبيرة في تفسير الظواهر التطورية والوراثية المؤدية إلى التنوع Speciation حيث إن دراسة الهيئة الكروموسومية للأجناس والأنواع الشائعة ظهرت أهميتها في عزل المراتب التصنيفية وتشخيصها وأكد (Stace, 1980) الأهمية التصنيفية لحساب العدد الكروموسومي للنوع كون هذه الصفة ثابتة يمكن استخدامها في التصنيف الحياتي، Biosystematics كما أكد (Shaw, 1973) على ضرورة تضمين الموسوعات النباتية الحديثة العدد الكروموسومي لكل نوع، علماً ان الموسوعات النباتية الحديثة تضمنت العدد الكروموسومي للأنواع كما في الفلورا الصينية Flora of China والفلورا الاوربية Flora of Europe والفلورا التركية Flora of Turkish, (Huber –Morath, 1982).

وظهر حديثاً دليل العدد الكروموسومي للنبات (IPCN) Index to plant chromosome number كما في إصدارات مطبعة حدائق ميزوري النباتية في امريكا Missouri Botanical Garden press والتي صدرت على شكل سلسلة إصدارات متواصلة ابتداء من 1956 بواسطة Marions, Car و Colleagues of the University of California, هذا وان (IPCN) وثق في مطبعة حدائق ميزوري في، او منذ 1978 منها دليل عام 2006 الذي تضمن الإصدارات من عام 1971 الى عام 2002 وأنتهاءً بدليل عام 2007 الذي ضم سلسلة من الاجزاء عددها 12 جزءاً ابتداءً بالجزء (IPCN) 1975–1978 وانتهاءً بالجزء (IPCN) 2001–2003.

العدد الكروموسومي الاحادي لبعض انواع الجنس *Nepeta L.* من العائلة الشفوية
(Labiatae) في العراق

وعلى الرغم من أهمية الدراسات الكروموسومية في الدراسات التصنيفية إلا أن الدراسات في هذا المجال قليلة ولا سيما فيما يتعلق بانواع الجنس قيد الدراسة وهذا يؤكد ما جاء به (Davis & Heywood, 1973) في ان هناك ربع مليون نوع نباتي من النباتات الزهرية لم يسجل العدد الكروموسومي فيها الا لعشرين الف نوع , وعلى الرغم من كون هذه النسبة قليلة مقارنة بعدد الانواع المعروفة والمكتشفة والتي ستكتشف لاحقا الا انها لا تخلو من الاخطاء ولا سيما ان ألاف من الانواع حسب العدد الكروموسومي لها لمرة واحدة غير معروف مصدر بذوره التي تكون قد حصل عليها من التبادلات المعشبية (الزبيدي، 1998).

أما بالنسبة الى الجنس *Nepeta* فلا توجد أية دراسة كروموسومية لاي نوع من أنواعه النباتية النامية برياً في العراق ، ومعظم الدراسات حول انواع الجنس كانت على نباتات غير عراقية في إيران وتركيا وبلدان اخرى حيث ذكر (Darlington, 1955) العدد الاساسي للجنس $X=17,9$ والعدد الثنائي Diploid لثمانية انواع من انواعه التي تصل الى 300 نوع ومنها اثنان ينموان في العراق هما *N. nuda L.* الذي عدد كروموسوماته $(2n=36)$ سجله Sugiura سنة 1940 ايضا و *N. cataria L.* الذي عدد كروموسوماته $(2n=36)$. وهذا العدد لنباتات غير عراقية. أما (Podlech & Dieterlc, 1969) فقد ذكرا العدد الثنائي لستة أنواع من الجنس ومنها واحد فقط ينمو في العراق هو *N. cataria* الذي عدد كروموسوماته $2n=36$ وهذا العدد هو نفسه الذي سجله Darlington سنة 1955 و Love سنة 1961 بينما Cave سنة 1960 سجل العدد $2n=34$.

المواد وطرائق العمل Materials & Methods

حسب العدد الكروموسومي الاحادي من خلايا الام لحبوب اللقاح (PMC) Pollen Mother Cell , اذ استخدمت براعم مجموعة من الحقل ومن مقاطعات جغرافية مختلفة واتبعت في ذلك الخطوات الاتية:

أ. جمع العينات Sampling

جمعت البراعم الزهرية Flower buds من قمم النورات لأنواع الجنس المدروسة التي أمكن الحصول عليها من الحقل مباشرة في اثناء السفرات الحقلية لمقاطع العراق الجغرافية وقد اخذت العينات بشكل عشوائي من نباتات مختلفة تعود للنوع نفسه سواء كانت منفردة او على شكل مجاميع سكانية Populations ، ومن مناطق مختلفة قدر المستطاع.

العدد الكروموسومي الاحادي لبعض انواع الجنس *Nepeta L.* من العائلة الشفوية
(Labiatae) في العراق

ووضعت انموذجات البراعم في قناني Vials صغيرة ، وعلمت برقع Labels من ورق تتضمن الارقام نفسها والمعلومات
الاخرى المثبتة على العينات النباتية التي جمعت من ذات المكان والزمان والتي حفظت في معشب الجامعة (BUH).

ب. القتل والتثبيت Killing & Fixation

وضعت البراعم الزهرية في محلول كارنوي الاول (1 fluid - Carnoys) والمتكون من حجم واحد من حامض
الخليك الثلجي Glacial acetic acid وثلاثة حجوم من الكحول المطلق Absolute alcohol والمحضر انيا في الحقل،
لتجنب تكون خلات الاثيل التي تزيد من اصطبغ الساييتوبلازم (Sharma&Sharma, 1972). تركت البراعم في
المحلول من (20-24) ساعة، ثم غسلت بكحول ايثيلي تركيز (70%) ولمرتين متتاليتين مع الرج، ثم حفظت في كحول
(70%) لمدة 24 ساعة وبعدها استبدل الكحول بأخر (التركيز نفسه) للتخلص من اثار الحامض وحفظت البراعم في
المجمدة لحين دراستها.

ج- التصبغ وتحضير الشرائح Staining & slides preparation

أ- أستخدمت صبغة الاورسين الحامضية Aceto-orcein بتركيز (2%) او الكارمين الحامضية Aceto-
Carmin التي حضرت بطريقة (Darlington & Lacour, 1960) ، اذ اختيرت براعم بحجوم مناسبة وجففت جيدا
بورق الترشيح ثم غسلت بالماء المقطر، بعدها شرحت البراعم تحت مجهر التشريح واستخرجت المتوك من احد
المتوك ووضعت في زجاجة ساعة تحتوي على محلول الصبغة وتركت فيها لمدة من (15-120) دقيقة (وحسب
انواع الاجناس) بعدها نقل احد المتوك الى شريحة زجاجية ثم فتح المتك بإبرتي تشريح دقيقتي النهاية في قطرة من
الصبغة ، وهرس بآبرة تشريح حديدية (يستحسن ان تكون صدئة لاعطاء الصبغة كمية من ايونات الحديد التي
تساعد في عملية ربط الصبغة بالكروموسومات عند استعمال صبغة الكارمين الحامضية). بعدها وضع غطاء
الشريحة بلطف وضرب برفق بالنهاية الخشبية لآبرة التشريح مرات عدة بغية توزيع الخلايا بصورة متجانسة، ولطرد
الفقاعات الهوائية من تحت الغطاء، ثم سخنت الشريحة على لهب مصباح كحولي بإمرارها فوق اللهب لمرات عدة مع

العدد الكروموسومي الاحادي لبعض انواع الجنس *Nepeta L.* من العائلة الشفوية

(Labiatae) في العراق

مراعاة عدم غليان الصبغة ، علما أن عملية التسخين تساعد على التصاق الغطاء وتفريق الكروموسومات (Darlington & Lacour, 1960), بعد ذلك وضعت الشريحة بين طيتي ورقة الترشيح وضغط عليها بالابهام وبصورة عمودية ثابتة مع تجنب تحريك الغطاء (البياتي, 2001) . اختيرت الشرائح التي تحتوي على خلايا ذات اطوار انقسام مناسبة التي تكون فيها الكروموسومات منتشرة بصورة جيدة ليسهل عدها. ثم صورت بعضها. واحيط غطاء الشريحة بمادة الشمع من الجهات جميعها وبصورة تامة.

ب- استخدمت طريقة (شلاهي, 2009) في تصبغ البراعم الزهرية و تتلخص بالخطوات الاتية :-

- 1- اختيرت البراعم الزهرية التي اطوالها بين 2- 5 ملم .
- 2- وضعت البراعم في صبغة (الاورسين الحامضية 5% (4 مل) و HCL 6 عياري (6 مل)) والموضوعة في حمام مائي بدرجة (1 ± 60) مئوية لمدة 60- 90 ثانية
- 3- وضعت البراعم بعد التصبغ في زجاجة ساعة فيها قطرة من صبغة الاورسين 1% تحت مجهر تشريحي . Dissecting microscope
- 4- استخرجت المتوك ووضعت في قطرة الاورسين 1% على شريحة زجاجة ومررت على لهب مصباح كحولي ثم هرست ووضع عليها غطاء الشريحة باحكام .
- 5- وضعت الشريحة بين طبقتي ورقة ترشيح وضغط عليها بالابهام وبصورة عمودية ثابتة
- 6- مررت الشريحة على لهب مصباح كحولي 2- 3 مرة لغرض التصاق الغطاء وتفريق الكروموسومات .
- 7- درست الشرائح تحت مجهر مركب نوع Leica وصورت بكاميرا رقمية نوع Canon وتحت العدسة 40 . هذا وقد وجد ان الطريقة الثانية كانت افضل لذلك عمل بها .

النتائج والمناقشة Results & Discussion

استطاعت الدراسة الحالية حساب العدد الكروموسومي الاحادي Haploid لعدد من انواع الجنس النامية برياً في العراق والتي امكن جمع براعمها الزهرية خلال الجولات الحلقية لمقاطع العراق الجغرافية حيث تمثل الجنس ب (5) انواع جمعت براعمها من الحقل مباشرة اما الانواع الباقية , فقد تعذر الحصول على براعمها بسبب عدم امكانية الوصول الى مناطق انتشارها ولعدة اسباب منها انها تنتشر في ارتفاعات عالية على جبال هلكورد وقنديل او انها تنتشر في المناطق الوعرة المتاخمة لحدود ايران وتركيا والتي تشهد عمليات عسكرية . وسنكمل دراسة العدد الكروموسومي لبقية الانواع مستقبلاً عند التمكن من الوصول الى مناطق انتشارها ان شاء الله تعالى .

حسب العدد الكروموسومي الاحادي من خلايا الام لحبوب اللقاح وكان افضل طور لحساب العدد الكروموسومي الاحادي هو الطور الاستوائي الاول Metaphase1 والطور الانفصالي الاول Anaphase1 من مراحل الانقسام الاختزالي Meiosis للخلايا , وقد كان افضل طول للبرعم عند الدراسة هو بين (2-3) ملم , و اظهرت الدراسة ان العدد الكروموسومي الاساسي لانواع الجنس النامية برياً في العراق هو 9، 11، 13، 14، وهذا يتوافق مع ما جاء به Darligton لسنة 1969 الذي ذكر أن العدد الكروموسومي للجنس بين 9-17 . علماً بان الاعداد الاساسية يتم تسجيلها لأول مرة في العراق وتبين اللوحة (1) الاعداد الكروموسومية الاحادية للانواع المدروسة ، واتضح من خلال هذه الدراسة ان الانواع المدروسة تشترك في ان كروموسوماتها صغيرة جداً وقصيرة جداً وفي بعض الاحيان متكتلة فتبدو وكأنها نقاط صغيرة غير واضحة المعالم مما ادى الى صعوبة بالغة في دراسة مظهر الهيئة الكروموسومية Karyotyping بالمستلزمات المختبرية المتوافرة . لذلك حسبت الاعداد الكروموسومية للانواع المدروسة . وقد اظهرت ان العدد الكروموسومي الاحادي للنوع *N. betonicifolia* هو (14) في حين اشترك النوعان *N. macrosiphon* و *N. transcasicasica* باحتوائها على (9) كروموسومات في حين كان النوع *N. humilis* هو (11) واخيراً كان عدد كروموسومات النوع *N. wettsteinii* (13) كروموسوما .

العدد الكروموسومي الاحادي لبعض انواع الجنس *Nepeta L.* من العائلة الشفوية
(Labiatae) في العراق

من هذا يتضح ان الدراسة الكروموسومية ولاسيما عدد الكروموسومات يمكن ان تعتمد بشكل أساسي في حل كثير من المعضلات التصنيفية وتعد مسندا لبقية الدراسات التصنيفية ولاسيما المظهرية حيث تساعد في عزل وتشخيص الانواع المتشابهة مظهريا اعتمادا على العدد الكروموسومي الاحادي. إن نتائج الدراسة تشير بشكل مؤثر الى إمكانية حل التداخلات والملابسات بين الانواع المتشابهة مظهريا مثل الانواع *N. humilis* و *N. wettsteinii* و *N. macrosiphon* حيث أظهرت اختلافات في أعدادها الكروموسومية مما يساعد في عزلها بالجوء الى الدراسة الكروموسومية اذ تبدو الصورة أكثر وضوحا وجلاء بين الأنواع مهما كان التشابه المظهري بينهما لذا يؤيد البحث الحالي الرأي الذي اشار اليه shaw سنة 1973 في ضرورة تضمين الموسوعات النباتية الحديثة العدد الكروموسومي لكل نوع.

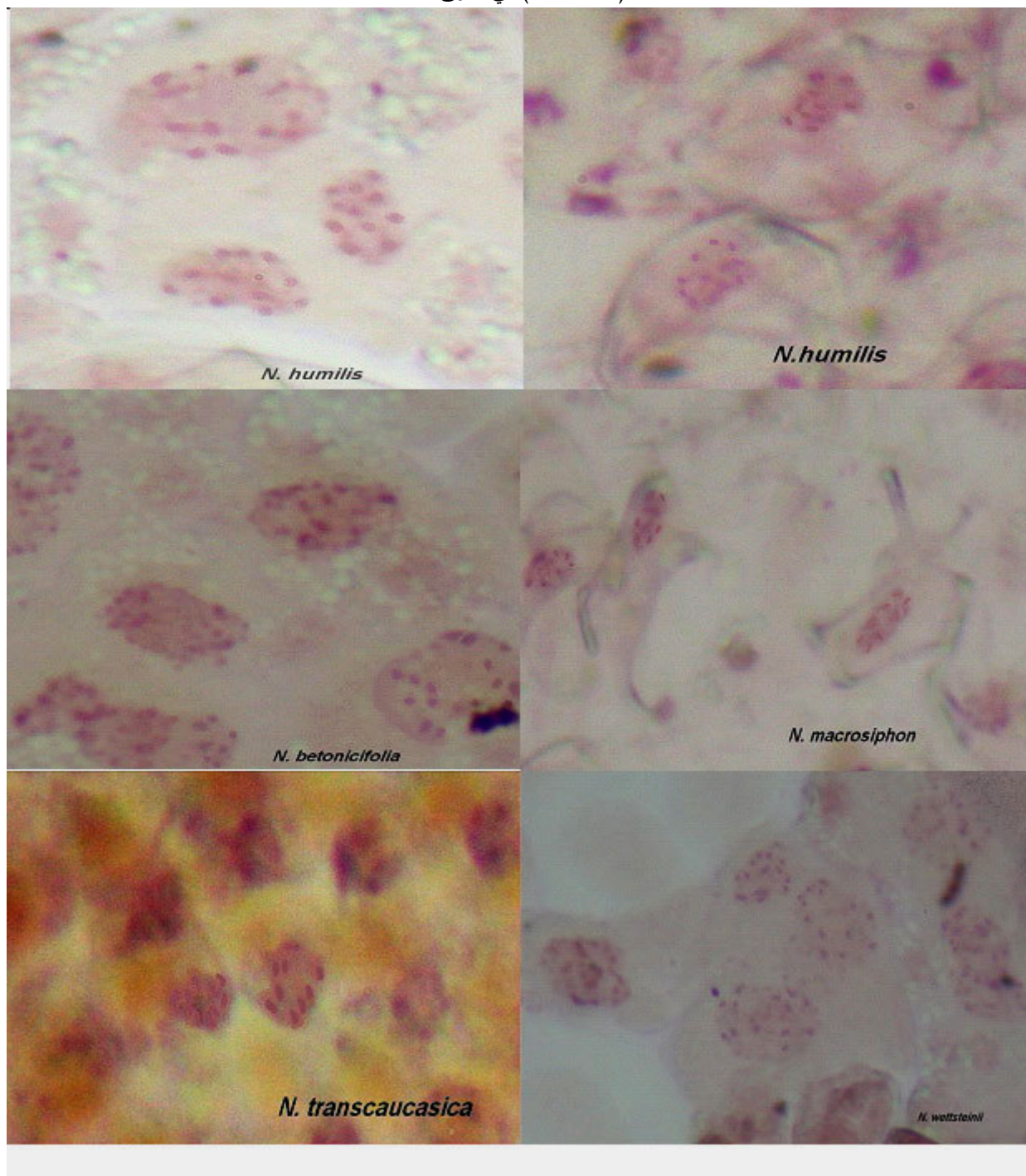
المصادر

- البياتي , ميسون خضر عباس (2001) دراسة تصنيفية مقارنة لانواع الاجناس *Mentha L.* و *Micromeria Benth.* و *Thymbra L.* و *Thymus L.* و *Ziziphora L.* للعائلة الشفوية Labiatae في العراق . اطروحة دكتوراه . جامعة بغداد - كلية العلوم .
 - الجبوري, خزعل ضبع وادي (2010) دراسة تصنيفية مقارنة لانواع الجنس *Nepta L. spp.* (Labiatae) في العراق . اطروحة دكتوراه. جامعة بغداد - كلية العلوم .
 - الزبيدي , عادل موحان عداي (1998) دراسة تصنيفية للاجناس *Marrubium L.* , *Ajuga L.* (Labiatae) *Lallemantia Fisch.&C.A.Mey.* , *Lamium L.* العائده للعائلة الشفوية Labiatae في العراق . اطروحة دكتوراه . جامعة بغداد - كلية العلوم .
 - الموسوي , علي حسين عيسى (1987) علم تصنيف النبات . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل .
- 379 ص
- شلاهي , ستار عبدالله (2009) دراسة تاثير بعض العوامل في استحثاث الكالس من متوك الفاصوليا .مجلة ديالى للعلوم الصرفة (مقبول للنشر).

العدد الكروموسومي الاحادي لبعض انواع الجنس *Nepeta* L. من العائلة الشفوية
(Labiatae) في العراق

- Al-Musawi, Ali H. E. (1981) Chromosomal study for species of genus *Hyoscyamus* L. (Solanaceae) .Iraqi J. Sci. Vol.22, No.4.
- Davis, P. H. and V. H. Heywood. (1973) Principles of Angiosperm Taxonomy. Robert. E. Krieger publishing Company Huntington, New York. 558 PP.
- Darlington, C. D. &A.P. Wylie(1955) Chromosome atlas of flowering plants , George Allen &Unwin Ltd ., London, 519 pp.
- Darlington, C. D. & L. F. Lacour (1960) The handling of chromosomes. George Allen &Unwin Ltd., London, 248 pp.
- Heywood, V. H. (1976) Plant taxonomy. 2nd. ed.Edward Arnold. 63 pp.
- Huber-Morath, A. (1982) *Phlomis* L. & *Sideritis* L. (In Davis, P. H. (1982) Flora of Turkey and Aegean island, vol.7.edinburgh University Press.).
- Moore, D. M. (1968) The karyotyping taxonomy. In V, H. Heywood (ed.) Modern methods in plant taxonomy: 16-35. Academic press, London& New York.
- Podlech, D. & A. Dieterle (1969) Chromosomes studies an afghanischen pflanzen.Candollea 24/2: 185-243.
- Sharma, A. K. &A. Sharma (1972) Chromosomal techniques Theory and practice @nd. Ed. Butter worths.London, 575 pp.
- Sharma, A. K. (1993) Plant taxonomy. Tata McGraw-Hill Co. Ltd, New Delhi, 482 pp.
- Shaw, G. W. (1973) Chromosome Studies. London, 86 pp.
- Stace ,C. A. (1980) Plant taxonomy and biosystematic. Edward Arnold. London. 279 pp.
- Stebbins,G. L. (1971) Chromosomal evolution in higher plants , Edward Arnold, London, 216 pp.

العدد الكروموسومي الاحادي لبعض انواع الجنس *Nepeta* L. من العائلة الشفوية
(Labiatae) في العراق



قوة التكبير 10×40× 12X

اللوحة (1) الاعداد الكروموسومية الاحادية لبعض انواع الجنس *Nepeta*.

العدد الكروموسومي الاحادي لبعض انواع الجنس *Nepeta* L. من العائلة الشفوية
(Labiatae) في العراق



N.humilis



N.macrosiphon



N.wettsteinii



N.betonicifolia



N.transcaucasica

اللوحة (2) صور حقليّة لاناوع الجنس *Nepeta*