

بررسی تنوع فلوریستیک-اکولوژیک و الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر *Artemisia spicigera* L. در شمال غرب ایران با استفاده از روش D.S.S.

مرتضی عطری^۱، عبدالکریم چهرگانی‌راد^{۱*} و سمیه یوسفی^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

^۲ گروه محیط‌زیست، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران

چکیده

جنس *Artemisia* L. (Asteraceae) با حدود ۲۰۰ تا ۵۰۰ گونه، یکی از بزرگ‌ترین و گسترده‌ترین جنس‌های قبیله *Anthemideae* است. برای بررسی وجود تنوع درون‌گونه‌ای *Artemisia spicigera* در شمال غرب ایران از روش تعیین زیستگاه ویژه (D.S.S.) استفاده شد. با استفاده از این روش برای گونه *A. spicigera*، ۸ زیستگاه ویژه تعیین و داده‌های فلوریستیک-اکولوژیک مورد نظر از هر زیستگاه ویژه جمع‌آوری گردید. در بررسی زیستگاه‌های ویژه مناطق مورد مطالعه، ۷۵ گونه گیاهی برای *A. spicigera* به عنوان گونه‌های همباش (associated species) شناسایی شد. تحلیل داده‌های فلوریستیک (به عنوان نشانگر فلوریستیک) زیستگاه‌های ویژه، به تشخیص ۶ گروه منجر شد. این گروه‌بندی وجود تنوع درون‌گونه‌ای را در این گیاه تعیین و مشخص نمود. تحلیل داده‌های اکولوژیک نیز گروه‌بندی‌های فوق را تأیید نمود. برای نشان دادن وجود تنوع، از بررسی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به روش الکتروفورز استفاده شد که نتایج آن با گروه‌بندی‌های فلوریستیک و اکولوژیک هم‌خوانی داشت. وجود تفاوت در تعداد و شدت باندهای پروتئینی در جمعیت‌های مورد بررسی گونه *A. spicigera* نشان‌دهنده وجود تنوع درون‌گونه‌ای در این گونه است. بنابراین، در این گونه، گروه‌بندی با استفاده از نشانگر فلوریستیک توسط نشانگرهای اکولوژیک (بوم‌شناختی) و الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر نیز تأیید گردید. به این معنا که گروه‌بندی فلوریستیک در مواردی می‌تواند به عنوان روشی کم‌هزینه و کارآمد برای بررسی تنوع درون‌گونه‌ای به کار رود.

واژه‌های کلیدی: اکولوژی (بوم‌شناسی)، الکتروفورز، تنوع درون‌گونه‌ای، داده‌های فلوریستیک، *Artemisia spicigera*، تعیین زیستگاه ویژه (D.S.S.)

مقدمه

جنس *Artemisia* (درمنه) از خانواده Asteraceae است و حدود ۲۰۰ تا ۵۰۰ گونه یا زیرگونه (McArthur, 1979; Mabberley, 1990; Bremer and Humphries, 1993; Ling, 1995) را شامل می‌شود (Torrell *et al.*, 1999a). بیشتر گونه‌های این جنس چندساله‌اند و فقط ۱۰ گونه یک یا دوساله را شامل می‌شود. گسترش این جنس در نیمکره شمالی است و در نیمکره جنوبی کمیاب است (Ling, 1991a, 1991b; Torrell and Valles, 2001). بسیاری از گونه‌های این جنس ارزش اقتصادی (دارویی، خوراکی و زینتی) دارند (Torrell *et al.*, 1999b; Wright, 2002) و برخی ارزش علوفه‌ای (*A. sieberi*) و برخی دیگر مانند *A. vulgaris* به عنوان علف هرز شناخته می‌شوند (ساعدی و همکاران، ۱۳۸۴).

A. spicigera، تنوع بالایی را از نظر عدد کروموزومی و مورفولوژی کروموزوم‌ها نشان می‌دهد (Chehregani *et al.*, 2010). آنالیز شیمیایی اسانس تهیه شده از آن نشان می‌دهد که جمعیت‌های مختلف آن تنوع شیمیایی بالایی را دارند و علاوه بر این، اسانس تهیه شده از آنها غنی از ۱ و ۸، سینئول و ترپنین است، به علت داشتن این ترکیبات، اثرات بازدارندگی در رشد باکتری‌ها، مخمرها و قارچ‌ها را دارد (Kordali *et al.*, 2006; Lopes-Lutz *et al.*, 2008).

وجود اقلیم‌های متنوع در کشور پهناور ایران از یک طرف و انتشار گونه‌های مختلف جنس درمنه در زیستگاه‌های متفاوت کشور از طرف دیگر سبب شده است تا ایران به عنوان یکی از مراکز تنوع درمنه به‌شمار آید (مظفریان ۱۳۶۸). در مطالعات اکولوژیک و

گیاه‌شناسی، استفاده از ترکیب فلورستیک یک محیط به عنوان معرف‌های اکولوژیک، به ارایه نتایج با ثبات و پایداری در مورد تنوع درون‌گونه‌ای و جایگاه تاکسونومیک نمونه‌های مورد مطالعه منتهی می‌گردد (Fanelli *et al.*, 2006). بنابراین، در بررسی‌های مبتنی بر داده‌های فلورستیک، باید همه گونه‌های گیاهی جوامع شناسایی شوند (مصادقی، ۱۳۸۰). بر همین اساس، روش (Determination of Special D.S.S. Station) (عطری، ۱۳۸۶؛ عسگری و همکاران، ۱۳۸۹) در بررسی‌های اکولوژیک پیشنهاد شده است که هر دو معیار فلورستیک و اکولوژیک را در مرحله جمع‌آوری داده‌ها مد نظر قرار می‌دهد.

تنوع در الگوی باندهای الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در مطالعات سیستماتیک و تکاملی گونه‌های گیاهی مفید بوده است (Ladizinsky and Mohammad Hymowitz, 1979)، از این پروتئین‌ها به عنوان منبعی معتبر برای نشان دادن خویشاوندی‌های سیستماتیک در سطح گونه، در جنس *Artemisia* استفاده کرده است. Watson و همکاران (۱۹۹۱) نشان دادند که الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در کنار مطالعات سیتوژنتیک شواهد کافی و خوبی برای خاستگاه آلپلوئیدی برخی از افراد تیره Asteraceae فراهم می‌نماید. Olivieri (۱۹۸۵) در مطالعات خود در گونه‌های تیره Asteraceae کارآیی روش الکتروفورز را در تشخیص تنوع درون‌گونه‌ای و شناسایی نمونه‌های هیبرید بین گونه‌های مختلف نشان داد.

در این پژوهش، به منظور تأیید صحت و دقت نتایج حاصل از تحلیل داده‌های فلورستیک-اکولوژیک و

تعیین نوع و سطح تنوع درون گونه‌ای، از بررسی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به روش الکتروفورز استفاده و نتایج این بررسی با گروه‌بندی‌های مبتنی بر نشانگر فلوربستییک مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی وجود تنوع درون گونه‌ای در *A. spicigera*، جمع‌آوری داده‌های فلوربستییک-اکولوژیک با روش D.S.S. (عطری، ۱۳۸۶) انجام شد. در این روش، جمع‌آوری داده‌ها بر اساس مراحل زیر انجام می‌گیرد:

انتخاب گونه چند زیستگاهه (Ubiquiste)

در این مرحله باید گونه‌ای را انتخاب نمود که افراد آن در زیستگاه‌های مختلف و تحت شرایط اکولوژیک متفاوت حضور دارد. در این پژوهش گونه *A. spicigera* انتخاب شد.

تعیین محل‌های پراکنش (Localities) گونه مورد بررسی

در این مرحله، با مراجعه به فلورها، منابع و متخصصان محل‌های پراکنش گونه مورد بررسی در منطقه مورد مطالعه تعیین شد (جدول ۱).

تعیین زیستگاه‌های عمومی گونه مورد بررسی

در این مرحله با مراجعه به هر یک از محل‌های پراکنش تعیین شده، زیستگاه یا زیستگاه‌های عمومی گونه مورد بررسی مشخص شد (عسگری و همکاران، ۱۳۸۹).

تعیین زیستگاه ویژه

در هر یک از زیستگاه‌های عمومی، با محور قراردادن حضور فرد گونه مورد بررسی و با استفاده از روش سطح حداقل مبتنی بر روش سطح-گونه یا روش

جمع‌آوری داده‌های فلوربستییک-اکولوژیک از زیستگاه‌های ویژه

در این مرحله همه گونه‌های همبش با فرد گونه مورد بررسی، هر یک از زیستگاه‌های ویژه جمع‌آوری و کدگذاری شد. در این راستا، علاوه بر ذکر گونه مورد بررسی و گونه‌های همبش در فرم مخصوص، اطلاعاتی پیرامون گونه‌های جمع‌آوری شده (از جمله نوع پوشش، درجه پوشش، سطح حداقل، شکل رویشی، ضریب فراوانی-چیرگی، جامعه‌پذیری و شکل زیستی) به همراه داده‌های اکولوژیک مورد نظر (از جمله ارتفاع، درصد شیب، جهت شیب، نوع بستر و موقعیت جغرافیایی) به همراه نمونه‌ای از خاک زیستگاه ویژه جمع‌آوری شد.

شناسایی نمونه‌های گیاهی و آنالیز خاک

در این مرحله، همه گونه‌های گیاهی همبش با گونه مورد بررسی، با استفاده از منابع و فلورهای موجود (قهرمان، ۱۳۵۷-۱۳۸۲؛ اسدی و همکاران، ۱۳۶۷-۱۳۸۰؛ Rechinger, 1963-1999) شناسایی شد و نمونه‌های خاک به منظور تعیین و تشخیص برخی از

(Components Analysis) و ضریب فاصله اقلیدسی تحلیل شد.

گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه بر اساس نشانگر فلوریستیک

بررسی و مقایسه نتایج حاصل از تحلیل داده‌ها به روش FCA روی محورهای مختصات چندگانه، به تعیین گروه‌های حاصل از تحلیل، بر اساس نشانگر فلوریستیک، منجر شد. وجود گروه‌بندی حاصل از این تحلیل، مبین وجود تنوع درون‌گونه‌ای در گونه مورد بررسی خواهد بود.

تعیین گونه یا گونه‌های تشخیصی (Distinguished)

در این مرحله، با تهیه جدول مربوط به زیستگاه‌های ویژه مورد بررسی و گونه‌های حاضر در هر یک از آنها می‌توان گونه‌هایی که تنها در یک زیستگاه یا یک گروه از زیستگاه‌های معین حضور دارند را به عنوان گونه‌های تشخیصی هر یک از آنها معرفی نمود.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن، از نظر نوع بافت، هدایت الکتریکی، کربن آلی و اسیدیته به آزمایشگاه خاک‌شناسی مرجع خاک‌پی واقع در شهرستان ملایر ارسال گردید.

کدگذاری و تحلیل داده‌های فلوریستیک-اکولوژیک

در این مرحله، گونه مورد بررسی و گونه‌های همباش کدگذاری، تحلیل داده‌ها بر اساس ترکیب گونه‌ای (به عنوان نشانگر فلوریستیک) هر یک از زیستگاه‌های ویژه با استفاده از نرم‌افزارهای مناسب انجام شد. در این بررسی، تحلیل داده‌های فلوریستیک با نرم‌افزار Anaphyto نسخه ۹۵ به روش‌های FCA (Factorial Correspondence Analysis) و HAC (Hierarchic Ascendant Classification) انجام شد. همچنین، عوامل اکولوژیک مورد بررسی زیستگاه‌های ویژه با نرم‌افزار MVSP (Multi Variety Statistical Package) نسخه ۳/۱ به روش PCA (Principal

جدول ۱- مشخصات محل‌های جمع‌آوری *A. spicigera*

شماره هرباریومی	محل جمع‌آوری	تاریخ جمع‌آوری	کد زیستگاه ویژه	مختصات جغرافیایی
۱۷۸۱۹	آذربایجان شرقی: مرند به صوفیان، پایین تر از کارخانه سیمان	۱۳۸۷/۵/۲۶	۲۰	N: 37° 41' 15" E: 45° 52' 29"
۱۷۸۲۰	آذربایجان شرقی: صوفیان به مرند، ۳۰۰ متری سه راهی روستای قره‌آقاج	۱۳۸۷/۵/۲۶	۲۱	N: 38° 18' 47" E: 45° 57' 15"
۱۷۸۲۱	آذربایجان شرقی: ونیار، روبروی رودخانه	۱۳۸۷/۵/۲۸	۲۲	N: 38° 07' 56.7" E: 46° 30' 1.6"
۱۷۸۲۲	آذربایجان شرقی: سولچه به نهند، ۸ کیلومتری نهند، روبروی رودخانه	۱۳۸۷/۵/۲۸	۲۳	N: 38° 10' 22.8" E: 46° 28' 52.9"
۱۷۸۲۳	آذربایجان شرقی: منطقه آبخیزداری شهر خواجه، ناحیه تحقیقاتی خواجه	۱۳۸۷/۵/۲۸	۲۴	N: 38° 09' 24.9" E: 46° 39' 10.2"
۱۷۸۲۴	آذربایجان غربی: جاده ارومیه به سلماس، روبروی دریاچه	۱۳۸۷/۵/۳۱	۲۵	N: 38° 01' 01" E: 45° 06' 45"
۱۷۸۲۵	آذربایجان غربی: ارومیه، زیر پل راه آهن	۱۳۸۷/۵/۳۱	۲۶	N: 38° 16' 44.3" E: 45° 00' 29"
۱۷۸۲۶	آذربایجان غربی: سلماس، بین روستای قره آشلاق و روستای خان‌تختی	۱۳۸۷/۵/۳۱	۲۷	N: 38° 01' 7.4" E: 45° 01' 29"

تعیین نوع و سطح تنوع درون گونه‌ای

پس از تعیین و اثبات وجود تنوع درون گونه‌ای با استفاده از نشانگرهای فلوربستییک، به تعیین و تشخیص سطح و نوع تنوع درون گونه‌ای پرداخته شد. در این بررسی برای تعیین سطح و نوع تنوع درون گونه‌ای گونه *A. spicigera*، از الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر استفاده شد. سپس الگوی نیم‌رخ پروتئین‌های استخراج شده از جمعیت‌های مختلف *A. spicigera* با یکدیگر مقایسه شد. تنوع درون گونه‌ای جمعیت‌های گیاه *A. spicigera* از طریق الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر آنها روی ژل پلی‌اکریلامید در حضور سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) بررسی شد. برای استخراج پروتئین از بذرهای گیاهان جمعیت‌های مورد مطالعه، یک گرم از بذر گیاهان فوق خرد گردید تا پودر یکنواختی به دست آید. پودر بذر به دست آمده از هر گروه تیماری به شکل جداگانه با نسبت ۶:۱ با بفر فسفات سدیم، با اسیدیته ۷، مخلوط شد. به منظور جلوگیری از فعالیت آنزیم فنل اکسیداز و اثرات سوء آن در سنجش پروتئین و در نتیجه پایدار کردن پروتئین‌ها از حدود ۰/۰۱ گرم پلی‌وینیل پیرولیدین (PVP) استفاده شد. سپس، مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد تا انحلال و آزادسازی پروتئین‌ها صورت گیرد. مخلوط‌های یاد شده در سانتریفیوژ یخچال‌دار به مدت ۲۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند. با پایان یافتن عمل سانتریفیوژ، محلول شفاف رویی جدا، در ویال‌های کوچک استریل در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد تا در الکتروفورزی استفاده شود. عصاره پروتئینی استخراج شده به نسبت مساوی

۱:۱ به یک با بفر نمونه مخلوط شد. مخلوط حاصل در حمام آب گرم (۹۵ درجه سانتیگراد) به مدت ۳ دقیقه حرارت داده شد. ژل اکریل آمید ۱۲ درصد تهیه و مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه در چاهک‌ها و در یکی از چاهک‌ها نشانگر پروتئینی تزریق شد. برای انجام الکتروفورزی از دستگاه الکتروفورزی شرکت Bio-Rad (USA) استفاده شد. الکتروفورزی با ولتاژ ثابت ۱۰۰ ولت انجام گرفت. پس از اتمام الکتروفورزی، ژل با مخلوط استیک اسید و اتانول تثبیت گردید. پس از تثبیت پروتئین‌ها، ژل با آب مقطر شسته، رنگ آمیزی با کوماسی بریلیانت بلو R₂₅₀ انجام گرفت.

پس از الکتروفورزی، موقعیت هر نوار (باند) روی ژل به شکل کدهای یک و صفر که نشان‌دهنده وجود و عدم وجود باند مربوط است، مشخص گردید. کدهای به‌دست آمده با نرم‌افزار NTSYS (Numerical Taxonomy System) نسخه ۲/۰۲، روش Complete Linkage و ضریب RT و همچنین نرم‌افزار MVSP نسخه ۳/۱ به روش PCA (Principal Coordinates Analysis) و ضریب فاصله اقلیدسی تحلیل شد.

نتایج

نتایج بررسی‌های فلوربستییک

در مجموع، از ۸ زیستگاه ویژه بررسی شده برای *A. spicigera* در مناطق مورد بررسی، تعداد ۷۵ گونه گیاهی به عنوان گونه‌های همبش شناسایی گردید. فهرست ترکیب گونه‌های همبش *A. spicigera* در هر یک از این زیستگاه‌های در زیر آمده است (زیستگاه‌ها با کد معرفی شده‌اند، جدول ۱).

crupinastrum, Echium italicum, Puccinella distans, Cynodon dactylon, Artemisia fragrans.

فهرست گونه‌های همباش در زیستگاه ویژه شماره ۲۶:

Stipa barbata, Noaea mucronata, Atriplex leuoclada, Euphorbia macroclada, Salsola gemmascens, Reaumuria fruticosa, Cynodon dactylon, Kochia prostrata, Aellenia glauca, Petrosimonia sp., Halimocnemis azerbaijensis.

فهرست گونه‌های همباش در زیستگاه ویژه شماره ۲۷:

Noea mucronata, Centaurea virgata, Rhamnus pallasii, Camphorosma monspeliacum, Ceratocarpus orientalis, Teucrium polium, Malva neglecta, Achillea tenuifolia, Scutellaria pinnatifida, Euphorbia marschalliana, Kochia prostrata, Thymus pubescens, Salsola tomentosa, Verbascum speciosum.

برای تعیین وجود تنوع درون گونه‌ای *A. spicigera*

در زیستگاه‌های مورد بررسی، ترکیب گونه‌ای (به عنوان نشانگر فلوریستیک) زیستگاه‌های ویژه با استفاده از نرم‌افزار Anaphyto به دو روش FCA و HAC تحلیل شد. بررسی و مقایسه نتایج به دست آمده روی محورهای مختصات چندگانه حاصل از FCA و نتایج حاصل از HAC، به گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه گونه مورد بررسی بر اساس ترکیب گونه‌ای (به عنوان نشانگر فلوریستیک) منجر شد. بر اساس نتایج به دست آمده، زیستگاه‌های ویژه گونه *A. spicigera* در ۶ گروه قرار گرفتند (شکل ۱) که عبارتند از: گروه A شامل زیستگاه ویژه ۲۰، گروه B شامل زیستگاه ویژه ۲۳، گروه C شامل زیستگاه‌های ویژه ۲۱ و ۲۲، گروه D شامل زیستگاه ویژه ۲۴، گروه E شامل زیستگاه‌های ویژه ۲۵ و ۲۶ و گروه F شامل زیستگاه ویژه ۲۷.

نتایج بررسی‌های اکولوژیک

با توجه به اینکه تنوع شرایط اکولوژیک در یک منطقه به ایجاد زیستگاه‌های متفاوت در آن منطقه منجر می‌شود، به بررسی عوامل اکولوژیک حاکم بر هر

فهرست گونه‌های همباش در زیستگاه ویژه شماره ۲۰:

Tragopogon sp., Atriplex leuoclada, Convolvulus arvensis, Cichorium intybus, Bromus tectorum, Puccinella distans, Agropyrum repens, Medicago sativa, Limonium meyeri, Salsola dendroides, Eremopyrum sp., Trigonella sp.

فهرست گونه‌های همباش در زیستگاه ویژه شماره ۲۱:

Lactuca orientalis, Centaurea virgata, Cichorium intybus, Agropyrum repens, Atriplex verruciferum, Alhaji camelorum, Noaea mucronata, Reaumuria alternifolia, Achillea wilhelmsii, Stachys fruticulosa, Atraphaxis spinosa, Galium sp., Puccinella distans, Polygonum aviculare, Atriplex leuoclada, Stipa barbata, Carthamus lanatus, Carthamus oxyacantha.

فهرست گونه‌های همباش در زیستگاه ویژه شماره ۲۲:

Alhaji camelorum, Aeluropus littoralis, Puccinella distans, Atriplex leuoclada, Juncus inflexus, Centaurea virgata, Agropyrum repens, Cichorium intybus, Cynodon dactylon, Poa bulbosa, Kochia prostrata.

فهرست گونه‌های همباش در زیستگاه ویژه شماره ۲۳:

Puccinella distans, Carthamus lanatus, Frankenia hirsuta, Astragalus chrysostachys, Stachys inflata, Salicornia europaea, Stachys fruticulosa, Centaurea virgata, Limonium carnosum.

فهرست گونه‌های همباش در زیستگاه ویژه شماره ۲۴:

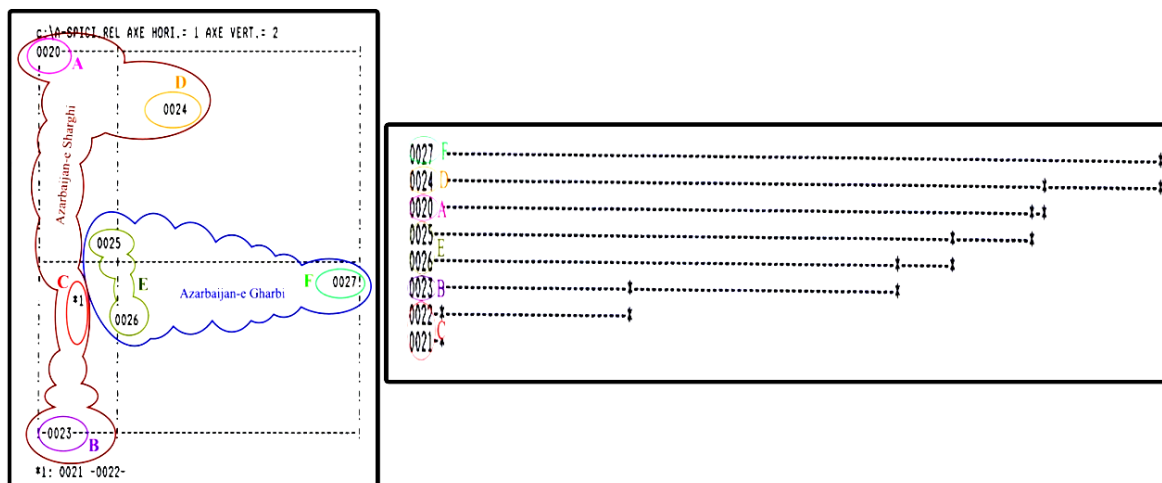
Centaurea virgata, Artemisia fragrans, Salsola glauca, Helichrysum armenium, Johrenia paucijuga, Asparagus verticillatus, Noaea mucronata, Tanacetum chiliophyllum, Salsola dendroides, Raphanus raphanistrum, Teucrium polium, Achillea wilhelmsii.

فهرست گونه‌های همباش در زیستگاه ویژه شماره ۲۵:

Centaurea virgata, Achillea wilhelmsii, Euphorbia macroclada, Acanthophyllum microcephalum, Chondrilla juncea, Xeranthemum longipapposum, Bromus tectorum, Noaea mucronata, Carthamus oxyacantha, Chidinia orientalis, Taeniatherum crinitum, Atraphaxis spinosa, Acantholepis orientalis, Acanthus sp., Crupina

زیستگاه ویژه ۲۰، گروه B شامل زیستگاه ویژه ۲۳، گروه C شامل زیستگاه‌های ویژه ۲۱ و ۲۲، گروه D شامل زیستگاه ویژه ۲۴، گروه E شامل زیستگاه‌های ویژه ۲۵ و ۲۶ و گروه F شامل زیستگاه ویژه ۲۷. همچنین بر اساس این گروه‌بندی، تفکیک کامل زیستگاه‌های ویژه مورد بررسی این گونه در دو استان آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی کاملاً مشهود است.

زیستگاه ویژه پرداخته شد. جدول ۲ نشان‌دهنده عوامل اکولوژیک زیستگاه‌های ویژه مورد بررسی است. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک زیستگاه‌های ویژه این گونه نیز در جدول ۳ ارائه شده است. تحلیل داده‌های اکولوژیک زیستگاه‌های ویژه گیاه *A. spicigera* با نرم‌افزار MVSP به روش PCA (شکل ۲)، زیستگاه‌های ویژه این گیاه را در ۶ گروه قرار داد که عبارتند از: گروه A شامل



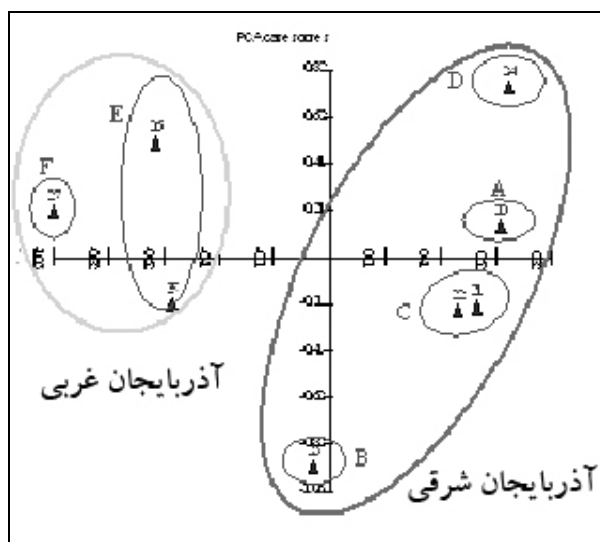
شکل ۱- نتایج حاصل از تحلیل ۸ زیستگاه ویژه *A. spicigera* بر اساس ترکیب رزستی‌ها به روش FCA (چپ) و HAC (راست) و گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه. اعداد بیانگر کدهای نمونه‌ها (محل‌های جمع‌آوری) است.

جدول ۲- عوامل اکولوژیک مورد بررسی در زیستگاه‌های ویژه *A. spicigera*

ردیف	کد زیستگاه ویژه	ارتفاع (m)	درصد شیب	جهت شیب	نوع بستر
۱	۲۰	۱۳۷۰	۰	مسطح	خاک رس
۲	۲۱	۱۴۷۶	۲۰	جنوبی	خاک رس
۳	۲۲	۱۴۵۳	۰	مسطح	شوره‌زار
۴	۲۳	۱۶۲۰	۰	مسطح	رسی
۵	۲۴	۱۵۲۴	۰	مسطح	خاک تا حدی رسی
۶	۲۵	۱۷۷۴	۰	مسطح	خاکی
۷	۲۶	۱۷۵۹	۶۰	شمالی	خاک و سنگ
۸	۲۷	۱۸۲۴	۱۵	غربی	خاک و سنگ‌ریزه

جدول ۳- داده‌های خاک‌شناسی مورد بررسی در زیستگاه‌های ویژه *A. spicigera*

ردیف	کد زیستگاه ویژه	اسیدیته (pH)	هدایت الکتریکی (EC)	درصد کربن			بافت خاک	
				آلی (OC%)	درصد سیلیس (Si%)	درصد شن (Sand%)	درصد رس (Clay%)	بافت
۱	۲۰	۷/۹۷	۱/۱۲	۰/۹	۶۸	۲۶	۶	لومی-شنی
۲	۲۱	۸/۹۸	۳/۰۸	۰/۴۵	۴۰	۲۲	۳۸	لومی-رسی
۳	۲۲	۷/۸۳	۱/۰۱	۰/۴۵	۴۰	۵۲	۸	شنی-لومی
۴	۲۳	۷/۴۱	۰/۳۳	۰/۰۱	۶	۹۲	۲	شنی
۵	۲۴	۸/۸۷	۲/۳	۰/۷۱	۵۰	۴۸	۲	شنی-لومی
۶	۲۵	۷/۵	۰/۱۶	۰/۳۵	۲۰	۷۲	۸	شنی-لومی
۷	۲۶	۷/۷۱	۰/۱۳	۰/۲۷	۱۴	۸۴	۲	شنی-لومی
۸	۲۷	۷/۱۴	۰/۲۹	۱/۶۶	۳۲	۶۶	۲	شنی-لومی

شکل ۲- گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه *A. spicigera* بر اساس عوامل اکولوژیک با نرم‌افزار MVSP به روش PCA

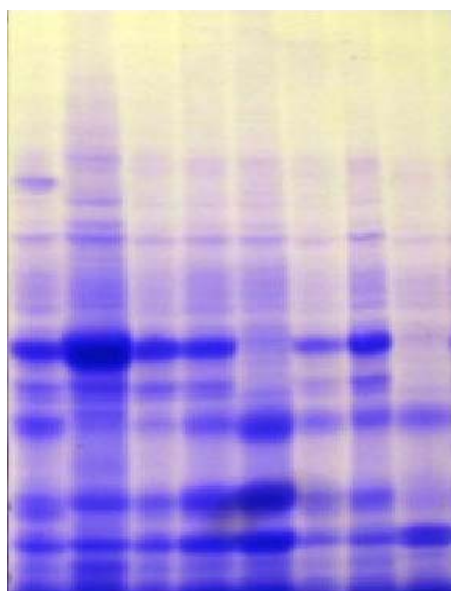
یک باندها با کد ۱ و فقدان آن با کد صفر کدگذاری شده، سپس آنالیز گردید. دندروگرام حاصل از آنالیز خوشه‌ای داده‌های الکتروفورزی گیاه *A. spicigera* در مناطق مورد بررسی با نرم‌افزار NTSYS به روش Complete (شکل ۴) نشان داد که جمعیت‌های (زیستگاه‌های ویژه) این گیاه بر اساس نتایج داده‌های الکتروفورزی دارای تنوع ژنتیکی بوده، در ۵ گروه قرار

نتایج بررسی‌های الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر

با توجه به اینکه بررسی‌های فلوریستیک و اکولوژیک وجود تنوع درون‌گونه‌ای را در گیاه *A. spicigera* مشخص نمود، به منظور تعیین سطح و نوع تنوع درون‌گونه‌ای، از بررسی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر با روش الکتروفورز استفاده شد. وجود

تشخیص نوع و سطح تنوع آشکار می‌شود. در واقع این امر از دو مرحله جمع‌آوری داده‌ها و نیز تحلیل آنها با استفاده از نشانگر فلوربستییک (ترکیب رستنی‌های زیستگاه‌های ویژه) منتج می‌شود.

تجزیه و تحلیل داده‌های فلوربستیکی با استفاده از نرم‌افزار Anaphyto به دو روش FCA و HAC برای گونه *A. spicigera* در مناطق مورد بررسی، ۶ گروه اصلی (شامل گروه‌های A، B، C، D، E و F) بر اساس نشانگر فلوربستییک را نشان داد. همچنین، زیستگاه‌های ویژه مورد بررسی این گونه گیاهی در دو استان آذربایجان شرقی (شامل گروه‌های A، B، C و D) و آذربایجان غربی (شامل گروه‌های E و F) از هم جدا شدند. پس از بررسی این گروه‌های اصلی مشخص شد که هر یک از گروه‌ها دارای شرایط اکولوژیک خاص خود هستند و ترکیب فلوربستیکی هر یک از این گروه‌ها به علت تفاوت در شرایط اکولوژیک زیستگاه‌های ویژه مربوط به آنها، متفاوت است.

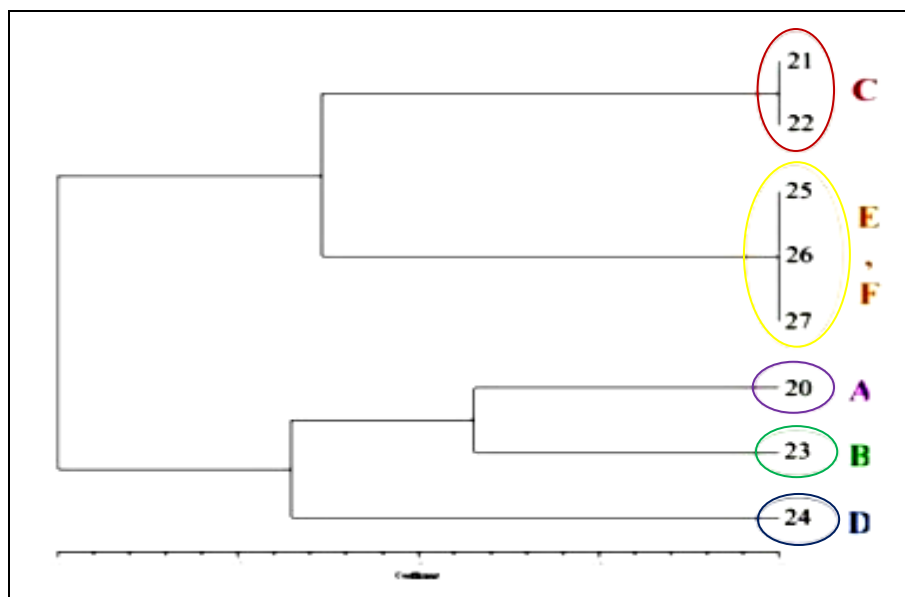


شکل ۳- الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های بذر در جمعیت‌های مورد بررسی *A. spicigera*

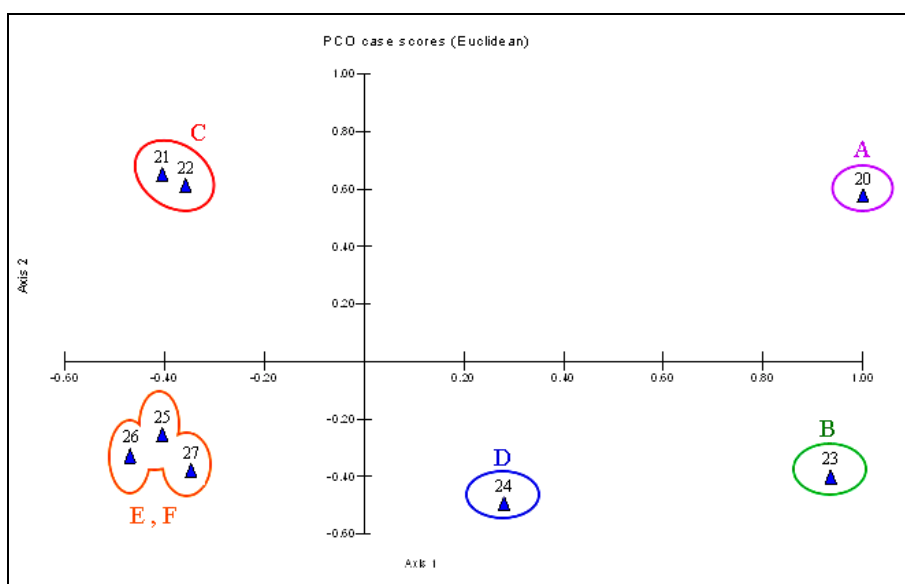
می‌گیرند که عبارتند از: گروه A شامل زیستگاه ویژه ۲۰، گروه B شامل زیستگاه ویژه ۲۳، گروه C شامل زیستگاه‌های ویژه ۲۱ و ۲۲، گروه D شامل زیستگاه ویژه ۲۴، گروه E و F شامل زیستگاه‌های ویژه ۲۵، ۲۶ و ۲۷. همچنین، از نتایج حاصل از تحلیل داده‌های الکتروفورزی این گیاه با نرم‌افزار MVSP به روش PCA (شکل ۵)، نیز همان ۵ گروه به دست آمده از تحلیل NTSYS به روش Complete را نشان داده، آن را تأیید کرد.

بحث

در این بررسی برای تعیین تنوع درون‌گونه‌ای در *A. spicigera* از روش D.S.S. مبتنی بر نشانگر فلوربستییک استفاده شد. سپس تحلیل داده‌های اکولوژیک و بررسی و مقایسه آنها با گروه‌بندی‌های حاصل از تحلیل بر اساس نشانگر فلوربستییک صورت گرفت. در نهایت تحلیل و بررسی الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره بذر، وجود تنوع در سطح باندهای پروتئینی هر یک از گروه‌های تعیین شده را مشخص نمود. هر ۳ نشانگر مورد استفاده وجود تنوع در جمعیت‌های مورد مطالعه را نشان دادند. به بیان دقیق‌تر، گروه‌های جمعیتی معرفی شده با نشانگر فلوربستیکی توسط نشانگرهای اکولوژیک و الگوی باندهای پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر نیز تأیید گردید. این تأیید به معنای آن است که گروه‌بندی فلوربستییک در مواردی به تنهایی می‌تواند به عنوان روشی کم‌هزینه و کارآمد برای بررسی وجود تنوع جمعیت‌ها (تنوع درون‌گونه‌ای) به کار رود. بنابراین، درستی و میزان دقت روش D.S.S. برای تعیین وجود تنوع و نیز



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های الکتروفورزی جمعیت‌های گیاه *A. spicigera* در مناطق بررسی شده با نرم‌افزار NTSYS به روش Complete



شکل ۵- نتایج تحلیل داده‌های الکتروفورز زیستگاه‌های ویژه گیاه *A. spicigera* در مناطق بررسی شده با نرم‌افزار MVSP به روش PCA

(۱۳۷۸)، گروه‌بندی قطعات نمونه (زیستگاه‌های ویژه) *A. spicigera* بر اساس عوامل اکولوژیک با نرم‌افزار MVSP به روش PCA نیز صورت گرفت و با گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه بر اساس ترکیب رُستنی‌ها به روش FCA مقایسه شد. طبق نتایج به دست آمده،

با توجه به اینکه روش D.S.S. بر این منطق استوار است که ترکیب گونه‌ای در یک سطح معین، بهترین و بارزترین نشانگر برای ترکیب عوامل اکولوژیک آن سطح است و به طور مسلم، گیاهان بارزترین شاخص برای همه عواملی هستند که تحمل می‌کنند (گینوشه،

گیاه در آذربایجان شرقی جدا گردید. پژوهش‌های متعددی در دسترس است که نشان داده‌اند مطالعه نیم‌رخ باندهای پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر ابزار مناسبی برای شناسایی تنوع و اختلافات بین تاکسون‌های گیاهی به شمار می‌رود.

بررسی جمعیت‌های ۳ گونه از جنس *S. Solanum* *S. villosum* و *S. americanum nigrum* توسط Crawford (۱۹۹۰) نشان داد که جمعیت‌های هر گونه با وجود شباهت زیاد ریخت‌شناسی، از نظر باندهای پروتئینی تفاوت داشته، ضریب تشابه پایینی را نشان می‌دهند. چنین نتیجه‌گیری شد که الگوی باندهای پروتئینی در جدایی جمعیت‌های یک گونه می‌تواند ارزش داشته باشد. همچنین، بررسی تنوعات درون‌گونه‌ای از نظر پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در گونه *Chenopodium fremontii* نشان داد که لازم است تنوع درون‌گونه‌ای پیش از مقایسه بین گونه‌ها بررسی شود (Crawford, 1990). Quicke (۱۹۹۳) نشان داد که مطالعه الگوی نیم‌رخ پروتئینی می‌تواند ابزار قدرتمندی برای جدا نمودن تاکسون‌ها در سطوح پایین‌تر از گونه باشد. Vural و همکاران (۲۰۰۹)، از پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به روش الکتروفورز و مطالعات مورفولوژیک برای مشخص کردن سطح رده‌بندی در *V. erciyasdagi* و *Veronica pusilla* در سطح گونه یا واریته استفاده و *V. erciyasdagi* را به عنوان یک گونه مستقل معرفی کردند، در صورتی که قبلاً هر دو به عنوان واریته‌های *V. pusilla* در نظر گرفته شده بودند.

با توجه به مجموع مطالعات فلوربستییک و الکتروفورزی، می‌توان نتیجه گرفت، ۸ زیستگاه ویژه *A. spicigera* که بر اساس نشانگر فلوربستییک در

گروه‌بندی قطعات نمونه (زیستگاه‌های ویژه) *A. spicigera* بر اساس عوامل اکولوژیک به روش PCA (شکل ۲)، با گروه‌بندی زیستگاه‌های ویژه بر اساس ترکیب رُستنی‌ها به روش FCA (شکل ۱)، کاملاً منطبق است. همچنین، زیستگاه‌های ویژه *A. spicigera* بر اساس عوامل اکولوژیک در دو استان آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی از هم جدا شد که با نتایج حاصل از مطالعات فلوربستییک کاملاً منطبق بوده، آن را تأیید می‌کند. اگر چه روش D.S.S. روشی است که به تازگی معرفی شده (عطری، ۱۳۸۶)، اما کارآیی آن در تشخیص تنوع درون‌گونه‌ای به خوبی نشان داده شده است (عسگری و همکاران، ۱۳۸۹؛ سرمدی و همکاران، ۱۳۸۹؛ مؤذن و همکاران، ۱۳۹۰).

بررسی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در گونه *A. spicigera* نیز به تعیین گروه‌هایی منجر شد که این گروه‌بندی مبین وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف این گونه بوده، با گروه‌بندی‌های مبتنی بر نشانگر فلوربستییک و اکولوژیک مطابقت و هم‌خوانی دارد. بنابراین، بر اساس این نتایج، همه گروه‌های به‌دست آمده از تحلیل داده‌های الکتروفورز در استان آذربایجان شرقی (شامل گروه‌های A، B، C و D) با گروه‌های حاصل از تحلیل داده‌های فلوربستییک و اکولوژیک مطابقت کامل داشته، آن را تأیید می‌کند. ۳ زیستگاه ویژه مورد بررسی این گونه در استان آذربایجان غربی (شامل زیستگاه‌های ویژه ۲۵، ۲۶ و ۲۷) که بر اساس تحلیل داده‌های فلوربستییک و اکولوژیک در دو گروه (E و F) قرار گرفتند، بر اساس تحلیل داده‌های الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در یک گروه، گروه‌بندی شد و از زیستگاه‌های ویژه این

مجموع در دو منطقه جغرافیایی مشخص آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی و تحت شرایط اکولوژیک متفاوت، نشان‌دهنده ۵ گروه پروتئینی مختلف هستند که از نظر باندهای پروتئینی با یکدیگر اختلاف دارند. وجود تفاوت و تنوع در باندهای پروتئینی جمعیت‌های مشخص شده گیاه *A. spicigera* مبین وجود تنوع درون‌گونه‌ای در مناطق مورد بررسی است. همچنین، نتایج حاصل از این سه نوع نشانگر (نشانگرهای فلوریستیک، اکولوژیک و الگوی پروتئینی بذری) نشان می‌دهد که هر سه نوع نشانگر یاد شده، توانایی تعیین تنوع درون‌گونه‌ای را در جمعیت‌های مورد بررسی گونه *A. spicigera* دارند، در نتیجه می‌توان با توجه به زمان، هزینه، ضرورت‌های پیش روی و امکانات موجود، یکی از این سه نوع نشانگر را برای نیل به هدف تحقیقی مناسب آن انتخاب کرد. از آن جایی که روش D.S.S.، با صرف وقت و هزینه‌های کمتر، دسترسی به نتایج متعدد را فراهم می‌سازد، می‌تواند به عنوان روشی کارآمد برای بررسی آسان‌تر، سریع‌تر، دقیق‌تر و مطمئن‌تر تعیین تنوع درون‌گونه‌ای و در مجموع در سیستماتیک به کار رود.

قدردانی

از کارشناسان ارشد محترم اداره منابع طبیعی استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی و همدان، آقایان مهندس جعفر طالب‌پور، مهندس محمد علی‌زادگان و مهندس رمضان کلوندی به علت راهنمایی‌ها و مساعدت‌های علمی در این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

مجموع در دو گروه اصلی آذربایجان غربی و آذربایجان شرقی قرار می‌گیرند، با گروه‌بندی حاصل از تحلیل داده‌های اکولوژیک و داده‌های الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذری انطباق و هم‌خوانی داشته، نمایانگر جدایی زیستگاه‌های ویژه این گونه در استان‌های آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی از یکدیگر است.

بنابراین، وجود این تنوعات نشان‌دهنده وجود تنوع درون‌گونه‌ای در گیاه *A. spicigera* است که می‌تواند در بررسی‌های سیستماتیک استفاده شود. در پژوهش‌های متعددی از بررسی‌های مربوط به تنوع جمعیت‌ها و گونه‌ها در مطالعات سیستماتیک و کمک به رده‌بندی‌های جدید استفاده شده است. نادرزاد و پورسیدی (۱۳۸۲)، با استفاده از صفات مورفولوژیک و سیتولوژیک در تکمیل رده‌بندی‌های موجود، وجود تنوع درون‌گونه‌ای موجود در جمعیت‌های سه جنس *Bunium*، *Cuminum* و *Carum* را در ایران نشان دادند و نتیجه گرفتند که این تفاوت‌ها و تنوع، حاصل اثر متفاوت محیط است و می‌تواند در بررسی‌های رده‌بندی و سیستماتیک به کار گرفته شود.

جمع‌بندی

نتایج این بررسی نشان داد، در شرایط مختلف اکولوژیک، وجود ترکیب عوامل اکولوژیک متفاوت باعث حضور ترکیب گونه‌ای متفاوتی می‌شود و در نتیجه جمعیت‌های مختلف یک گونه در شرایط اکولوژیک متفاوت بر اساس سرشت اکولوژیک خود، دارای پاسخ‌های متفاوت ژنوتیپیک هستند؛ به طوری که افراد گونه *A. spicigera* در مناطق مورد بررسی، در

منابع

- اسدی، م.، معصومی، ع.، خاتم‌ساز، م. و مظفریان، و. (۱۳۷۶-۱۳۸۰). فلور ایران. مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.
- ساعدی، ک.، جلیلی، ع.، آذرنیوند، ح. و قمری زارع، ع. (۱۳۸۴) مطالعه کاربوتایی گونه‌هایی از جنس درمنه (*Artemisia* L.) در استان آذربایجان غربی. مجله پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی ۶۷: ۲-۱۰.
- سرمدی، ج. (۱۳۸۹) بررسی تنوع درون‌گونه‌ای *Tanacetum polycephalum* در استان همدان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
- عسگری، م.، عطری، م. و چهرگانی، ع. (۱۳۸۹) تنوع شیمایی گونه *Astragalus verus* بر اساس الگوی فلاونوئیدی در ایران. مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران ۲: ۶۷-۸۰.
- عطری، م. (۱۳۸۶) بررسی وجود تنوع بین‌گونه‌ای با استفاده از روش D.S.S. مجموعه مقالات نخستین همایش ملی و تخصصی رده‌بندی گیاهی ایران. مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران.
- قهرمان، ا. (۱۳۵۷-۱۳۸۱) فلور رنگی ایران. مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.
- Bremer, K. and Humphries, C. J. (1993) Generic monograph of the Asteraceae-Anthemideae. Bulletin of Natural Historical Museum London (Botany) 23: 71-177.
- Buchsbaum, R. and Buchsbaum, M. S. (1957) Basic ecology. John Wiley and sons, Inc. New York.
- Cain, S. A. O. and Castro, G. M. (1959) Manual of vegetation analysis. Harper and Brothers, New York.
- Chehregani, A., Atri, M., Youse, S. and Jalali, F. (2010) Polyploidy variation in some species of the genus *Artemisia* L. (Asteraceae) in Iran. Caryologia, 63: 168-175.
- Crawford, D. J. (1990) Plant molecular systematic and molecular approaches. John Wiley and sons, Inc. New York.
- Fanelli, G., Tescarollo, P. and Testi, A. (2006) Ecological indicators applied to urban and suburban forests. Ecological Indicators 6: 444-457.
- Kordali, S., Aslan, I., Onder, C., Almas, U. and Cakir, A. (2006) Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some
- گینوشه، م. (۱۳۷۸) فیتوسوسیولوژی (جامعه‌شناسی گیاهی). ترجمه عطری، م. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.
- مصدیقی، م. (۱۳۸۰) توصیف و تحلیل پوشش گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد.
- مظفریان، و. (۱۳۶۸) بررسی و شناخت درمنه‌های ایران. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- مؤذن، ف. (۱۳۸۹) بررسی تنوع درون‌گونه‌ای *Tanacetum parthenium* L. در استان همدان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
- میرحاجی، ت.، جلیلی، ع.، جعفری، م.، اکبرزاده، م. و فرزانه، ز. (۱۳۸۰) مقایسه اکولوژیک گونه‌های جنس *Artemisia* در استان سمنان، مجله پژوهش و سازندگی ۹۵-۱۰۲: ۵۲.
- نادرنژاد، ن. و پورسیدی، ش. (۱۳۸۲) تاکسونومی عددی برخی جمعیت‌های زیره ایران در جنس‌های *Cuminum* و *Bunium* بر اساس صفات مورفولوژیکی و سیتولوژیکی. مجله پژوهش و سازندگی ۵۸: ۱۰-۱۵.

- of their major components to granary weevil, *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products* 23: 162-170.
- Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A., Ala, A. and Yildirim, A. (2005) Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 9452-9458.
- Ladizinsky, G. and Hymowitz, D. (1979) Seed protein electrophoresis in taxonomic and evolutionary studies. *Theoretical and Applied Genetics* 54: 45-151.
- Ling, Y. R. (1991a) The old world *Artemisia* (Compositae). *Bulletin of Botanical Research (Harbin)* 12: 1-108.
- Ling, Y. R. (1991b) The old world *Seriphidium* (Compositae). *Bulletin of Botanical Research (Harbin)* 11: 1-40.
- Ling, Y. R. (1995) The new world *Seriphidium* (Besser) Fourr. In: *Advances in Compositae systematics*. (eds. Hind, D. J. N., Jeffrey, C. and Pope, C. V.) 283-291. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Lopes-Lutz, D., Alviano, D., Alviano, C. and Kolodziejczyk, P. (2008) Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry* 69: 1732-1738.
- Mabberley, D. J. (1990) *The plant book*. Cambridge University Press, Cambridge.
- McArthur, E. D. (1979) Sagebrush systematic and evolution. In: *Sagebrush Ecosystem Symposium*, Utah State University, Logan, Utah.
- Mohammad, S. A. (2004) Biodiversity of *Artemisia* species in Egypt. M.Sc. Thesis, Ain Shams University, Cairo.
- Olivieri, I. (1985) Comparative electrophoretic studies *Carduus pycnocephalus* L., *C. tenuiflorus* Curt. (Asteraceae) and their hybrids. *American Journal of Botany* 72: 715-718.
- Quicke, D. L. J. (1993) *Principles and techniques of contemporary taxonomy*. Blackie Academic and Professional. London.
- Rechinger, K. H. (ed.). (1963-1999) *Flora Iranica*. nos. 1-175. Akademische Druck-U Verlagsanstalt, Graz.
- Torrell, M. and Valles, J. (2001) Genome size in 21 *Artemisia* L. species (Asteraceae, Anthemideae): systematic, evolutionary, and ecological implications. *Genome* 44: 131-238.
- Torrell, M., Bosch, M., Martin, J. and Valles, J. (1999a) Cytogenetic and isozymic characterization of the narrow endemic species *Artemisia molinieri* (Asteraceae, Anthemideae): implications for its systematic and conservation. *Canadian Journal of Botany* 77: 51-60.
- Torrell, M., Garcia-Jacas, N., Susanna, A. and Valles, J. (1999b) Phylogeny in *Artemisia* (Asteraceae, Anthemideae) inferred from nuclear, ribosomal DNA (ITS) sequences. *Taxon* 48: 721-736.
- Vural, C., Servet, O. and Mikail, A. (2009) New combination in *Veronica* (Scrophulariaceae) based on morphological characters and the seed storage protein polymorphism. *Journal of Systematic and Evolution* 47: 168-172.
- Watson, L. E., Elisens, W. J. and Estes, J. E. (1991) Electrophoretic and cytogenetic evidence for allopolyploid origin of *Marshallia mohrii* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 78: 408-416.
- Wright, C. W. (2002) *Artemisia*, Taylor and Francis, New York.

Study of floristic-ecologic diversity and electrophoresis pattern of seed storage proteins in *Artemisia spicigera* L. in the North-West of Iran using D.S.S. method

Morteza Atri ¹, Abdolkarim Chehregani Rad ^{1*} and Somayeh Yousefi ²

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

² Department of Environment, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran

Abstract

The genus *Artemisia* (Asteraceae) with about 200-500 species, is one of the largest genus in *Anthemidae*. In order to study intraspecific diversity in *Artemisia spicigera* in the North-West of Iran, D.S.S. method was used in this research work. Eight special stations were determined using D.S.S. method for *A. spicigera* and floristic-ecologic data collected from each special station. In the survey of all special stations, 75 plant species were distinguished as associated species. As the result of analysis of floristic data, as floristic marker, 6 groups were determined. This groupment distinguished the existence of intraspecific diversity in *A. spicigera*. Analysis of ecologic data was also confirmed the above mentioned groupment. Seed storage proteins were subjected to electrophoresis to determine the level and kind of intraspecific diversity. The results were also in accordance with the results of floristic and ecological results. Existence of differences regarding number and density of the protein bands indicated the intraspecific diversity in the populations of *A. spicigera*. Therefore, in this species, the groupment that introduced by floristic marker, was confirmed by ecological and electrophoresis data as well. This means that floristic groupment can only be used as a cost-effective and efficient method to stud intraspecific diversity.

Key words: Ecology, Electrophoresis, Intraspecific diversity, Floristic data, *Artemisia spicigera*, D.S.S.

* Corresponding Author: chehregani@basu.ac.ir