ژنتیک نوین
دوره هفتم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۱
صفحه ۲۴-۱۷

بررسی تنوع و روابط بین پارامترهای سیتوژنتیکی در گیاه ماریتیغال

منصوره صرامی*[۱]، حسین زینلی[۲] و غلامرضا بخشی خانیکی[۳]

۱ و ۳- به‌ترتیب کارشناس ارشد ، استادیار زیست شناسی گیاهی پیام نور تهران
۲- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ma_sarrami@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲۸- تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۸)

چکیده

در این تحقیق تنوع سیتوژنتیکی ۹ جمعیت ماریتیغال با استفاده از روش تجزیه کاریوتیپی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج کاریولوژیکی نمونه‌های نوک ریشه نشان داد که عدد پایه کروموزومی در کلیه جمعیت‌های دیپلوئید مورد بررسی x=۱۷ و تعداد کروموزوم ۲n = ۲x = ۳۴ بود. بر اساس جدول Stebbin's هشت جمعیت در کلاس ۲B و یک جمعیت در کلاس ۳B قرار گرفت که این امر بیانگر عدم تقارن کروموزومی بین جمعیت‌ها بود. بین جمعیت‌ها از لحاظ صفات طول کل کروموزومی (TL)، طول بلندترین کروموزوم (LC)، مجموع بازوهای بلند و کوتاه (SLa, SSa)، اختلاف دامنه طول نسبی (DRL)، ضریب تغییرات شاخص سانترومری (CVci)، شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A_2) و شاخص عدم تقارن (AI) اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و از لحاظ نسبت بازوی بلند به کوتاه (AR) اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود داشت که این امر بیانگر وجود تنوع در اندازه و تقارن کروموزوم‌ها در جمعیت‌های مورد بررسی است بیشترین مقادیرصفات TL، LC، SLa، SSa متعلق به جمعیت کاشان و کمترین این مقادیر در جمعیت مشهد مشاهده شد. این دو جمعیت با قرار گرفتن در گروه‌های جداگانه اختلاف زیادی را نشان دادند همچنین جمعیت‌های مشکین شهر و مبارکه از نظر صفات DRL، A2، AI، CVci، AR، با قرارگرفتن در گروه‌های جداگانه تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. در تجزیه به عامل‌ها دو عامل اول و دوم در مجموع بیش از ۸۸ درصد از کل تنوع موجود بین جمعیت‌ها را توجیه کرد، بطوری‌که در عامل اول، اختلاف دامنه طول نسبی و ضریب نامتقارن بودن بین کروموزومی با دارا بودن بالاترین ضرایب بردارهای ویژه بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها داشتند. در عامل دوم نیز صفات طول کل کروموزومی و مجموع بازوهای کوتاه دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بودند. در تجزیه کلاستر با برش دندروگرام در فاصله ۱۰/۵۲، جمعیت‌ها در چهار گروه قرار گرفتند. بر این اساس سه جمعیت در گروه اول، سه جمعیت در گروه دوم، دو جمعیت در گروه سوم و یک جمعیت در گروه چهارم واقع شد. در این بررسی کمترین فاصله اقلیدسی بین دو جمعیت مشهد و سمیرم و بیشترین فاصله اقلیدسی بین دو جمعیت مشکین شهر و مبارکه بود. تجزیه واریانس خوشه‌ها نشان داد که تمام صفات در سطح احتمال یک درصد تنوع معنی‌داری بین گروه‌ها داشتند. جمعیت‌های مشهد، سمیرم و ملاثانی واقع در گروه اول، تقریباً از نظر کلیه صفات کمترین مقادیر را دارا بودند. جمعیت‌های کاشان و برآن شمالی در گروه سوم،از نظر صفات TL، LC، SLa، SSa نسبت به سایر گروه‌ها برتر بودند. جمعیت مشکین شهر در گروه چهارم، از نظر صفات DRL، A2، AI، CVci و AR بیشترین مقادیر را به خود اختصاص داد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه به عامل‌ها و تجزیه خوشه‌ای، تنوع سیتوژنتیکی، کاریوتیپ، ماریتیغال (*silybum marianum*).

Archive of SID

مقدمه

ماریتیغال گیاهی است یک‌ساله، که در آب و هوای گرم با خاک سبک شنی می روید. منشأ این گیاه نواحی شرقی مدیترانه‌ای گزارش شده است. ماریتیغال در مناطق مختلف کشور ایران از جمله: چالوس، گنبدکاووس، بابل، دشت مرغان، کرمانشاه، خوزستان، جهرم به صورت خودرو می‌روید (Czygan et al. 1994; Keville et al. 1991). از دانه این گیاه ماده‌ای به نام سیلی مارین (شامل سه ایزومر اصلی به نام‌های سیلی بین، سیلی دیانین و سیلی کریستین) استخراج می‌گردد. سیلی مارین نیز ممکن است در تمام اعضای گیاه یافت شود اما غلظت آن در بذور بیشتر است. از هزاران سال قبل از این گیاه به عنوان گیاه دارویی استفاده شده و خواص درمانی آن شامل: رفع مسمومیت‌های ناشی از قارچ *Amanita Ph alloide*، به‌عنوان محافظت‌کننده کبدی، درمان سیروز Psoriasis، درمان سرطان پروستات و افزایش کلسترول خون می‌باشد (Grieve 1931). تعداد کروموزوم‌های پایه در گیاه ماریتیغال را ۲n=۳٤ گزارش نموده‌اند (Ghaffari 1989; Kamel 2004; Van Loon 1974). عسکری زکریا و همکاران نشان داده اند که کروموزوم‌های این بر اساس موقعیت سانترومر شامل شش جفت متاسنتریک، ده جفت ساب متاسنتریک و یک جفت آکروسنتریک بودند. یکی از کروموزوم‌ها دارای فشردگی ثانویه در ناحیه سانترومری بر روی بازوی کوتاه بود. کروموزوم ماهواره دار تنوع کمی را در میان ژنوتیپ‌ها داشت. تعداد کروموزوم در *S.marianum* بیشتر به جنس‌های Onopordum و Notobasis در زیر قبیله Carduinae نزدیک‌تر است (Krasnikov et al. 2003; Susanna et al. 2003). کروموزوم‌های silybum مشابه Cirsium بوده ولی کوتاه‌تر می‌باشند، کروموزوم‌های جنس‌های Silybum، Carduus، Cirsium، Circus و Onopordum از لحاظ ضخامت کروموزومی و مقدار کلی کروماتین مشابه هستند. به هر حال مطالعه ارتباطات فیلوژنتیک این جنس با دیگر جنس‌ها در این زیر قبیله توسط نزدیکی‌های مولکولی ضروری می‌باشد. با توجه به کمبود اطلاعات در زمینه سیتوژنتیکی این جنس، در این تحقیق سعی شده با بررسی پارامترهای سیتوژنتیکی، تشخیص و تفکیک جمعیت‌های این جنس دقیق‌تر صورت گیرد لذا عمده‌ترین اهدافی که در این بررسی دنبال شده شامل: ۱- تعیین فرم کاریوتیپ و سطوح پلوئیدی و عدد کروموزومی، همچنین بررسی و تعیین روابط بین پارامترهای سیتوژنتیکی

۲- دسته‌بندی جمعیت‌ها از نظر تکامل کاریوتیپی.

۳- تعیین والدین جهت تلاقی، جهت حصول به حداکثر تنوع در نسل بعد

مواد و روش‌ها

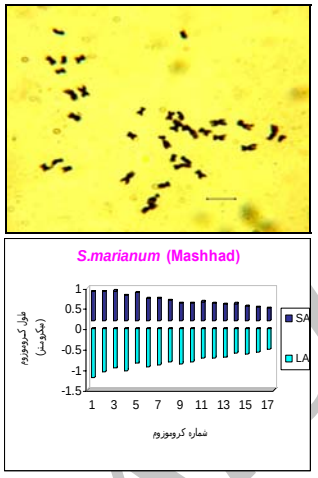
بذور ۹ جمعیت ماریتیغال از مناطق مشکین شهر (اردبیل)، کاشان، مبارکه (اصفهان)، رشت، یزد، برآن شمالی (اصفهان)، مشهد، ملاثانی (اهواز) و سمیرم (اصفهان) جمع آوری شد. برای مطالعه کروموزوم‌های متافازی ریشه، از روش رنگ آمیزی استو-آهن هماتوکسیلین (Agayev, 1996) استفاده گردید. برای این منظور، ابتدا پس از ضدعفونی بذور با محلول ویتاواکس دو در هزار به مدت ۵ دقیقه، روی کاغذ صافی مرطوب داخل پتری دیش کاشته شدند و در دمای متناوب حداکثر ۲۰-۱۹ حداقل ۱٦-۱٤ درجه سانتی‌گراد و روشنایی نگهداری شدند. پس از جوانه‌زنی، بذرهای با طول ریشه‌چه یک تا ۱/۵ سانتی‌متر از هر ژنوتیپ در ساعت ۸:٤۵ صبح برداشت شدند و در محلول آلفا برمونفتالین ۰/۵ درصد اشباع شده در آب به مدت یک ساعت پیش تیمار گردیدند. پس از آن ریشه‌ها شسته شده و با استفاده از کاغذ صافی خشک گردیده و به محلول تثبیت لویتسکی منتقل شدند. از محلول لویتسکی به عنوان تثبیت کننده و جلوگیری از کوتاه شدن بیش از حد کروموزوم‌ها استفاده شد. این ماده مخلوطی از اسید کرومیک یک درصد و فرمالدئید ده درصد بود. مدت زمان لازم برای تثبیت ۳٤ ساعت در یخچال با دمای ۳ تا ٤ درجه سانتی‌گراد بود. سپس ریشه‌ها به مدت ۳ ساعت با آب شهر شستشو داده شدند. در مرحله نگهداری، ریشه‌ها به اتانول ۷۰ درصد منتقل و در یخچال با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت نگهداری شدند. سپس ریشه‌ها از الکل خارج شدند و به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از آن ریشه‌ها جهت انجام عمل هیدرولیز به محلول یک نرمال هیدروکسید سدیم در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵-۱۸ دقیقه انتقال داده شدند. پس از هیدرولیز، به مدت ۱۰ دقیقه ریشه‌ها با آب مقطر شستشو شده و سپس با رنگ استوآهن هماتوکسیلین در دمای

Archive of SID
www.SID.ir

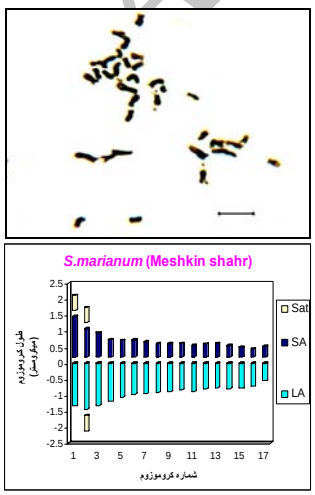
۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ساعت رنگ آمیزی گردیدند. در پایان، از هر نمونه چند لام تهیه شد و با میکروسکوپ نوری Olympus مجهز به دوربین ویدیویی Canon مورد بررسی قرار گرفت. حداقل سه سلول متافازی مناسب جهت اندازه‌گیری پارامترهای کروموزومی انتخاب شد و پس از تهیه کاریوتیپ با استفاده از نرم افزار Micromeasure، صفات طول کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند(LA)، طول بازوی کوتاه (SA)، نسبت بازوها (Armratio:L/S) و شاخص سانترومری(CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است، محاسبه گردید. در این بررسی پارامترهای اختلاف درصد طول نسبی بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین کروموزوم (DRL)، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A2)، شاخص عدم تقارن (AI) و درصد شکل کلی (TF%) و درصد طول نسبی بازوی بلند (%L) (Romero Zarco, 1986) محاسبه گردید. برای تعیین نوع کروموزوم‌ها نیز از روش لوان و همکاران (Levan et al. 1964) استفاده شد. به منظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۵ درصد) انجام شد. برای تعیین سهم هر یک از صفات اندازه‌گیری شده در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها نیز، تجزیه به عامل‌ها به روش مؤلفه‌های اصلی و برای گروه‌بندی جمعیت‌ها تجزیه به کلاستر به روش Ward و معیار فاصله اقلیدسی انجام شد. تجزیه واریانس بین گروه‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین گروه‌ها به روش آزمون دانکن انجام گردید (Johnson 1998). تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم افزارهای Excel، SAS و SPSS انجام شد.

نتایج

تصاویر متافاز میتوزی جمعیت‌های مورد مطالعه به همراه ایدیوگرام در شکل۱ و نتایج حاصل از تجزیه کاریوتیپی در جدول۱ ارائه شده است. بر اساس نتایج بدست آمده از جدول پارامترهای کاریوتیپی، همه جمعیت های مورد مطالعه از لحاظ سطح پلوئیدی، دیپلوئید (۲n=۳٤) بودند (جدول۱). فرمول کاریوتیپی جمعیت‌ها نشان داد که همه‌ی جمعیت‌ها دارای دو نوع کروموزوم متاسنتریک و ساب متاسنتریک بودند. بیشترین تعداد کروموزوم متاسنتریک مربوط به جمعیت مبارکه با فرمول کاریوتیپی ۳sm + ۱٤m و کمترین تعداد کروموزوم متاسنتریک متعلق به ژنوتیپ مشکین شهر با فرمول کاریوتیپی $3m^{sat}$ + ۱٤sm بود. جمعیت‌های مشکین شهر، کاشان، یزد، برآن شمالی، ملاثانی و سمیرم دارای ماهواره بودند (جدول۱). در جمعیت مشکین شهر بر روی دو جفت کروموزوم ماهواره مشاهده گردید و در یک جفت از کروموزوم‌ها ماهواره بر روی هر دو بازوی کوتاه و بلند قرار داشت (شکل۱). بیشترین مقادیر صفات، طول نسبی کوتاهترین کروموزوم %S (٤٦/۰۱) و شکل کلی کاریوتیپ %TF (۳۸/٦۳) متعلق به جمعیت مبارکه و کمترین مقدار متعلق به جمعیت مشکین شهر بود. بیشترین مقادیر درصد طول نسبی بازوی بلند %L (٦٥/۱۰) وشاخص نامتقارن درون کروموزومی A1 (۰/٤۷) مربوط به جمعیت مشکین شهر و کمترین مقدار مربوط به جمعیت مبارکه بود (جدول ۱).

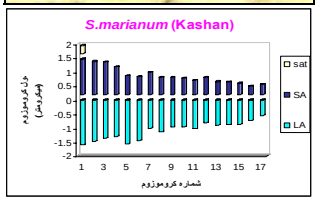


S. marianum (Mashhad) ۲n=۲x=۳٤

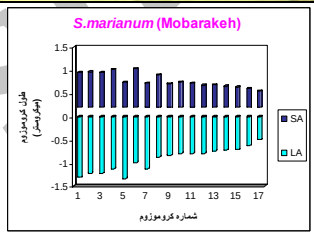


S. marianum (Meshkin shahr) ۲n=۲x=۳٤

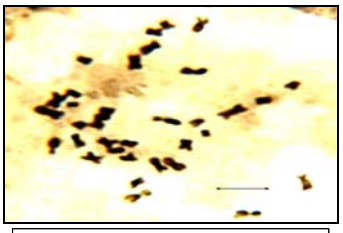
Archive of SID
www.SID.ir

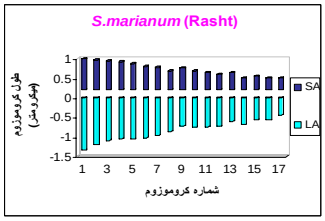


S. marianum (Kashan) ۲n=۲x=۳٤

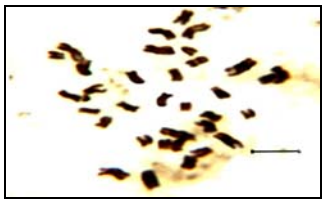


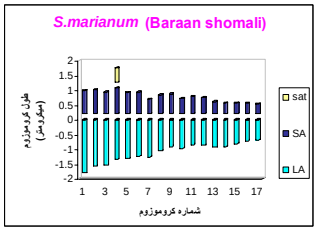
S. marianum (Mobarakh) ۲n=۲x=۳٤



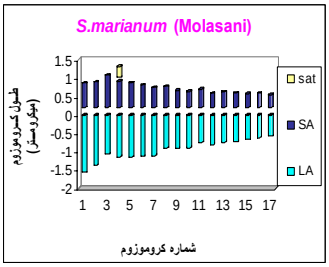


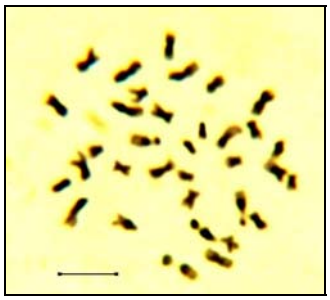
S. marianum (Rasht) ۲n=۲x=۳٤



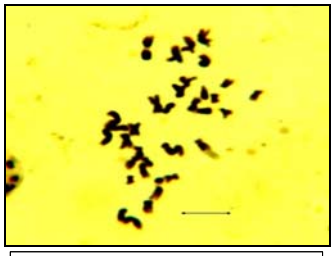


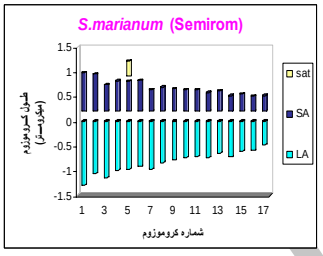
S. marianum (Braan shomali) ۲n=۲x=۳٤



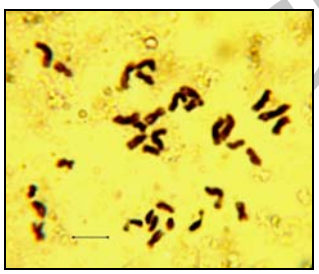


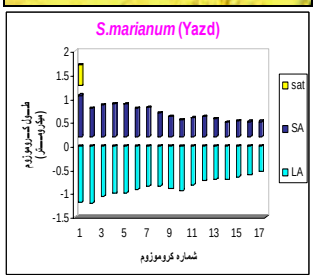
S. marianum (Molasani) ۲n=۲x=۳٤





S. marianum (Semirom) ۲n=۲x=۳٤





S. marianum (Yazd) ۲n=۲x=۳٤

شکل ۱- متافاز میتوزي و آیدیوگرام در جمعیت‌هاي مورد مطالعه ماریتیغال
Scale bar 3µm

Archive of SID
www.SID.ir

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ صفات TL، LC، SLa، SSa، DRL، A_2، AI و CVci اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و از لحاظ صفت AR اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود داشت (جدول۲). مقایسه میانگین پارامتر-ها در جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داد که جمعیت کاشان بیشترین مقادیر صفات TL، LC، SSa و SLa، AI و CVci را به خود اختصاص داده و کمترین مقادیر این صفات متعلق به جمعیت مشهد بود. جمعیت مشکین شهر از نظر صفات DRL، AR و A_2 نسبت به سایر جمعیت‌ها برتر بود. بیشترین مقادیر این صفات TL، LC، SLa و SSa به جمعیت کاشان و کمترین مقادیر به جمعیت مشهد تعلق داشت. این دو جمعیت با قرار گرفتن در گروه‌های جداگانه اختلاف زیادی را نشان دادند، همچنین جمعیت‌های مشکین شهر و مبارکه از نظر صفات DRL، A2، AI، CVci و AR با قرار گرفتن در گروه‌های جداگانه تفاوت معنی-داری را نشان دادند. جمعیت‌های مورد مطالعه از لحاظ پارامتر-های TL، SLa و SSa به سه گروه و از لحاظ پارامترهای LC و CVci به چهار گروه و از نظر پارامترهای A_2، AI و AR به پنج گروه و از نظر DRL در هفت گروه قرار گرفتند (جدول۳). جهت تعیین سهم هر یک از صفات کاریوتیپی در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها، تجزیه به عامل‌ها به روش مؤلفه‌های اصلی انجام شد (جدول ٤). بر این اساس دو عامل اول و دوم در مجموع بیش از ۸۸ درصد از کل تنوع موجود بین جمعیت‌ها را توجیه نمودند. مقادیر ضرایب بردارهای ویژه در عامل اول نشان داد که صفات DRL و A_2 بیشترین نقش را در تشکیل این عامل داشته در حالی که در عامل دوم صفات TL و SSa بیشترین سهم را در تشکیل این عامل به خود اختصاص دادند. در تجزیه کلاستر، با برش دندروگرام در فاصله۱۰/۵۲، جمعیت‌های مورد نظر در چهار گروه قرار گرفتند، به طوری‌که جمعیت‌های مشهد، سمیرم و ملاثانی در گروه اول، جمعیت‌های مبارکه، رشت و یزد در گروه دوم، جمعیت‌های کاشان و بر آن شمالی در گروه سوم و جمعیت مشکین شهر در گروه چهارم قرار گرفتند. در این بررسی کمترین فاصله اقلیدسی (۱/۱۸) بین دو جمعیت مشهد و سمیرم و بیشترین فاصله اقلیدسی (۱۸/۵) بین دو جمعیت مشکین شهر و مبارکه بود (جدول ۵). نتایج تجزیه واریانس خوشه‌ها حاصل از اندازه‌گیری ۹ ویژگی کاریوتیپی (TL, LC, SLa, SSa, DRL, A2, AI, CVci , AR) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌ها در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۵).

جدول ۱- نتایج آمار توصیفی صفات کاریوتیپی در جمعیت‌های ماریتیغال

جمعیت	نام علمی	2n	%DRL	%TF	A_1	A_2	AI	SC	C.F	AR	%L	r-value	%S
مشکین شهر	*S.marianum*	۳۴	۶/۹۶	۳۴/۹۰	۰/۴۷	۰/۳۳	۴/۸۴	3B	$3m^{sat} + 14sm$	۲/۱۵	/۱۰ ۶۵	۰/۵۳	۳۳/۷۰
کاشان	*S.marianum*	۳۴	۶/۴۶	۳۸/۴۷	۰/۳۷	۰/۳۲	۴/۹۸	2B	$9m^{sat} + 8sm$	۱/۸۰	/۵۳ ۶۱	۰/۶۳	۳۲/۳۱
مبارکه	*S.marianum*	۳۴	۴/۶۹	۳۸/۶۳	۰/۴۵	۰/۲۵	۲/۵۲	2B	$14m + 3sm$	۱/۶۴	/۳۷ ۶۱	۰/۵۵	۴۶/۰۱
رشت	*S.marianum*	۳۴	۵/۹۰	۳۸/۲۲	۰/۳۶	۰/۳۰	۲/۴۷	2B	$13m + 4sm$	۱/۷۲	/۷۸ ۶۱	۰/۶۴	۳۵/۰۵
یزد	*S.marianum*	۳۴	۵/۲۱	۳۶/۶۵	۰/۴۱	۰/۲۵	۳/۰۷	2B	$7m^{sat} + 10sm$	۱/۹۰	/۳۵ ۶۳	۰/۵۹	۴۱/۴۵
برآن شمالی	*S.marianum*	۳۴	۵/۴۲	۳۴/۸۷	۰/۴۴	۰/۲۸	۳/۴۶	2B	$6m^{sat} + 11sm$	۲/۰۴	/۱۳ ۶۵	۰/۵۶	۳۹/۷۴
مشهد	*S.marianum*	۳۴	۴/۹۳	۳۸/۳۴	۰/۳۷	۰/۲۵	۱/۹۱	2B	$12m + 5sm$	۱/۶۹	/۶۶ ۶۱	۰/۶۳	۴۲/۱۸
ملاثانی	*S.marianum*	۳۴	۵/۱۴	۳۶/۳۳	۰/۴۱	۰/۲۶	۲/۶۰	2B	$6m^{sat} + 11sm$	۱/۸۲	/۶۷ ۶۳	۰/۵۹	۴۱/۷۷
سمیرم	*S.marianum*	۳۴	۵/۶۴	۳۶/۷۷	۰/۴۱	۰/۲۶	۲/۲۵	2B	$9m^{sat} + 8sm$	۱/۸۲	/۲۳ ۶۳	۰/۵۹	۳۸/۵۳

DRL%: اختلاف دامنه طول نسبی،TF%: درصد کلی فرم،A1 :ضریب نامتقارن بودن درون کروموزومی، A2: ضریب نامتقارن بودن بین کروموزومی، AI: شاخص عدم تقارن کاریوتیپ، SC: دسته کاریوتیپی، AR(Arm Ratio): میانگین نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه، L%: درصد طول نسبی بازوی بلند،FC: نوع کروموزوم، r-value: میانگین نسبت بازوی کوتاه به بازوی بلند، S%: طول نسبی کوتاهترین کروموزوم

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۲- تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی، در جمعیت‌های مورد مطالعه گیاه ماریتیغال

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		TL	LC	SLa	SSa	DRL	A_2	AI	CVci	AR
جمعیت	۸	۲۲/۱۷**	۰/۳۱**	۹/۹۳**	۳/۲۵**	۱/۶۲**	۰/۰۰۲**	۳/۶۸**	۲۴/۱۱**	۰/۰۸*
خطا	۱۸	۳/۵۰	۰/۰۵	۱/۳۴	۰/۸۳	۰/۳۶	۰/۰۰۰۵	۰/۰۶	۰/۲۰	۰/۰۲
ضریب تغییرات	-	۷/۴۶	۱۰/۷۳	۷/۳۵	۹/۸۵	۱۰/۸۶	۸/۱۱	۸/۱۷	۴/۱۴	۸/۰۶

** و * تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک و ۵ درصد

جدول۳- مقایسه میانگین صفات کاریوتیپی در جمعیت‌های مورد بررسی در گیاه ماریتیغال به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد

جمعیت	TL	LC	SLa	SSa	DRL	A_2	AI	CVci	AR
مشکین شهر	۲۴/۷۰^{c}	۲/۵۹^{ab}	۱۶/۰۸^{b}	۸/۶۲^{b}	۶/۹۵^{a}	۰/۳۲^{a}	۴/۸۴^{a}	۱۴/۸۹^{a}	۲/۱۵^{a}
کاشان	۳۰/۰۲^{a}	۲/۸۵^{a}	۱۸/۴۶^{a}	۱۱/۵۵^{a}	۶/۴۵^{ab}	۰/۳۲^{a}	۴/۹۸^{a}	۱۵/۴۲^{a}	۱/۸۰^{bc}
مبارکه	۲۵/۴۶^{bc}	۲/۰۵^{c}	۱۵/۶۱^{bc}	۹/۸۵^{b}	۴/۶۹^{d}	۰/۲۴^{c}	۲/۵۲^{c}	۱۰/۲۰^{c}	۱/۶۴^{c}
رشت	۲۳/۴۳^{c}	۲/۱۴^{c}	۱۴/۴۵^{bc}	۸/۹۷^{b}	۵/۹۰^{abc}	۰/۳۰^{ab}	۲/۴۷^{c}	۸/۲۴^{d}	۱/۱۷^{c}
یزد	۲۳/۱۳^{c}	۲/۰۶^{c}	۱۴/۶۵^{bc}	۸/۴۸^{b}	۵/۲۱^{cd}	۰/۲۵^{c}	۳/۰۷^{b}	۱۲/۰۶^{b}	۱/۹۰^{abc}
برآن شمالی	۲۸/۷۳^{ab}	۲/۵۹^{ab}	۱۸/۷۲^{a}	۱۰/۰۱^{ab}	۵/۴۲^{bcd}	۰/۲۸^{abc}	۳/۴۶^{b}	۱۲/۲۰^{b}	۲/۰۶^{ab}
مشهد	۲۲/۳۴^{c}	۱/۹۱^{c}	۱۳/۷۳^{c}	۸/۶۰^{b}	۴/۹۳^{cd}	۰/۲۵^{c}	۱/۹۰^{d}	۷/۶۶^{d}	۱/۶۹^{c}
ملاثانی	۲۵/۳۷^{bc}	۲/۲۳^{bc}	۱۶/۱۷^{b}	۹/۲۰^{b}	۵/۱۳^{cd}	۰/۲۶^{bc}	۲/۵۹^{c}	۹/۸۷^{c}	۱/۸۱^{bc}
سمیرم	۲۲/۴۴^{c}	۲/۰۶^{c}	۱۴/۱۸^{bc}	۸/۲۶^{b}	۵/۶۴^{bcd}	۰/۲۶^{bc}	۲/۲۵^{cd}	۸/۴۷^{d}	۱/۸۲^{bc}

در هر ستون میانگین صفات در جمعیت‌هایی که دارای حروف مشابه باشند در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

جدول٤- مقادیر ویژه، درصد واریانس و ضرایب بردارهای ویژه دو عامل اصلی حاصل از تجزیه به عامل‌ها به روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

صفات	مؤلفه اول	مؤلفه دوم
TL	۰/۲۲	۰/۹۶
LC	۰/۶۸	۰/۷۲
SLa	۰/۳۳	۰/۸۹
SSa	۰/۰۰۸	۰/۹۷
DRL	۰/۹۳	۰/۱۰
A_2	۰/۸۴	۰/۳۰
AI	۰/۸۱	۰/۵۳
CVci	۰/۷۲	۰/۵۶
AR	۰/۸۲	۰/۰۰۷
مقدار ویژه	۴/۰۷	۳/۹۱
واریانس توجیه شده	۴۵/۳۰	۴۳/۴۹
واریانس توجیه شده تجمعی	۴۵/۳۰	۸۸/۸۰

اعدادی که زیر آن‌ها خط کشیده شده است ارزش بیشتری در عامل‌ها دارند.

جدول ۵- معیار اقلیدسی در تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مورد مطالعه ماریتیغال

مرحله	جمعیت	جمعیت	معیار اقلیدسی
۱	۹	۷	۱/۱۸
۲	۴	۳	۲/۹۶
۳	۵	۳	۵/۰۹
۴	۸	۷	۷/۶۲
۵	۶	۲	۱۰/۵۴
۶	۲	۱	۱۴/۴۰
۷	۷	۳	۱۸/۵۵
۸	۳	۱	۲۸/۳۷

جمعیت‌های مشهد، سمیرم و ملاثانی در گروه اول از نظر صفات TL، LC، SLa، DRL، A2، AI و CVci کمترین مقادیر را دارا بودند. جمعیت‌های کاشان و برآن شمالی در گروه سوم دارای بیشترین مقادیر از نظر صفات TL، LC، SLa، SSa بودند. جمعیت مشکین شهر در گروه چهارم بیشترین مقادیر را از نظر صفات DRL ، A2، AI، CVci و AR به خود اختصاص داده بود (جدول٦).

بحث

نتایج مطالعات سیتوژنتیکی تحقیق حاضر در مورد این جنس بیانگر سطح پلوئیدی ۲n=2x=۳۴ بوده که مؤید نتایج بدست آمده توسط دیگر محققین (Ghaffari 1989; Mohamed 1997; Kamel 2004) می‌باشد. Asghari-Zakaria et al. 2002; Asghari-Zakaria et al. 2008 نشان داده‌اند که کروموزوم‌های این جنس از نوع متاسنتریک، ساب متاسنتریک و آکروسنتریک بوده و بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره یک، ماهواره وجود داشت. در حالی‌که نتایج حاصل از این تحقیق نشان دهنده وجود دو نوع کروموزوم‌های این جنس از نوع متاسنتریک و ساب متاسنتریک در توده‌های مورد بررسی این جنس بود. از نظر تعداد ماهواره و

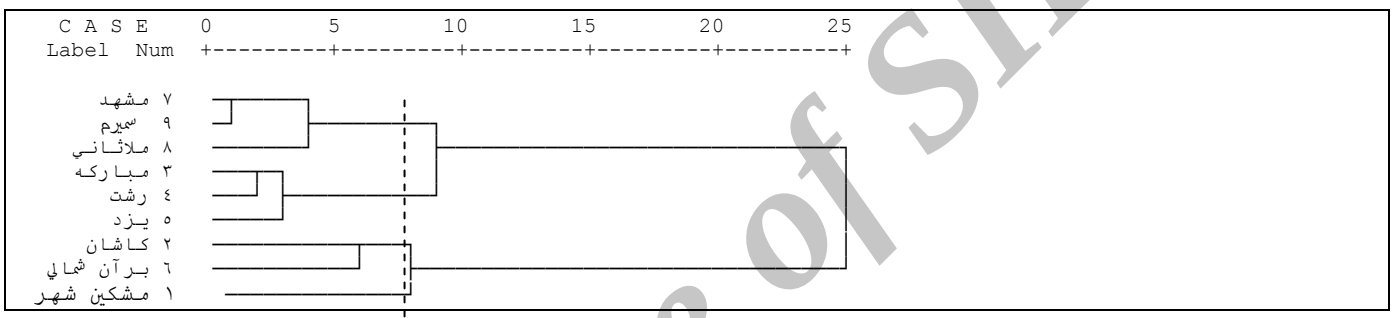
Archive of SID
www.SID.ir

جدول ٦- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر

صفات	میانگین مربعات بین گروه‌ها	میانگین صفات در گروه‌ها			
		گروه ۱	گروه ۲	گروه۳	گروه ۴
TL	۴۹/۱۳ **	۲۳/۳۸ b	۲۴/۰۱ b	۲۹/۳۷ a	۲۴/۷۰ b
LC	۰/۷۳ **	۲/۰۷ b	۲/۰۸ b	۲/۷۲ a	۲/۵۹ a
SLa	۲۱/۷۹ **	۱۴/۶۹ b	۱۴/۹۰ b	۱۸/۵۹ a	۱۶/۰۸ b
SSa	۶/۰۷ **	۸/۶۹ b	۹/۱۰ b	۱۰/۷۸ a	۸/۶۲ b
DRL	۲/۷۹ **	۵/۲۳ b	۵/۲۶ b	۵/۹۳ b	۶/۹۵ a
A_2	۰/۰۰۴ **	۰/۲۶ b	۰/۲۶ b	۰/۳۰ a	۰/۳۲ a
AI	۸/۲۱ **	۲/۲۵ c	۲/۶۹ c	۴/۲۲ a	۴/۸۴ a
CVci	۴۹/۳۳ **	۸/۶۷ c	۱۰/۱۷ c	۱۳/۸۱ a	۱۴/۸۹ a
AR	۰/۱۴ **	۱/۷۷ b	۱/۷۵ b	۱/۹۲ b	۲/۱۵ a

** و * تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک و ۵ درصد

حروف یکسان در هر ردیف نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار می باشد.



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش (ward) و معیار فاصله اقلیدسی از نظر ویژگی‌های کاریوتیپی در ۹ جمعیت مارتیغال

موقعیت قرار گرفتن آن بر روی کروموزوم‌ها نیز، تنوع بین جمعیتی وجود داشت. بر اساس نتایج جمعیت مشکین شهر از لحاظ فرمول کاریوتیپی نامتقارن‌ترین کاریوتیپ و جمعیت مبارکه از متقارن‌ترین کاریوتیپ‌ها بود (جدول۱). Asghari-Zakaria et al. 1989 نشان داد که همه ژنوتیپ‌ها بر اساس جدول Stebbin's (Stebbins 1971) در کلاس 2B قرار گرفته‌اند. در این تحقیق استقرار هشت جمعیت در کلاس 2B و جمعیت مشکین شهر در کلاس 3B قرار گرفت. این امر بیانگر کاریوتیپ نامتقارن و متکامل‌تر جمعیت مشکین شهر نسبت به سایر جمعیت‌های مورد بررسی بوده است. به‌طور کلی فاکتورهای A_1 و TF%، به عنوان عامل‌های متقارن بودن درون کروموزومی هستند که رابطه آن‌ها با هم یک رابطه معکوس است. با توجه به نتایج حاصل از جدول ویژگی‌های کاریوتیپی در جمعیت‌های مورد مطالعه، این دو فاکتور رابطه معکوس نشان دادند، بنابراین با اندازه‌گیری یکی از دو عامل فوق، به میزان متقارن و نامتقارن بودن کروموزوم‌ها پی خواهیم برد (Hesamzadeh Hejazi et al. 2008). کمترین مقادیر صفات TF%، r-value، S% و بیشترین مقدار A_1 متعلق به جمعیت مشکین شهر بود لذا از نامتقارن‌ترین و در عین حال متکامل‌ترین کاریوتیپ‌ها محسوب شد. بر اساس صفات ذکر شده جمعیت کاشان بعد از جمعیت مشکین شهر نامتقارن‌ترین کاریوتیپ بود. بیشترین مقادیر صفات S% و TF% متعلق به جمعیت مبارکه بود که بیانگر کاریوتیپ متقارن و ابتدایی آن می‌باشد. بر اساس نتایج ذکر شده در مقایسه میانگین صفات، جمعیت کاشان از نظر صفات TL، LC، SLa، SSa، CVci و AI و جمعیت مشکین شهر از نظر صفات DRL، A2 و AR از نامتقارن‌ترین و متکامل‌ترین کاریوتیپ‌ها محسوب شدند. جمعیت‌های مبارکه و مشهد با دارا بودن کمترین مقادیر کلیه صفات، در جدول مقایسه میانگین‌ها از متقارن‌ترین و ابتدایی‌ترین و یکنواخت‌ترین کاریوتیپ‌ها بودند. در تجزیه به عامل‌ها، بر اساس ۹ صفت مورد مطالعه (TL,SSa, SLa, SC, LC, AI, CVci, DRL, AR) دو عامل اول و دوم توانست

Archive of SID
www.SID.ir

بیش از ۸۸ درصد از واریانس کل را توجیه کند. بطوری‌که درعامل اول، صفات اختلاف طول دامنه نسبی (DRL)، ضریب نامتقارن بودن بین کروموزومی (A2)، نسبت بازوی بلند به کوتاه (AR) و شاخص عدم تقارن (AI) با دارا بودن بالاترین ضرایب بردارهای ویژه بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها داشتند وتحت عنوان عامل عدم تقارن بین کروموزومی نام‌گذاری گردید. درعامل دوم، صفات طول کل کروموزومی (TL)، مجموع بازوهای کوتاه (SSa) و مجموع بازوهای بلند (SLa) دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بودند و تحت عنوان عامل طول ژنوم نام‌گذاری شد. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد که بیشترین فاصله بین دو جمعیت مشکین شهر و مبارکه وجود داشته است. این نتایج نشان داد که برای ایجاد حداکثر تنوع در جامعه جدید بایستی تلاقی بین این دو والدین انجام گردد. با توجه به نتایج تجزیه واریانس خوشه‌ها می‌توان چنین بیان کرد که عامل جدایی جمعیت‌های مشکین شهر و مبارکه که به‌ترتیب در گروه‌های دوم و چهارم قرار گرفته‌اند، شاخص‌های عدم تقارن درون کروموزومی و بین کروموزومی بودند و عامل جدایی جمعیت‌های کاشان و مشهد که به‌ترتیب در گروه‌های سوم و یکم واقع‌اند، صفات مربوط به طول ژنوم بود. از آن‌جا که در نهاندانگان کاریوتیپ‌های نامتقارن از نظر تکاملی پیشرفته‌ترند، (Khosravi 1996) می‌توان نتیجه‌گیری کرد که جمعیت‌های مشکین شهر و کاشان نسبت به سایر جمعیت‌ها متکامل‌تر بوده وجمعیت‌های مبارکه و مشهد نسبت به سایرین ابتدایی‌تر می‌باشند.

منابع

Hesamzadeh Hejazi1, SM, Ziaei Nasab, M (2008) Cytogenetic study on several species of *Hedysarum* in natural gene bank of Iran, Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 15:85-94. (In Farsi)

Khosravi AR (1996) Plant taxonomy and biosystematics(translation), Shiraz university press 169. (In Farsi)

Agayev YM (1996) Advanced squash methods for investigation of plant chromosomes, Fourth Iranian congress in crop production and breeding sciences, Key-note paper, Esfahan university of technology, Isfahan Iran.

Asghari Zakaria R, Kazemi R, Aghayev H, Valizadeh MY, Moghaddam M (2002) Karyotype and C-banding patterns of mitotic chromosomes in *Henrardia persica*. Caryologia 57: 289–293.

Asghari-Zakaria R, Panahi AR, Sadeghizadeh M (2008) comparative study of chromosome morphology in *Silybum marianum*. Cytologia 73: 327-332.

Czygan FC, Frohne D, Holtzel C, Nagell A, Pfander HJ, Willuhn G, Buff W (1994) Bisset NG (editor). Herbal drugs and phytopharmaceuticals: A handbook for practice on a scientific basis. Medpharm scientific publishers, stuttgart.

Ghaffari SM (1989) Chromosome studies in Iranian Compositae. Iran J Bot 4: 189–196. Garcia-Jacas N and Susanna A (2006) New chromosome counts in the genus *Cousinia* (Asteraceae) from Iran. Bot J Linn Soc 151: 411–419.

Grieve M (1931) A modern herbal: The medicinal, culinary, cosmetic and economic properties, cultivation and folklore of herbs, grasses, fungi, shrubs and trees with all their modern scientific uses. Jonathan cape limited, London.

Johnson DE 1998 Applied multivariate methods for data analysis. Dunbury Press, New York, USA. 567 p.

Kamel, EA (2004) Cytotaxonomical investigations of the Egyptian compositae (Asteraceae): I-Cardueae and cichorieae. Compos. News l41:9-28 .

Keville K (1991) The illustrated herb encyclopedia: A complete culinary, cosmetic, medicinal, and ornamental guide to herbs. simon & Schuster Australia, East Roseville, New South Wales.

Krasnikov AA, Zhirova OS, Lomonosova MN Smirnov SV (2003) Chromosome numbers of Asteraceae from the southern Siberia and Kazakstan. Bot Z 88: 151–153.

Levan A, Fedga K, Sandberg A (1964) Nomenclature for centrometric position on chromosome. Hereditas, 52:201-220.

Mohamed MK (1997) Chromosome counts in some flowering plants from Egypt. Egypt J Bot 37: 129–156.

Romero Zarco C 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 35: 526–530.

Stebbins GL (1971) Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London, UK.

Susanna A, Grcia-Jacas N, Vilatersana AL, Garnatje T, Valles J, Ghaffari SM (2003) New chromosome counts in the genus *Cousinia* and the related genus *Schmalhausenia* Asteraceae, Cardueae Bot J Linn Soc 143: 411–418.

Van Loon J (1974) A cytological investigation of flowering plants from the Canary Islands. Acta Bot Neerl 23: 113–124.

Archive of SID

www.SID.ir