جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۷، شمارهٔ ۳، صفحهٔ ۴۱۸-۴۰۷ (۱۳۹۰)

مطالعه سیتوژنتیکی شش جمعیت ماریتیغال (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.)

منصوره صرامی[۱*]، حسین زینلی[۲]، غلامرضا بخشی‌خانیکی[۳]، سعید اسماعیل‌خانیان[۴] و زرین‌تاج بردبار[۵]

۱*- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد زیست گیاهی، دانشگاه پیام نور تهران، پست الکترونیک: Ma_sarrami@yahoo.com
۲- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان
۳- دانشیار، دانشگاه پیام نور تهران
۴- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان
۵- کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۸ تاریخ اصلاح نهایی: مهر ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۸۹

چکیده

این تحقیق در سال ۱۳۸۸ در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان بر روی ۶ جمعیت ماریتیغال (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) انجام شد. کاریوتیپ سلول‌های میتوزی در مرحله متافاز مریستم انتهایی ریشه بذرهای جوانه‌دار شده بررسی و مطالعه شد. عدد پایه کروموزومی در تمام جمعیت‌های مورد مطالعه x=۱۷ و تعداد کروموزوم ۲n=۲x=۳۴ بود. از لحاظ سطح پلوئیدی، همه جمعیت‌ها دیپلوئید بودند. براساس جدول دو طرفه Stebbins، همه جمعیت‌ها در کلاس ۲B قرار گرفتند که این امر بیانگر وضعیت تکاملی مشابه آنها می‌باشد. تجزیه واریانس صفات، نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ صفات طول کوتاهترین کروموزوم، شاخص عدم تقارن و ضریب تغییرات شاخص سانترومری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ و از لحاظ صفات طول کل کروموزومی، مجموع بازوهای کوتاه، مجموع بازوهای بلند و طول بلندترین کروموزوم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ وجود دارد که این امر مؤید وجود تنوع کروموزومی در جمعیت‌های مورد بررسی می‌باشد. در تجزیه به عامل‌ها، دو عامل اول و دوم در مجموع بیش از ۹۴٪ از کل تنوع موجود بین جمعیت‌ها را توجیه نمودند. به‌طوری که در عامل اول، طول کل کروموزوم (TL) و مجموع بازوهای بلند (Sla) بیشترین نقش را در تشکیل این عامل داشتند. در عامل دوم، صفات شاخص عدم تقارن (AI) و ضریب تغییرات شاخص سانترومری (CVci) بیشترین سهم را در تشکیل این عامل برخوردار بود. تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها براساس خصوصیات کاریوتیپی، آنها را در ۴ گروه مجزا قرار داد. در این بررسی بیشترین شباهت بین دو جمعیت اهواز و ساری و کمترین شباهت بین دو جمعیت اهواز و آمل بود. نتایج تجزیه واریانس بین گروه‌ها نشان داد که تمام صفات مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری را در بین گروه‌ها داشتند. جمعیت‌های اهواز، ساری و اصفهان در گروه اول از نظر صفات TL، SSa، SLa، LC و SC نسبت به سایر گروه‌ها برتر بودند. جمعیت آمل در گروه دوم از نظر صفات SC، Cvci و AI کمترین مقادیر را دارا بود. جمعیت کردستان در گروه چهارم از نظر صفات CVci و AI بیشترین مقادیر و از لحاظ صفات TL، SSa، SLa و LC کمترین مقادیر را به خود اختصاص داد. همچنین نمودار پراکنش جمعیت‌ها براساس مقادیر مؤلفه اول و دوم رسم شد که مؤید نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای بود.

واژه‌های کلیدی: ماریتیغال (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.)، کاریوتیپ، کروموزوم، تجزیه به عامل‌ها، تجزیه خوشه‌ای.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

ماریتیغال (*Silybum marianum*) گیاهیست یکساله، که منشأ آن شرق مدیترانه گزارش شده‌است. این جنس از خانواده کاسنی (Asteraceae) بوده و دارای دو گونه به نام‌های ماریانوم (*S. marianum*) و ابورنئوم (*S eburneom*) می‌باشد. این گیاه در انگلیسی Milk thistle نامیده شده‌است (Cacho *et al.*, 1999). بذرهای این گیاه سنگین، پهن، صاف، براق و لکه‌دار هستند و رنگ آنها می‌تواند از سیاه، قهوه‌ای تا کرم متغیر باشد. میوه، فندقه و با ناف قاعده‌ای و هاله انتهایی به طول ۸-۶ میلی‌متر و عرض ۳-۲ میلی‌متر می‌باشد که در انتهای آن تارهای پاپوس وجود دارد که به رنگ طلایی روشن مایل به سفید می‌باشند، دائمی نبوده و هنگامی که دانه‌ها بالغ می‌شوند، می‌ریزند. دانه‌ها قادرند حداقل به مدت ۹ سال در خاک زنده بمانند. هر کاپیتول ۵۰ تا ۲۰۰ دانه تولید می‌کند (Bisset & Wichtl, 1994؛ Keville, 1991). ماریتیغال یک گیاه دارویی بلند و عمودی است که ارتفاع آن ۱ تا ۲متر بوده و دارای برگ‌های خاردار و شیره چسبناک و شیری رنگ می‌باشد. این گیاه توسط دانه تکثیر شده و رویش این گیاه تقریباً پس از اولین باران پاییزی و گاهی اوقات نیز در اواخر زمستان می‌باشد. دانه‌های آن دارای ترکیب‌های سیلی‌بین، ایزوسیلی‌بین، سیلی‌کریستین و سیلی‌دیانین است که مجموعه آنها تحت عنوان سیلی‌مارین شناخته می‌شوند که از عصاره متانولی میوه‌های خشک شده (دانه) این گیاه استخراج می شوند. این گیاه اثر پزشکی و دارویی دارد، اما بعضی وقت‌ها به‌عنوان گیاه زینتی به دلیل برگ‌های غیرمعمول آن پرورش داده می‌شود. بیش از ۲۰۰۰ سال است که دانه‌های این گیاه برای معالجه بیماریهای کبدی بکار می‌رود و همچنین برای معالجه مسمومیت قارچی و هپاتیت کاربرد دارد (Bosisio *et al.*, 1992؛ Wagner *et al.*, 1974). ماریتیغال بومی مدیترانه، کشمیر هندوستان و پاکستان می‌باشد، اما امروزه در سرتاسر جهان گسترش یافته‌است. در کشور ایران، پراکندگی عمده آن در نواحی شمال، شمال غرب، غرب، جنوب غربی است. Kamel (۲۰۰٤) و Ghaffari (۱۹۸۹) تعداد کروموزوم‌های پایه در گیاه ماریتیغال را ۲n=۳٤ گزارش نموده‌اند. Asghari-zakaria و همکاران (۲۰۰۲) نشان داده‌اند که کروموزوم‌های این جنس از نوع متاسنتریک، ساب‌متاسنتریک و آکروسنتریک بوده و براساس موقعیت سانترومر شامل شش جفت کروموزوم متاسنتریک، ده جفت ساب‌متاسنتریک و یک جفت آکروسنتریک بودند. این گیاه متعلق به زیر قبیله Carduinae از قبیله Cardueae می‌باشد. تعداد کروموزوم در جنس‌های *Cirsium*، *Onopordum* و *Notobasis* تقریباً ۲n=۳٤ می‌باشد. تعداد کروموزوم در *S. marianum* بیشتر به جنس‌های *Onopordum* و *Notobasis* در زیر قبیله Carduinae نزدیکتر است (Krasnikov *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 ممکن می‌باشد. بنابراین با توجه به کمبود اطلاعات در زمینه سیتوژنتیکی این جنس، در این تحقیق سعی شده با کمّی کردن اطلاعات سیتوژنتیکی، تشخیص و تفکیک جمعیت‌های این جنس دقیق‌تر صورت بگیرد، در همین راستا عمده‌ترین اهدافی که در این بررسی دنبال شده‌است عبارتند از:

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۱- تعیین کاریوتیپ جمعیت‌ها، مطالعه شکل، اندازه و تعداد کروموزوم‌ها

۲- دسته‌بندی جمعیت‌ها از نظر تکامل کاریوتیپی

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

مواد و روشها

بذر ٦ جمعیت ماریتیغال از مناطق اهواز، ساری، اصفهان، آمل، کردستان و مجارستان جمع‌آوری شد. برای مطالعه کروموزوم‌های متافازی ریشه، از روش رنگ‌آمیزی استو- آهن- هماتوکسیلین (Agayev, 1998) استفاده گردید. برای این منظور، بذرها پس از ضدعفونی با محلول ویتاواکس دو در هزار به مدت ۵ دقیقه، روی کاغذ صافی مرطوب داخل پتری‌دیش کاشته شدند و در دمای ۲۰-۱۹ درجه سانتی‌گراد و روشنایی نگهداری شدند. پس از جوانه‌زنی، بذرهای با طول ریشه‌چه ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر از هر ژنوتیپ انتخاب شده و در محلول آلفا برمونفتالین ۰/۵٪ اشباع شده در آب به مدت ۱ ساعت پیش‌تیمار شدند. پس از آن ریشه‌ها شسته شده و با استفاده از کاغذ صافی خشک گردیده و به محلول تثبیت لویتسکی منتقل شدند. از محلول لویتسکی به‌عنوان تثبیت‌کننده و جلوگیری از کوتاه شدن بیش از حد کروموزوم‌ها استفاده شد. این ماده مخلوطی از اسید کرومیک ۱٪ و فرمالدئید ۱۰٪ بود. مدت زمان لازم برای تثبیت ۳٦ ساعت در یخچال با دمای ۳ تا ٤ درجه سانتی‌گراد بود. بعد ریشه‌ها به مدت ۳ ساعت با آب شستشو داده شدند. در مرحله نگهداری، ریشه‌ها به اتانول ۷۰٪ 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 ۱ نرمال هیدروکسید سدیم در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸-۱۵ دقیقه انتقال داده شدند. پس از هیدرولیز، به مدت ۱۰ دقیقه ریشه‌ها با آب مقطر شستشو شده و بعد با رنگ استو- آهن- هماتوکسیلین در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ساعت رنگ‌آمیزی گردیدند. در پایان، از هر نمونه چند لام تهیه شد و با میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین مورد بررسی قرار گرفت. حداقل سه سلول متافازی مناسب جهت اندازه‌گیری پارامترهای کروموزومی انتخاب شد و پس از تهیه کاریوتیپ با استفاده از نرم‌افزار Micromeasure، صفات طول کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA)، نسبت بازوها (Arm ratio: L/S) 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 Levan و همکاران (۱۹٦٤) استفاده شد.

به منظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۵٪) 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 آنها تجزیه به کلاستر به روش Ward و معیار فاصله اقلیدسی انجام شد. تجزیه

واریانس بین گروه‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمون دانکن انجام گردید (Johnson, 1998). تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزارهای SAS و SPSS انجام شد.

نتایج

تصاویر متافاز میتوزی جمعیت‌های مورد مطالعه به همراه ایدیوگرام در شکل ۱ و نتایج حاصل از تجزیه کاریوتیپی در جدول ۱ ارائه شده‌است. همه جمعیت‌های مورد مطالعه از لحاظ سطح پلوئیدی، دیپلوئید (۲n=۳۴) بودند (جدول ۱). فرمول کاریوتیپی جمعیت‌ها نشان داد که جمعیت‌های اهواز، ساری، اصفهان، آمل و مجارستان دارای دو نوع کروموزوم متاسنتریک و ساب‌متاسنتریک بودند. بیشترین تعداد کروموزوم متاسنتریک مربوط به جمعیت آمل و کمترین تعداد کروموزوم متاسنتریک متعلق به ژنوتیپ مجارستان بوده‌است. جمعیت کردستان شامل سه نوع کروموزوم متاسنتریک، ساب‌متاسنتریک و ساب‌تلوسنتریک بود. در جمعیت‌های آمل، کردستان، مجارستان و اصفهان ماهواره مشاهده گردید (جدول ۱). بررسی ویژگی‌های کاریوتیپی نشان داد که کمترین مقادیر شاخص عدم تقارن بین کروموزومی و درون کروموزومی و شاخص عدم تقارن و نسبت بازوی بلند به کوتاه متعلق به جمعیت آمل و بیشترین مقادیر متعلق به جمعیت‌های کردستان و اصفهان بوده‌است. از لحاظ درصد فرم کلی کمترین مقادیر متعلق به جمعیت اصفهان و کردستان بود و بیشترین مقادیر مربوط به جمعیت‌های آمل و مجارستان بود. بیشترین مقدار اختلاف دامنه طول نسبی (DRL%) متعلق به جمعیت ساری بود (جدول ۱).

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات، نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ صفات طول کوتاهترین کروموزوم، شاخص عدم تقارن و ضریب تغییرات شاخص سانترومری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ و از لحاظ صفات طول کل کروموزومی، مجموع بازوهای کوتاه و طول بلندترین کروموزوم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ وجود دارد. مقایسه میانگین صفات نشان داد که کمترین مقادیر صفات طول کل کروموزومی، مجموع بازوهای بلند و کوتاه و بیشترین مقادیر صفات شاخص عدم تقارن و ضریب تغییرات شاخص سانترومری متعلق به جمعیت کردستان و بیشترین مقادیر طول کل کروموزومی، مجموع بازوهای بلند و کوتاه و طول کوتاهترین کروموزوم مربوط به ژنوتیپ اصفهان بود. براساس شاخص عدم تقارن جمعیت‌ها به ۵ گروه تفکیک شدند.

جهت تعیین سهم هریک 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 ۹٤٪ از کل تنوع موجود بین جمعیت‌ها را توجیه نمودند. مقادیر ضریب های بردارهای ویژه در عامل اول نشان داد که صفات TL و SLa بیشترین نقش را در تشکیل این عامل داشته، در حالی‌که در عامل دوم صفات AI و CVci بیشترین سهم را در تشکیل این عامل به خود اختصاص دادند.

به‌منظور گروه‌بندی جمعیت‌ها از لحاظ تکاملی، تجزیه کلاستر به روش Ward و معیار فاصله اقلیدسی انجام شد (شکل ۲). در تجزیه کلاستر، با برش دندروگرام در فاصله ۳/۰۵، جمعیت‌های مورد نظر در چهار گروه قرار گرفتند، به‌طوری که جمعیت‌های اهواز، ساری و اصفهان در گروه اول، جمعیت آمل در گروه دوم، جمعیت مجارستان در گروه سوم و جمعیت کردستان در گروه چهارم قرار گرفتند.

بیشترین شباهت بین دو جمعیت اهواز و ساری و کمترین شباهت بین دو جمعیت اهواز و آمل بود (شکل ۲).

در این بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس بین گروه‌ها در جدول ۵ نشان داد که صفات طول کل کروموزوم، مجموع بازوهای بلند، طول بلندترین کروموزوم، شاخص عدم تقارن و ضریب تغییرات شاخص سانترومری در سطح احتمال ۱٪ و از لحاظ صفات مجموع بازوهای بلند و طول کوتاهترین کروموزوم در سطح احتمال ۵٪ تنوع معنی‌داری را در بین گروه‌ها داشتند (جدول ۵). جمعیت‌های اهواز، ساری، اصفهان در گروه اول از نظر صفات TL، SSa، SLa، LC و SC نسبت به سایر گروه‌ها برتر بود که نشان‌دهنده نامتقارن بودن کاریوتیپ این جمعیت‌ها از لحاظ صفات مربوط به طول کروموزومی بود. جمعیت آمل در گروه دوم از نظر صفات SC، Cvci و AI کمترین مقادیر را دارا بود؛ که نشان‌دهنده متقارن بودن کاریوتیپ این جمعیت است. بیشترین مقادیر صفات TL، SSa، SLa، LC و SC بعد از گروه اول، متعلق به جمعیت مجارستان در گروه سوم بود. بیشترین مقادیر صفات AI و CVci متعلق به جمعیت کردستان در گروه چهارم بود؛ که نشان‌دهنده نامتقارن بودن کاریوتیپ این جمعیت از لحاظ صفات مربوط به عدم تقارن بود.

نمودار پراکنش جمعیت‌ها براساس مقادیر مؤلفه اول و دوم در شکل ۲ ارائه شده‌است که مؤید نتایج حاصل از تجزیه کلاستر می‌باشد.

براساس کلیه نتایج بیان شده، احتمالاً جمعیت مجارستان از لحاظ تقارن کاریوتیپی، جمعیتی حد واسط با تمایل به افزایش عدم تقارن کاریوتیپی می‌باشد.

جدول ۱- پارامترهای کاریوتیپی به همراه مؤلفه‌های سنجش تقارن در جمعیت‌های مورد مطالعه گیاه ماریتیغال

جمعیت	نام علمی	2n	X	%DRL	%TF	A1	A2	AI	SC	Type	AR	%L
اهواز	*S. marianum*	۳۴	۱۷	۶/۳۰	۳۷/۳۹	۰/۳۸	۰/۳۱	۳/۵۵	2B	۸m + ۹Sm	۱/۷۲	۶۲/۵۶
ساری	*S. marianum*	۳۴	۱۷	۶/۹۶	۳۷/۶۳	۰/۳۹	۰/۲۹	۳/۵۱	2B	۸m + ۹Sm	۱/۷۳	۶۲/۳۷
اصفهان	*S. marianum*	۳۴	۱۷	۵/۱۰	۳۶/۴۰	۰/۴۹	۰/۲۶	۲/۸۱	2B	۸m + ۹Sm ^{sat}	۱/۸۸	۶۳/۶۰
آمل	*S. marianum*	۳۴	۱۷	۵/۶۵	۳۸/۲۱	۰/۳۶	۰/۲۶	۲/۰۶	2B	۱۱m ^{sat} + ۶Sm	۱/۶۲	۶۱/۷۹
کردستان	*S. marianum*	۳۴	۱۷	۴/۸۴	۳۶/۹۶	۰/۳۹	۰/۲۶	۴/۲۴	2B	۹m ^{sat} + ۷Sm + ۱St	۱/۸۱	۶۳/۰۴
مجارستان	*S. marianum*	۳۴	۱۷	۶/۰۲	۳۸/۵۶	۰/۳۶	۰/۲۶	۳/۱۴	2B	۷m ^{sat} + ۱۰Sm	۱/۶۵	۶۱/۴۴

%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، (Arm Ratio) AR: میانگین نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه، L%: درصد طول نسبی بازوی بلند، Type: نوع کروموزوم

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی در جمعیت‌های مورد مطالعه گیاه ماریتیغال

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		TL	SSa	SLa	SC	LC	AI	CVci
جمعیت	۵	۲۴/۲۱ *	۳/۰۲ *	۱۰/۴۸ *	۰/۰۶ **	۰/۳۶ *	۱/۶۶ **	۲۲/۱۳ **
خطا	۱۲	۵/۹۲	۰/۷۱	۳/۲۴	۰/۰۰۹	۰/۱۰	۰/۰۸	۰/۳۲
ضریب تغییرات	-	۹/۲۰	۸/۵۲	۱۰/۹۰	۱۰/۲۶	۱۳/۴۹	۸/۶۰	۴/۸۹

** و * تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات کاریوتیپی در جمعیت‌های مورد بررسی در گیاه ماریتیغال به روش دانکن در سطح احتمال ۱٪

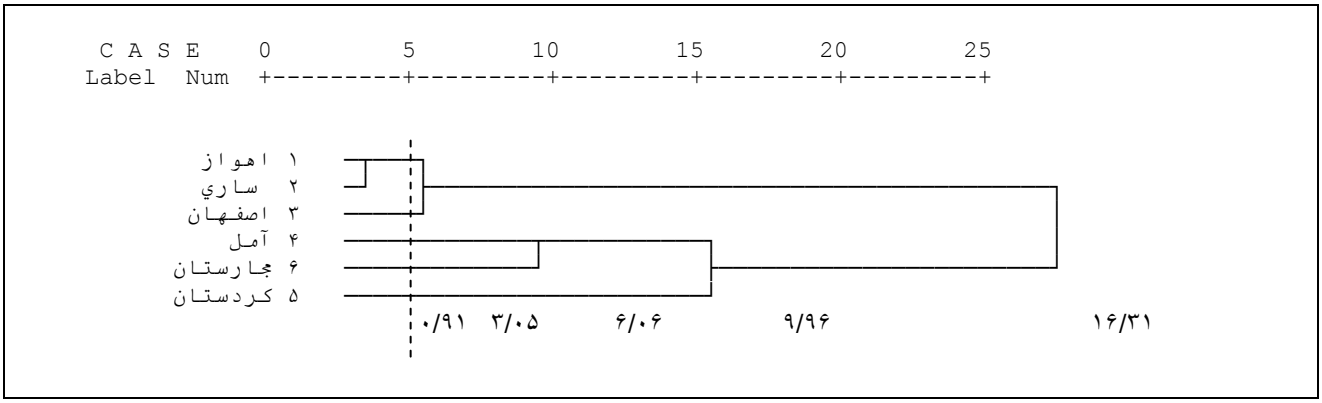
جمعیت	TL	SSa	SLa	SC	LC	AI	CVci
اهواز	۲۷/۴۵ ab	۱۰/۱۸ ab	۱۷/۲۵ ab	۰/۸۷ bc	۲/۶۳ ab	۳/۵۵ b	۱۱/۳۸ b
ساری	۲۸/۴۶ a	۱۰/۷۲ a	۱۷/۷۴ ab	۰/۹۷ b	۲/۷۷ a	۳/۵۲ b	۱۲/۲۷ b
اصفهان	۳۰/۰۱ a	۱۰/۹۳a	۱۹/۰۸ a	۱/۱۷ a	۲/۷۱ a	۲/۸۱ c	۱۰/۱۴ c
آمل	۲۳/۶۳ bc	۹/۰۳ bc	۱۴/۶۰ b	۰/۷۵ c	۲/۸۰ bc	۲/۰۶ e	۷/۸۸ d
کردستان	۲۲/۶۲ c	۸/۳۵ c	۱۴/۲۶ b	۰/۸۴ bc	۱/۹۴ c	۴/۲۵ a	۱۶/۰۶ a
مجارستان	۲۶/۳۸ abc	۱۰/۱۷ ab	۱۶/۲۱ ab	۰/۹۵ b	۲/۴۰ abc	۳/۱۴ cd	۱۲/۳۱ b

در هر ستون میانگین صفات در جمعیت‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

جدول ۴- مقادیر ویژه، درصد واریانس و ضریب‌های بردارهای ویژه ۲ عامل اصلی حاصل از تجزیه به عامل‌ها به روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

صفات	مؤلفه اول	مؤلفه دوم
TL	۰/۹۹	-۰/۱۲
SSa	۰/۹۵	-۰/۱۹
SLa	۰/۹۸	-۰/۰۸
SC	۰/۸۸	۰/۰۹
LC	۰/۹۵	-۰/۰۷۸
AI	۰/۰۰۱	۰/۹۸
CVci	-۰/۱۵	۰/۹۸
مقدار ویژه	۴/۵۷	۲/۰۰
واریانس توجیه شده	۶۵/۳۴	۲۸/۷۰
واریانس توجیه شده تجمعی	۶۵/۳۴	۹۴/۰۴

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



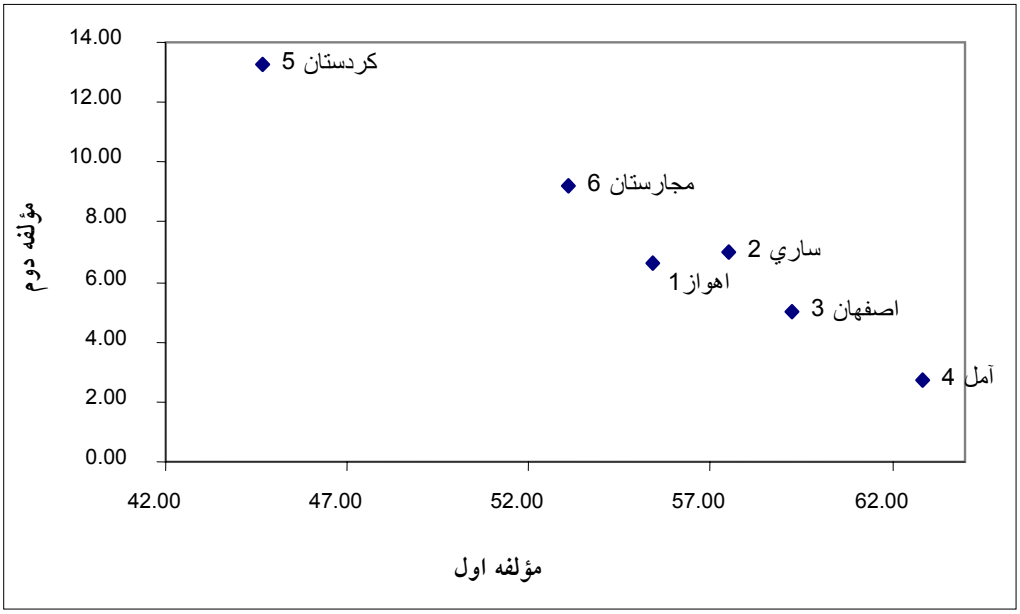
شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش Ward و معیار فاصله اقلیدسی از نظر ویژگی‌های کاریوتیپی

جدول ٥- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر

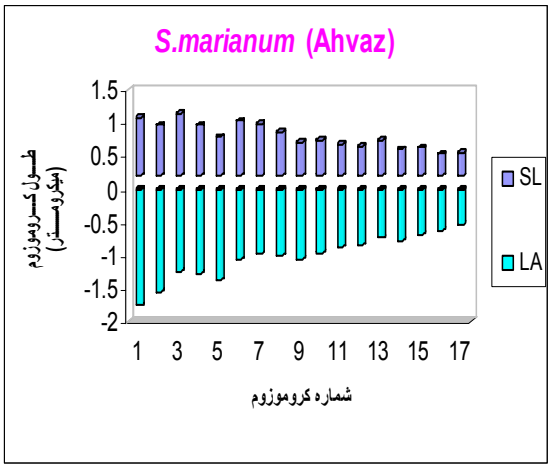
صفات	میانگین مربعات بین گروه‌ها	میانگین صفات در گروه‌ها			
		گروه ۱	گروه ۲	گروه ۳	گروه ٤
TL	۳۷/۰۲**	۲۸/٦٤ a	۲۳/٦۳ b	۲٦/۳۸ ab	۲۲/٦۲ b
SSa	٤/۷٤ **	۱۰/٦۱a	۹/۰۳ bc	۱۰/۱۷ ab	۸/۳٥ c
SLa	۱٥/٦۷ *	۱۸/۰۲a	۱٤/٦۰ b	۱٦/۲۱ ab	۱٤/۲٦ b
SC	۰/۰٥ *	۱/۰۰a	۰/۷٥ b	۰/۹٥ ab	۰/۸٤ ab
LC	۰/٥۸ **	۲/۷۰ a	۲/۰۸ b	۲/٤۰ ab	۱/۹۳ b
AI	۲/٤۲ **	۳/۱۷ b	۲/۰٦ c	۲/۹۷ b	٤/۲٥ a
CVci	۳٤/٤٦ **	۱۱/۲۸ b	۷/۸۸ c	۱۲/۲٤ b	۱٦/۰٦ a

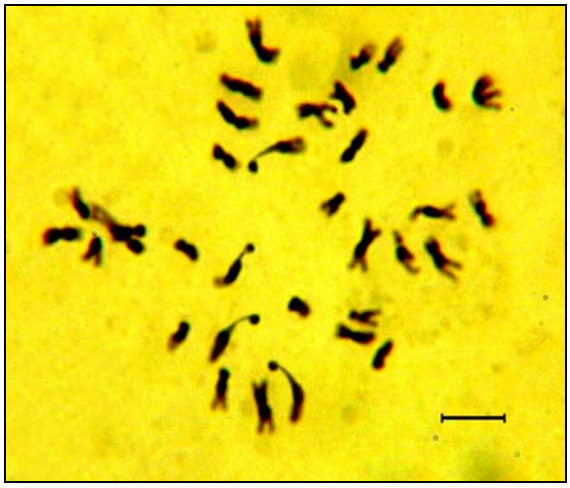
** و * تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ٥٪

حروف یکسان در هر ردیف نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

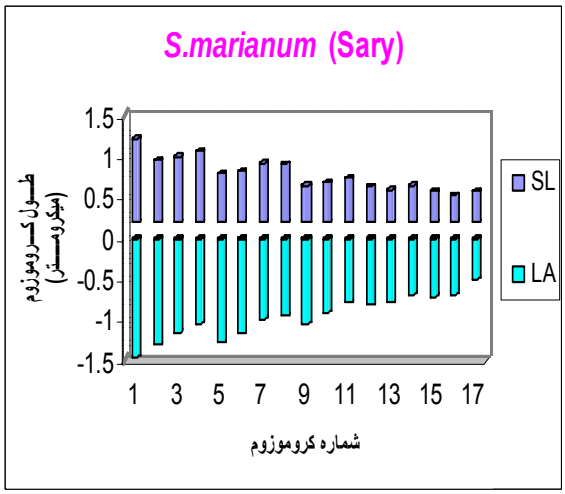


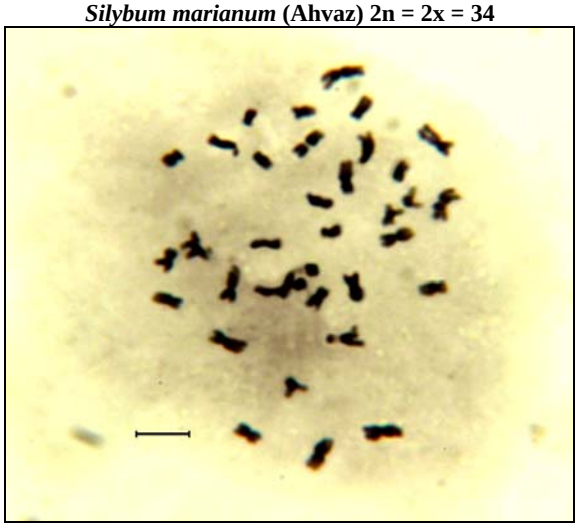
شکل ۲- دیاگرام پراکنش جمعیت‌ها براساس دو مؤلفه اول و دوم حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی



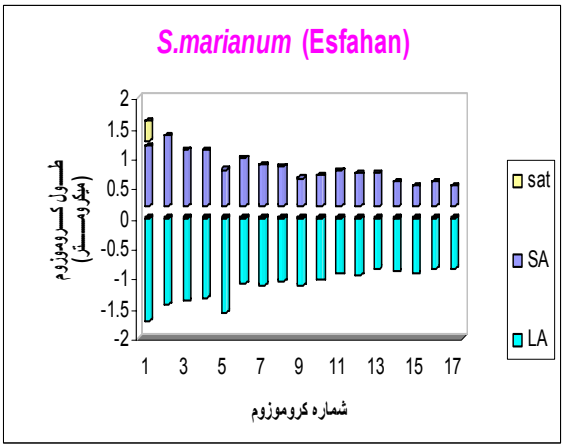


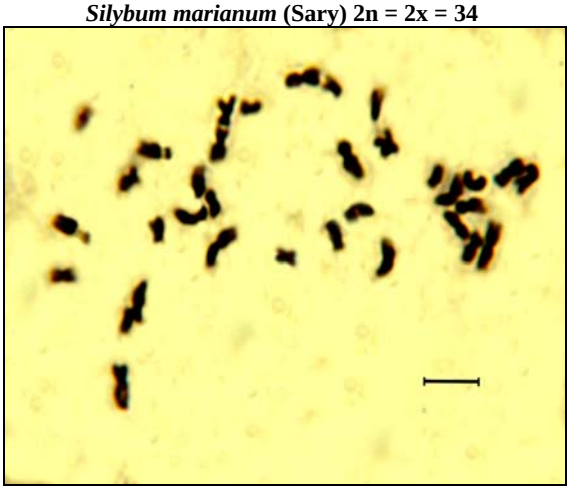
Silybum marianum (Ahvaz) 2n = 2x = 34





Silybum marianum (Sary) 2n = 2x = 34

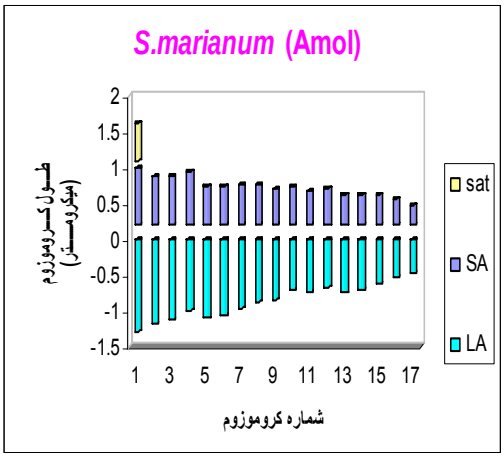


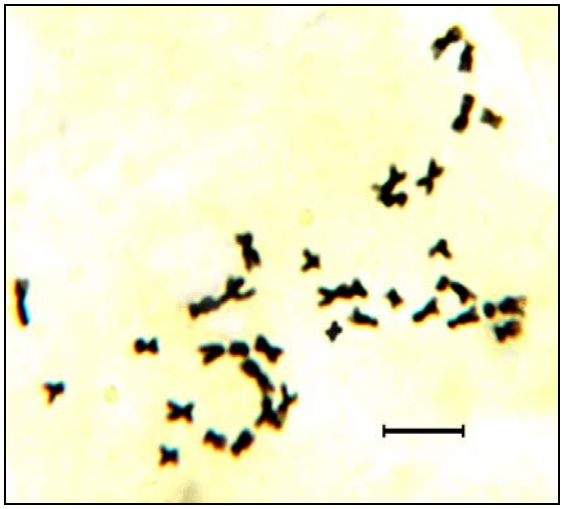


Silybum marianum (Esfahan) 2n = 2x = 34

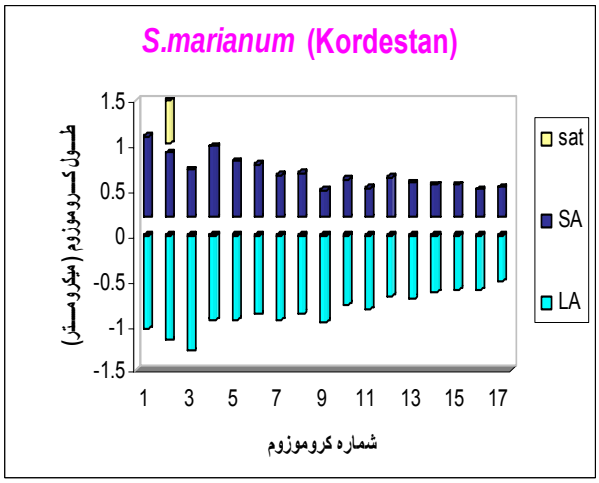
شکل ۳- سلول‌های متافازی و آیدیوگرام جمعیت‌های مورد بررسی در ماریتیغال (Scale bar= 3µm)

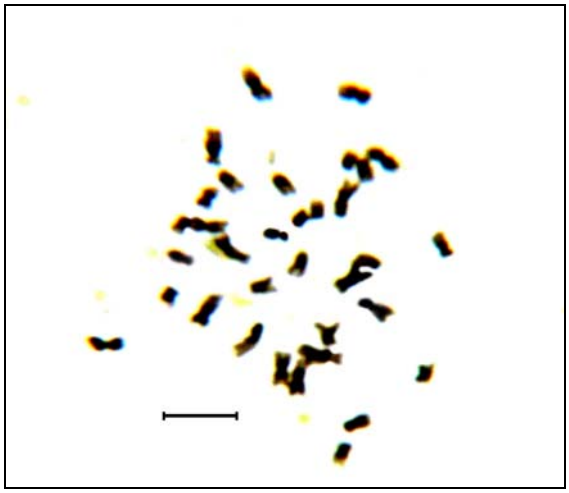
Silybum marianum **(Amol) 2n = 2x = 34**



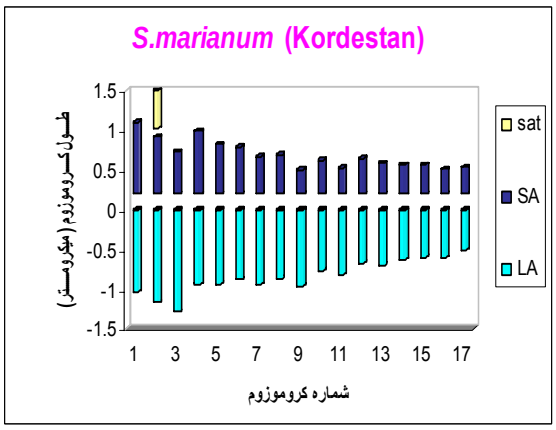


Silybum marianum **(Majarestan) 2n = 2x = 34**





Silybum marianum (Kordestan) 2n = 2x = 34



ادامه شکل ۳

بحث

نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققان (Ghaffari, 1989 ؛Mohamed, 1997 ؛Kamel, 2004) در مورد این جنس بیانگر سطح پلوئیدی 2n=2x=34 و مؤید نتایج این تحقیق می‌باشد. Asghari-zakaria و همکاران (۲۰۰۲) نشان داده‌اند که کروموزوم‌های این جنس از نوع متاسنتریک، ساب‌متاسنتریک و آکروسنتریک بوده، اما فرمول کاریوتیپی جمعیت‌های مورد بررسی نشان داد که نوع کروموزوم‌ها در ۵ جمعیت مورد مطالعه متاسنتریک و ساب‌متاسنتریک بودند ولی در جمعیت کردستان متاسنتریک، ساب‌متاسنتریک و ساب‌تلوسنتریک مشاهده شد که بیانگر کاریوتیپ نامتقارن و متکامل‌تر این جمعیت می‌باشد. از نظر داشتن ماهواره و موقعیت قرار گرفتن آن بر روی کروموزوم‌ها نیز تنوع بین جمعیتی مشاهده گردید. به‌طوری که جمعیت آمل دارای بیشترین تعداد کروموزوم متاسنتریک بود که بیانگر کاریوتیپی متقارن و یکنواخت‌تر می‌باشد. استقرار همه جمعیت‌ها در کلاس 2B جدول دو طرفه Stebbins بیانگر وضعیت تکاملی مشابه در بین جمعیت‌های مورد مطالعه می‌باشد. به‌طورکلی فاکتورهای A1 و TF%، به‌عنوان عامل‌های متقارن بودن درون کروموزومی هستند که رابطه آنها با هم یک رابطه معکوس است. با توجه به این‌که 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 (حسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب ، ۱۳۸٦). کمترین مقادیر صفات A1، A2، AI و بیشترین مقدار TF% متعلق به جمعیت آمل بود که بیانگر کاریوتیپی متقارن و ابتدایی آن می‌باشد. بیشترین مقادیر صفات AI، A1 و کمترین مقدارTF% متعلق به جمعیت‌های اصفهان و کردستان بود، بنابراین از نامتقارن‌ترین و در عین حال متکامل‌ترین کاریوتیپ‌ها محسوب شدند. بیشترین مقادیر Arm Ratio و درصد طول نسبی بازوی بلند (L%) متعلق به جمعیت‌های اصفهان و کردستان بوده که این امر بیانگر بالا بودن درجه تکاملی در دو جمعیت اصفهان و کردستان بوده‌است. کمترین مقدار L% متعلق به جمعیت آمل بود که نشان‌دهنده تقارن کاریوتیپی بوده و این امر تأییدی بر نتایج دیگر صفات بود. با توجه به خصوصیات کروموزومی، جمعیت آمل با دو جمعیت اصفهان و کردستان دارای کمترین قرابت و نزدیکی بود که بدون شک انجام تلاقی بین جمعیت آمل با دو جمعیت اصفهان و کردستان باعث حداکثر هتروزیگوت و تنوع خواهد شد. مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار AI و CVci به‌ترتیب متعلق به جمعیت کردستان و جمعیت آمل بود، بر این اساس جمعیت کردستان از نامتقارن‌ترین و جمعیت آمل از متقارن‌ترین کاریوتیپ‌های مورد بررسی بودند. بدین ترتیب بیشترین مقادیر TL، SSa، Sla و SC متعلق به جمعیت اصفهان بود. در تجزیه به عامل‌ها، براساس هفت صفت مورد مطالعه (TL، SSa، Sla، SC، LC، AI، CVci) دو عامل اول و دوم توانست بیش از ۹٤٪ از واریانس کل را توجیه کند. به‌طوری که در عامل اول، صفات طول کل کروموزومی (TL) و مجموع بازوی بلند (Sla) با دارا بودن بالاترین ضریب‌های بردارهای ویژه بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها داشتند و تحت عنوان عامل طول ژنوم نام‌گذاری گردید. در عامل دوم، صفات شاخص عدم تقارن (AI) و ضریب تغییرات شاخص سانترومر (CVci) دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بودند و

تحت عنوان عامل تقارن کروموزومی نام‌گذاری شد. این نتایج نشان داد که تلاقی بین این دو والدین ممکن است باعث ایجاد حداکثر تنوع در جامعه جدید گردد. با توجه به نتایج تجزیه واریانس خوشه‌ها می‌توان چنین بیان کرد که عامل جدایی جمعیت‌های آمل و کردستان که به‌ترتیب در گروه‌های دوم و چهارم قرار گرفته‌اند، صفات شاخص عدم تقارن (AI) و ضریب تغییرات شاخص سانترومری (CVci) بوده‌است. از آن‌جا که در نهاندانگان کاریوتیپ‌های نامتقارن از نظر تکاملی پیشرفته‌ترند (خسروی، ۱۳۷۵)، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که احتمالاً جمعیت‌های کردستان و اصفهان نسبت به سایر جمعیت‌ها متکامل‌تر بوده و جمعیت آمل نسبت به سایرین ابتدایی‌تر می‌باشد.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر اسماعیل‌خانیان (معاون پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان)، به دلیل فراهم کردن امکان پژوهش در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

- حسام‌زاده حجازی، س.م. و ضیائی‌نسب، م. ۱۳۸٦. مطالعه سیتوژنتیکی برخی از گونه‌های *Hedysarum* در بانک ژن منابع طبیعی ایران. تحقیقات ژنتیک واصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۵(۲): ۹٤-۸۵.
- خسروی، ا.ر.، ۱۳۷۵. تاکسونومی گیاهی و سیستماتیک زیستی (ترجمه). انتشارات دانشگاه شیراز، شیراز، ۳۹۲ صفحه.
- Agayev, Y.M., 1998. 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. Proceeding of the Forth Iranian Congress on Crop Production and Breeding Sciences, Isfahan University of Technology, Isfahan, 25-27 Aug. 1998: 1-20.
- Asghari-Zakaria, R., Kazemi, H., Aghayev, Y.M., Valizadeh, M. and Moghaddam, M., 2002. Karyotype and C-banding patterns of mitotic chromosomes in *Henrardia persica* (Boiss.) C.E. Hubb. Caryologia 55(4): 289-293.
- Bisset, N.G. and Wichtl, M., 1994. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice on a Scientific Basis. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, 566p.
- Bosisio, E., Benelli, C. and Pirola, O., 1992. Effect of the flavanolignans of *Silybum marianum* L. on lipid peroxidation in rat liver microsomes and freshly isolated hepatocytes. Pharmacological Research, 25(2): 147-154.
- Cacho, M., Moran, M., Corchete, P. and Fernandez-Tarrago, J., 1999. Influence of medium composition on the accumulation of flavonolignans in cultured cells of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Plant Science, 144(2): 63-68.
- Ghaffari, S.M., 1989. Chromosome studies in Iranian Compositae. Iranian Journal of Botany, 4: 189-196.
- Johnson, D.E., 1998. Applied multivariate methods for data analysis. Duxbury Press, New York, USA, 567p.
- Kamel, E.A., 2004. Cytotaxonomical investigations of the Egyptian Compositae (Asteraceae): I-Cardueae and Cichorieae. Compositae Newslett. 41: 9-28.
- Keville, K., 1991. The Illustrated Herb Encyclopedia: A Complete Culinary, Cosmetic, Medicinal and Ornamental Guide to Herbs. Mallard Press, New York, 224p.
- Krasnikov, A.A., Zhirova, O.S., Lomonosova, M.N. and Smirnov, S.V., 2003. Chromosome numbers of Asteraceae from the southern Siberia and Kazakstan. Botanicheskii Zhurnal, 88: 151-153.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A.A., 1964. Nomenclature for centrometric position on chromosome. Hereditas, 52: 201-220.
- Mohamed, M.K., 1997. Chromosome counts in some flowering plants from Egypt. Egyptian Journal of Botany, 37: 129-156.
- Romero Zarco, C., 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon, 35(3): 526-530.
-Stebbins, G.L., 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold, London, UK, 216p.
- Wagner, H., Diesel, P. and Seites, M., 1974. The chemistry and analysis of Silymarin from *Silybum marianum*. Arzheimittelforschung, 24(4): 466-471.

Cytogenetic studies in six populations of *Silybum marianum* (L.) Gaertn.

M. Sarrami[1*], H. Zeinali[2], GH. Bakhshi Khaniki[3], S. Esmailkhanian[2] and Z. Bordbar[2]

1*- Corresponding author, Msc. Student, Department of Plant Biology, Payame Nour University ,Tehran, Iran
Email: Ma_sarrami@yahoo.com
2- Agricultural and Natural Resources Research Center, Esfahan, Iran
3- Payame Nour University ,Tehran, Iran

Received: February 2010 Revised: September 2010 Accepted: October 2010

Abstract

This investigation was carried out on six populations of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. in Isfahan Research Center for Agriculture and Natural Resources, 2009. Karyotype of mitotic cells in metaphase of root apical meristem was studied. The base number of chromosomes for all populations was x = 17 and all populations were diploid. Based on Stebbins' two- way table, all populations were located in class 2B indicating the same evolutionary status. Analysis of variance showed significant differences for the length of the smallest chromosome, asymmetric index, and coefficient variation of centromic index ($p < 0.01$), total chromosome length, sum of small arms, sum of long arms and the largest length of chromosome ($p < 0.05$). Factor analysis introduced two factors that justified more than 94 percent of total variation. In the first factor, total chromosome length (TL) and sum of long arms (SLa) were identified as the most important factors while asymmetric index (AI) and coefficient variation of centromic index (CVci) in the second factor were highly effective. All populations were classified in four groups by cluster analysis. The least Euclidean distance was between Ahvaz and Sary populations and the highest Euclidean distance was observed between Ahvaz and Amol. Analysis of variance showed significant differences for all traits among groups. Populations of Ahavaz, Sary and Esfahan in the first group were superiour in terms of TL, SSa, SLa, LC and SC compared to other goups. Population of Amol in the second group showed the lowest SC, Cvci, and AI. Maximum CVci and AI were observed in population of Kordestan while TL, SSa, SLa and LC were the least in this population. Population distribution diagram was drawn based on the first and the second component values that would confirm the results of the cluster analysis.

Key words: *Silybum marianum* (L.) Gaertn., karyotype, chromosome, principal components, cluster analysis.