ژنتیک نوین
دوره پانزدهم ، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۹
صفحه ۳۸۰ - ۳۷۱

بررسی تنوع کاریوتیپی اکوتیپ‌های خارمریم با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره

Karyotypic analysis of *Silybum marianum* using multivariate statistical methods

علیه گنج خانلو[۱]، علیرضا طالعی*[۱]، پرویز مرادی[۲]، منیژه سبکدست[۱]

۱- به‌ترتیب دکترا، استاد، استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج

۲- استادیار، بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات کشاورزی، زنجان

Ganjkhanloo E[1], Taleei A[*1], Moradi P[2], Sabokdast M[1]

1- PhD, Professor, Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2- Asistant Professor, Department of Zanjan Agricultural Research Center, Zanjan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:ataleei@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۰۲)

چکیده

تنوع کاریوتیپی درون گونه‌ای، ۱۷ جمعیت خار مریم از مناطق جغرافیایی مختلف ایران و یک جمعیت از بوداپست مجارستان بررسی شدند. برای تهیه نمونه کروموزومی مناسب یک و نیم سانتی متر از نوک ریشه جدا و پس از پیش تیمار، تثبیت و در نهایت عکس‌برداری، کاریوتیپ تهیه شد. عدد پایه کروموزومی در کلیه اکوتیپ‌ها x=۱۷ بود و تمام اکوتیپ‌ها دیپلوئید بودند. بین اکوتیپ‌ها از لحاظ شاخص‌های تقارن کاریوتیپی DRL، S%، TF%، A1 و A2 اختلاف بسیار معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت که نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه بود. با توجه به این نتایج، اکوتیپ رامهرمز و سپس اکوتیپ شوشتر به‌عنوان نامتقارن‌ترین و متکامل‌ترین اکوتیپ و اکوتیپ نجف‌آباد و اکوتیپ کرج ۲ به‌عنوان متقارن‌ترین و نامتکامل‌ترین اکوتیپ‌ها در نظر گرفته شدند. براساس تجزیه خوشه‌ای صفات کاریوتیپی، جمعیت‌ها به سه گروه تفکیک شدند. بیشترین فاصله بین دو اکوتیپ رامهرمز و نجف‌آباد وجود داشت. برای تعیین سهم هریک از صفات کاریوتیپی در ایجاد تنوع بین اکوتیپ‌ها، تجزیه به عامل‌ها انجام شد و سه عامل اول، دوم و سوم در مجموع بیش از ۸۷ درصد از تنوع موجود در بین جمعیت‌ها را توجیه نمودند. نتایج تجزیه کاریوتیپی نشان داد که بین اکوتیپ‌های خارمریم در ایران تنوع کاریوتیپی بالایی وجود دارد به‌طوری‌که می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی و وسیع کردن تنوع ژنتیکی در خزانه ژنی بهره برد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه به عامل‌ها
تجزیه کلاستر
تنوع کروموزومی
خارمریم
کاریوتیپ

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.6.3]

مقدمه

ماریتیغال گیاهی یکساله یا دو ساله است و به راسته Asterales و تیره Asteraceae تعلق دارد (Ram et al. 2005). این گیاه در جنوب و غرب اروپا، جنوب استرالیا، آمریکا و دانمارک، انگلستان، افغانستان، سوریه و مخصوصاً در منطقه مدیترانه پراکنده است (Jane et al. 2000).

با توجه به‌این‌که خصوصیات گیاهی تاحدود زیادی تحت کنترل مواد ژنتیکی هسته‌ای هستند، بنابراین یکی از روش‌های بررسی تنوع در ارقام و گونه‌های مختلف گیاهی، انجام بررسی‌های سیتوژنتیکی و کاریوتیپی می‌باشد. بدیهی است گونه‌هایی که از لحاظ پارامترهای سیتوژنتیکی و خواص کروموزومی به‌هم شبیه هستند در بحث روابط بین گونه‌ای قرابت بیشتری داشته و درصورت وجود صفات مطلوب در این گونه‌ها، امکان تلاقی بین گونه ای برای جمع‌آوری ژن‌های مطلوب در یک گیاه وجود دارد (Swanson et al. 1997). بررسی‌های سیتوژنتیکی در گیاهان به‌عنوان ابزار ارزشمندی برای شناسایی مواد ژنتیکی در جهت ایجاد تلاقی‌های بارور و طبیعی به کار می‌رود. در حدود ۲۳ تا ۳۳ درصد گیاهان عالی پلی‌پلوئید بوده و این خصوصیت مهم‌ترین عامل ایجادکننده گونه‌ها و تکامل گیاهان است (Lopez-Pujol et al. 2004). در بیان اهمیت مطالعات کاریوتیپی یادآوری این نکته لازم است که مورفولوژی کروموزوم می‌تواند به‌عنوان یکی از مفیدترین معیارها جهت بررسی روابط تاکسونومیکی مورد استفاده قرارگیرد (Stebbins 1971).

در علم رده‌بندی گیاهی، شرح کاریوتیپ به‌عنوان یک مشخصه برای توصیف یک گونه و فهم تکامل گیاهان استفاده می‌شود. از طرفی در سالیان اخیر رویکرد به سمت کارهای سیتوژنتیکی در گونه‌هایی که به‌صورت خودرو و وحشی رشد و نمو می‌کنند رو به افزایش است، زیرا پایه جمع‌آوری اطلاعات برای برنامه‌های به‌نژادی برای انتقال مقاومت‌ها و سایر خصوصیات مطلوب به گونه‌های مورد کشت و شناسایی جایگاه‌های ژن بر روی کروموزوم‌ها می‌باشد. وجود تفاوت در شکل و اندازه کروموزوم‌ها در تقسیم میتوز می‌تواند بیانگر وجود تنوع ژنتیکی باشد. چنین تفاوت‌هایی مورد انتظار است زیرا مشخص شده است که جمعیت‌های یک گونه هر یک سازش خاص خود را در محیطی که در آن می‌رویند نشان می‌دهند (Sheidai et al. 1996) (2002) Asghari-Zakaria et al. تعداد کروموزوم‌های پایه گیاه خارمریم را 2n=34 گزارش نمودند و نشان دادند که کروموزوم‌های این جنس از نوع متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک و آکروسانتریک بوده و بر اساس موقعیت سانترومر شامل شش جفت کروموزوم متاسانتریک و ده جفت کروموزوم ساب‌متاسانتریک و یک جفت آکروسانتریک هستند.

در بررسی کاریوتیپی ۹ جمعیت خارمریم نشان داده شد که تعداد کروموزوم‌ها در خارمریم بیشتر به جنس‌های *Onopordum* و *Notobasis* نزدیک‌تر است و به جنس‌های *Onopordum*, *Circus*, *Cardus*, *Silybum* از لحاظ ضخامت کروموزومی و مقدار کلی کروماتین مشابه هستند (Kraniskov et al. 2003). با توجه به اینکه اطلاعات کمی در خصوص سیتوزنتیک این گیاه وجود دارد لذا مهم‌ترین اهداف این بررسی عبارتند از: ۱- تعیین کاریوتیپ، شکل، اندازه کروموزوم‌ها و تعیین سطح پلوئید اکوتیپ‌ها ۲- گروه‌بندی اکوتیپ‌ها با در نظر گرفتن کلیه پارامترهای کاریوتیپی و تعیین قرابت و دوری اکوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه کلاستر ۳- تعیین سهم هر یک از صفات کاریوتیپی در ایجاد تنوع بین اکوتیپ‌ها و ٤- تعیین والدین جهت تلاقی و معرفی بهترین هیبرید با توجه ژنوتیپ‌های موجود.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی تنوع کاریولوژیکی ۱۷ اکوتیپ خارمریم جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور ایران و یک اکوتیپ از بوداپست مجارستان، بذرها در اوایل فروردین ماه سال ۹۵ در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند (جدول ۱). پس از بذرگیری نمونه‌ها در اواخر مرداد ماه و ضدعفونی بذور با محلول ویتاواکس، نمونه‌ها داخل پتری دیش کشت شدند بذرهای با طول ریشه چه یک تا یک‌ونیم سانتی‌متر از هر اکوتیپ برداشت شدند و در محلول آلفا برمونفتالین نیم درصد اشباع شده در آب به مدت یک ساعت پیش‌تیمار شدند.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.6.3]

جدول ۱- مشخصات اکوتیپ‌های خارمریم مورد مطالعه در این پژوهش

collected location			collected location		
Population numbers	Province	City	Population numbers	Province	City
1	Gene Bank	Karaj	10	Khuzestan	Khuzestan
2	Yazd	Shahdieh	11	Khuzestan	Shush
3	Ardabil	Ardabil	12	Khuzestan	Ramhormoz
4	Esfahan	Najafabad	13	Khuzestan	Getvand
5	Gilan	Rudbar	14	Khuzestan	Shushtar
6	Gene bank	Karaj	15	Ardabil	Jafar abad
7	Khuzestan	Ahvaz	16	Mazandaran	Sari
8	Khuzestan	Andimeshk1	17	Hungary	Budapest
9	Khuzestan	Andimeshk2	18	Khuzestan	Behbahan

پس از آن ریشه‌ها شسته شده و با استفاده از کاغذ صافی خشک شده و به محلول تثبیت لویتسکی به مدت ۲٤ ساعت در دمای سه تا چهار درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و برای نگهداری به محلول اتانول ۷۰ درجه و دمای یخچال انتقال داده شدند. پس از آن ریشه‌ها جهت انجام عمل هیدرولیز به محلول یک نرمال اسید کلریدریک در دمای محیط به مدت ۲۰ دقیقه انتقال داده شدند. پس از هیدرولیز، به مدت ۱۰ دقیقه ریشه‌ها با آب‌مقطر شستشو شد و سپس با رنگ فوشین در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ساعت رنگ‌آمیزی شدند. لام حاضر شده را بلافاصله در زیر میکروسکوپ قرار داده و از نمونه‌های مناسب پس از تنظیم میزان نور و وضوح کامل با فتومیکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ عکس تهیه شد. از هر نمونه حداقل ۳ سلول مناسب تهیه و اندازه‌گیری شدند.

پس از بذرگیری نمونه‌ها در اواخر مرداد ماه و ضدعفونی بذور با محلول ویتاواکس، نمونه‌ها داخل پتری دیش کشت شدند بذرهای با طول ریشه چه یک تا یک و نیم سانتی‌متر از هر اکوتیپ برداشت شدند و در محلول آلفا برمونفتالین نیم درصد اشباع شده در آب به مدت یک ساعت پیش تیمار شدند. پس از آن ریشه‌ها شسته شده و با استفاده از کاغذ صافی خشک شده و به محلول تثبیت لویتسکی به مدت ۲٤ ساعت در دمای سه تا چهار درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و برای نگهداری به محلول اتانول ۷۰ درصد و دمای یخچال انتقال داده شدند. پس از آن ریشه‌ها جهت انجام عمل هیدرولیز به محلول یک نرمال اسید کلریدریک در دمای محیط به مدت ۲۰ دقیقه انتقال داده‌شدند. پس از هیدرولیز، به مدت ۱۰ دقیقه ریشه‌ها با آب‌مقطر شستشو شد و سپس با رنگ فوشین در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ساعت رنگ‌آمیزی شدند. لام حاضر شده را بلافاصله در زیر میکروسکوپ قرار داده و از نمونه‌های مناسب پس از تنظیم میزان نور و وضوح کامل با فتومیکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ عکس تهیه شد. از هر نمونه حداقل ۳ سلول مناسب تهیه و اندازه‌گیری شدند.

پس از تهیه کاریوتیپ با استفاده از نرم‌افزار Micro Measure صفات طول کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA) محاسبه شد. در این بررسی پارامترهای اختلاف درصد طول نسبی بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین کروموزوم (DRL)، شاخص نامتقارن بودن درون‌کروموزومی (A1)، شاخص نامتقارن بودن بین‌کروموزومی (A2)، درصد شکل کلی (TF%) ودرصد طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S%) محاسبه شد. برای تعیین نوع کروموزوم‌ها نیز از روش Levan et al. (1964) استفاده شد.

به‌منظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های تقارن کاریوتیپی، تجزیه واریانس در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال پنج 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 کلاستر به روش Ward و معیار مربع فاصله اقلیدسی انجام شد (Johnson 1998). تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزارهای $SPSS_{V21}$، MStatc و Excel انجام شد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.6.3]

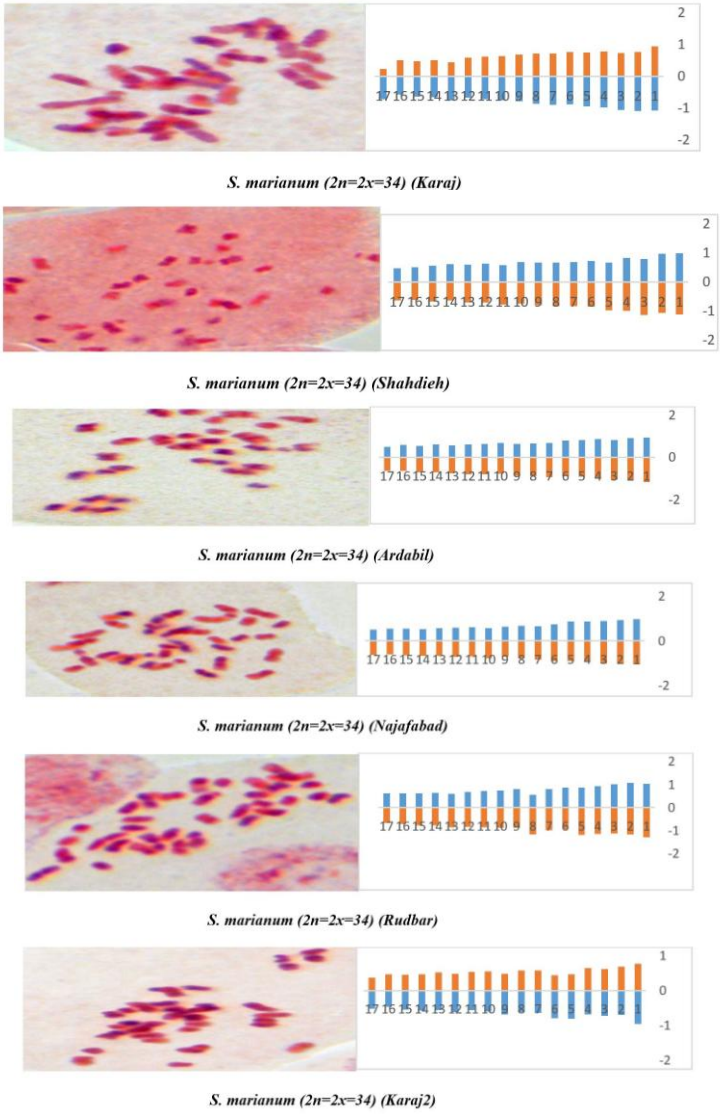
نتایج و بحث

در بررسی به‌عمل آمده مشخص شد که تمام اکوتیپ های مورد مطالعه دیپلوئید هستند و دارای ۳٤ کروموزوم (2n=2x=34) می‌باشند (شکل ۱) نتایج حاصل با نتایج به‌دست آمده توسط پژوهشگران دیگر (Kamel 2004 and Asghari-Zakaria et al. 2002) مطابقت دارد. بین اکوتیپ‌ها از لحاظ تعداد کروموزم و سطح پلوئیدی هیچ تفاوتی مشاهده نشد ولی از لحاظ شاخص‌های اختلاف دامنه نسبی طول کروموزوم (DRL)، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S%)، درصد شکل کلی (TF%)، شاخص نامتقارنی درون کروموزومی (A1) و شاخص نامتقارنی بین کروموزومی (A2) اختلاف بسیار معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت که نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ این صفات می‌باشد (جدول ۲).

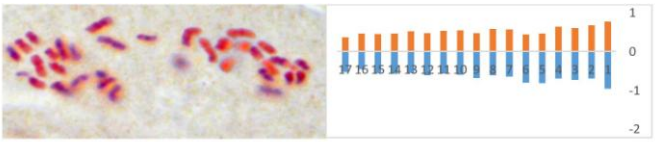
جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص‌های تقارن کاریوتیپ محاسبه شده در اکوتیپ‌های خارمریم

		Mean Square				
(S.O.V)	df	%DRL	S%	TF%	A1	A2
ecotype	17	3.154**	0.752**	**11.703	**0.009	**0.011
error	36	0.095	0.134	0.456	0.0001	0.0001

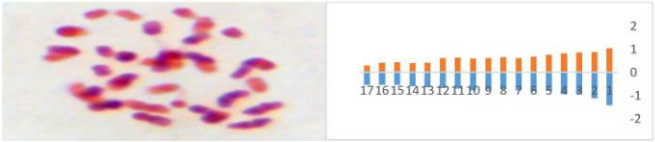
S.O.V : منابع تغییر،DF: درجه آزادی، DRL: اختلاف دامنه طول نسبی، S%: طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم، TF%: درصد شکل کلی، A1: ضریب نامتقارنی درون کروموزومی،A2: ضریب نامتقارنی بین کروموزومی.



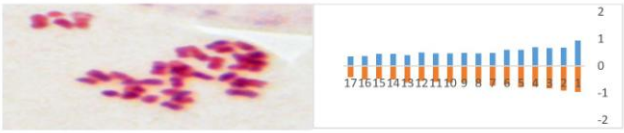
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.6.3]



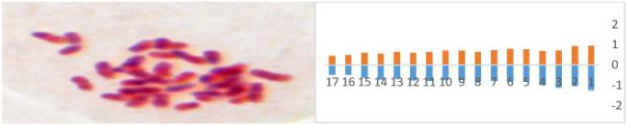
S. marianum (2n=2x=34) (Ahvaz)



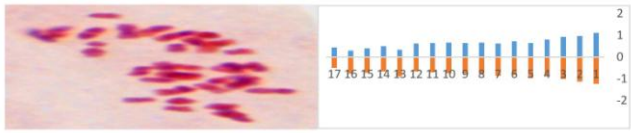
S. marianum (2n=2x=34) (Andimeshk1)



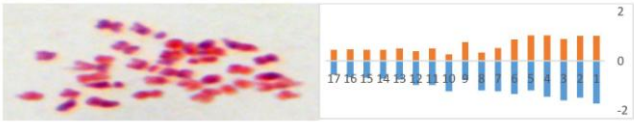
S. marianum (2n=2x=34) (Andimeshk2)



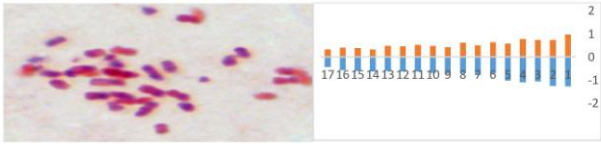
S. marianum (2n=2x=34) (Khuzestan)



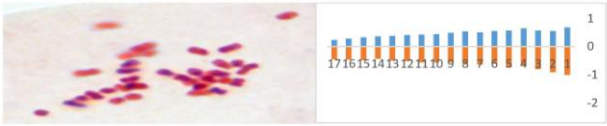
S. marianum (2n=2x=34) (Shush)



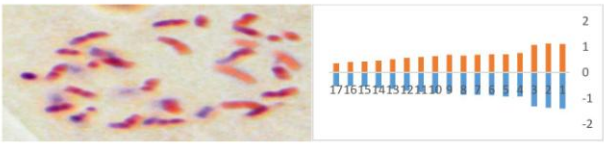
S. marianum (2n=2x=34) (Ramhormoz)



S. marianum (2n=2x=34) (Getvand)



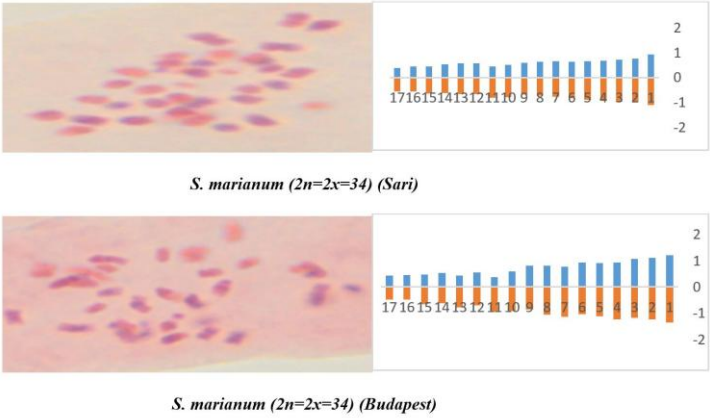
S. marianum (2n=2x=34) (Behbahan)



S. marianum (2n=2x=34) (Shushtar)

S. marianum (2n=2x=34) (Jafar abad)

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.6.3]



شکل ۱- ایدیوگرام و تصویر متافازی اکوتیپ‌های خار مریم (*Silybum marianum*) مطالعه شده در این پژوهش

از نظر شاخص‌های تقارن حداکثر میزان درصد شکل کلی (TF%) برای اکوتیپ نجف‌آباد (٤٦/٠٣) و حداقل آن مربوط اکوتیپ رامهرمز (٣٧/١٢) بود. به‌طورکلی هر چه درصد شکل کلی بیشتر باشد تقارن کاریوتیپ بیشتر است (Huziwara 1962) حداکثر مقدار کمیت DRL مربوط به اکوتیپ اندیمشک (٦/٦٧) وشوشتر (٦/٢٦) و کمترین آن مربوط به اکوتیپ نجف‌آباد (٣/٥٠) و کرج ٢ (٣/٥١) می‌باشد. جمعیت‌هایی که دارای DRL کمتری هستند دارای تقارن بیشتری می‌باشند (Zuo and Yan 2001). بیشترین مقدار S% برابر ٤/٤٩١ متعلق به اکوتیپ‌های نجف‌آباد و اهواز و کمترین آن مربوط به اکوتیپ‌های بوداپست و رامهرمز می‌باشد. هرچه مقدار S% کمتر باشد تقارن کاریوتیپ کمتر است (Gennur et al. 1988) (جدول ٣).

حداکثر میزان نسبت بازوی کوتاه به بلند (S/L) مربوط به اکوتیپ نجف‌آباد (٠/٨٥) و حداقل آن مربوط به اکوتیپ‌های گتوند (٠/٧٣) و بهبهان (٠/٧٥) می‌باشد. کمترین میزان نسبت بازوی بلند به کوتاه (L/S) مربوط به اکوتیپ نجف‌آباد (١/١٨٨) و بیشترین میزان آن مربوط به اکوتیپ رامهرمز (١/٩٦٤) می‌باشد (جدول ٣). بیشترین میزان نامتقارنی درون کروموزومی (A1) مربوط به اکوتیپ رامهرمز (٠/٣٩١) و کمترین میزان آن مربوط به اکوتیپ نجف‌آباد (٠/١٤٨) است. بیشترین میزان نامتقارنی بین‌کروموزومی (A2) متعلق به دو اکوتیپ شوشتر (٠/٣٣٧) و رامهرمز (٠/٣٣١) و کمترین میزان آن مربوط به اکوتیپ نجف‌آباد (٠/١٠٨) می‌باشد (جدول ٣). بررسی فرمول کاریوتیپی نشان داد که کروموزوم‌ها بیشتر از نوع متا سانتریک (m) و برخی از نوع ساب‌متاسانتریک (Sm) و در اکوتیپ رامهرمز از نوع ساب‌تلوسانتریک (St) است (جدول ٣). با توجه به تنوع فرمول کاریوتیپی بین اکوتیپ‌های مورد بررسی معلوم می‌شود که در فرم کروموزومی اکوتیپ‌های مورد بررسی تنوع وجود دارد. کاریوتیپ‌هایی که غالباً دارای کروموزوم‌هایی از نوع متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک هستند و اندازه نسبتاً یکسانی دارند به‌عنوان کاریوتیپ‌های اولیه و نامتکامل محسوب شده و متقارن هستند و در طی تکامل در ساختمان کروموزوم‌های آن‌ها تغییر و نوآرایی قابل توجهی رخ نداده است (Paszko 2006).

از طرف دیگر افزایش نامتقارنی کروموزومی می‌تواند یا از طریق تغییر جایگاه سانترومر از ناحیه میانی یا نزدیک به میانی به جایگاه انتهایی یا نزدیک به انتها رخ دهد و یا اینکه از طریق افزایش اختلافات در اندازه نسبی بین کروموزوم‌ها حاصل شود (Stebbins 1971).

در یک نتیجه‌گیری کلی با توجه به نتایج فرمول کاریوتیپی و شاخص‌های تقارن می‌توان نتیجه گرفت که اکوتیپ رامهرمز و سپس اکوتیپ شوشتر به‌عنوان نامتقارن‌ترین و متکامل‌ترین اکوتیپ در بین سایر اکوتیپ‌ها معرفی می‌شوند. اکوتیپ نجف‌آباد و سپس اکوتیپ کرج ٢ را به‌عنوان متقارن‌ترین و نامتکامل‌ترین اکوتیپ‌ها در نظر گرفت. با توجه به وجود تنوع بین پارامترهای تقارن، این پارامترها می‌توانند در تفکیک اکوتیپ‌ها از همدیگر مؤثر باشند. شاید مسیرهای مختلفی که این اکوتیپ‌ها از نظر انتخاب طبیعی و مصنوعی در محیط‌های مختلف و طی زمان‌های طولانی سپری نموده‌اند سبب تغییراتی در بین و حتی درون

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.6.3]

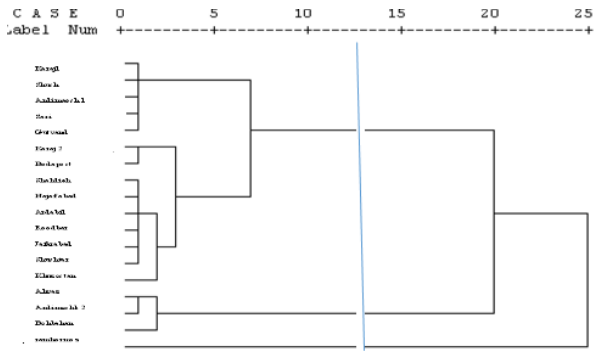
اکوتیپ‌ها و در نهایت اختلافات کاریوتیپی شده است. نکته قابل بحث اینکه حتی اکوتیپ‌هایی که از مناطق جغرافیایی یکسان گرفته شده‌اند (دو اکوتیپ اندیمشک ۱ و ۲ و کرج ۱ و ۲) حتی اکوتیپ‌های متعلق به منطقه خوزستان از لحاظ برخی از این صفات با یکدیگر تفاوت داشتند. دلیل این تفاوت می‌تواند به این علت باشد که جمع‌آوری این اکوتیپ‌ها از نواحی جغرافیایی دقیقاً یکسان انجام نشده و حتی این اکوتیپ‌ها از دو ناحیه متفاوت از یک منطقه جغرافیایی بزرگ‌تر جمع‌آوری شده‌اند و این نواحی دارای اقلیم‌های متفاوتی هستند و اقلیم‌های متفاوت ممکن است با افزایش اختلافات سازشی همراه باشند و این امر منجر به تولید واریته‌های جدید و حتی گونه‌های جدید در رویشگاه‌های گیاهی شود (Stebbins 1950; Goldblatt 1987 and Stuessy 1990). برای اینکه کاملاً یکسان بودن و نبودن این اکوتیپ‌ها مورد تایید قرار گیرد لازم است آزمایش‌های گیاه‌شناسی و مولکولی دقیق‌تری صورت گیرد تا صحت این مسئله معلوم شود. بر اساس روش استیبنز اکوتیپ‌های مورد مطالعه در کلاس‌های 1B، 2B، 1A و 2A قرارگرفتند. که نشان‌دهنده اکوتیپ‌های متقارن و کم‌تر تکامل یافته در گیاه خارمریم می‌باشد. با توجه به اینکه اکوتیپ‌های مختلف خارمریم از نقاط مختلفی جمع‌آوری شده‌اند لذا ممکن است تکامل در شکل کروموزوم‌ها منجر به نامتقارنی خاصی در کاریوتیپ‌ها به‌ویژه آن‌ها که محیط‌های متغیری را به‌خود اختصاص می‌دهند شده باشد. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ویژگی‌های کاریوتیپی با استفاده از الگوریتم وارد و ضریب فاصله اقلیدوسی انجام شد و جمعیت‌ها به سه گروه تفکیک شدند (شکل۲). در گروه اول، اکوتیپ‌های کرج ۱ و ۲، شوش، اندیمشک۱، ساری، گتوند، بوداپست، شاهدیه، نجف‌آباد، اردبیل، رودبار، جعفرآباد، شوشتر و خوزستان قرارگرفتند. در گروه دوم اکوتیپ‌های اهواز، اندیمشک۲ و بهبهان و در گروه سوم اکوتیپ رامهرمز قرارگرفت. اکوتیپ‌های گروه دوم از نظر اکثر شاخص‌ها دارای میانگین پایین و اکوتیپ‌های گروه اول در گروه بالاتری قرار گرفتند. با توجه به نتایج تجزیه واریانس خوشه‌ها می‌توان نتیجه گرفت که عامل جدایی بین اکوتیپ رامهرمز از بقیه اکوتیپ‌ها، شاخص‌های عدم تقارن درون و بین‌کروموزومی هستند و اکوتیپ‌هایی که در یک گروه قرار گرفتند قرابت کروموزومی زیادی با یکدیگر دارند که نتایج همبستگی بین اکوتیپ‌ها نیز تأیید کننده این مطلب است. احتمالاً اصل و منشا اکوتیپ‌های قرار گرفته در یک گروه یکی بوده و در اثر گذشت زمان و در اثر موتاسیون تغییرات جزیی با یکدیگر پیدا نموده‌اند و از یکدیگر فاصله گرفته‌اند.

جدول ۳- پارامترهای آماری محاسبه شده از ویژگی‌های کاریوتیپی اکوتیپ‌های خارمریم جهت سنجش تقارن کاریوتیپی

ecotype	%DRL	S%	TF%	A1	A2	SC	C.F
Karaj1	4.260	3.648	43.40	0.299	0.212	2B	15m+2sm
Shahdieh	3.954	4.277	44.88	0.198	0.228	1A	17m
Ardabil	7.784	4.238	44.75	0.185	0.228	1A	17m
Najafabad	3.50	4.491	46.03	0.148	0.202	1A	17m
Rudbar	4.306	4.350	45.03	0.168	0.214	2B	16m+1sm
Karaj2	3.517	4.491	44.79	0.178	0.108	1A	15m+2sm
Ahvaz	4.156	4.449	45.17	0.163	0.168	2B	16m+1sm
Andimeshk1	6.673	3.514	44.25	0.206	0.293	1B	16m+1sm
Andimeshk2	5.492	3.832	43.95	0.202	0.245	1B	16m+1sm
Khuzestan	5.288	3.790	45.04	0.159	0.200	1B	17m
Shush	5.685	3.733	43.66	0.228	0.245	2B	15m+2sm
Ramhormoz	5.815	2.613	37.12	0.391	0.331	2B	11 m+3sm+3st
Getvand	6.080	3.467	41.80	0.248	0.248	1B	16 m +1sm
Behbahan	5.334	3.772	42.51	0.248	0.253	2B	15m+2sm
Shushtar	6.292	3.470	44.14	0.211	0.337	1B	17m
Jafar abad	3.965	4.191	45.34	0.166	0.191	1A	10m+7sm
Sari	4.466	4.018	43.61	0.213	0.205	1B	16m+1sm
Budapest	5.898	3.216	43.99	0.209	0.314	2B	15m+2sm

%DRL اختلاف دامنه طول نسبی، S%: طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم، TF%: درصد شکل کلی، A1: ضریب نامتقارنی درون کروموزومی، A_2: ضریب نامتقارنی بین کروموزومی، SC: دسته بندی کاریوتیپ استیبنز، CF: نوع کروموزم

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.6.3]



شکل ۲- گروه‌بندی اکوتیپ‌های خارمریم بر اساس صفات کاریوتیپی با استفاده از الگوریتم وارد و ضرایب فاصله اقلیدوسی

جدول ٤- مقادیر ویژه، درصد واریانس و ضرایب بردارهای ویژه در مؤلفه اول، دوم و سوم در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

Trait	First component	Second component	Third component
Total arms	-0.157	0.978	-0.032
Short arm	-0.409	0.907	0.076
Long arm	0.217	0.935	-0.176
Long arm/short arm	-0.915	0.140	0.313
Short arm/long arm	0.914	-0.014	0.313
Relative length%	0.472	0.326	0.233
Centromeric coefficient index	0.915	-0.03	-0.377
Distinct relative length	-0.158	-0.146	0.956
Relative length of the shortest chromosome	0.301	0.016	-0.921
% total factor	0.463	0.598	-0.103
A1	-0.923	0.030	0.361
A2	-0.373	-0.023	0.832
Eigen values	5.833	3.182	1.513
Percentage of variance	48.608	26.52	0.832
Cumulative variance percentage	48.608	75.129	1.513

این اطلاعات برای انتخاب والدین در برنامه‌های دو رگ‌گیری می‌تواند حائز اهمیت باشد. چنانچه بین اکوتیپ‌هایی که قرابت دورتری از هم دارند تلاقی صورت گیرد احتمال به‌وجود آمدن هیبریدهای مناسب با صفات مطلوب بیشتر خواهد بود. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد که بیشترین فاصله بین دو جمعیت رامهرمز و نجف‌آباد وجود دارد، ازاین‌رو با توجه به این

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.6.3]

نتایج برای ایجاد حداکثر تنوع در جامعه جدید بایستی تلاقی بین این دو والد انجام شود. برای تعیین سهم هریک از صفات کاریوتیپی اندازه‌گیری شده در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها تجزیه به عامل‌ها با استفاده از روش مؤلفه‌های اصلی انجام شد (جدول ٤). بر این اساس سه عامل اول و دوم و سوم در مجموع بیش از ۸۷ درصد از کل تنوع موجود در بین جمعیت‌ها را توجیه نمودند. عامل اول با توجیه ٤٨/٦٠ درصد از تغییرات شامل ضرایب عاملی مثبت و معنی‌دار برای صفات نسبت بازوی کوتاه به بلند (٠/٩١٤) و شاخص ضریب سانترومری (٠/٩١٥) و ضرایب عاملی منفی و معنی‌دار برای صفات نسبت بازوی بلند به کوتاه (٠/٩١٥-)، و ضریب نامتقارنی درون کروموزومی (٠/٩٢٣-) بود. لذا عامل نسبت بازوهای کروموزومی نامیده شد. انتخاب بر اساس عامل اول می‌تواند منجر به انتخاب اکوتیپ‌هایی شود که نسبت بازوی کوتاه به بلند و شاخص ضریب سانترومری بالایی دارند، لیکن نسبت بازوی بلند به کوتاه و ضریب نامتقارنی درون کروموزومی پایینی دارند. عامل دوم با توجیه ٢٦/٥٢ درصد از تغییرات، دارای ضریب عاملی مثبت و معنی‌دار برای صفات طول کروموزوم (٠/٩٧٨)، طول بازوی بلند (٠/٩٠٧) ، طول بازوی کوتاه (٠/٩٣٥) و درصد طول نسبی (٠/٥٩٨) بود. عامل مذکور عامل اندازه کروموزوم نامیده شد. انتخاب بر اساس این عامل می‌تواند منجر به انتخاب اکوتیپ‌هایی با کروموزوم بزرگ‌تر شود. عامل سوم با توجیه ١٢/٦٩٧ درصد از تغییرات دارای ضرایب عاملی مثبت و معنی‌دار برای صفات، اختلاف دامنه نسبی طول کروموزوم (٠/٩٥٦) و ضریب نامتقارنی بین کروموزومی (٠/٨٣٢) و ضریب عاملی منفی و معنی‌دار برای طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (٠/٩٢١-) تحت عنوان عامل عدم تقارن بین‌کروموزومی نام‌گذاری شد. انتخاب بر اساس این عامل می‌تواند منجر به انتخاب اکوتیپ‌هایی با اختلاف دامنه نسبی طول کروموزوم و ضریب نامتقارنی بین‌کروموزومی بیشتر و طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم پایین‌تر شود.

نتیجه‌گیری کلی

به‌علت اهمیت کلی گیاه دارویی خارمریم، درک ساختار ژنتیکی این گیاه برای استفاده کامل از ذخایر ژنتیکی گسترده آن برای اجرای برنامه‌های اصلاحی ضروری است ارزیابی تنوع در ذخایر ژنتیکی این گیاه گامی مهم در برنامه‌های به‌نژادی و نیز مدیریت ذخایر ژنتیکی به‌حساب می‌آید. با توجه به خصوصیات کروموزومی اکوتیپ‌ها، مشخص شد که تمامی اکوتیپ‌های مطالعه شده دیپلویید و دارای سطح پلوئید 2n=34 می‌باشند. نتایج حاصل نشان داد که بین اکوتیپ‌ها از نظر سطح پلوئیدی تفاوت وجود ندارد. بیشترین فاصله و کمترین قرابت و نزدیکی بین دو اکوتیپ رامهرمز و نجف‌آباد وجود داشته است که این نتایج نشان می‌دهد که برای ایجاد حداکثر تنوع کروموزومی در جامعه جدید بایستی تلاقی بین این دو والد انجام شود. در این تحقیق اکوتیپ رامهرمز و سپس اکوتیپ شوشتر به‌عنوان نامتقارن‌ترین و متکامل‌ترین اکوتیپ در بین سایر اکوتیپ‌ها و اکوتیپ نجف‌آباد و اکوتیپ کرج۲ به‌عنوان متقارن‌ترین و نامتکامل‌رین اکوتیپ‌ها در نظر گرفته شدند. کمترین همبستگی معنی‌دار بین اکوتیپ‌های نجف‌آباد با رامهرمز (٠/٩٨٤) و کرج ۲ با رامهرمز (٠/٩٨٣) محاسبه شد. وجود همبستگی بالا بین اکوتیپ‌ها نشان از قرابت ژنتیکی بالای آن‌ها داشت. با توجه به خصوصیات کروموزومی، دو اکوتیپ رامهرمز و نجف‌آباد را برای ایجاد حداکثر تنوع کاریوتیپی به‌عنوان دو والد برتر معرفی کرد.

منابع

Asghari-Zakaria R, Kazemi H, Aghayev YM, Valizadeh M, Moghaddam M (2002) Karyotype and C-banding patterns of mitotic chromosomes in *Henrardia persica (Boiss.) C.E. Hubb*. Caryologia 55: 289-293.

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

Gennur MN, Kadapa S N, Habib AF (1988) Karyomorphological studies in *Asiatic Cotton* II. Karyotypic analysis of species and races of Asiati Cottons based on nucleular chromosome and symmetry of Karyotype. Cytologia 53: 107-114.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.6.3]

Goldblatt P (1987) Index to Plant Chromosome Numbers 1984–1985. Monographs in Systematic Botany the Missouri Botanical Garden 23: 1-264.
Huziwara Y (1962) Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosome of Aster, Amer. Botany 49: 116-119.
Jane M, Mary C, Kathi J (2000) Milk Thistle Longwood Herbal Task Force: http://www.mcp.edu/herbal/default.htm.
Johnson DE (1998) Applied multivariate methods for data analysis. Dunbury Press, New York, USA 36. 567 -572.
Kamel EA (2004) Cytotaxonomical investigations of the Egyptian Compositae (Asteraceae): I-Cardueae and Cichorieae. Compositae Newslett 41: 9-28
Krasnikov AA, Zhirova OS, Lomonosova M N, Smirnov SV (2003) Chromosome numbers of Asteraceae from the southern Siberia and Kazakstan. Euphytica 88: 151-153.
Levan A, Fedga K, Sandberg A (1964) Nomenclature for centrometric position on chromosome. Hereditas Journal 52: 201-220.
Lopez-Pujol J, Bosch M, Simon J, Blanche C (2004) Allozyme diversity in the tetraploid endemic *Thymus loscosii* (Lamiaceae). Annals of Botany 93: 323-332.
Paszko BA (2006) Critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indexes. Plant Systematics and Evolution 258: 39-48.
Ram G, Bhan MK, Gupta KK, Brijesh Thacker U, Jamwal S (2005) Variability pattern and correlation studies in Silybum marianum Gaertn. Fitoterapia 76: 143-147.
Sheidai M, Masoumii AR, Pakravan M (1996) Karyological studies of some Astragalus taxa. The Nucleus 39: 111-113.
Stebbins GL (1950) Variation and evolution in plant. Columbia University Press, New York.
Stebbins GL (1971) Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edward Arnold Publisher, London, UK.
Stuessy TF (1990) Cytology, Genetics and cytogenetics in plant taxonomy. Columbia University Press, New York.
Swanson KP, Mertz T, Young WJ (1997) Cytogenetic - chromosome in division, inheritance and evolution. Translation: c. Ahmadian Tehrani. Tehran University Press 702.
Zuo L, Yuan Q (2001) The difference between the heterogeneity of the centromeric index and intra chromosomal asymmetry. Plant Systematics and Evolution 297: 141-145.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-12-08]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.6.3]