DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.1390.4513

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۷، شمارهٔ ٤، صفحهٔ ٦٤٦-٦٣٥ (۱۳۹۰)

ویژگی‌های کاریوتیپی گز روغنی (*Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori) در ایران

زینب نظری[۱]، حسین میرزایی ندوشن[۲*]، غلامرضا بخشی‌خانیکی[۳] و فرشته اسدی‌کرم[٤]

۱- کارشناس ارشد، دانشگاه پیام نور، تهران

۲*- نویسنده مسئول، استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، پست الکترونیک: mirzaie@rifr-ac.ir

۳- استاد، دانشگاه پیام نور، تهران

٤- کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۹ تاریخ اصلاح نهایی: آذر ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۹

چکیده

گز روغنی (*Moringa peregrine* (Forssk.) Fiori) یکی از گونه‌های با ارزش درختچه‌ای و فراموش شده است که در مناطقی از جنوب شرقی کشور ما رویش دارد و ارزش دارویی، صنعتی و غذایی زیادی برای آن ذکر شده‌است. به‌رغم اهمیت زیادی که این گونه از منظرهای مختلف دار،د تاکنون از نظر ویژگی‌های مختلف زیستی ازجمله ویژگی‌های کاریوتیپی مورد توجه کافی قرار نگرفته‌است. در این تحقیق چهار جمعیت گیاهی مختلف به همراه دو نمونه کشت بافتی از این گونه مورد مطالعات کاریوتیپی قرار گرفته و ضمن اندازه‌گیری ابعاد کروموزومی برخی از آماره‌های موجود جهت سنجش تقارن کاریوتیپی نیز محاسبه شده و بر مبنای آنها جمعیت‌های مختلف این گونه مورد مقایسه قرار گرفتند. اطلاعات کاریوتیپی بر مبنای دو مدل آشیانه‌ای و فاکتوریل تجزیه و تحلیل شدند. در شمارش کروموزومی مشخص شد که کلیه فامیل‌ها و جمعیت‌ها دارای ۲۸ کروموزوم بودند (۲n= ۲۸). تجزیه واریانس داده‌ها نیز نشان داد که جمعیت‌های مورد مطالعه و کروموزوم‌های آنها از نظر تمامی ویژگی‌های کاریوتیپی با هم اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ داشتند. در مواردی سلول‌های آنیوپلوئید نیز مشاهده گردید. به‌طور کلی این گونه دارای کروموزوم‌های ریزی است، به‌طوری که میانگین عمومی طول کروموزوم‌های جمعیت‌های مورد مطالعه بین ۱/۱۹ تا ۲/۱ میکرون متغیر بود. بیشترین طول ژنوم متعلق به جمعیت کشت بافتی کنشکی (۵۱/۲ میکرون) و کمترین طول ژنوم متعلق به جمعیت گرهون (۳۳/۳ میکرون) بود. به عبارت دیگر، نمونه‌های کشت بافتی از نظر ابعاد کروموزومی در دسته‌های جداگانه و کاملاً متفاوت از سایر جمعیت‌های مطالعه شده قرار گرفتند. متقارن‌ترین کاریوتیپ را بر مبنای TF% جمعیت چانف از خود نشان داد (٤٥٪). نامتقارن‌ترین کاریوتیپ بر این مبنا متعلق به نمونه کنشکی بود (٤١٪). آماره DRL و فرمول کاریوتیپی نیز این موضوع را تأیید نمود.

واژه‌های کلیدی: گز روغنی (*Moringa peregrine* (Forssk.) Fiori)، کاریوتیپ، کروموزوم، تقارن کاریوتیپی، سیتوژنتیک، آنیوپلوئید، ایران.

مقدمه

جنس مورینگا (*Moringa*) از خانواده Moringaceae در ایران تنها یک گونه به نام *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori دارد، که گز روغنی، گز روغن یا گازرُخ نامیده شده و تنها در مناطقی از استان‌های هرمزگان و سیستان و بلوچستان گسترش دارد. گز روغنی یکی از گونه‌های با ارزش گیاهیست که خواص متعدد دارویی و صنعتی دارد (Fahey, 2005؛ Odee, 1998؛ Becker & Makkar, 1999؛ Richter *et al*., 2003؛ Sabale *et al*., 2008). از مهمترین ویژگی‌های این گونه خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ و بذر گیاه (Sanchez-Machado *et al*., 2006؛ Santos *et al*., 2005؛ Iqbal & Bhanger, 2006)، انعقاد مواد معلق در محلول‌هایی نظیر آب‌های کدر یا حتی روغن‌های خام (مهدی‌نژاد و همکاران، ۱۳۸۸؛ بینا و همکاران، ۱۳۸۶؛ Sanchez-Martin *et al*., 2010؛ Prasad, 2009) که در تصفیه آب‌های کدر و نیز روغن‌های خوراکی کاربرد دارد، ویژگی ضدالتهاب در عصاره برگ و بذر (Sashidhara *et al*., 2009)، و خواص ویژه غذایی ازجمله حاوی اسید آمینه‌هایی که بیشتر باید توسط پروتئین‌های حیوانی تأمین گردد و خواص آنتی‌اکسیدانی (Ferreira *et al*., 2008) و حتی کاربری در مبارزه با حشرات موذی (Ferreira *et al*., 2009) است. گز روغنی در عرصه‌های گسترده‌ای در شمال آفریقا و غرب آسیا و نیز در مناطق جنوبی کشور ما رویش دارد. این گونه در ایران براساس مطالعات صبح‌خیزی و همکاران (۱۳۸۸) در مناطقی از سیستان و بلوچستان، به همراه دو گونه دیگر تشکیل یک تیپ گیاهی می‌دهد که مساحتی حدود ۶۶۷۸۹ هکتار را تشکیل می‌دهد و گز روغنی ۴/۵٪ آن تیپ‌ها را تشکیل می‌دهد. براساس گزارش ذکر شده، عرصه استقرار این تیپ گیاهی در دامنه تغییرات ارتفاعی ۷۰۰ تا ۱۷۰۰ متر از سطح دریا، اقلیم خشک با میانگین بارندگی سالانه ۱۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌متر است. صبح‌خیزی و همکاران (۱۳۸۷) این گونه را در سایر تیپ‌های گیاهی در منطقه نیک‌شهر در استان سیستان و بلوچستان نیز گزارش نموده‌اند. در منطقه نیک‌شهر عرصه استقرار این گونه در دامنه ارتفاعی ۸۵۰ تا ۱۰۵۰ متر از سطح دریا، اقلیم نیمه‌خشک شدید، میانگین بارندگی سالانه ۲۰۰ تا ۲۵۰ میلی‌متر، میانگین دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و تبخیر سالانه ۳۵۰۰ تا ۳۷۵۰ میلی‌متر است. تاکنون مطالعات پراکنده‌ای در زمینه‌های کشت بافت و ریزازدیادی این گونه صورت گرفته‌است، ولی هنوز اطلاعات مناسبی از ویژگی‌های کاریوتیپی آن در کشور ثبت نشده‌است. با توجه به اینکه این گونه فقط در نواحی شمال آفریقا و غرب آسیا گسترش دارد، تاکنون کمتر در سطح بین‌المللی نیز مورد بررسی و مطالعات کاریوتیپی قرار گرفته‌است. با این حال Kubitzki و Bayer (۲۰۰۳) گزارشی از تعداد کروموزوم‌های این گونه داده‌اند که از معدود گزارش‌های موجود این گونه می‌باشد. البته گونه *M. oleifera* که یکی از گونه‌های با اهمیت این جنس می‌باشد و به تعداد معدودی به کشور وارد شده و در استان بوشهر در فضای سبز شهری دیده می‌شود از نظر ویژگی‌های کاریوتیپی مطالعه شده و تعداد کروموزوم‌های آن ۲۸ عدد گزارش شده‌است (۲n= ۲۸).

مطالعه ویژگی‌های کاریوتیپی ازجمله تعداد و شکل کروموزوم‌های گونه‌های گیاهی ازجمله روشهای رایج مطالعه تنوع است. بسیاری از محققان ویژگی‌های کاریوتیپی را از مؤثرترین ویژگی‌ها در بررسی روند تکامل این گونه‌ها قلمداد نموده‌اند. از طرفی به کمک اطلاعات

کاریوتیپی مقایسه گونه‌ها و حتی جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاهی می‌تواند به‌نحو مؤثرتری صورت بگیرد. بدیهیست جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاهی هرکدام ممکن است سازش ژنومی خاص خود را با محیطی که در آن رویش دارد نشان دهند (میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۱). اختلاف‌ها و شباهت‌های کاریوتیپی بین گروه‌های مختلف گیاهی را به روابط تکاملی آنها نسبت می‌دهند. گونه‌های گیاهی که قرن‌ها در یک عرصه گسترده طبیعی پراکنش داشته و جمعیت‌های مختلف این گونه‌ها به‌صورت ایزوله از هم زیسته‌اند فرصت بیشتری در تفرق از هم را در اختیار داشته‌اند. این تفرق می‌تواند بر مبنای ویژگی‌های کاریوتیپی و یا ویژگی‌های مورفولوژیکی و یا هردو باشد. گز روغنی از گونه‌های گیاهیست که قرن‌هاست در شرایط سخت و خشن رویشگاهی در مناطقی از جنوب و جنوب شرق کشور ما رویش دارد. جمعیت‌های این گونه از نظر برخی از ویژگی‌های رویشی اختلاف‌های زیادی از خود نشان داده‌اند (میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۸) که حکایت از اثر ماندگار محیط بر ریخته ارثی این گونه دارد. تفاوت در تعداد، اندازه، و ابعاد کروموزومی، سطح پلوئیدی و تقارن کاریوتیپی ازجمله مواردی هستند که موجب اختلاف بین جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاهی می‌شوند و می‌توانند در تفرق جمعیت‌های گیاهی از هم، در تکامل گیاهی و تشکیل اکوتیپ‌های مختلف نقش داشته باشند. به رغم اهمیت زیادی که این گونه درختچه‌ای از منظرهای مختلف دارد تاکنون از نظر ویژگی‌های مختلف زیستی ازجمله ویژگی‌های کاریوتیپی مورد توجه کافی قرار نگرفته‌است. در این تحقیق با مطالعه ویژگی‌های کاریوتیپی جمعیت‌های مختلف گیاهی از گونه گز روغنی که در مناطق مختلف رویشگاهی این گونه واقع در جنوب شرق کشور رویش دارند و تفاوت‌های زیادی از نظر ویژگی‌های رویشی از هم نشان داده‌اند، ضمن بررسی و تعیین کاریوتیپ و سطح پلوئیدی این گونه در کشور تفاوت‌های کاریوتیپی موجود بین جمعیت‌های مختلف این گونه نیز بررسی گردید تا ضمن بررسی این ویژگی‌ها تفاوت‌های احتمالی موجود در بین جمعیت‌های مختلف آن نیز بررسی شود.

مواد و روشها

از تعداد زیادی تک درخت از چهار جمعیت گیاهی مختلف از گز روغنی واقع در رویشگاه های مختلف این گونه در استان سیستان و بلوچستان، بذر جمع‌آوری شده و بذر هفده تک درخت که از نظر جوانه‌زنی مناسب بودند به‌عنوان هفده فامیل مستقل در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. بذر هر یک از فامیل ها ۲٤ ساعت زیر آب جاری قرار گرفتند و بعد از آن به مدت ۳۰ دقیقه در محلول قارچ کش کاربوکسین تیرام ضدعفونی شدند. پس از ضدعفونی در پتری‌دیش و روی کاغذ صافی مرطوب جوانه‌دار شدند. برای بدست‌آوردن سلول‌های متافازی و مطالعات کروموزومی از مریستم انتهایی ریشه استفاده گردید. به این منظور ریشه‌چه های تازه روییده از گیاهچه جدا شده و به مدت ۲ ساعت در محلول آلفا برومونفتالین ۰/۵٪ به‌عنوان محلول پیش‌تیمار نگهداری شدند. پس از نیم ساعت شستشو، از محلول ۱ به ۳ اسید استیک گلاسیال و الکل اتیلیک ۹٦٪ به‌عنوان محلول تثبیت‌کننده به‌مدت ۳ تا ٤ ساعت استفاده شد و پس از ۱ ساعت شستشو با آب مقطر در الکل اتیلیک ۷۰٪ نگهداری شدند. برای یافتن سلول‌های متافازی، مریستم‌ها با اسید

کلریدریک ۱ نرمال و در حرارت غیرمستقیم (بن‌ماری) به‌مدت ۸ دقیقه هیدرولیز شده و با هماتوکسیلین سیترات به‌مدت ۲ ساعت رنگ‌آمیزی شدند و از نمونه ها به روش معمول لام تهیه شد و با میکروسکوپ نوری، سلول‌های متافازی شناسایی شدند. چهار سلول مناسب متافازی از هر فامیل با بزرگنمایی عدسی شیئی ۱۰۰ مورد اندازه‌گیری کروموزومی قرار گرفتند. با استفاده از سلول‌های متافازی از هر جمعیت از تعدادی از فامیل‌ها ویژگی‌های مختلف کاریوتیپی ازجمله طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند اندازه‌گیری شده و بر مبنای این اطلاعات طول کل کروموزوم ها، نسبت های طول بازوی کوتاه به طول بازوی بلند کروموزومی و طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه کروموزومی نیز محاسبه گردید. به موازات این مطالعات از مریستم‌های دو توده حاصل از کشت کالوس تولیدی از کشت بذرهایی که از رویشگاه‌های مناطق جنوب شرقی کشور به نام های کنشکی و بنت جمع آوری شده بودند نیز نمونه‌گیری شد تا ضمن مقایسه ویژگی‌های کاریوتیپی آنها اثر احتمالی کشت بافت نیز بر روی کاریوتیپ این گونه بررسی شود.

با استفاده از ویژگی‌های اندازه‌گیری شده، ابتدا با استفاده از مدل آماری آشیانه‌ای، داده‌ها تجزیه و تحلیل شدند تا تفاوت‌های احتمالی فامیل در جمعیت از نظر این ویژگی‌ها ارزیابی گردد و میانگین عمومی تمام فامیل‌های مطالعه شده از این نظر مقایسه گردند. در ادامه صرف نظر از فامیل‌ها با استفاده از مدل ساده آماری فاکتوریل عوامل جمعیت و کروموزوم و تفاوت‌های موجود بین آنها مورد ارزیابی قرار گرفتند. در هر دو حالت کلیه میانگین‌های ویژگی‌های کاریوتیپی، اعم از میانگین جمعیت، فامیل و کروموزوم در فامیل با روش دانکن دسته‌بندی شدند. با استفاده از میانگین‌های حاصل طول بزرگترین و کوچکترین کروموزوم هر فامیل و جمعیت نیز محاسبه گردید. آماره‌های مختلفی چون TF% (نسبت مجموع طول بازوهای کوتاه کروموزومی هر فامیل یا جمعیت به مجموع طول کل کروموزوم‌های آن فامیل یا جمعیت ضرب در ۱۰۰)، طول نسبی همه کروموزم‌های اندازه‌گیری شده (نسبت طول هر کروموزوم به مجموع طول کل کروموزوم‌های آن فامیل یا جمعیت)، DRL یا اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها (اختلاف بین کمترین و بیشترین طول نسبی کروموزوم‌های هر فامیل یا جمعیت) و S% (طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزم هر فامیل یا جمعیت) و کلاس استیبنز (Stebbins, 1971) جهت ارزیابی کاریوتیپی فامیل‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه تخمین زده شد. برای نامگذاری کروموزوم‌ها نیز از روش Levan و همکاران (۱۹٦٤) که از نسبت طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه کروموزوم‌ها (Arm-ratio) بهره می‌گیرد، استفاده شد.

نتایج

در شمارش کروموزومی مشخص شد که کلیه فامیل‌ها و جمعیت‌ها (چهار جمعیت و دو کلن حاصل از کشت بافت) دارای ۲۸ کروموزم بودند ۲۸ =2n (شکل ۱). در تجزیه واریانس داده‌های حاصل از فامیل‌ها و جمعیت‌ها بر مبنای مدل آشیانه‌ای مشخص شد که این عوامل از نظر تمامی ویژگی های کاریوتیپی با هم اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ داشتند (جدول ۱). البته در مواردی سلول‌های آنیوپلوئید نیز مشاهده گردید که در مواردی یک یا دو کروموزوم از سلول های معمولی کمتر داشتند. سلول هایی با ٤۰ کروموزوم نیز مشاهده شد که حکایت از احتمال وجود

سطح تریپلوئیدی در سلول‌هایی از این گونه دارد. صرف‌نظر از موضوع فامیل در جمعیت و با لحاظ کردن تمامی فامیل‌های هر جمعیت به‌عنوان عامل جمعیت بر مبنای مدل فاکتوریل نیز تجزیه داده ها انجام شد که نتیجه آن نیز معنی‌دار شدن اختلاف بین جمعیت‌ها و کروموزوم های آنها از نظر تمامی صفات مورد مطالعه بود (جدول ۲).

جدول ۱- میانگین مربعات (MS) حاصل از تجزیه واریانس داده‌های کاریوتیپی فامیل‌ها و جمعیت‌های مختلف گز روغنی (*Moringa peregrina*) بر مبنای مدل آشیانه‌ای نامتعادل

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول بازوی کوتاه	طول بازوی بلند	S/L	L/S	طول کل
جمعیت	٥	١/٠٠ **	٢/٣١ **	٠/١٧ **	٠/٨٨ **	٦/٢٣ **
فامیل در جمعیت	١١	٠/٢٧ **	٠/٢٦ **	٠/١٨ **	٠/٩٢ **	٠/٩٣ **
کروموزوم در فامیل در جمعیت	٢٢١	٠/٠٩ **	٠/١٦ **	٠/٠٥ **	٠/٢٤ **	٠/٤٥ **
خطا	٦٥٨	٠/٠١	٠/٠١	٠/٠٣	٠/٢٠	٠/٠٣
CV%		٢١	١٦	١٢	٢٢	١٣

**: معنی‌دار در سطح ١٪

جدول ۲- میانگین مربعات (MS) حاصل از تجزیه واریانس داده‌های کاریوتیپی جمعیت‌های مختلف گز روغنی (*Moringa peregrina*) بر مبنای مدل فاکتوریل و لحاظ کردن کروموزوم‌ها و جمعیت‌ها به‌عنوان فاکتورهای اصلی مورد مقایسه

منابع تغییرات	DF	طول بازوی کوتاه	طول بازوی بلند	S/L	L/S	طول کل
جمعیت	٥	١/٠١ **	٢/٣١ **	٠/١٦ **	٠/٨٣ **	٦/٢٦ **
کروموزوم	١٣	٠/٩٣ **	١/٤٩ **	٠/١٥ **	٠/٦٦ **	٤/٥٦ **
جمعیت در کروموزوم	٦٥	٠/٠٣ **	٠/٠٣ **	٠/٠٥ *	٠/٢٤ ns	٠/٠٦ *
خطا	٨١٢	٠/٠٢	٠/٠٢	٠/٠٣	٠/٢٠	٠/٠٤
CV%		٢٣	١٧	١٢	١٣	١٦

*، ** و ns: به‌ترتیب به مفهوم معنی‌دار در سطح ٥٪، معنی‌دار در سطح ١٪ و غیرمعنی‌دار است.

دسته‌بندی جمعیت ها بر مبنای ویژگی های کاریوتیپی، آنها را در دسته ها مختلفی قرار داد (جدول ۳). به عبارت دیگر بر مبنای طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند کروموزوم ها، و نیز نسبت‌های طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه کروموزومی و طول بازوی کوتاه به طول بازوی بلند کروموزومی، جمعیت‌های مورد مطالعه در سه دسته متفاوت قرار گرفتند. ولی براساس طول کل کروموزوم این جمعیت ها در چهار دسته متفاوت قرار گرفتند که برخی از این دسته‌ها با یکدیگر همپوشانی داشتند.

جدول ۳- دسته‌بندی جمعیت‌های مختلف گز روغنی (*Moringa peregrina*) بر مبنای میانگین ویژگی‌های کاریوتیپی با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال ۵٪

جمعیت‌ها	طول بازوی کوتاه (میکرون)	طول بازوی بلند (میکرون)	S/L	L/S	طول کل (میکرون)
چانف	۰/۵٦ b	۰/۷۰ c	۰/۸۰ a	۱/۲۵ c	۱/۲٦ c
پوغونزی	۰/۵۵ b	۰/۷۰ c	۰/۷۹ ab	۱/۲۷ bc	۱/۲۵ c
جنوب بلوچستان	۰/۵۵ b	۰/۷۰ c	۰/۷۹ ab	۱/۲۷ bc	۱/۲۵ c
گرهون	۰/۵۰ c	۰/٦۹ c	۰/۷۲ bc	۱/۳۸ ab	۱/۱۹ d
کنشکی**	۰/۸٤ a	۱/۲۲ a	۰/٦۹ c	۱/٤۵ a	۲/۰٦ a
بنت**	۰/۸۰ a	۱/۰٤ b	۰/۷۷ ab	۱/۳۰ bc	۱/۸٤ b

*: میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در یک دسته قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

**: نمونه‌های حاصل از کشت بافت

کروموزوم های مورد اندازه‌گیری نیز بر مبنای ویژگی‌های کاریوتیپی مختلف دسته‌بندی شدند (جدول ٤). این دسته‌بندی بر مبنای ویژگی‌های مختلف کاریوتیپی با یکدیگر متفاوت بود، ولی در هر حالت به‌رغم کوچکی کروموزوم‌ها از نظر آماری با یکدیگر اختلاف داشتند. ارائه این میانگین‌ها به منظور ایجاد یک تصویر کلی از کروموزوم‌های این گونه صورت گرفته‌است. به‌طور کلی این گونه دارای کروموزوم‌های ریزی است، به‌طوری که میانگین عمومی طول کروموزوم‌های جمعیت های مورد مطالعه بین ۱/۱۹ میکرون تا ۲/۱ میکرون متغیر بود. بیشترین طول ژنوم متعلق به جمعیت کشت بافتی کنشکی (۵۷/۷ میکرون) و کمترین طول ژنوم متعلق به جمعیت گرهون (۳۳/۳ میکرون) بود (جدول ۵).

از نظر عامل‌های سنجش تقارن کاریوتیپی نیز اختلاف‌های ملموسی بین جمعیت‌های مطالعه شده مشاهده گردید که حکایت از تفاوت‌های کاریوتیپی جمعیت های مورد مطالعه دارد. با استفاده از نسبت طول بازوی بلند کروموزوم‌ها به طول بازوی کوتاه کروموزوم‌ها و بر اساس روش Levan و همکاران (۱۹٦٤) فرمول کاریوتیپی جمعیت ها نیز تعیین گردید. بر این اساس مشخص گردید که جمعیت‌های این گونه بیشتر دارای تیپ کروموزومی متاسنتریک هستند (جدول ۵)، به‌نحوی که تمام کروموزوم‌های جمعیت‌های چانف و پوغونزی از نوع متاسنتریک بودند. بدیهیست این اختلاف‌ها بیانگر تنوع کاریوتیپی در درون گونه مورد مطالعه می‌باشد.

جدول ٤- دسته‌بندی کروموزوم‌های مورد مطالعه جمعیت‌های مختلف گز روغنی (*Moringa peregrina*) بر مبنای ویژگی‌های کاریوتیپی با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال ٥٪

کروموزوم	بازوی کوتاه	بازوی بلند	S/L	L/S	طول کل
۱	۰/۸۹ a	۱/۰٦ a	۰/۸٤ ab	۱/۲٤ de	۱/۹٦ a
۲	۰/۷٤ b	۰/۹۹ b	۰/۷۷ cd	۱/٤۰ abcde	۱/۷۳ b
۳	۰/٦۸ c	۰/۹۳ c	۰/۷۳ de	۱/٤۷ ab	۱/٦۱ c
٤	۰/٦٦ c	۰/۸٥ d	۰/۷۸ bcd	۱/۳٥ bcde	۱/٥۱ d
٥	۰/٦۱ d	۰/۸۱ d	۰/۷۷ cd	۱/٤۲ abcd	۱/٤۳ e
٦	۰/٥٤ e	۰/۸۰ d	۰/٦۹ e	۱/٥۷ a	۱/۳٥ f
۷	۰/٥٤ e	۰/۷٥ e	۰/۷٥ de	۱/٤۳ abc	۱/۲۹ fg
۸	۰/٥۳ ef	۰/٦۹ f	۰/۷۸ bcd	۱/۳٦bcde	۱/۲۳ gh
۹	۰/٥۳ ef	۰/٦۳ g	۰/۸٥ ab	۱/۲٤ de	۱/۱٦ hi
۱۰	۰/٤۹ efg	۰/٦۱ gh	۰/۸۳ abc	۱/۲٦ cde	۱/۱۰ ij
۱۱	۰/٤۸ fg	۰/٥۷ hi	۰/۸٦ a	۱/۲۲ e	۱/۰٦ jk
۱۲	۰/٤٥ gh	۰/٥۳ i	۰/۸٥ ab	۱/۲۷ cde	۰/۹۹ k
۱۳	۰/٤۲ h	۰/٤۹ j	۰/۸۷ a	۱/۲۲ e	۰/۹۲ l
۱٤	۰/۳۳ i	۰/٤۲ k	۰/۸۰ abcd	۱/٤۰ bcde	۰/۷٥ m

*: میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در یک دسته قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

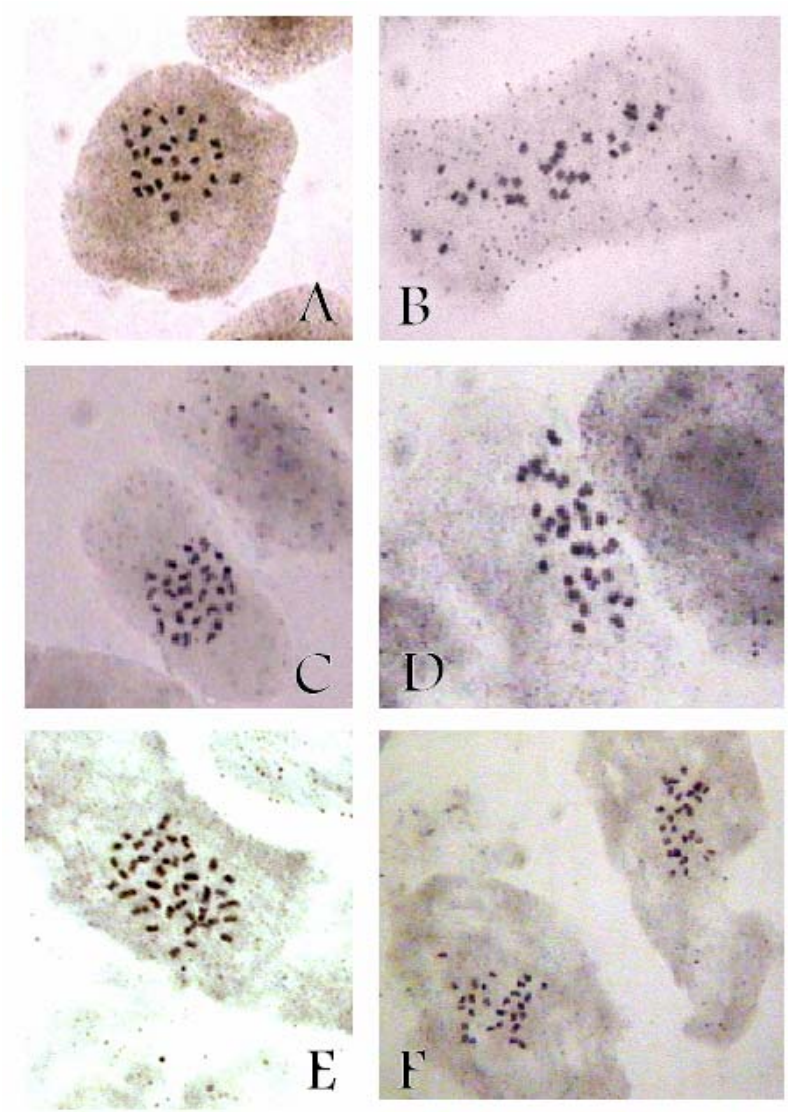
جدول ٥- ویژگی‌های کاریوتیپی و عامل‌های سنجش تقارن کاریوتیپی جمعیت‌های مختلف گز روغنی (*Moringa peregrina*)

جمعیت	2n	TL	TF%	DRL	S%	L	S	M	KF
چانف	۲۸	۳٥/۰	۰/٤٥	۳/۱	۲/۱	۱/۸٥	۰/۷٤	۱/۲٦	28m
پوغونزی	۲۸	۳٤/۷	۰/٤٤	۳/٥	۲/۰	۱/۹۳	۰/۷۲	۱/۲٤	28m
جنوب بلوچستان	۲۸	۳٥/۰	۰/٤٤	۳/۱	۲/۲	۱/۸۷	۰/۷۸	۱/۲٦	26m + 2Sm
گرهون	۲۸	۳۳/۳	۰/٤۲	۳/۲	۲/۱	۱/۷۹	۰/۷۱	۱/۱۹	26m + 2Sm
کنشکی	۲۸	٥۷/۷	۰/٤۱	۳/۸	۲/۲	۳/٤۱	۱/۲٥	۲/۱۰	2M + 16m + 10Sm
بنت	۲۸	٥۱/۲	۰/٤٤	۳/۷	۱/۷	۲/۷۷	۰/۸٦	۱/۸٤	2M + 22m + 4Sm

2n: تعداد کروموزوم‌ها، TL: طول کل کروموزوم‌های ژنوم به میکرون، TF%: درصد کلی فرم کاریوتیپی، S%: طول نسبی کوتاهترین کروموزوم، M: میانگین کل کروموزوم‌ها به میکرون، DRL، اختلاف دامنه نسبی کروموزوم‌ها، L: طول بلندترین کروموزوم به میکرون، S: طول کوتاهترین کروموزوم به میکرون، KF: فرمول کاریوتیپی براساس روش Levan و همکاران (۱۹٦٤).

بحث

تمامی جمعیت‌ها و فامیل‌های مورد مطالعه از نظر تعداد کروموزوم و سطح پلوئیدی یکسان بودند. با توجه به تعداد زیاد سلول‌ها و فامیل‌های مطالعه شده در این تحقیق می‌توان با اطمینان عنوان نمود که سطح پلوئیدی این گونه در کشور دیپلوئید و تعداد کروموزوم‌های آن نیز ۲۸ است (۲n= ۲۸). از این رو، این گونه مشابه گونه *M. oleifera* است (Kubitzki & Bayer, 2003).



شکل ۱- متافاز میتوزی در فامیل‌های مورد مطالعه

A: فامیلی از جمعیت گیاهی جانف (۲n= ۲۸)، B: فامیلی از جمعیت گیاهی گرهون (۲n= ۲۸)، C: فامیلی از جمعیت گیاهی پوغونزی (۲n= ۲۸)، D: فامیلی از جمعیت گیاهی پوغونزی (۲n= ۲۸)، E: یک سلول متافازی آنیوپلوئیدی با بیش از ٤٠ کروموزوم، F: فامیلی از جمعیت گیاهی جنوب بلوچستان (۲n= ۲۸). مقیاس‌های روی تصویر معادل ۵ میکرون است.

از نظر ابعاد کروموزومی جمعیت‌ها تفاوت‌های محسوسی نشان دادند، به‌طوری که جمعیت‌های گرهون و کنشکی (نمونه‌های کشت بافتی) که به‌ترتیب کمترین و بیشترین میانگین طول کروموزوم را از خود نشان دادند ۰/۲۵ میکرون با یکدیگر اختلاف دارند. اگرچه این مقدار کم به نظر می‌رسد ولی با توجه به ابعاد کوچک کروموزوم‌ها در این گونه این مقدار اختلاف قابل توجه می باشد. با این حال نکته قابل توجه در این خصوص اینکه اختلاف بین این جمعیت‌ها بیشتر از ناحیه اختلاف در اندازه بازوی بلند کروموزومی است (جدول ۳). از این رو با توجه به تعداد زیاد سلول اندازه‌گیری شده، تفاوت بین نمونه‌های کشت بافتی و نمونه‌های غیرکشت بافتی حکایت از اثر قطعی شرایط رویش نمونه های اولیه بر ابعاد کروموزوم‌هاست. چنان‌که مشاهده می شود (جدول ۳) دو نمونه کشت بافتی (کنشکی و بنت) از نظر میانگین طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و طول کل کروموزوم ها در دسته های جداگانه و کاملاً متفاوت از سایر جمعیت‌های مطالعه شده قرار گرفتند. لازم به ذکر است که این مقدار جزئی اختلاف در میانگین اندازه کروموزومی در طول کل کروموزوم و طول بازو های کروموزومی در ژنوم جمعیت‌های مورد بررسی به‌نحو بهتری خود را نشان داده اند. به‌طوری که طول کل کروموزوم‌های ژنوم در جمعیت‌های غیر کشت بافتی بین ۳۳/۳ تا ۳۵ میکرون ولی بین دو نمونه کشت بافتی بین ۵۱/۲ تا ۵۷/۷ میکرون متغیر بود (جدول ۵). بلندترین کروموزوم در نمونه کنشکی و بنت (کشت بافتی) با طول ۳/٤۱ و ۲/۷۷ میکرون مشاهده شد. در حالی‌که بلندترین کروموزوم در سایر نمونه‌ها بین ۱/۷۹ تا ۱/۹۳ میکرون متغیر بود. به همین ترتیب کوچکترین کروموزوم ها نیز در نمونه‌های کشت بافتی از کوچکترین کروموزوم‌های سایر نمونه‌های مورد مطالعه بزرگتر بودند (جدول ۵). این امر حکایت از اثرپذیری شرایط رشد بر ویژگی‌های کاریوتیپی به‌ویژه ابعاد کروموزومی دارد. به عبارت دیگر در شرایط کشت بافت که شرایط رشد ایده‌آل برای رشد گیاه است، کروموزوم‌ها حجم بیشتری خواهند داشت. از این‌رو، ابعاد کاریوتیپی را نمی‌توان مطلق قلمداد نمود و حتی در شرایط طبیعی و شرایط آزمایشگاهی تهیه مریستم گیاهی جهت مطالعات کاریوتیپی نیز می‌توانند اثر تعیین‌کننده‌ای بر ابعاد کروموزومی بگذارند.

از نظر تقارن کاریوتیپی بر مبنای TF%، لازم به ذکر است که هر چقدر مقدار این آماره به ۵۰٪ نزدیکتر باشد تقارن کاریوتیپی بیشتر است. متقارن ترین کاریوتیپ را بر مبنای TF% جمعیت چانف از خود نشان داد (TF%= ٤۵٪). در حالی که نامتقارن‌ترین کاریوتیپ بر این مبنا متعلق به نمونه کنشکی بود (TF%= ٤۱٪). به عبارت دیگر، آماره TF% در بین نمونه های مورد مطالعه بین ٤۱٪ تا ٤۵٪ متغیر بود که حکایت از تقارن نسبی کاریوتیپ این گونه دارد. فرمول کاریوتیپی نیز این موضوع را تأیید نمود، چرا که هر چه تعداد کروموزوم‌های متاسنتریک (m) بیشتر باشد تقارن کاریوتیپی بیشتر است و همان‌طور که ملاحظه می‌شود نمونه چانف ازجمله نمونه‌هایی است که همه کروموزوم هایش متاسنتریک و بیشترین مقدار TF% را نیز دارا می باشد. بیشترین اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم ها (DRL) متعلق به نمونه کنشکی و بنت بود (به‌ترتیب ۳/۸ و ۳/۷، جدول ۵) و کمترین دامنه آماره مذکور متعلق به نمونه‌های چانف و جنوب بلوچستان بود (۳/۱، جدول ۵). مقدار عددی کمتر از نظر این آماره به مفهوم تقارن بیشتر است و هرچه مقدار عددی این آماره

در فامیل یا جمعیتی بیشتر باشد نشان از کاریوتیپ نامتقارن تر آن فامیل یا جمعیت دارد. به عبارت دیگر از نظر این آماره نیز نمونه های کشت بافتی کاریوتیپ نامتقارن‌تری از خود نشان دادند. موضوع قابل‌توجه فرمول کاریوتیپی متفاوت در جمعیت‌هاییست که از نظر تقارن کاریوتیپی و آماره TF% با یکدیگر مشابهند (جدول ٥). گاهی انتظار می‌رود کاریوتیپی‌هایی که تقارن کاریوتیپی یکسانی دارند فرمول کاریوتیپی یکسانی هم داشته باشند. در حالی‌که با توجه به اینکه در تخمین تقارن کاریوتیپی با آماره‌ای نظیر TF%، از نسبت مجموع طول بازوهای کوتاه همه کروموزوم‌های کاریوتیپ به مجموع طول کل آن کروموزوم‌ها حاصل می‌شود و دو کاریوتیپ متفاوت می‌توانند از نظر اندازه کل بازوهای کوتاه و کل کروموزوم یکسان باشند، و در نتیجه TF% یکسانی داشته باشند، ولی تفاوت‌های اساسی بین کروموزوم‌های مختلف آنها از نظر طول بازوهای کوتاه و طول کل کروموزوم‌های متناظر وجود دارد که منجر به فرمول کاریوتیپی متفاوت می‌شود. از نظر شاخص استیبنز همه نمونه‌ها در یک دسته قرار گرفته و اختلافی بین آنها مشاهده نگردید (جدول ٥). مشاهده سلول‌های آنیوپلوئیدی در برخی از جمعیت‌های مورد مطالعه حکایت از وجود فرآیندها و تحولات تکاملی در این گونه دارد. اگرچه در گونه‌های درختی و درختچه‌ای فرآیند تکامل بسیار بوده و اثر این گونه اختلالات کاریوتیپی در این گونه تغییرات در کوتاه مدت قابل مشاهده نیست.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه همکاران محترم در گروه تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور که کمال همکاری را در اجرای این تحقیق با ما داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد. همینطور از جناب آقای مهندس هاشم کنشلو که بخشی از بذر مورد نیاز این تحقیق را جمع‌آوری نمودند نیز تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

- بینا، ب.، شاهسونی، ع.، اصغری، غ.ر. و حسن‌زاده، ا.، ١٣٨٦. مقایسه کارایی عصاره دانه مورینگا اولیفرا و پلی‌آلومینیم کلراید در حذف کدورت آب. آب و فاضلاب، ١٨: ٣٣-٢٤.
- صبح‌خیزی، م.ر.، شهریاری، ع.ر.، نوری، س. و فیاض، م.، ١٣٨٧. طرح شناخت مناطق اکولوژیک کشور: تیپ‌های گیاهی منطقه نیک‌شهر. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ٨٦ صفحه.
- صبح‌خیزی، م.ر.، نوری، س. و سرگزی، ح.، ١٣٨٨. طرح شناخت مناطق اکولوژیک کشور: تیپ‌های گیاهی منطقه فنوج. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ١٢٠ صفحه.
- مهدی‌نژاد، م.ه.، بینا، ب.، نیک‌آیین، م. و موحدیان‌عطار، ح.، ١٣٨٨. کارایی آلوم توأم با کیتوزان و پروتئین انعقادی مورینگا اولیفرا در حذف ذرات کلوئیدی و باکتری‌ها از آب‌های کدر. دانشگاه علوم پزشکی گرگان، ١١(٣): ٦٩-٦٦.
- میرزایی ندوشن، ح.، اسدی کرم، ف.، امام، م.، بخشی خانیکی، غ.ر.، کنشلو ه.، و آچاک، ی.، ١٣٨٨. توانمندی ژنتیکی در القاء کالوس و رشد جنین نارس در جمعیت‌هایی از گز روغنی (*Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori). تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ١٧: ٣٧-٢٩.
- میرزایی ندوشن، ح.، رضایی، م.ب.، مهرپور ش. و رشوند، س.، ١٣٨١. مطالعه مقدماتی کاریوتیپ جمعیت‌هایی از گونه *Aloe litoralis*. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ١٠(٩): ٨٤-٤٩.
- Becker, K. and Makkar, H.P.S., 1999. Effects of dietary tannic acid and quebracho tannin on growth performance and metabolic rates of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquaculture, 175(3-4): 327-335.
- Fahey, J.W., 2005. *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and

- Richter, N., Siddhraju, P. and Becker, K., 2003, Evaluation of nutritional quality of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). Aquaculture, 217: 599-611.
- Sabale, V., Patel, V., Paranjape, A., Arya, C., Sakarkar, S.N. and Sabale, P.M., 2008. *Moringa oleifera* (Drumstick): An Overview. Pharmacognosy Reviews, 2(4): 7-13.
- Sanchez-Machado, D.I., Lopez-Cervantes, J. and Rlos-Vazquez, N.J., 2006. High-performance liquid chromatography method to measure α and γ-tocopherol in leaves, flowers and fresh beans from *Moringa oleifera*. Journal of Chromatography A, 1105: 111-114
- Sanchez-Martin, J., Ghebremichael, K. and Beltrn-Heredia, J., 2010. Comparison of single-step and two-step purified coagulants from *Moringa oleifera* seed for turbidity and DOC removal. Bioresource Technology, 101(15): 6259-6261.
- Santos, A.F.S., Argolo, A.C.C., Coelho, L.C.B.B. and Paiva, P.M.G., 2005. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. Water Research, 39(6): 975-980.
- Sashidhara, K.V., Rosaiah, J.N., Tyagi, E., Shukla, R., Raghubir, R. and Rajendran, S.M., 2009. Rare dipeptide and urea derivatives from roots of *Moringa oleifera* as potential anti-inflammatory and antinociceptive agents. European Journal of Medicinal Chemistry, 44: 432-436.
- Stebbins, G.L., 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edvard Arnold Publisher, London, 216p.
prophylactic properties. Part 1. Trees for Life Journal, 1: 5.
- Ferreira, P.M.P., Carvalho, A.F.U., Farias, D.F., Cariolano, N.G., Melo, V.M.M., Queiroz, M.G., Rmartins, A.M.C. and Machado-Neto, J.G., 2009. Larvicidal activity of the water extract of *Moringa oleifera* seeds against Aedes aegypti and its toxicity upon laboratory animals. Annals of the Brazilian Academy of Sciences, 81(2): 207-216.
- Ferreira, P.M.P., Farias, D.F., Oliveira, J.T.A. and Carvalho, A.F.F.U., 2008. *Moringa oleifera*: Bioactive compounds and nutritional potential. The Brazilian Journal of Nutrition, 21(4): 431-437.
- Iqbal, S. and Bhanger, M.I., 2006. Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. Journal of Food Composition and Analysis, 19(6-7): 544-551.
- Kubitzki, K. and Bayer, C., 2003. Flowering Plants, Dicotyledons: Malvales, Capparales, and Non-Betalain Caryophyllales (The Families and Genera of Vascular Plants). Springer, 418p.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A.A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52(2): 201-220.
- Odee, D., 1998. Forest biotechnology research in dry lands of Kenya: the development of *Moringa* species. Dryland Biodiversity, 2: 7-12.
- Prasad, R.K., 2009. Color removal from distillery spent wash through coagulation using *Moringa oleifera* seeds: Use of optimum response surface methodology. Journal of Hazardous Materials, 165: 804-811.

Karyotypic characteristics of *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori in Iran

Z. Nazari[1], H. Mirzaie-Nodoushan[2*], G.R. Bakhshi-Khaniki[1] and F. Asadicorom[3]

1- Payam Noor University, Tehran, Iran
2*- Corresponding author, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran
E-Mail: nodoushan2003@yahoo.com
3- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

Received: October 2010 Revised: December 2010 Accepted: December 2010

Abstract

Moringa peregrina (Forssk.) Fiori is an important neglected plant species, with medicinal, industrial and nutritional values, growing in South-East part of Iran. In spite of its high importance in various points of views, the species is not paid enough attention regarding various biologic aspects such as karyotypic characteristics. Four plant populations as well as two tissue cultured samples of the species were used for karyotypic studies. Chromosome dimensions were recorded on which several statistics were estimated for karyotypic asymmetric comparisons on the mentioned plant populations and samples. The recorded karyotypic data were analyzed by nested and factorial statistic models. Chromosomes counting reviled the constant diploid karyotype with 2n=2x=28 chromosomes for all of the studied samples. Analysis of variance showed significant differences (α=1%) between the plant populations and samples based on the recorded karyotypic characteristics. Several anioploid cells were also recorded. It was concluded that the species contains small chromosomes, so that general chromosome means of the studied samples varied between 1.19 to 2.1 μ. The longest genome (51.2μ) belonged to Kenshki sample which was tissue culture based sample. The shortest genome (33.3μ) belonged to Garhoon plant population. In other words tissue culture based samples grouped in distinct classes compared to other studied plant populations. Chanf plant population showed the most symmetric karyotype (45%) based on TF%, whereas, Kenshki plant population revealed the most asymmetric karyotype (41%). DRL statistic and karyotype formula also clarified the mentioned symmetry conditions.

Key words: *Moringa peregrine*, karyotype, chromosome, karyotypic asymmetry, cytogenetic, anioploied, Iran.