

Cytogenetic Analysis of Different Landraces of Purslane (*Portulaca oleracea* L.)

Elham Azizi^{1,*}, Najmeh Salehan², Raheleh Rahbarian³ and Ali Masoomi⁴

- 1- Associate Professor, Department of Agronomy, Payame Noor University, Iran
- 2- Former M.Sc. Student, Department of Agronomy, Payame Noor University, Iran
- 3- Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Iran
- 4- Assistant Professor, Sugar Beet Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources, Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

*Corresponding author ✉: azizi.e@pnu.ac.ir

Citation: Azizi, E., Salehan, N., Rahbarian, R. and Masoomi, A. (2024). Cytogenetic analysis of different landraces of purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Plant Genetic Researches*, **10**(2): 35-46. <http://dx.doi.org/10.22034/PGR.10.2.3>

(Received: December 29, 2023; Final Revised: January 20, 2024; Accepted: January 29, 2024; Published online: March 17, 2024)

Extended abstract

Introduction

Purslane (*Portulaca oleracea*) is a common widely utilized medicinal plant, especially in tropical regions. It is used as a traditional medicine to reduce a wide range of diseases, including gastrointestinal diseases, respiratory problems, inflammation of the liver, diabetes, insomnia, headache, etc. Due to the medicinal and economic importance of purslane, it is crucial to assess the karyotypic diversity and to identify genetic resources among Iranian landraces. Understanding the number and structure of chromosomes and determining the ploidy level of Iranian landraces holds great promise in choosing future breeding methods. Researches have shown that determining the ploidy level is important in identifying evolutionary relationships between different plant groups and pinpointing the phylogenetic classifications. Therefore, this research was conducted with the aim of investigating the cytogenetic characteristics of different landraces of purslane in Iran.

Materials and methods

In order to investigate the cytogenetic characteristics of purslane, an experiment was performed on five landraces of purslane, including Qom, Khoy, Kalat, Yazd and Gachsaran in Payam-e-Noor University of Mashhad, Iran. To this end, after the germination of the seeds of different landraces, a cross section was prepared from the tip root meristems. After pretreatment, stabilization, hydrolysis, staining and microscopic examination, three replications (metaphase plate) were selected from each sample and their karyotypic indices were measured. To determine the optimal time for chromosome studies, sampling was conducted at various intervals throughout the day, from 8 am to 2 pm, with samples collected hourly. After finding appropriate metaphase plates, three cells with maximum resolution were selected from each landrace and photographed. After counting the number of chromosomes in each landrace and taking the average of the indices from three replicates, the cytogenetic indices, including the length of the long arm (L), the length of the short arm (S), the total length of the chromosome (S+L), length difference of two arms (S-L), length ratio of short to long arm (L/S), ratio of long to short arm (S/L), inter-chromosomal asymmetry index (A2), intra-chromosomal asymmetry indices Chromosome (A1), asymmetry coefficient (AI), dispersion index (DI), centromeric index (CI), overall karyotype shape (TF%), chromosomal size similarity index (Rec), Stevens karyotypic class (S.C) and karyotypic formula were measured and calculated. To compare the karyotypic symmetry in the landraces, the Stebbens table was also used.



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

Results and discussion

In this research, the highest number of cells with chromosomes in the metaphase stage was observed in the early hours of the day from 8 am to 10 am. The results showed that the basic chromosomes number was $x=9$; two landraces (Qom and Yazd) were tetraploid ($2n=4x=36$) and three landraces (Gachsaran, Khoy and Kalat) were diploid ($2n=2x=18$). Chromosome types were meta-centric and sub-meta-centric. The landraces of Khoy and Yazd had the longest and the shortest chromosomes respectively. In all landrace, the short arm size ranged from 5.93 μm to 8.07 μm and the long arm size ranged from 9.21 μm to 10.04 μm . According to the Stebbins' Table, landrace of Qom was the member of class 1B and others were members of class 1A. This represents a similar and primary evolutionary situation between landraces. In the clustering of different landraces in terms of karyotypic traits, Khoy and Kalat landraces were placed in one cluster and each of Gachsaran, Yazd and Qom landraces were placed in separate branches. PCA showed that the first three traits as Length of Long arm, Length of short arm and Length of total chromosome explained more than 97% of the total variation among the landraces. Considering that ploidy is as the main evolutionary mechanism in plants to adapt to different environments, it can be concluded that polyploidy represents greater resistance in hot and dry areas.

Conclusions

In this study, the karyotypes of the five Iranian landraces were studied and they were largely symmetrical. Additionally, considering the evolutionary significance of increased polyploidy levels, it is plausible to suggest that the Qom and Yazd landraces may have evolved from other landraces owing to their tetraploid nature. Moreover, there appears to be a direct correlation between elevated ploidy levels and the asymmetry of the karyotype.

Keywords: Tetraploid, Diploid, Ploidy Level, Karyotype, Chromosome

بررسی سیتوژنتیکی توده‌های مختلف گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.)الهام عزیزی^{۱*}، نجمه صالحان^۲، راهله رهباریان^۳ و علی معصومی^۴

۱- دانشیار، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران

۴- استادیار، بخش تحقیقات چغندرقد، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۰۸؛ تاریخ آخرین ویرایش: ۱۴۰۲/۱۰/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۰۹؛ تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۲/۱۲/۲۸)

چکیده

خرفه یکی از متداول‌ترین گیاهان دارویی مورد استفاده در جهان، به‌ویژه در مناطق گرمسیری است. جهت بررسی تنوع سیتوژنتیکی و مطالعات کاریوتیپی در پنج توده بومی خرفه شامل قم، خوی، کلات، یزد و گچساران تحقیقی در آزمایشگاه پیام نور مشهد انجام شد. به این منظور، پس از جوانه‌زنی بذور توده‌های مختلف، برش عرضی از مریستم نوک ریشه نمونه‌ها تهیه و پس از پیش‌تیمار، تثبیت، هیدرولیز، رنگ‌آمیزی و بررسی میکروسکوپی، تعداد سه تکرار (صفحه متافازی) از هر نمونه انتخاب و شاخص‌های کاریوتیپی آن‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه نشان داد که عدد پایه کروموزومی در این پنج توده $x=9$ بود و دو توده یزد و قم به‌صورت تتراپلوئید ($2n=4x=36$) و سه توده (گچساران، خوی و کلات) دیپلوئید ($2n=2x=18$) بودند. تیپ کروموزوم‌ها در کلیه توده‌ها از نوع متاساتنریک و ساب‌متاساتنریک بود. همچنین اندازه کروموزوم‌ها در توده‌های مورد بررسی بسیار متنوع بود، به‌طوری‌که کمترین و بیشترین میانگین طول کل کروموزوم به‌ترتیب در توده‌های یزد و خوی مشاهده شد. در توده‌های مورد بررسی، اندازه بازوی کوتاه بین $5/93$ تا $8/07$ و اندازه بازوی بلند $9/21$ تا $10/04$ میکرومتر بود. بر اساس جدول دوطرفه استینز، توده قم در کلاس IB و توده‌های دیگر در کلاس IA قرار داشتند که این نشان‌دهنده وضعیت تکاملی تقریباً مشابه و در عین حال ابتدایی در بین توده‌هاست. در خوشه‌بندی توده‌های مختلف از نظر صفات کاریوتیپی نیز توده‌های خوی و کلات در یک خوشه و هر یک از توده‌های گچساران، یزد و قم در شاخه‌های مجزا قرار گرفتند. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، سه صفت اول یعنی طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و طول کل کروموزوم بیش از ۹۷ درصد از کل تنوع بین توده‌ها را توجیه نمودند. به طور کلی با توجه به خصوصیات دارویی و پراکنش وسیع خرفه، تعیین سطح پلوئیدی و مطالعه کروموزومی توده‌های مختلف این گیاه می‌تواند در به‌نژادی و افزایش تولید کمی و کیفی آن موثر باشد.

واژگان کلیدی: تتراپلوئید، دیپلوئید، سطح پلوئیدی، کاریوتیپ، کروموزوم

مقدمه

خرفه با نام علمی *Portulaca oleracea* L. گیاهی متعلق به خانواده *Portulacaceae* با بیش از ۱۲۰ گونه گیاه علفی است (Hosseini, 2023). در خصوص خاستگاه اولیه گیاه خرفه اختلاف نظر وجود دارد، ولی در کشورهایی مانند ایران، استرالیا، هند، آفریقای شمالی و آمریکا رشد می‌کند (Rashad Mohasel *et al.*, 2001). خرفه به دلیل ارزش غذایی و آنتی‌اکسیدانی بالا به عنوان یک غذای نیروبخش توصیف شده است (Hasani *et al.*, 2021)، به طوری که سازمان بهداشت جهانی، این گیاه را به عنوان یکی از پرکاربردترین گیاهان دارویی در نظر گرفته و لقب اکسیر جهانی به آن داده است (Talei *et al.*, 2018). این گیاه به عنوان یک داروی سنتی برای کاهش طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های دستگاه گوارش، مشکلات تنفسی، التهاب کبد، دیابت، بی‌خوابی، سردرد و غیره استفاده می‌شود (Hoseini, 2022). ترکیبات تشکیل دهنده این گیاه شامل آب ۹۱/۲ تا ۹۵ درصد، خاکستر ۱/۴ درصد، کربوهیدرات ۳/۵۵ درصد، چربی ۰/۱۹ درصد، چربی دانه ۱۷/۴ درصد، پروتئین ۱/۳ درصد، فیبر ۰/۸ درصد است. (Grewal, 2000).

یکی از گام‌های مهم در بررسی خصوصیات بیوشیمیایی و فنوتیپی گیاهان و نیز تنوع در گونه و توده‌های مختلف گیاهی، انجام مطالعات سیتوژنتیکی و تنوع کاریوتیپی است. با توجه به اهمیت دارویی و اقتصادی گیاه خرفه بررسی تنوع کاریوتیپی و شناسایی منابع ژنتیکی در این گیاه از اهمیت بالایی برخوردار است که البته تحقیقات یا مطالعات به‌نژادی یا ژنتیکی معدودی در دنیا بر روی خرفه صورت گرفته است. کاریوتیپ اندازه، تعداد و مورفولوژی کروموزوم‌های یک سلول یا یک گونه را تشریح می‌کند. تجزیه کاریوتیپ بر اساس مطالعه کروموزوم‌های متافازی است که این امر خود بر مبنای دو شاخص طول کروموزوم و موقعیت فرورفتگی‌های اولیه و ثانویه انجام می‌شود (Dadashian *et al.*, 2017).

شناخت تعداد و ساختمان کروموزوم‌ها و تعیین سطح پلوئیدی گیاه در انتخاب روش‌های به‌نژادی مؤثر است. همچنین تحقیقات نشان می‌دهد که تعیین سطح پلوئیدی در تشخیص روابط تکاملی میان گروه‌های مختلف گیاهی و روشن کردن

دسته‌بندی‌های فیلوژنتیکی اهمیت دارد (Zabet and Afshari, 2015). تنوع در سطح کروموزومی وابسته به فرآیند پلی‌پلوئیدی، فقدان کروموزوم و تغییر آنیوپلوئیدی است (Kadereit and Jeffrey, 2007). تحقیقات نشان می‌دهد که سطوح پلوئیدی متفاوت در جنس خرفه وجود دارد به طوری که در گونه‌های این جنس وضعیت کروموزومی دیپلوئیدی و پلی‌پلوئیدی دیده می‌شود (Steiner, 1944; Darlington and Kumar Sharma *et al.*, 2014; Janati Ammal, 1945; Hasan Tehrani, 2014). عدد پایه کروموزومی این گیاه اغلب $x=9$ است (Kumar Sharma *et al.*, 1956; Hasan Tehrani, 2014). در مطالعه‌ای نشان داده شده است که جمعیت‌های با سطح پلوئیدی پایین‌تر، تقارن بیشتر و جمعیت‌های با سطح پلوئیدی بالاتر تقارن کمتری داشتند (Hasan Tehrani, 2014).

با توجه به خواص دارویی فراوان این گیاه، تعداد پژوهش‌های انجام شده بر روی آن کم است، بنابراین این تحقیق با هدف بررسی ویژگی‌های سیتوژنتیکی تعدادی از توده‌های مختلف خرفه موجود در ایران صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه پنج توده مختلف خرفه *Portulaca oleracea* L. از مناطق کلات، خوی، گچساران، یزد و قم تهیه و در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه پیام نور مشهد مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور تهیه کاریوتیپ از مریستم انتهایی ریشه استفاده گردید (Aksu *et al.*, 2013). برای به دست آوردن ریشه، ابتدا بذور به مدت ۲۴ ساعت خیس‌اندازه و سپس در دمای ۲۱ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تاریکی بر روی کاغذ صافی مرطوب، درون پتری‌دیش کشت شدند. وقتی طول ریشه‌ها به ۱ تا ۲ سانتی‌متر رسید اقدام به نمونه‌گیری شد (Singh, 1993). جهت بررسی بهترین زمان شروع مطالعه کروموزوم‌های انتهایی ریشه، نمونه‌برداری در ساعات مختلف روز از ۸ صبح تا ۱۴ عصر با فاصله زمانی یک ساعت صورت گرفت. ریشه‌ها توسط اسکالپل از گیاهچه جدا و در کلسی‌سین ۰/۰۵ درصد به مدت سه ساعت قراردادده شدند (Zulkarnain, 2002). کلسی‌سین فعالیت رشته‌های دوک را مختل کرده و از حرکت کروموزوم‌ها به قطبین سلول جلوگیری می‌کند، در این صورت کروموزوم‌ها

همولوگ و Pi متوسط طول بازوهای بلند در هر جفت کروموزوم همولوگ می‌باشد.

شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A₂) (Romevo-Zarco, 1986) (رابطه ۲):

$$A_2\% = 100 \times (\text{میانگین طول کروموزومها} / \text{انحراف استاندارد})$$

طول کروموزومها برای هر توده

شاخص عدم تقارن (AI) (Pasazco, 2006) (رابطه ۳):

$$AI\% = 100 \times (\text{ضریب تغییرات شاخص سانترومتری} / \text{ضریب تغییرات طول کروموزوم})$$

درصد شکل کلی (Huziwara et al., 1962) (رابطه ۴):

$$TF\% = 100 \times (\text{مجموع طول کل کروموزوم} / \text{مجموع طول بازوهای کوتاه})$$

شاخص سانترومری (CI) (Kumari et al., 2011) (رابطه ۵):

$$CI\% = 100 \times (\text{طول کل کروموزوم} / \text{طول بازوهای کوتاه})$$

از این شاخص برای تعیین و تشخیص وضعیت تقارن کاریوتیپ استفاده می‌شود/ زمانی که CI= ۵۰ است طول دو بازو کاملاً برابر و کروموزوم متاسانتریک هستند. هرچه این نسبت از ۵۰ کمتر شود از میزان متاستریکی کم شده و کروموزومها به سمت ساب‌متاسانتریک می‌روند.

شاخص A (Watanabe, 2002) (رابطه ۶):

$$A = \frac{\sum_{i=1}^n p_i - q_i}{n}$$

که در این رابطه n تعداد جفت کروموزومهای همولوگ، q_i متوسط طول بازوهای کوچک در هر جفت کروموزوم همولوگ و p_i متوسط طول بازوهای بلند در هر جفت کروموزوم همولوگ می‌باشد.

وضعیت تقارن کاریوتیپی (S%) (Huziwara et al., 1962) (رابطه ۷):

$$S\% = 100 \times (\text{طول بلندترین کروموزوم} / \text{طول کوتاه‌ترین کروموزوم})$$

از شاخص تقارن کاریوتیپی نیز می‌توان برای بررسی وضعیت تقارن کاریوتیپی گونه‌ها استفاده نمود.

شاخص پراکندگی (DI) (Kumari et al., 2011) (رابطه ۸):

$$DI\% = \frac{(CG\% \times CV\%)}{100}$$

که در این رابطه CG% و CV% به شرح زیر قابل محاسبه می‌باشند.

$$CG\% = 100 \times (\text{میانگین طول کل کروموزوم} / \text{میانگین طول بازوهای کوتاه})$$

در صفحه متافازی باقی‌مانده و مناسب‌ترین شرایط را برای مطالعه خواهند داشت (Farsi et al., 2001). نمونه‌های نوک ریشه پس از خروج از پیش‌تیمار به مدت ۱۰ دقیقه شستشو داده شدند و سپس به مدت ۲۰ تا ۲۴ ساعت در محلول تثبیت‌کننده اسید استیک: اتانول (به نسبت ۳:۱) قرار گرفتند. ریشه‌های تثبیت شده به مدت ۷ تا ۱۱ دقیقه در اسیدکلریدریک یک نرمال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (Darlington and La Cour, 1968; Bigazzi and Selvi, 2001). پس از خروج از محلول هیدرولیزکننده نمونه‌های تهیه شده مجدداً با آب مقطر شستشو و در محلول رنگ استوارسین به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. نمونه میکروسکوپی به روش اسکواش تهیه و صفات کروموزومی با استفاده از نرم‌افزار Karyotype analysis اندازه‌گیری شدند. پس از مشاهده صفحات متافازی مناسب، از هر توده، سه سلول با حداکثر وضوح انتخاب و عکس‌برداری به عمل آمد. پس از شمارش تعداد کروموزوم‌های هر توده و میانگین‌گیری از شاخص‌ها در سه تکرار، به محاسبه شاخص‌های سیتوزنتیکی شامل: طول بازوی بلند (L)، طول بازوی کوتاه (S)، طول کل کروموزوم (L+S)، اختلاف طول دو بازو (L-S)، نسبت طول بازوی کوتاه به بلند (S/L)، نسبت بازوی بلند به کوتاه (L/S)، شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A₂)، شاخص‌های عدم تقارن درون کروموزومی (A₁) ضریب عدم تقارن (AI)، شاخص پراکندگی (DI)، شاخص سانترومری (CI)، شکل کلی کاریوتایپ (TF%)، شاخص شباهت اندازه کروموزومی (Rec)، کلاس کاریوتیپی استینز (S.C) با استفاده از روابط ۱ تا ۹ پرداخته شد. برای مقایسه تقارن کاریوتیپی در گونه‌های مورد مطالعه علاوه بر روش‌های مذکور از جدول استینز نیز استفاده شد. این روش، ابزار مناسبی برای تعیین جایگاه کاریوتیپ گونه‌ها از لحاظ تکاملی است (Stebbins, 1971).

شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A₁) (رابطه ۱):

$$A_1 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n \frac{q_i}{p_i}}{n}$$

که در این رابطه n تعداد جفت کروموزومهای همولوگ، q_i متوسط طول بازوهای کوچک در هر جفت کروموزوم

جدول ۲، از بین ۵ توده مورد بررسی (عدد کروموزومی پایه همه توده‌ها ۹ = x بود)، دو توده یزد و قم به صورت تتراپلوئید (۳۶ = ۴x = ۲n) و سه توده گچساران، کلات و خوی، دیپلوئید (۱۸ = ۲x = ۲n) بودند. همچنین بیشترین طول بازوی کوتاه، بلند و مجموع طول بازوهای کوتاه و بلند به توده خوی تعلق داشت و کمترین مقدار این شاخص‌ها نیز در توده یزد مشاهده شد.

در بررسی فرمول کاریوتیپی بر اساس نظر لوان (Levan, 1964) کروموزوم‌های همه توده‌های مورد مطالعه از نوع متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک بودند. علاوه بر این، نتایج حاکی از آن بود که توده قم در گروه کلاس کاریوتیپی IB و توده‌های خوی، کلات، گچساران و یزد در گروه IA قرار می‌گیرند. شایان‌ذکر است با توجه به جدول کلاس کاریوتیپی استنباط می‌توان گفت تقارن کاریوتیپی در توده‌های یزد و خوی و گچساران و کلات بیشتر بوده، اما دو پارامتر شاخص‌های عدم تقارن بین کروموزومی و درصد شکل کلی و پارامترهای عدم تقارن درون کروموزومی و درجه عدم تقارن کاریوتیپی تا حدودی توده‌های مختلف مورد بررسی را از لحاظ تقارن و تکامل کاریوتیپی متمایز می‌سازند. بر این اساس از لحاظ شاخص عدم تقارن، توده قم با داشتن بیشترین میزان A و A₁ و کمترین میزان AI نامتقارن‌ترین کاریوتیپی شناسایی شد و از لحاظ تکامل نیز با توجه به جدول کلاس کاریوتیپی استنباط می‌گردد بالاترین سطح تکاملی قرار می‌گیرد (جدول ۲). در نهایت می‌توان چنین نتیجه گرفت که جمعیت‌های با سطح پلوئیدی پایین‌تر، تقارن بیشتر و جمعیت‌های با سطح پلوئیدی بالاتر، تقارن کمتری داشتند. از لحاظ صفت طول بازوی بلند و کوتاه کروموزومی نیز شرایطی مشابه با حالت قبل مشاهده شد.

همچنین نتایج نشان داد که از لحاظ تیپ کروموزومی، توده قم دارای ۱۱ کروموزوم متاسانتریک و ۷ کروموزوم ساب‌متاسانتریک، توده یزد دارای ۱۵ کروموزوم متاسانتریک و ۳ کروموزوم ساب‌متاسانتریک، توده کلات دارای ۷ کروموزوم متاسانتریک و ۲ کروموزوم ساب‌متاسانتریک، توده گچساران دارای ۵ کروموزوم متاسانتریک و ۴ کروموزوم ساب‌متاسانتریک و توده خوی دارای ۶ کروموزوم متاسانتریک و ۳ کروموزوم ساب‌متاسانتریک بودند (شکل ۱).

۱۰۰ × (میانگین طول کروموزوم‌ها/انحراف استاندارد) = Cv%
طول کروموزوم‌ها برای هر توده)
به‌طور کلی شاخص DI با در نظر گرفتن تغییرات تدریجی در اختصاصی شدن کاریوتیپ، دارای نقش مهمی در مرتب کردن گونه‌های واجد گروه یکسان از لحاظ نامتقارنی کاریوتیپی می‌باشد.

شاخص شباهت کروموزومی (Rec) (رابطه ۹):

$$Rec = \left(\frac{\sum_{i=1}^n \frac{CL_i}{LC}}{n} \right) \times 100$$

که در این رابطه n تعداد کروموزوم مورد تجزیه و تحلیل، CL_i طول هر کروموزوم و LC طول بلندترین کروموزوم را نشان می‌دهد. از این شاخص به‌عنوان شاخص تشابه کروموزومی استفاده می‌شود که میزان بازه تغییرات طول کروموزوم‌ها را در یک سلول گزارش می‌دهد.

پس از محاسبه شاخص‌های مذکور جهت انجام تجزیه واریانس (طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار) و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶۱) استفاده شد. علاوه بر این برای انجام تجزیه خوشه‌ای از نرم‌افزار Minitab (نسخه ۱۶۱) و برای تهیه آیدیوگرام از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

نتایج و بحث

در این تحقیق، بیشترین تعداد سلول‌های دارای کروموزوم در مرحله متافاز در ساعات اولیه روز ۸ تا ۱۰ صبح مشاهده شد. همچنین نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که توده‌های مورد بررسی از نظر شاخص‌های طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، طول کل کروموزوم، نسبت بازوی بلند به کوتاه، درجه عدم تقارن کاریوتیپی، شاخص‌های عدم تقارن بین کروموزومی و درون کروموزومی، ضریب عدم تقارن، شاخص پراکندگی، شاخص تقارن کاریوتیپی، شاخص شباهت اندازه کروموزومی (P<0.01) و شکل کلی کاریوتیپی (P<0.05) اختلاف معنی‌دار آماری داشتند (جدول ۱).

اطلاعات کاریولوژیکی توده‌های مورد بررسی در جدول ۲ و کاریوتیپ و آیدیوگرام آن‌ها به تفکیک توده‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس اطلاعات موجود در

جدول ۱- تجزیه واریانس اطلاعات کاریولوژیکی و کروموزومی توده‌های مختلف خرفه

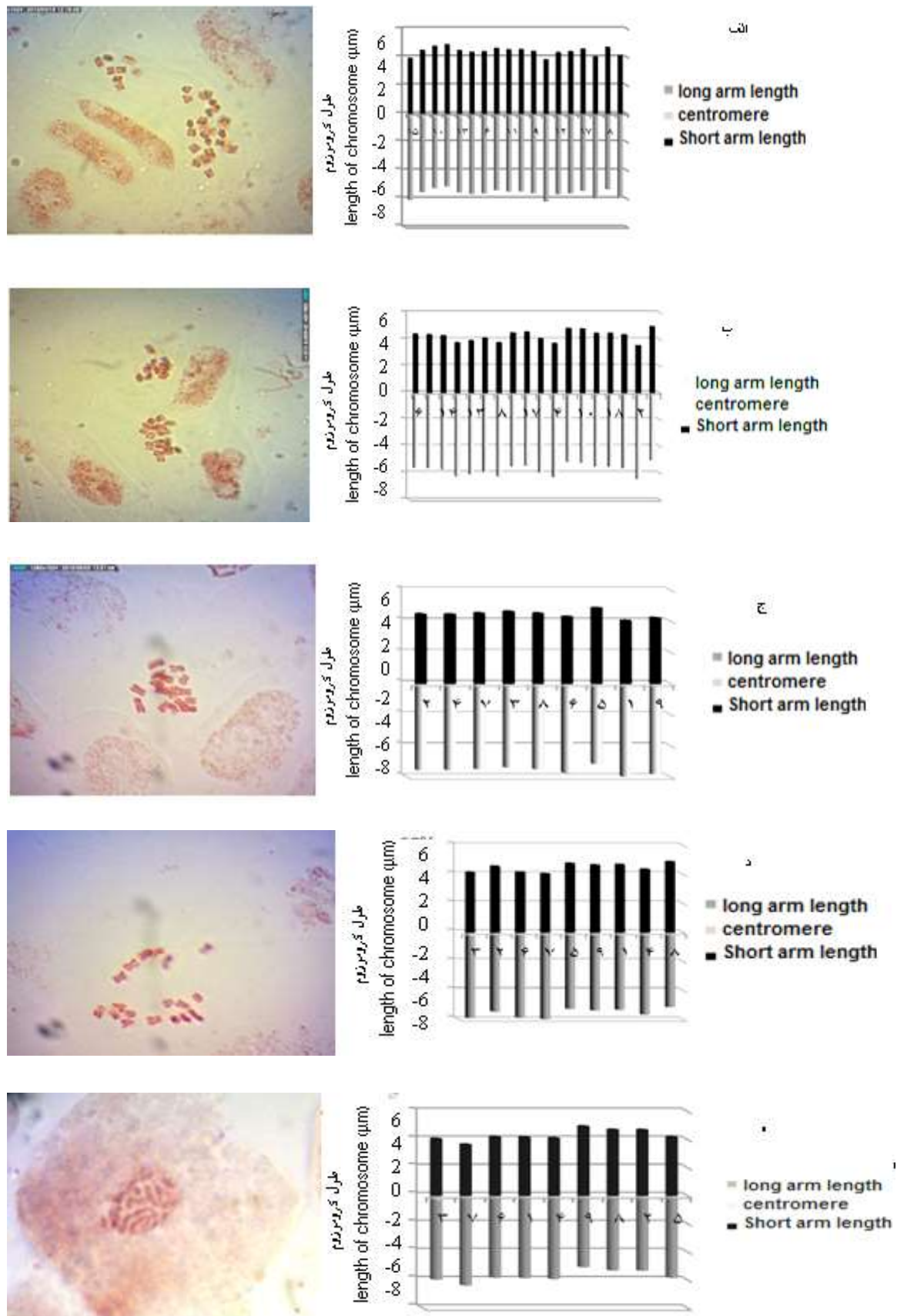
Table 1. Analysis of variance of karyological and chromosomal data of different landraces of purslane

منابع تغییر Sources of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات (Means of squares)														
		طول بازوی کوتاه	طول بازوی بلند	طول کل کروموزوم	اختلاف طول دو بازو	نسبت طول کوتاه به بلند	نسبت طول بلند به کوتاه	عدم تقارن کاریوتیپی	عدم تقارن درون کروموزومی	عدم تقارن بین کروموزومی	ضریب عدم تقارن	شاخص پراکندگی	شاخص سانترومیری	شاخص تقارن	شکل کلی	شاخص شباهت اندازه کروموزومی
		S	L	L+S	L-S	S/L	L/S	A	A ₁	A ₂	AI	DI	CI%	SYI	TF%	Rec
		کوتاه	بلند	کروموزوم	بازو	به بلند	به کوتاه	کاریوتیپی	کروموزومی	کروموزومی	تقارن	شاخص	شاخص	تقارن	کلی	کروموزومی
گونه Species	4	1.521**	2.604**	7.929**	0.140**	0.037 ^{ns}	0.002**	0.015**	0.044**	0.011**	22.809**	19.175**	0.645 ^{ns}	32.876**	3.133*	81.787**
خطا Error	10	0.059	0.068	0.245	0.000	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.006	0.209	0.000	0.661	1.959
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)		3.400	2.900	3.070	0.510	2.000	0.530	9.390	3.460	3.920	0.590	0.820	1.040	0.000	1.840	2.020

جدول ۲- اطلاعات کاریولوژیکی و کروموزومی توده‌های مختلف خرفه

Table 2. Karyological and chromosomal information of different landraces of purslane

توده بومی Landrace	تعداد کروموزوم‌ها 2n	طول بازوی کوتاه	طول بازوی بلند	طول کل کروموزوم	سبب طول اختلاف دو بازو	نسبت طول بلند بازوی کوتاه	نسبت طول بلند بازوی کوتاه	عدم تقارن کاریوتیپی	عدم تقارن درون کروموزومی	عدم تقارن بین کروموزومی	ضریب عدم تقارن	شاخص پراکندگی	شاخص سانترومیری	شاخص تقارن	شکل کلی	شاخص شباهت اندازه کروموزومی	کلاس کاریوتیپی	فرمول کاریوتیپی
		S	L	L+S	L-S	S/L	L/S	A	A ₁	A ₂	AI	DI	CI%	SYI	TF%	Rec	S.c	K.f
قم Qom	36	7.15	9.21	16.36	2.06	0.77	1.28	0.14	0.24	0.13	5.41	5.36	43.70	76.24	43.26	77.10	1B	11m+7sm
یزد Yazd	36	5.93	7.43	13.36	1.50	0.79	1.25	0.11	0.19	0.22	9.69	10.93	44.38	80.41	44.57	68.03	1A	15m+3sm
کلات Kalat	18	7.21	8.93	16.14	1.72	0.80	1.23	0.00	0.00	0.24	10.63	9.38	44.67	82.27	45.14	65.42	1A	7m+2sm
گچساران Gachsaran	18	6.42	8.27	14.69	1.85	0.77	1.28	0.00	0.00	0.29	12.28	10.26	43.70	75.45	43.00	64.01	1A	5m+4sm
خوی Khoy	18	8.07	10.04	18.11	1.97	0.80	1.24	0.00	0.00	0.26	11.92	11.91	44.56	82.40	45.18	71.00	1A	6m+3sm
LSD	-	0.442	0.474	0.900	0.018	0.386	0.005	0.005	0.006	0.005	0.099	0.141	0.832	0.005	1.479	2.546	-	-



شکل ۱- کاربوتیپ (سمت چپ) و آیدیوگرام (سمت راست) توده‌های یزد (الف)، قم (ب)، کلات (ج)، خوی (د) و گچساران (ه).
 Figure 1. Karyotype (left) and ideogram (right) of Yazd (A), Qom (B), Kalat (C), Khoy (D) and Gachsaran (E) landraces, respectively.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی: برای تعیین نقش هریک از صفات کاربوتیپی مورد مطالعه در تنوع بین توده‌ها، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر پایه میانگین شانزده شاخص اندازه‌گیری شده انجام شد. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که سه مؤلفه اول شامل طول بازوی کوتاه، طول بازوی بلند و طول کل کروموزوم در مجموع ۹۷/۶۱۰ درصد از واریانس کل بین جمعیت‌ها را توجیه می‌نمایند؛ بنابراین این شاخص‌ها بیشترین نقش را در تنوع بین توده‌ها نشان دادند (جدول ۳). در بین عامل‌های بررسی شده سه عامل اول، عوامل اصلی بوده و از آن‌جایی که حدود ۹۸ درصد از تنوع موجود را توجیه می‌کند، می‌توان از سایر عوامل چشم‌پوشی کرد.

در این مطالعه گروه‌بندی توده‌های مورد مطالعه بر اساس کلیه صفات کاربوتیپی با استفاده از تجزیه خوشه‌ای نیز نشان داد که در سطح تشابه ۷۰ درصد، توده‌های خوی و کلات در یک خوشه و هر یک از توده‌های گچساران، یزد و قم در شاخه‌های مجزا قرار می‌گیرند (شکل ۲).

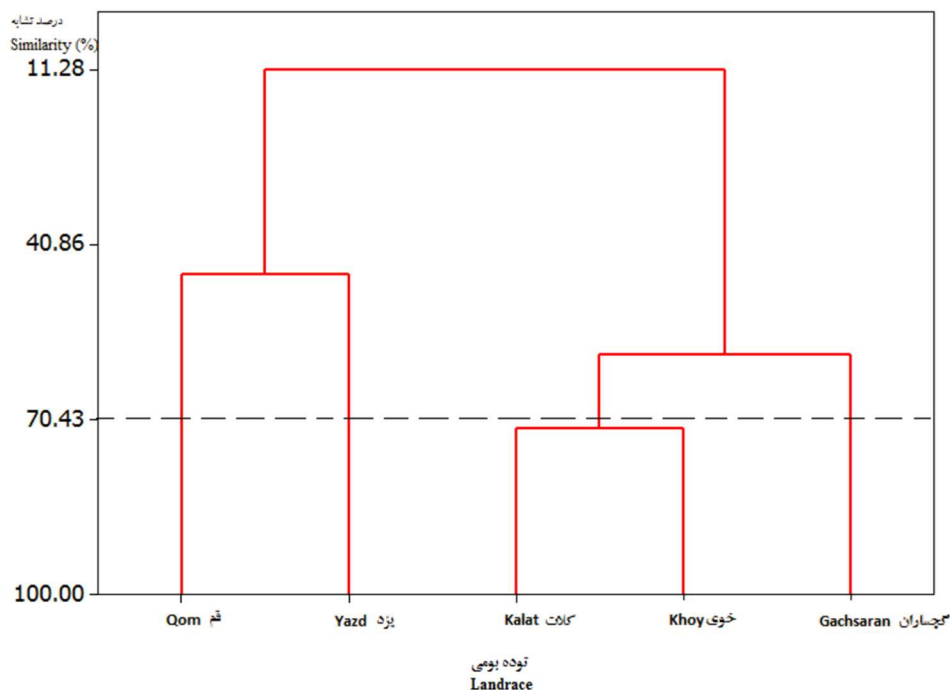
طبق نتایج مطالعه حاضر، بیشترین تعداد سلول‌های دارای کروموزوم در مرحله منافاز در ساعات اولیه روز ۸ الی ۱۰ صبح مشاهده شد که می‌تواند بدان علت باشد که پس از سپری شدن دوره تاریکی شب، تقسیمات سلولی افزایش می‌یابد. در مطالعه قاسمی و همکاران (Ghasemi, et al., 2006) نیز گزارش شد که ساعت‌های مختلف روز در تقسیمات سلول‌ها تأثیر متفاوت دارد و ساعات اولیه صبح را مناسب‌ترین زمان جهت مطالعه کروموزوم‌های درمنه اعلام نمودند. بر اساس نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، عدد پایه کروموزومی توده‌های خرفه مورد بررسی $x=9$ بود که با نتایج مطالعه حسن تهرانی (Hasan Tehrani, 2014) و همچنین مطالعه سوگیورا (Sugiura, 1936) مطابقت دارد. دو توده یزد و قم به‌صورت تتراپلوئید ($2n=4x=36$) بود که مشابه عدد کروموزومی گونه *Portulaca quadrifida* است و سه توده گچساران، خوی و کلات دیپلوئید ($2n=2x=18$) بودند که مشابه عدد کروموزومی گونه *Portulaca sp.* (Kumar Sharma and Bhattacharyya, 1956) فیوراساتو (Furusato, 1940) تعداد کروموزوم‌های *Portulaca gmnidiflora* را ۳۶ عدد به‌دست آورد که با نتایج توده‌های قم و یزد مطابق دارد. یوسفی و همکاران (Yousefi, 2015).

با بررسی تنوع کاربوتیپی گونه‌های جنس Thymus گزارش کردند که سطح پلوئیدی این اکوتیپ‌ها شامل دیپلوئید و تتراپلوئید بود و تمام کروموزوم‌ها از نوع متاستریک بودند. تجزیه خوشه‌ای نیز اکوتیپ‌های مورد بررسی را در چهار گروه قرار داد. غلامزاده و همکاران (Gholamzadeh et al., 2020) در بررسی خصوصیات کاربوتیپی ۲۱ جمعیت از ۱۳ گونه گون دریافتند که بین جمعیت‌ها از نظر صفات اندازه‌گیری شده کروموزومی به استثنای A_1 و A_2 اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در این تحقیق، گونه *Astragalus vegetus* از خراسان بیشترین طول کل کروموزوم و گونه *A. vanilla* از قم کمترین میانگین طول کل کروموزوم را داشتند. با توجه به این‌که پلوئیدی به‌عنوان سازوکار تکاملی اصلی در گیاهان باغی جهت سازگاری با محیط‌های مختلف محسوب می‌شود (Jafarkhani Kermani, 2015) می‌توان چنین استنباط نمود که پلی‌پلوئیدی بیانگر تحمل بالاتر گیاهان با سطح پلوئیدی بیشتر در مناطق گرم و خشک می‌باشد. همچنین نتایج مطالعه قاسمی (Ghasemi, 2004) نشان داد که گونه‌های درمنه پلی‌پلوئید در شرایط محیطی خشک حضور بیشتری نسبت به سایر گونه‌های درمنه داشتند. با توجه به مطالب ذکر شده و نتایج پژوهش حاضر می‌توان گفت که نظر به وضعیت جغرافیایی و اقلیمی استان‌های قم و یزد، دو توده تتراپلوئید قم و یزد نسبت به سه توده دیگر بیشتر در معرض تنش خشکی قرار دارند. افزایش سطح پلوئیدی در توده‌های قم و یزد، ممکن است پاسخ تکاملی برای زیستن در این شرایط پرتنش باشد (Jafarkhani Kermani, 2015; Ghasemi, 2004). استیبینز (Stebbins, 1971) تشکیل پلی‌پلوئیدی را مرتبط با عواملی مانند طبیعت خاک و اختلاف‌های ناحیه‌ای در دما دانست و چنین بیان نمود که پلی‌پلوئیدی باعث افزایش در اندازه سلول و در نتیجه افزایش اندازه واکوئل‌های سلول می‌شود و در نتیجه این تغییرات می‌تواند موجب بالا رفتن ظرفیت آب در گیاه و عامل تحمل بیشتر آن به کم‌آبی باشد. بررسی روند تکاملی نیز نشان داد که در گذر زمان، گیاهان پلی‌پلوئیدی سازگاری بیشتری با محیط‌های مختلف اکتساب نموده و خصوصیات فنوتیپی را نشان دادند که در والدین دیپلوئیدشان وجود نداشت (Jafarkhani Kermani, 2015).

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی: برای تعیین نقش هریک از صفات کاربوتیپی مورد مطالعه در تنوع بین توده‌ها، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر پایه میانگین شانزده شاخص اندازه‌گیری شده انجام شد. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که سه مؤلفه اول شامل طول بازوی کوتاه، طول بازوی بلند و طول کل کروموزوم در مجموع ۹۷/۶۱۰ درصد از واریانس کل بین جمعیت‌ها را توجیه می‌نمایند؛ بنابراین این شاخص‌ها بیشترین نقش را در تنوع بین توده‌ها نشان دادند (جدول ۳). در بین عامل‌های بررسی شده سه عامل اول، عوامل اصلی بوده و از آن‌جایی که حدود ۹۸ درصد از تنوع موجود را توجیه می‌کند، می‌توان از سایر عوامل چشم‌پوشی کرد.

در این مطالعه گروه‌بندی توده‌های مورد مطالعه بر اساس کلیه صفات کاربوتیپی با استفاده از تجزیه خوشه‌ای نیز نشان داد که در سطح تشابه ۷۰ درصد، توده‌های خوی و کلات در یک خوشه و هر یک از توده‌های گچساران، یزد و قم در شاخه‌های مجزا قرار می‌گیرند (شکل ۲).

طبق نتایج مطالعه حاضر، بیشترین تعداد سلول‌های دارای کروموزوم در مرحله منافاز در ساعات اولیه روز ۸ الی ۱۰ صبح مشاهده شد که می‌تواند بدان علت باشد که پس از سپری شدن دوره تاریکی شب، تقسیمات سلولی افزایش می‌یابد. در مطالعه قاسمی و همکاران (Ghasemi, et al., 2006) نیز گزارش شد که ساعت‌های مختلف روز در تقسیمات سلول‌ها تأثیر متفاوت دارد و ساعات اولیه صبح را مناسب‌ترین زمان جهت مطالعه کروموزوم‌های درمنه اعلام نمودند. بر اساس نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، عدد پایه کروموزومی توده‌های خرفه مورد بررسی $x=9$ بود که با نتایج مطالعه حسن تهرانی (Hasan Tehrani, 2014) و همچنین مطالعه سوگیورا (Sugiura, 1936) مطابقت دارد. دو توده یزد و قم به‌صورت تتراپلوئید ($2n=4x=36$) بود که مشابه عدد کروموزومی گونه *Portulaca quadrifida* است و سه توده گچساران، خوی و کلات دیپلوئید ($2n=2x=18$) بودند که مشابه عدد کروموزومی گونه *Portulaca sp.* (Kumar Sharma and Bhattacharyya, 1956) فیوراساتو (Furusato, 1940) تعداد کروموزوم‌های *Portulaca gmnidiflora* را ۳۶ عدد به‌دست آورد که با نتایج توده‌های قم و یزد مطابق دارد. یوسفی و همکاران (Yousefi, 2015).



شکل ۲- خوشه‌بندی توده‌های خرفه بر اساس ۱۶ صفت کاریوتیپی

Figure 2. Cluster analysis of purslane landraces based on 16 karyotypic traits

جدول ۳- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر پایه میانگین شانزده صفت مورد بررسی

Table 3. Principle component analysis (PCA) based on the average of the sixteen investigated traits

صفات Traits	درصد واریانس Percentage of variance	درصد واریانس تجمعی The cumulative percentage
طول بازوی بلند (L)	50.664	50.664
طول بازوی کوتاه (S)	27.081	77.745
طول کل کروموزوم (L+S)	19.866	97.612
اختلاف طول دو بازو (L-S)	50.664	100.000
نسبت طول بازوی کوتاه به بلند (S/L)	15E-4.650	100.000
نسبت بازوی بلند به کوتاه (L/S)	15E-3.385	100.000
درجه عدم تقارن کاریوتیپی (A)	15E-2.994	100.000
شاخص نامتقارن‌ترین بودن درون کروموزومی (A2)	15E-2.275	100.000
شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A1)	15E-1.885	100.000
ضریب عدم تقارن (AI)	15E-1.238	100.000
شاخص پراکندگی (DI)	16E-8.993	100.000
شاخص سانترومری (CI)	16E-3.723	100.000
شاخص نامتقارن بودن کاریوتایپ (K%)	17E-9.841	100.000
شاخص تقارن کاریوتایپ (SYI)	16E-1.548	100.000
شکل کلی کاریوتایپ (TF%)	15E-1.777	100.000
شاخص شباهت اندازه کروموزومی (Rec)	15E-2.526	100.000

در گروه کلاس کاربوتیپی 1B و بقیه توده‌ها در گروه 1A قرار گرفتند. با توجه به نتایج مطالعه حاضر مشخص شد که توده قم نسبت به بقیه توده‌های مورد مطالعه نامتقارن‌تر می‌باشد. باید توجه داشت که با انجام مطالعات کروموزومی سطح پلوئیدی گیاه تعیین می‌شود که در انجام دورگ‌گیری اهمیت دارد، زیرا به‌وسیله هر سطح جدید پلوئیدی خزانه بذری جدیدی به‌دست می‌آید.

به‌طور کلی کاربوتیپ‌های توده‌های مورد مطالعه تقریباً متقارن بودند. از نظر درجه تکاملی، توده‌های مورد بررسی ابتدایی شناخته شدند و همه در کلاس تقارن اول استینیز قرار گرفتند. همچنین از آنجایی که افزایش سطح پلی-پلوئیدی در وضعیت تکامل مؤثر است می‌توان گفت که توده قم و یزد به‌علت تتراپلوئید بودن نسبت به بقیه توده‌ها از نظر تکاملی گیاهانی جدیدتر محسوب می‌شوند. توده قم

References

- Aksu, N., Inceer, H. and Hayırhoğlu-Ayaz, S.** (2013). Karyotype analysis of six *Achillea* L. (*Asteraceae, Anthemideae*) Taxa from Turkey. *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, **66(2)**: 103-108.
- Bigazzi, M. and Selvi, F.** (2001). Karyotype morphology and cytogeography in *Brunnera* & *Cynoglossis* (*Boraginaceae*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, **136**: 365-371.
- Cooper, D.C.** (1935). Microsporogenesis and the development of male gametes in *Portulaca oleracea*. *American Journal of Botany*, **22**: 453-457.
- Dadashian, A., Nosrati, H. and Zarban, A.** (2017). Karyotype study of three populations of *silybum marianum* as a medicinal plant. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, **7**: 62-68.
- Darlington, C.D. and Janati Ammal, E.K.** (1945). *Chromosome Atlas of Cultivated Plants*. George Allen and Unwin Ltd., London, UK.
- Darlington, C.D. and La Cour, L.F.** (1968). *The Handling of Chromosomes*. Allen & Unwin Ltd. London, UK.
- Farsi, M., Ghoraishi-Al Hoseni, J. and Jafari, E.** (2001). Cytogenetical investigation of some species of *Achillea* in Iran. *Agricultural Science Journal*, **4(11)**: 17-37 (In Persian).
- Furusato, T.** (1940). Polyploid plants produced by colchicine. *Journal of Botany and Zoology*, **8**: 130-131.
- Ghasemi, F.** (2004). Ecological study of *Artemisia* species in Kashan. M.Sc., Thesis. Payame Noor University, Faculty of Science, Tehran, Iran (In Persian).
- Ghasemi, F., Jalili, A., Ghamari Zare, A., Asri, Y. and Bakhshi Khaniky, G.** (2006). Karyotypic investigation of *Artemisia* spp. from Kashan, Iran region. *Genetic research and Breeding of Pasture and Forest Plants in Iran*, **14(1)**: 48-55 (In Persian).
- Gholamzadeh, Z., Javadi, H., Pezhmanmehr, M. and Hatami, M.** (2020) Caryologic study of some species of (*Astragalus* spp.) in different habitats of Iran. *Plant Genetic Researches*, **7(1)**: 145-160 (In Persian).
- Grewal, R.C.** (2000). *Medicinal Plant*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Hasan Tehrani, F.** (2014). Survey of morphological traits and ploidy level of some populations of purslane (*Portulaca* spp). M.Sc., Thesis, Faculty of Agricultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran (In Persian).
- Hasani, Z., Amiraie, N., Ahmadi, K. and Omidi, H.** (2021). Effect of priming on seed germination and morpho-physiological traits of *Portulaca oleracea* L. under salinity stress. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, **8(3)**: 293-310 (In Persian).
- Hosseini, F.** (2023). A review of the pharmacological effects and medicinal properties of *purslane*. *Studies of Biological Sciences and Biotechnology*, **8(1)**: 1-7 (In Persian).
- Huziwara, Y.** (1962). Karyotype analysis in some genera of Compositae. VII, Further studies on the chromosome of *Aster*. *American Journal of Botany*, **49**: 116-119.
- Jafarkhani Kermani, M.** (2015). Effect of polyploidy on horticultural and ornamental plants. *9th Horticultural Science Congress*. Ahvaz, Iran (In Persian).
- Kadereit, J.W. and Jeffrey, C.** (2007). *The Families and Genera of Vascular Plants. Flowering Plants, Eudicots, Asterales*. Springer, Berlin, Heidelberg, GE.
- Kumar Sharma, A. and Bhattacharyya, N.K.** (1956). Cytogenetics of some members of *Portulacaceae* and related families, *Caryologia*. **8**: 257-274.

- Kumari, G., Gunjan, B. and Krishna, R.** (2011). Karyotype studies in dominant species of Aloe from eastern India. *Indian Journal of Caryologia*, **63**: 41-49.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A.A.** (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Heredities*, **52(2)**: 201-220.
- Pasazco, B.** (2006). A critical review and a new proposal of Karyotype asymmetry indices, *Plant Systematics and Evolution*, **258**: 39-48.
- Rashed Mohasel, M. H., Najafi, H. and Akbarzade. M.D.** (2001). *Biology and Weed Control*. Ferdowsi University of Mashhad Press, Mashhad, IR (In Persian).
- Romevo-Zarco, C.** (1986). A new method for estimating Karyotype asymmetry. *Taxon*, **36**: 526-530.
- Singh, R.J.** (1993). *Plant Cytogenetics*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Stebbins, G.L.** (1950). *Variation and Evolution in Plants*. Columbia University Press, New York, USA.
- Stebbins, G.L.** (1971). *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. Edward Arnold, London, UK.
- Steiner, E.** (1944). Cytogenetic studies on Talinum and Portulaca. *Botanical Gazette*, **105**: 374-379.
- Sugiura T.** (1936). Studies on the chromosome numbers in higher plants. *Cytologia*, **7**: 544-595.
- Talei, D., Sharifi, R. and Pirsalehi, M.** (2018). Study of morpho-physiological responses of purslane to methyl jasmonate under salinity stress conditions. *Journal of Crops Improvement*, **20(3)**: 665-678 (In Persian).
- Watanabe, W.** (2002). *Index to chromosome in Asteraceae*. Available at: <http://www.lib.kobe-u.ac.jp/products/asteraceae/index.html>.
- Yousefi, V., Najaphy, A., Zebarjadi, A. and Safari, H.** (2014). Investigation of Thymus spp. karyotypic diversity in different regions of Iran. *Plant Genetic Researches*, **1(1)**: 65-76 (In Persian).
- Zabet, M. and Afshari, F.** (2015). Karyotypic analysis of Yarrow (*Achillea* spp) genotypes using multivariate statistical methods. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, **28**: 371-383 (In Persian).
- Zulkarnain, Z.** (2002). Chromosome number in *Swainsona formosa* (Fabaceae). *New Zealand Journal of Botany*, **40**: 331-333.