مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره چهارم، شماره سیزدهم، زمستان ۱۳۹۲

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

# بررسی سیتوژنتیکی جمعیت های صبرزرد (*Aloe vera L.*) در ایران

**فاطمه نجات زاده باراندوزی**

*استادیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوی، خوی، ایران*

## چکیده

**سابقه و هدف:** صبر زرد (*Aloe vera* L.) متعلق به خانواده (Liliaceae)، گیاهان بوته ای دائمی، به ندرت یکساله به ارتفاع ۷۰ تا ۹۰ سانتی متر است که بومی مناطق استوایی، آفریقا، ماداگاسکار و عربستان است و معمولاً در مناطق جنوبی کشور از جمله استان هرمزگان و بوشهر و بلوچستان می روید. تعدادی از گونه های زینتی آن به صورت وسیعی در اروپا و آمریکا برای استفاده از برگ آن و تزئین باغ ها، پارک ها و منازل کاشته می شوند. همچنین به دلیل خواص دارویی ژل موجود در برگهای آن در تهیه داروهای گیاهی نیز از آن استفاده می گردد. با وجود کاربرد وسیع هنوز مطالعه جامعی بر روی این گیاه در ایران صورت نگرفته است.

**مواد و روش ها:** در این تحقیق ۵ جمعیت از (*Aloe vera* L.) و ۵ جمعیت از (*Aloe littoralis* Baker ) جمع آوری شده از مناطق مختلف ایران با استفاده از مریستم انتهایی ریشه مورد مطالعه قرار گرفتند و تعداد و ابعاد کروموزم ها در تقسیم میتوز اندازه گیری و فرمول کاریوتیپی هر جمعیت تعیین شد.

**یافته ها:** تعداد کروموزوم پایه در جمعیت ها، ۷ و از نوع متاسانتریک و ساب تلوسانتریک بود. بیشترین میانگین طول کروموزوم ها مربوط به جمعیت های *Aloe littoralis* ( ۱۲/۷۲ میکرون) و کمترین میانگین طول کروموزوم ها مربوط به جمعیت های *Aloe vera* (۱۰/۴۲ میکرون) بود.جمعیت های مورد مطالعه بر اساس روش استیبنز از نظر کاریوتیپی نیز مورد مقایسه قرار گرفتند. جمعیت های *Aloe vera* در کلاس ۱ و سایر جمعیت ها در کلاس ۲ قرار گرفتند. فقط جمعیت شماره ۸ به تنهایی در گروه ۳ قرار گرفت. بنابراین جمعیت های *Aloe vera* نسبت به بقیه جمعیت ها متقارن تر و ابتدایی تر می باشند. فرمول کاریوتیپی جمعیت های *Aloe vera* بر اساس روش لوان و همکاران، (۶Sm+ ۸St) و جمعیت های *Aloe littoralis* ( ۴Sm+ ۱۰St) تعیین گردید.

**نتیجه گیری:** بررسی سیتولوژیکی این نمونه ها بیانگر تفاوت جزئی در این نمونه ها نسبت به سایر نمونه ها بود.

**کلمات کلیدی:** کروموزوم، سیتوژنتیک، صبر زرد، ایران

## مقدمه

گیاه صبر زرد (*Aloe vera* L.) متعلق به خانواده (Liliaceae) گیاهی است بوته ای، دائمی با ارتفاع ۷۰ تا ۹۰ سانتی متر، برگ ها ضخیم و گوشتی و سر نیزه ای شکل فاقد دمبرگ، حاشیه برگ دارای خارهای نوک تیز بوده و برگ ها به صورت قاعده ای قرار گرفته به رنگ سبز یا مایل به قرمز هستند. گل ها بر روی گل آذین سنبله ای به طول ۱ تا ۱/۵ متر ظاهر می شود. گل در گونه *Aloe vera* زرد رنگ است و در فصل زمستان ظاهر می شود. میوه به صورت کپسول است (۹). جنس Aloe متعلق به خانواده Liliaceae است و یک گونه بومی ایران *Aloe littoralis* Baker دارد که معمولاً در مناطق جنوبی کشور از جمله استان هرمزگان و بوشهر می روید.گونه های دیگر از جمله *Aloe vera* .L (صبر زرد طبی) به ایران وارد شده است. این گیاهان در اصل بومی مناطق استوایی و جنوبی آفریقا، ماداگاسکار و عربستان هستند. ولی به نقاط دیگر دنیا نیز راه یافته اند. در ضمن تعدادی از گونه های زینتی آن به صورت وسیعی در اروپا و آمریکا برای استفاده از برگ آن و تزئین باغ ها، پارک ها و منازل

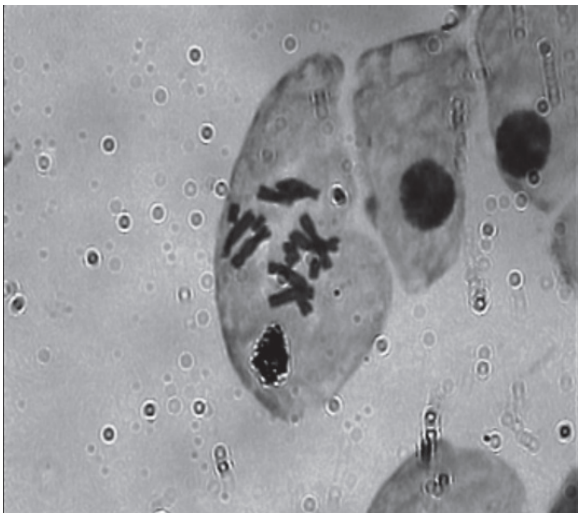
*آدرس نویسنده مسئول : دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه باغبانی*
*Email : Fnejatzadeh@yahoo.com*
*تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۱۰/۰۲*
*تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۲۷*

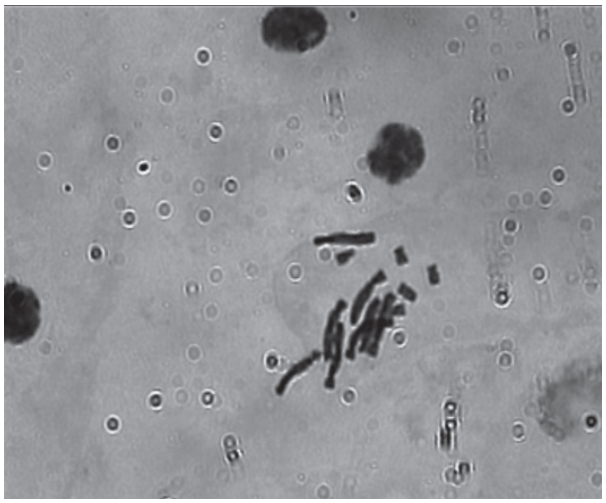
[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.6.5 ]

کاشته می شوند. اکثر گونه های آن مصرف دارویی دارند (۱). بخش دارویی گیاه محتویات برگ یا ژل گیاه است. از گیاه صبر زرد به شکل های متفاوت (ژل و عصاره تازه و غلیظ شده، پودر عصاره و ژل، مایع ژلاتینی استخراجی از برگ) در تهیه داروهای گیاهی، مواد آرایشی و در صنعت استفاده می گردد (۲). ژل و یا عصاره گیاه که در تولید فرآورده های مختلف دارویی به کار می رود به عنوان مسهل، ضدعفونی کننده معده، تقویت کننده دستگاه گوارش، تهیه پماد سوختگی (به دلیل خاصیت بازسازی سلول های از دست رفته بدن در زمان سوختگی)، در درمان دیابت، رفع سوختگی در اثر آفتاب زدگی و از جهت آرایشی، بهداشتی در تهیه کرم های نرم کننده، انواع شوینده های آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد (۱۰). طبق اظهارات آدامز و همکاران (۳) کروموزوم پایه این گونه X = ۷ بود. و اساساً ساختار ژنومی آنها از یک کروموزوم بلند ساب متاسانتریک، سه کروموزوم بلند اکروسانتریک و سه کروموزوم کوتاه اکروسانتریک تشکیل شده است و همه نمونه ها با داشتن ۱۴ کروموزوم دیپلوئید می باشند. ویلوجن و همکاران (۱۲) دو گونه جدید از این جنس را در یمن گزارش کردند که از نظر فرم رویشی، زمان گلدهی و فرم گلها با سایر گونه های شناخته شده متفاوت می باشد. کارتر و همکاران (۴) با جمع آوری جمعیتهایی از این جنس از اریتره و تانزانیا که تصور می شد از یک گونه باشند (*Aloe massawana*) با توجه به تفاوتهای اساسی در ویژگیهای گل، برگ و فرم رویشی آنها دو جمعیت مذکور را دو گونه مجزا تشخیص داده و به جمعیتی که از اریتره جمع آوری شده بود نام جدیدی (*Aloe. eumassawana*) اختصاص دادند. گوستاوو و همکاران ۵() نیز هفت گونه جدید از این جنس را معرفی کرد. لازم به ذکر است که عکس موضوع فوق نیز اتفاق افتاده است، به نحوی که گاهی دو گونه را پس از مطالعات تکمیلی یک گونه قلمداد کرده اند. به عنوان نمونه گوستاوو و همکاران (۵) با استفاده از مطالعات الکتروفورزی گونه های *Aloe. ferox* و *Aloe.candelabrum* را از طریق ۲۳ مقر ژنی مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که تفاوت معنی داری بین این دو گونه وجود ندارد و تفاوتهای مشاهده شده قبلی را نشانی از تنوع محلی و درون جمعیتی قلمداد کردند. هدف از این تحقیق بررسی ویژگیهای سیتولوژی ۱۰ جمعیت صبر زرد جمع آوری شده از مناطق مختلف کشور می باشد، تا به عنوان ابزاری در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقی های بین گونه ای بکار گرفته شود.

## مواد و روش ها

بر اساس منابع موجود به مناطق کشت این گیاهان مراجعه و از انواع این گیاهان نمونه برداری (جدول ۱) و پاجوش های آنها به گلخانه و در گلدان محتوی خاک سبک کشت شدند و هر دو هفته یکبار انتهای ریشه های رشد یافته قطع (شکل ۱) و پس از شستشو با آب مقطر در محلول پیش تیمار آلفا برمونفتالین به مدت ۲ ساعت در یخچال نگهداری شدند.





شکل ۱- متافاز میتوزی گونه های *Aloe vera* و *Aloe littoralis*



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.6.5 ]

جدول ۱- نمونه های جمع آوری شده صبر زرد و رویشگاه آن ها

| Row | Species | Habitate |
|---|---|---|
| 1 | Aloe vera | Borazjan |
| 2 | Aloe vera | Boushehr |
| 3 | Aloe vera | Sar korreh |
| 4 | Aloe vera | Hormozgan |
| 5 | Aloe vera | Bashagerd |
| 6 | Aloe littoralis | Minab |
| 7 | Aloe littoralis | Bandar pol |
| 8 | Aloe littoralis | Bidkhon |
| 9 | Aloe littoralis | Dehno |
| 10 | Aloe littoralis | Asaloye |

این مرحله عملا باعث توقف تشکیل رشته های دوک و یا تخریب و دپلیمریزاسیون رشته ها می شود. مرحله بعد ازتوقف تقسیم سلولی، تثبیت سلول هاست. که در این مرحله از یک فیکساتور استفاده می شود. فیکساتور سلول ها را در همان حال نگه می دارد، چربیها را حل کرده و با تغییر ساختار پروتئین ها، دیواره سلول را بسیار شکننده می کند و به پراکندگی کروموزوم ها بر روی لام کمک می کند. نمونه ها در ادامه پس از شستشو با آب مقطر در محلول فیکساتور فارمر (اتانول و اسید استیک خالص (۱:۳)) قرار داده شدند و در یخچال نگهداری گردیدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت شستشو و در اتانول۹۶ درصد نگهداری شدند. سلولهای گیاهی دارای دیواره سلولی هستند و این دیواره می تواند مانع پراکنش کافی و مناسب کروموزوم ها بر روی لام شود. بنابراین با روشهای هیدرولیز دیواره سلولی را حذف کرده و تهیه لام راحت تر صورت می گیرد. ریشه چه ها در محلول اسید کلریدریک ۱ نرمال به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در حمام آبی ۶۰ درجه هیدرولیز و با هماتوکسیلین به مدت ۴۵ دقیقه در انکوباتور ۶۰ درجه سانتی گراد رنگ آمیزی شدند. پس از اسکواش، ۱۰-۵ پهنه متافازی میتوز سلولهای نوک مریستم ریشه برای هر گونه به وسیله میکروسکوپ نوری مدل Ziess ساخت کشور آلمان مجهز به دوربین عکاسی مطالعه گردیدند.

### تهیه کاریوتیپ، کاریوگرام و ایدیوگرام

عکس های گرفته شده با وضوح بالا و پراکنش مناسب را انتخاب نموده و پس از جدا نمودن کروموزوم ها در Photoshop کروموزوم های همولوگ را در کنار هم قرار داده و کاریوگرام آنها رسم شد. پارامترهای کاریوتیپی نظیر طول کروموزوم (TL)، اندازه بازوی بلند (L)، اندازه بازوی کوتاه (S)، نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه (r-value) و شاخص ضریب سانترومتری (CI) توسط نرم افزار Micromeasure بر حسب میکرون در برنامه Excel ۲۰۰۳ اندازه گیری گردید. دیگر پارامترهای کاریوتیپی مانند طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (٪ S)، اختلاف درصد طول نسبی بزرگ ترین و کوچکترین کروموزوم ( ٪DRL)، درصد شکل کلی( ٪TF)، ضریب نا متقارن بودن درون کروموزومی (A۱) و بین کروموزومی (A۲) با استفاده از روابط ذکر شده در برنامه Excel ۲۰۰۳ محاسبه شدند. برای محاسبه این صفات از میانگین ۵ تا ۱۰ صفحه متافازی استفاده گردید. ایدیوگرام مربوط به هر گونه نیز در برنامه Excel ۲۰۰۳ رسم گردید. برای گروه بندی آنها تجزیه کلاستر (Ward) انجام شد. تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

## یافته ها

### نمونه های *Aloe vera*

تمام نمونه های ***Aloe vera*** دیپلوئید بوده و دارای کروموزوم ۱۴ می باشند. مقدار درصد کلی (TF ٪) برابر با ۲۲/۲۱ و مقادیر اختلاف دامنه طول نسبی ( ٪DRL)، طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (٪ S)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A۱) وشاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A۲) به ترتیب ۷۷/۷۳، ۲۸/۵۵، ۰/۶۴ و ۰/۵۲ محاسبه گردید. میانگین طول کل ژنوم (TL) ۱۰/۴۲ میکرون می باشد. این گونه بر اساس دسته بندی استیبنز در کلاس B ۳ قرار گرفت و فرمول کاریوتیپی آن بر اساس روش لوان و همکاران (۷)، ۸St +۶Sm تعیین گردید.

### نمونه های *Aloe littoralis*

همه نمونه های *Aloe littoralis* دیپلوئید بوده و دارای کروموزوم ۱۴ می باشند. مقدار درصد کلی (TF ٪) برابر با ۲۰/۰۸ و مقادیر اختلاف دامنه طول نسبی ( ٪DRL)، طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (٪ S)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A۱) وشاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A۲) به ترتیب ۷۹/۹۰، ۲۵/۱۳، ۰/۷۲ و ۰/۴۰ محاسبه گردید. میانگین طول کل ژنوم (TL) ۱۲/۷۲ میکرون می باشد. این گونه بر اساس دسته بندی استیبنز در کلاس B ۴ قرار گرفت و فرمول



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25 ]

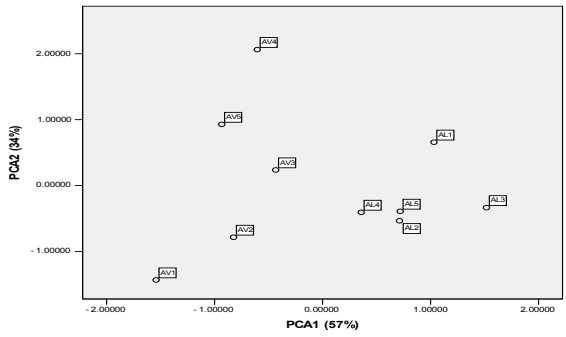
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.6.5 ]

کاریوتیپی آن بر اساس روش لوان و همکاران (۷)، ۱۰St +۴Sm تعیین گردید. تصاویر صفحه متافازی گونه های مورد مطالعه در شکل ۱ و ایدیوگرام مربوط به آن ها در شکل ۲ آورده شده است.

شکل ۲- ایدیوگرام نمونه های مورد بررسی *Aloe vera* و *Aloe littoralis*

### تجزیه و تحلیل داده ها

نتایج تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی (جدول ۲) نشان داد که تفاوت معنی داری بین گونه ها از این نظر وجود نداشته است. به نظر می رسد که دلیل اصلی این عدم تفاوت کلون بودن گونه های مورد بررسی بوده است. همبستگی ساده صفات کاریوتیپی در نمونه های مورد بررسی (جدول ۳) نشان داد که بین صفت r-value و AR و CI همبستگی منفی بسیار معنی دار داشت همچنین بین r-value و L و TL همبستگی منفی دیده شد و TL با S وL همبستگی مثبت بسیار معنی دار داشت. تجزیه به مولفه های اصلی در مورد کل صفات کاریوتیپی نشان داد که مولفه اول، دوم به ترتیب ۵۷ و ۳۴ درصد تغییرات را در بر می گرفتند. به طوری که در نمودار دو بعدی در مجموع ۹۱ درصد تغییرات توجیه می شدند (شکل ۳).




شکل ۳- تجزیه مختصات اصلی بر اساس ماتریس تشابه تطابق ساده از صفات کاریوتیپی برای جمعیت مورد مطالعه صبر زرد

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی

| S.O.V | منابع تغییرات | درجه آزادی df | S | L | میانگین مربعات TL | AR |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Species | گونه گیاهی | 10 | 4.27 | 15.76 | 10.42 | 8.10 |
| Error | خطا | 20 | 2.7 | 10.58 | 13.29 | 3.69 |
| %CV | ضریب تغییرات | | 9.01 | 6.04 | 8.80 | 8.23 |

S: مجموع بازوهای کوتاه، L: مجموع بازوهای بلند، TL: طول کل کروموزوم، AR: نسبت طول بازوی بلند به کوتاه، r-value: نسبت طول بازوی کوتاه به بلند، CI: شاخص سانترومری

## بحث

از لحاظ تعداد کروموزوم پایه عدد کروموزومی ۷ بین گونه ها مشاهده گردید. به طوری که همه جمعیت های صبر زرد با عدد پایه کروموزومی X = ۷ دارای ۱۴ =۲ x = ۲n کروموزوم و همگی دیپلوئید می باشند. تیپ کروموزوم های مورد بررسی در این تحقیق ساب متاسانتریک و اکروسانتریک می باشد، به طوری که تمام کروموزوم های گونه های *Aloe vera* از نوع ساب متاسانتریک و سایر گونه ها تلفیقی از ساب متاسانتریک و اکروسانتریک می باشند. جمعیت های مورد مطالعه بر اساس روش استیبنز (۱۱) از نظر کاریوتیپی نیز مورد مقایسه قرار گرفتند جمعیت های *Aloe vera* در کلاس ۱ و جمعیت های *Aloe littoralis* در کلاس ۲ قرار گرفتند. بنابراین جمعیت های *Aloe vera* نسبت به جمعیت های *Aloe littoralis* متقارن تر و ابتدایی تر می باشند فرمول کاریوتیپی جمعیت های *Aloe vera* بر اساس روش لوان و همکاران (۷)، ۸ St + Sm ۶ و جمعیت های *Aloe littoralis*، ۱۰ St + Sm ۴ تعیین گردید. در این بررسی برای تعیین دوری و نزدیکی جمعیت ها تجزیه خوشه ای بر اساس کلیه صفات کاریوتیپی انجام شد.

جدول۳- ضرایب همبستگی ساده صفات کاریوتیپی در نمونه های مورد مطالعه صبر زرد

| | S | AR | r-value | L |
|---|---|---|---|---|
| S | 1 | | | |
| AR | - 0.52 | 1 | | |
| r - value | 0.482 | - 0.753* | 1 | |
| L | 0.643* | 0.802** | -0.353 | 1 |
| TL | 0.654* | -0.507 | -0.193 | 0.863** |
| CI | 0.64 | -1.00** | 0.98** | - 0.35 |

** و * : به ترتیب معنی دار در سطح پنج درصد و یک درصد



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.6.5 ]

S: مجموع بازوهای کوتاه، L: مجموع بازوهای بلند، TL: طول کل کروموزوم، AR: نسبت طول بازوی بلند به کوتاه، r-value: نسبت طول بازوی کوتاه به بلند، CL: شاخص سانترومری.

شکل ۴ گروه بندی نمونه های صبر زرد مورد بررسی را نشان می دهد نتایج نشان داد که نمونه ها در دو گروه قرار گرفتند. گروه اول شامل جمعیت های *A.vera* بوده و جمعیت های *Aloe littoralis* مورد مطالعه در گروه دوم قرار گرفتند. فقط جمعیت شماره ۸ از *Aloe littoralis* به تنهایی در گروه ۳ قرار گرفت. با توجه به این که عدد کروموزومی و فرمول کاریوتیپی این نمونه هم مشابه با بقیه جمعیت های *Aloe littoralis* بود احتمال می رود که شرایط محیطی باعث بروز این تفاوت شده است. گونه های *Aloe littoralis* مورد بررسی بومی ایران می باشند که در این تحقیق برای اولین بار مطالعات کروموزومی آنها انجام شد. نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققین در مورد صبر زرد موید نتایج این تحقیق می باشد (۳و۴). شمارش تعداد کروموزوم ها و اندازه گیری ابعاد آنها و تعیین اختلاف احتمالی بین کروموزوم گونه های مختلف می تواند به عنوان ابزاری در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقی های بین گونه ای بکار گرفته شود (۶و۸). مطالعات سیتوژنتیکی لازم است تا نتایج حاصل از دورگ های بین گونه های دیپلوئید و تتراپلوئید به مرحله ثبات و پایداری لازم از نظر ویژگیهای کاریوتیپی برسد. نتایج حاصل از این تجزیه جهت رده بندی گونه ها و انتخاب گونه های نزدیک به یکدیگر برای انجام تلاقی بین گونه ای استفاده می شود.

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.6.5 ]

## منابع


۱. سعیدی، ح.ا. (۱۳۸۲). سیستماتیک گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان. ۲۱۲ صفحه.

۲. محمدی، غ. (۱۳۷۳). صبر زرد. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع تهران.

3. Adams SP, Leitch LJ, Benntt MD, Chase MW, Leitch AR. Ribosomal DNA evolution and phylogeny in *Aloe* (*Asphodelaceae*). American Journal of Botany, 2000; 87: 1578-1583.

4. Carter S, Sebsebe- Demissew M, Gilbert MG, Demissew S. The identity of the Massawa *Aloe*. Kew Bulletin, 1996; 51: 775-776.

5. Gustavo RGS, Maria ML, Graciela PA, Luisa SC. Cytogenetic heterogeneity in common haplogyne spiders from Argentina (Arachmida, Araneae). Journal of Arachnology, 2002; 30: 47-56.

6. Gutterman Y and Chauser-Volfson E. The content of secondary phenol metabolites in pruned leaves of *Aloe arborescens*, a comparison between two methods: leaf exudates and leaf water extract. Journal of Natural Medicine, 2008; 62: 430–435

7. Levan AK, Fredga A, Sandberg R. Nomenclature for centromeric position of chromosomes. Hereditas, 1964; 52: 201-220

8. Kuzuya H, Tamai I, Beppu H, Shimpo K, Chihara T. Determination of aloenin, barbaloin and isobarbaloin in *Aloe* species by micellar electrokinetic chromatography. Journal of Chromatography B, 2001; 752: 91–97.

9. Nayanakantha NMC, Singh BR, and Gupta AK. Assessment of genetic diversity in *Aloe* germplasm accessions from India using RAPD and morphological markers. Ceytematic Journal of Science, 2010; 39: 1-9.

10. Parihar MS, Chaudhary M, Shetty R, and Hemnani T. Susceptibility of hippocampus and cerebral cortex to oxidative damage in streptozotocin treated mice: prevention by extracts of *Withania somnifera* and *Aloe vera*. Journal of Clinical Neuroscience, 2004; 11: 397-402.

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

12. Viljoen AM, Van Wyk B-E, and Van Heerden F.R. Distribution and Chemotaxonomic significance of flavonoids in Aloe. Plant Systematics and Evolution, 1998; 211: 31-42.


[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2024-04-25 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.6.5 ]