مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۱، شماره ۲، ۱۳۸۹ (۲۳۴-۲۲۵)

شناسایی سیتوتیپ‌های گندم نیا *Aegilops crassa* از ایران و تعیین صفات ریختی متمایزکننده آنها

مجتبی رنجبر[۱]*، محمدرضا نقوی[۲]، عباسعلی زالی[۳]، محمد جعفر آقایی[۴] و عیسی ظریفی[۵]
۱، ۲، ۳، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادان پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۴، ۵، استادیار و محقق مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، بخش ژنتیک
(تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱- تاریخ تصویب: ۸۸/۷/۸)

چکیده

به منظور شناسایی سطح پلوئیدی جمعیت‌های آژیلوپس کراسای (*A. crassa*) بومی ایران، ۶۷ نمونه جمع‌آوری شده از نقاط مختلف ایران با دو روش فلوسایتومتری و سیتوژنتیکی مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس مقایسه نسبت شدت فلورسنس نمونه‌های آژیلوپس کراسا با آژیلوپس تائوشی (به عنوان شاهد) دو سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید در نمونه‌های بومی ایران شناسایی شد. مطالعات سیتوژنتیکی با نتایج فلوسیتومتری وجود دو سیتوتیپ در آژیلوپس کراساهای بومی ایران را تایید نمود. سیتوتیپ تتراپلوئید دامنه‌ای از طول کروموزوم از ۱۳/۸۸±۰/۶۵ میکرومتر (بلندترین کروموزوم) تا ۸/۷۵±۰/۴۳ میکرومتر (کوتاه‌ترین کروموزوم) با متوسط طول کروموزوم ۱۱/۲۱±۰/۲۰ میکرومتر و طول کل ژنوم ۱۵۶/۸۸ میکرومتر بود. تیپ کروموزوم‌ها در سیتوتیپ تتراپلوئید به جز کروموزوم‌های شماره ۴، ۸ و۱۳ از نوع متاسنتریک بوده و این ۳ کروموزوم از نوع ساب متاسنتریک بودند، که اندازه نسبت بازوی کروموزوم آنها به ترتیب ۱/۷۰±۰/۱۰، ۲/۱۶±۰/۱۷ و ۱/۸۴±۰/۱۲ میکرومتر بوده است. سیتوتیپ هگزاپلوئید که طول کروموزوم‌های آن از ۱۲/۹۵±۰/۵۶ میکرومتر (بلندترین کروموزوم) تا ۷/۵۳±۰/۳۴ میکرومتر (کوتاهترین کروموزوم) تغییر می‌کرد. متوسط طول کروموزوم در این سیتوتیپ ۱۰/۳۵±۰/۲۳ میکرومتر و طول کل ژنوم ۲۱۷/۳۹ میکرومتر بود. تیپ کروموزوم‌های این سیتوتیپ عمدتاً از نوع متاسنتریک بود ولی کروموزوم شماره ۳ به صورت ساب متاسنتریک با اندازه نسبت بازوی کروموزوم ۱/۷۶±۰/۰۲ میکرومتر بود و سه جفت ماهواره بر روی کروموزوم‌های شماره ۳، ۶ و۱۰ وجود داشت، که اندازه آنها به ترتیب ۱/۰۹، ۲/۰۹ و ۱/۵۴ میکرومتر بود. نتایج آزمون مقایسه سیتوتیپ‌ها از نظر صفات مورفولوژیکی نشان داد که صفات ارتفاع، طول برگ پرچم، رنگ گلوم و کرک گلوم دارای تفاوت معنی‌داری در دو سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید می‌باشند و بنابراین از این صفات می‌توان برای شناسایی این دو نوع سیتوتیپ استفاده نمود.

واژهای کلیدی: آژیلوپس کراسا، سیتوتیپ، فلوسایتومتری، ماهواره.

مقدمه

جنس آژیلوپس شامل ۱۱ گونه دیپلوئید و ۱۲ گونه پلی‌پلوئید می‌باشد (Van Slegeren, 1994). تمامی گونه‌های دیپلوئید دارای ژنوم متمایز می‌باشند و به

* نویسنده مسئول: مجتبی رنجبر تلفن: ۰۹۱۱-۳۲۰۴۳۹۳ E-mail: ranjbarf@ut.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

آسانی از طریق خصوصیات مورفولوژیکی قابل تشخیص می‌باشند. در مقابل مرز مورفولوژیکی بین گونه‌های آژیلوپس پلی‌پلوئید نا مشخص و تعداد زیادی از آنها دارای فرم‌های حدواسط می‌باشند (Zohary, 1966). با توجه به نقش اساسی پلی‌پلوئیدی در تکامل گونه‌های تریتیکوم و آژیلوپس که در اوایل قرن بیستم شناسایی شده است (Sax, 1922)، کیهارا گزارشات متعددی را درباره تکامل ژنتیکی و ارتباط ژنتیکی بین این گونه‌ها نوشته است (Kihara & Tanaka, 1970). تحقیقات در مورد منشا آژیلوپس های پلی‌پلوئید نشان داد که ژنوم بعضی از گونه‌ها بسیار شبیه ژنوم دیپلوئیدهای اجدادی است. در حالیکه برخی ژنها در بعضی از گونه‌ها تغییر یافته‌اند، در ادامه تحقیقات کیهارا پیشنهاد کرد که یکسری گونه‌های از بین رفته، دهنده این ژنوم‌های تغییریافته به این گونه‌های پلی‌پلوئید بوده یا این ژنها در طی تکامل به صورت معنی‌داری بازترتیبی[1] مجدد یافته‌اند (Kihara, 1963).

تاکنون ۳ ژنوم محوری در جنس آژیلوپس شناسایی شده است، که بر اساس آن همه گونه‌های پلی‌پلوئید به ۳ کلاستر دسته‌بندی شدند. یکی از این کلاسترها شامل ژنوم D می‌باشد که شامل یک گونه دیپلوئید و ۵ گونه پلی‌پلوئید می‌باشد (Badeava et al., 2004). یکی از این گونه‌های پلی‌پلوئید آژیلوپس کراسا می‌باشد که شامل ۲ سیتوتیپ تتراپلوئید ($2n=4x=28$, D_1D_1XX) و هگزاپلوئید ($2n=6x=42, D_1D_1XX\ D_2D_2$) می‌باشد. در مطالعات آنالیز جفت شدن کروموزوم‌های میوزی در دورگ‌گیری بین آژیلوپس کراسا تتراپلوئید و هگزاپلوئید نشان داده شده است که شکل هگزاپلوئید از دورگ‌گیری بین آژیلوپس کراسا تتراپلوئید و آژیلوپس تائوشی به وجود آمده است (Kimber& Zhao, 1983; Dubkovsky & Dvorak, 1995).

آژیلوپس کراسا دارای درجه بالایی از تنوع مورفولوژیکی بوده و در ناحیه وسیعی شامل (ترکیه، فلسطین، لبنان، سوریه، عراق، ایران، افغانستان، ترکمنستان و کوه‌های آلتای) پراکنش یافته و بصورت یک علف هرز در دامنه‌های سنگی و استیپ و کنار جاده‌ها رشد می‌کند (Van Slegeren, 1994). در آنالیز دورگ‌گیری بین گونه‌ای پیشنهاد شده که یکی از ژنوم‌های آژیلوپس کراسا تتراپلوئید از ژنوم D آژیلوپس تائوشی مشتق گردیده و سپس در طی گونه‌زایی مشمول تغییرات اساسی گردیده است (Badeava et al., 2002). همچنین فرضیه ای وجود دارد که ژنوم دیگر آن یعنی ژنوم M از آژیلوپس کموسا[2] بدست آمده است (Kihara & Tanaka, 1970; Kimber & Feldman, 1987). در بررسی‌های DNAی کلروپلاست و میتوکندری نشان داده شده است که سیتوتیپ‌های هگزاپلوئید و تتراپلوئید آژیلوپس کراسا دارای نوع سیتوپلاسم D_2 بوده که با همه پلاسمون‌های گونه‌های دیپلوئید شناخته شده متفاوت می‌باشد. هر چند پیشنهاد شده است که D_2 را ممکن است از ژنوم سیتوپلاسمی آژیلوپس تائوشی گرفته باشد (Tsunewaki, 1993). همچنین مشخص شده است که دو ژنوم موجود در آژیلوپس کراسای تتراپلوئید اساساً تغییر یافته است (Zhang & Dvorak, 1992; Tsunewaki, 1993).

در یکسری مطالعات دیگر با بررسی ۱۹ نمونه آژیلوپس کراسا از چند کشور مشخص شده دو جابجایی دو طرفه در نمونه‌های تتراپلوئید رخ داده است. هر چند در بعضی از نمونه‌های ایران جابه جایی انجام نشده است (Badeava et al, 1998). نواربندی نوع c[3] و الگوی دورگ‌گیری در محل[4] (ISH) در کروموزوم ژنوم X و D تتراپلوئید متفاوت از همه گونه‌های آژیلوپس کراسا هگزاپلوئید نشان داده شد (Badeava et al., 1998). بطوریکه این تغییرات بعلت بازترتیبی که در این نمونه‌ها در طی گونه زایی اتفاق افتاده می‌باشد. نواربندی نوعc و الگوی هیبریداسیون در محل در ژنوم D_2 هگزاپلوئید خیلی شبیه کروموزوم ژنوم D آژیلوپس تائوشی می‌باشد (Friebe et al., 1992; Badeava et al., 1998). همچنین این محققان در ادامه بیان کردند که آژیلوپس کراسا تتراپلوئید دارای دو جفت ماهواره در کروموزوم‌های (H و M) بوده و کروموزوم H بیشتر متاسنتریک و کروموزوم M ساب متاسنتریک می‌باشد،

1. Rearrangement

2. *Aegilops comosa*
3. C-banding
4. In situ hybridization

Archive of SID

www.SID.ir

در حالیکه در هگزاپلوئید ۳ جفت ماهواره وجود دارد که کروموزوم M و کروموزوم H را از تتراپلوئید گرفته و سومین ماهواره را از ژنوم D_2 که بر روی کروموزوم $5D_2$ قرار دارد، گرفته است (Badeava et al., 1998).

Pfosser et al. (2006) با اندازه‌گیری میزان DNA هسته‌ای بوسیله دستگاه فلوسایتومتری، اضافه شدن یا از دست دادن یک کروموزوم یا بازوی کروموزومی را در تریتیکاله و لاین‌های حاصل از تلاقی بین گندم و چاودار تشخیص دادند. میزان DNA هسته‌ای این گیاهان در مقایسه با میزان DNA هسته‌ای هم خانواده آنها که یوپلوئیدی می‌باشد محاسبه شد و این بررسی نشان داد کمترین تفاوت در سطح DNA در بین گیاهان یوپلوئید و آنیو پلوئید برابر با ۱/۸۴٪ می‌باشد. این افراد بیان کردند که از روش فلوسایتومتری به عنوان یک روش آسان و موثر برای تشخیص گیاهان آنیوپلوئید و یوپلوئید در گندم و تریتیکاله می‌توان استفاده کرد.

از آنجائی که در ایران کاری در خصوص مطالعه سیتوتیپ‌های آژیلوپس کراسای بومی ایران صورت نگرفته است، هدف از این تحقیق شناسایی این سیتوتیپ‌ها و همچنین شناسایی نشانگرهای مورفولوژیکی متمایزکننده دو نوع سیتوتیپ تترا و هگزاپلوئید این گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق از ۶۷ نمونه آژیلوپس کراسای بومی ایران که توسط بخش ژنتیک و ذخایر توارثی موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر از مناطق جغرافیایی مختلف جمع‌آوری شده بود استفاده گردید (جدول ۱).

مطالعه پلوئیدی با استفاده از روش فلو سایتومتری

برای تعیین سطح پلوئیدی آژیلوپس کراساهای بومی ایران با دستگاه فلوسایتومتری (ساخت کشور آلمان)، از گونه آژیلوپس تائوشی به عنوان شاهد با سطح پلوئیدی مشخص (دیپلوئید) استفاده شد (چون برای تعیین سطح پلوئیدی یک نمونه نامشخص باید از یک نمونه هم خانواده آن با سطح پلوئیدی مشخص استفاده کرد ما در اینجا از آژیلوپس تائوشی به عنوان شاهد استفاده کردیم). روش کار بر اساس روش Bagwell et al. (1989) بوده که برای تخمین سطح پلوئیدی نمونه‌های آژیلوپس کراسا ازمقایسه نسبت شدت فلورسنس نمونه‌های آژیلوپس کراسا با نمونه شاهد آژیلوپس تائوشی ($^{P2}/_{P1}$) استفاده گردید. در ابتدا چهار برگ از هر نمونه به حجم $۰/۵cm^۲$ در داخل ۴۰۰µl بافر استخراج (محلولA) در دمای اتاق کاملاً خرد گردید (محلولA: عمل جداسازی هسته‌ها را از برگ انجام می‌دهد). سپس سوسپانسیون حاصل از یک صافی نایلون ۴۰µm فیلتر شده و در ادامه با ۱۶۰۰µl محلول DAPI (محلول B) حداقل برای مدت ۲ دقیقه مخلوط گردید (محلول B: عمل رنگ‌آمیزی هسته‌ها را انجام می‌دهد). سپس سوسپانسیون هسته‌ها با دستگاه فلوسیتومتری CA-III آنالیز شدند (Bagwell et al., 1989).

مطالعه سیتوژنتیک

به منظور مطالعات سیتوژنتیکی از مریستم‌های نوک ریشه بر روی کاغذ صافی در پتری دیش استفاده شد. برای این منظور ابتدا بذرها با محلول آب ژاول (۹:۱) به مدت ۳۰ دقیقه ضد عفونی شدند و برای به دست آوردن مریستم ریشه‌ای در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد روی کاغذ صافی در پتری‌دیش جوانه دار شدند. مریستم‌های بدست آمده از گیاهچه‌ها، در محلول ۸-هیدروکسی کوئینولین در دمای۶-۴ درجه سانتی‌گراد تیمار و در محلول لویتسکی (Lewitsky) تثبیت گردیدند. سپس نوک ریشه‌ها در NaoH یک نرمال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰دقیقه هیدرولیز و با استو آیرون هماتوکسیلین در دمای ۳۲-۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت رنگ‌آمیزی شدند (Agayev, 2002; Zarifi et al., 2005).

جهت مطالعات میکروسکوبی برای از بین بردن دیواره سلول‌ها از آنزیم سیتاز استفاده شد. در یک قطره اسید استیک ۴۵ درصد اسکواش نمونه میکروسکوبی تهیه گردید و با بزرگنمائی ۱۰۰۰X، پنج صفحه متافازی مناسب عکسبرداری گردید و برای تهیه کاریوتیپ و پارامترهای کروموزوم‌ها شامل طول بازوی کوتاه (SA)، طول بازوی بلند (LA)، نسبت بازوها (AR)، شاخص سانترومری (CI بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم)، تیپ سانترومری براساس روش Levan et al. (1964)، ماهواره (Sat)، اختلاف درصد طول نسبی

Archive of SID

www.SID.ir

بزرگترین و کوچکترین کروموزوم (DRL ٪)، طول نسبی کروموزوم (RL٪)، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A_1)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A_2)، درصد چندشکلی (TF٪)، فرمول کروموزومی و برای تعیین وضعیت تکاملی و مطالعه تقارن کاریوتیپی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از جدول دو طرفه کلاس تقارن (SC) روش Stebbins (1971) استفاده شد. برای ارزیابی این پارامترها از نرم‌افزار Micromeaser استفاده شد (Zarifi et al., 2005).

صفات مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده

به منظور ارزیابی مورفولوژیکی هر نمونه آژیلوپس کراسا در یک کرت به طول و عرض یک متر و فاصله بوته‌های داخل ردیف ۵ سانتی‌متر در قالب یک طرح بلوک کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت گردید. پانزده صفت کمی شامل تعداد سنبلچه در سنبله، عرض گره محور سنبله (میلی‌متر)، تعداد برگ زیر خوشه، طول گره محور سنبله (سانتی‌متر)، تعداد بذر در سنبلچه، عرض گلوم سنبلچه (میلی‌متر)، طول گلوم سنبلچه (سانتی‌متر)، تعداد گره در ساقه، طول برگ پرچم (سانتی‌متر)، طول سنبله (سانتی‌متر)، قطر سنبله (میلی‌متر)، قطر ساقه (میلی‌متر)، طول دانه (سانتی‌متر)، عرض دانه (میلی‌متر) و ارتفاع (سانتی‌متر) برای هر تکرار بر اساس ۵ بوته تصادفی یاداشت و میانگین ۵ بوته در تجزیه‌ها استفاده شد.

جدول۱- سطح پلوئیدی و محل جمع‌آوری آژیلوپس کراسا بومی ایران

محل جمع‌آوری	سطح پلوئیدی	شماره	محل جمع‌آوری	سطح پلوئیدی	شماره
خراسان شمالی	4x	۳۶	همدان	4x	۱
ایلام	4x	۳۷	ایلام	4x	۲
ایلام	4x	۳۸	آذربایجان غربی	4x	۳
فارس	4x	۳۹	زنجان	4x	۴
زنجان	4x	۴۰	آذربایجان غربی	4x	۵
آذربایجان غربی	4x	۴۱	آذربایجان غربی	4x	۶
آذربایجان غربی	4x	۴۲	قزوین	4x	۷
کرمانشاه	4x	۴۳	فارس	4x	۸
قزوین	4x	۴۴	ایلام	4x	۹
کرمانشاه	4x	۴۵	فارس	4x	۱۰
کرمانشاه	4x	۴۶	چهارمحال وبختیاری	4x	۱۱
کردستان	4x	۴۷	کرمانشاه	4x	۱۲
آذربایجان غربی	4x	۴۸	آذربایجان غربی	4x	۱۳
آذربایجان شرقی	4x	۴۹	لرستان	4x	۱۴
ایلام	4x	۵۰	فارس	4x	۱۵
مرکزی	4x	۵۱	آذربایجان غربی	4x	۱۶
آذربایجان غربی	4x	۵۲	کردستان	4x	۱۷
فارس	4x	۵۳	آذربایجان غربی	4x	۱۸
خراسان شمالی	4x	۵۴	ایلام	4x	۱۹
کرمانشاه	4x	۵۵	چهارمحال وبختیاری	4x	۲۰
مرکزی	4x	۵۶	ایلام	4x	۲۱
خراسان شمالی	4x	۵۷	ایلام	4x	۲۲
لرستان	4x	۵۸	خوزستان	4x	۲۳
کردستان	4x	۵۹	زنجان	4x	۲۴
کرمانشاه	4x	۶۰	زنجان	4x	۲۵
خراسان رضوی	6x	۶۱	کردستان	4x	۲۶
خراسان رضوی	6x	۶۲	همدان	4x	۲۷
ایلام	6x	۶۳	کرمانشاه	4x	۲۸
کرمانشاه	6x	۶۴	فارس	4x	۲۹
خراسان رضوی	6x	۶۵	کرمانشاه	4x	۳۰
خراسان رضوی	6x	۶۶	کرمانشاه	4x	۳۲
خراسان رضوی	6x	۶۷	همدان	4x	۳۴
			آذربایجان غربی	4x	۳۵

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین هشت صفت کیفی شامل: عادت رشد (۱-ایستاده ۷۰-۹۰درجه ۳- نیمه ایستاده ۳۰-۷۰ درجه ۵- خوابیده کمتر از ۳۰ درجه)، رنگ ساقه (۱- سبز کم رنگ ۳- سبز پر رنگ ۵- ارغوانی و سبز ۷- ارغوانی)، شکنندگی محور سنبله (۱- خیلی شکننده ۳- متوسط ۵- محکم)، رنگ گلوم (۱- سفید ۲- قرمز تا قهوه‌ای ۳- ارغوانی تا سیاه)، کرک گلوم (۱- فاقد کرک ۳-خیلی کم ۵- متوسط ۷-زیاد)، رنگ پرچم (۱- سبز ۲- زرد ۳- بنفش)، کرک ساقه (۱-فاقد کرک ۳- خیلی کم ۵- متوسط ۷- زیاد) و بافت دانه (۳- آردی ۵- نیمه‌شیشه‌ای ۷- شیشه‌ای) برای هر نمونه یاداشت گردید. به منظور تشخیص صفات مورفولوژیکی کمی متمایزکننده سیتوتیپ‌های هگزا پلوئید و تترا پلوئید از آزمون t استیودنت جفت نشده و برای صفات کیفی از آزمون مانویتنی استفاده گردید (Ranjbar et al., 2007).

نتایج و بحث

مطالعه فلوسایتومتری

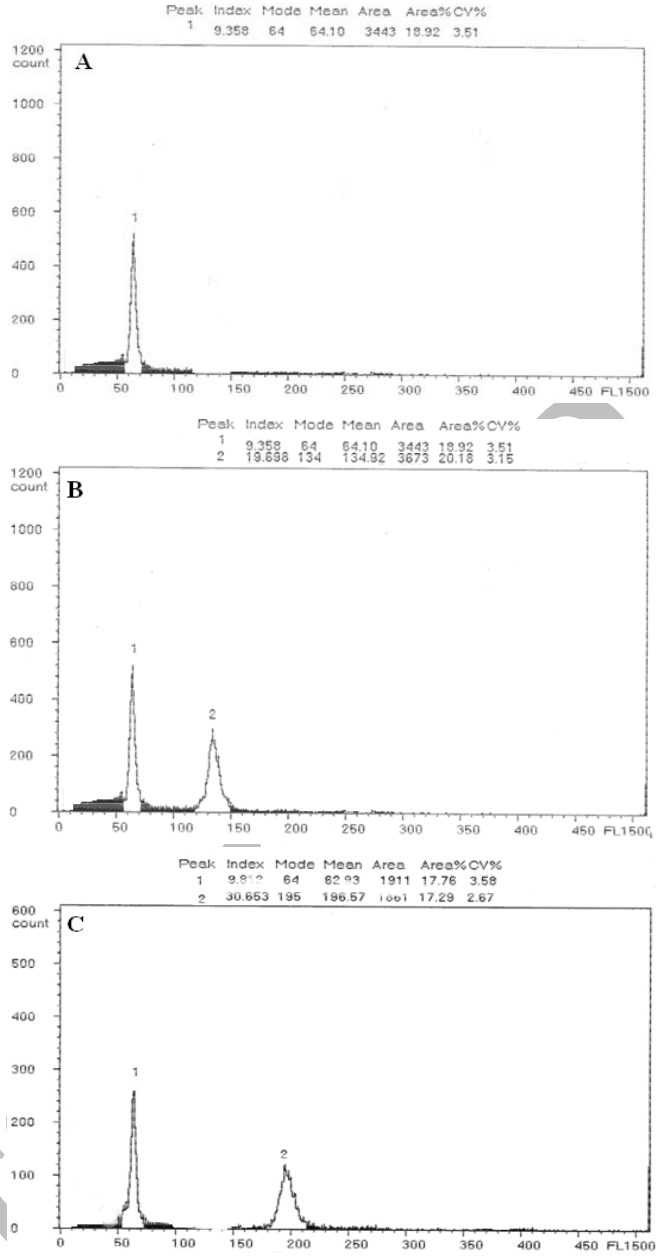
به منظور تعیین سطح پلوئیدی ۶۷ نمونه آژیلوپس کراسای بومی ایران از طریق دستگاه فلوسایتومتری، نسبت میزان DNA هسته برگ از نمونه‌های آژیلوپس کراسا و گیاه شاهد آژیلوپس تائوشی مورد مطالعه قرار گرفت. در ابتدا یک نمونه از گیاه شاهد را در محلول استخراج خرد کرده و هسته‌ها را بوسیله DAPI رنگ‌آمیزی شده و تا پیک G_1 (مد) آن و شدت فلورسنس هسته‌های آن مشخص شود. همانطور که در شکل (1A) مشاهده می‌کنیم مد آژیلوپس تائوشی برابر ۶۴ و شدت فلورسنس هسته‌ها در حدود ۷۰-۶۰ و ضریب تغییرات کمتر از ۵٪ می‌باشد. سپس با بررسی همزمان شاهد و نمونه‌های مورد بررسی هرگاه پیک G_1 و شدت فلورسنس نمونه‌های مورد بررسی ۲ برابر گیاه شاهد بدست آمد نمونه مورد بررسی تتراپلوئید در نظر گرفته شدند. همانطوری که در شکل 1B مشاهده می‌شود پیک شماره ۲ بیانگر یک نمونه آژیلوپس کراسای تتراپلوئید می‌باشد که دارای مد ۱۳۴ و شدت فلورسنس ۱۴۰-۱۲۰ است که نسبت به مد و شدت فلورسنس شاهد ۲ برابر می‌باشد. اما در شکل 1C نمونه پیک ۲ دارای مد ۱۹۵و شدت فلورسنس ۲۱۰-۱۸۰ است، که نسبت به مد و شدت فلورسنس شاهد ۳ برابر بوده که تأیید کننده وجود آژیلوپس کراسای هگزاپلوئید در نمونه‌های ایران می‌باشد. در این تحقیق با بررسی ۶۷ نمونه آژیلوپس کراسا بومی ایران ۶۰ نمونه سیتوتیپ تتراپلوئید (D_1D_1MM) و ۷ نمونه سیتوتیپ هگزا پلوئید ($D_1D_1MMD_2D_2$) مشخص گردید. اگرچه وجود سیتوتیپ‌های آژیلوپس کراسای تترا پلوئید قبلا در ایران گزارش شده بود (Kihara, 1957) ولی این گزارش اولین بار وجود آژیلوپس کراسای هگزاپلوئید را نیز در ایران نشان می‌دهد. از این روش به کرات در مطالعات برای تعیین سطوح پلو ئیدی نمونه‌های مختلف استفاده شده است. چنانکه Yokoya et al. (2000) با بررسی سطح پلوئیدی ۳۴ نمونه گل رز با روش فلوسایتومتری، سطوح پلوئیدی مختلفی را در این ۳۴ نمونه گزارش نمودند. پس با توجه به تحقیقات انجام شده حاضر و قبلی به طور فراوان دستگاه فلو سایتومتری یک دستگاه دقیق و راحت برای تعیین سطح پلوئیدی آژیلوپس کراسا بوده و همچنین حداقل صدمه را به گیاه مورد بررسی وارد می‌کند. چون یک تکه برگ کوچک برای اندازه‌گیری سطح پلوئیدی کافی می‌باشد.

مطالعه سیتوژنتیکی

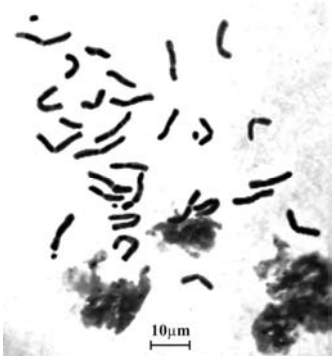
برای تایید و اطمینان از نتایج سطح پلوئیدی حاصل از دستگاه فلوسایتومتری نمونه‌های هگزاپلوئید و تتراپلوئید شناخته شده از طریق مطالعات سیتولوژی با استفاده از روش اسکواش پیشرفته نیز مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات سیتولوژیکی نتایج حاصل از مطالعات فلوسایتومتری را تایید کرده و نشان داد که نمونه‌های بومی ایران دارای ۲ سطح پلوئیدی هگزاپلوئید و تتراپلوئید می‌باشند (شکل‌های ۲ و ۳). پس از تهیه کاریوتیپ این دو سیتوتیپ با استفاده از ۵ صفحه متافازی، در سیتوتیپ تتراپلوئید طول بلندترین کروموزوم (شماره۱) ۱۳/۸۸±۰/۶۵ میکرومتر و طول کوتاه‌ترین کروموزوم (شماره۱۴) ۸/۷۵±۰/۴۳ میکرومتر و هر دو متاسنتریک می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

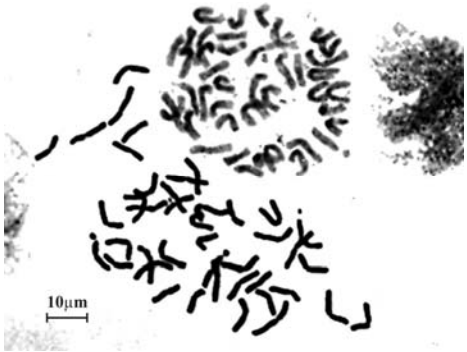


شکل۱- شدت فلورسنس DAPI (محور x)، تعداد هسته‌ها (محورy) گیاه شاهد آژیلوپس تائوشی (A)، گیاه شاهد تائوشی و نمونه تتراپلوئید (B)، گیاه شاهد تائوشی و نمونه هگزاپلوئید (C)



شکل ۲- یک نمونه از سیتوتیپ تتراپلوئید

(*Aegilops crassa*)، ۲n =۴x =۲۸



شکل ۳- یک نمونه سیتوتیپ هگزاپلوئید

(*Aegilops crassa*)، ۲n =۶x =۴۲

www.SID.ir

تیپ کروموزوم به روش Levan et al. (1964) تعیین و معلوم شد که از مجموع ۱۴ جفت کروموزوم به جز کروموزوم‌های شماره ۴، ۸ و ۱۳ بقیه کروموزوم‌های این سیتوتیپ متاسنتریک بوده ولی این سه کروموزوم ساب متاسنتریک و اندازه نسبت بازوها به ترتیب در آنها ۱/۷۰±۰/۱۰، ۲/۱۶±۰/۱۷ و ۱/۸۴ ±۰/۱۲ میکرومتر و اندازه متوسط طول کروموزوم در سیتوتیپ تتراپلوئید ۱۱/۲۱±۰/۲۰ میکرومتر، طول کل ژنوم ۱۵۶/۸۸ میکرومتر، میانگین نسبت بازوها در این سیتوتیپ ۱/۴۶±۰/۰۳، میانگین بازوی کوتاه ۴/۶۶±۰/۱۱ میکرومتر، میانگین بازوی بلند ۶/۵۴±۰/۱۲ میکرومتر، میانگین شاخص سانترومری ۴۱/۵۰ میکرومتر، کل سهم بازوی‌های بلند کروموزوم در طول کروموزوم ۵۸/۴۰ میکرومتر، کل سهم بازوی های کوتاه کروموزوم در طول کروموزوم ۴۱/۶۰ میکرومتر، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی ۰/۲۸ میکرومتر، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی ۰/۱۵ میکرومتر، اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم ۳/۲۷ میکرومتر، درصد چندشکلی ۴۱/۵۹ میکرومتر، نمونه‌های تتراپلوئید مورد بررسی دارای دو جفت ماهواره در کروموزوم‌های شماره ۴ و ۱۰ که اندازه آنها به ترتیب ۱/۳۳ و ۲/۱۹ میکرومتر و فرمول کروموزومی این سیتوتیپ به صورت زیر محاسبه شده است:

$2n=4x=28=20m+2m^{sat}+2sm^{sat}+4sm$

در سیتوتیپ هگزاپلوئید طول بلندترین کروموزوم (شماره۱) ۱۲/۹۵±۰/۵۶ میکرومتر و طول کوتاهترین کروموزوم (شماره۲۱) ۷/۵۳±۰/۳۴ میکرومتر و هر دو متاسنتریک بوده و تمام جفت کروموزوم‌ها به جز کروموزوم شماره ۳ از نوع متاسنتریک می‌باشد در حالیکه کروموزوم شماره ۳ از نوع ساب متاسنتریک و اندازه نسبت بازو آن ۱/۷۶±۰/۰۲ میکرومتر است. اندازه متوسط طول کروموزوم در این سیتوتیپ ۱۰/۳۵±۰/۲۳ میکرومتر، طول کل ژنوم ۲۱۷/۳۹ میکرومتر، میانگین نسبت بازوها ۱/۳۶±۰/۰۳ میکرومتر، میانگین بازوی کوتاه ۴/۴۲±۰/۱۲ میکرومتر، میانگین بازوی بلند ۵/۹۳±۰/۱۴ میکرومتر، درصد چندشکلی ۴۲/۷ میکرومتر، اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم ۲/۵ میکرومتر، میانگین شاخص سانترومری ۴۲/۵۹ میکرومتر، کل سهم بازوی‌های بلند کروموزوم در طول کروموزوم ۵۷/۲۹ میکرومتر، کل سهم بازوی‌های کوتاه کروموزوم در طول کروموزوم ۴۲/۷۱ میکرومتر، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی ۰/۲۵ میکرومتر، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی ۰/۱۴ میکرومتر، نمونه‌های هگزاپلوئید مورد بررسی دارای سه جفت ماهواره در کروموزوم‌های شماره ۳، ۶ و ۱۰ که اندازه آنها به ترتیب ۱/۰۹، ۲/۰۹ و ۱/۵۴ میکرومتر و فرمول کروموزومی این سیتوتیپ به صورت زیر محاسبه شده است:

$2n=6x=42=36m+2m^{sat}+2m^{sat}+2sm^{sat}$

نتایج بدست آمده در این مطالعه، در تیپ کروموزوم‌ها، تعداد ماهواره، نسبت بازوها و طول نسبی کروموزوم با نتایج بدست آمده Badeava et al. (1998) هم‌خوانی داشت. کلاس تقارن هر دو سیتوتیپ بر اساس جدول دو طرفه Stebbins (1971) 1A بدست آمد که نشان‌دهنده این موضوع می‌باشد که کاریوتیپ این گونه متقارن می‌باشد، یعنی بیشتر کروموزوم‌ها به طرف سانترومر میانی (متاسنتریک) تمایل پیدا کرده‌اند و در مراحل اولیه تکامل قرار دارند (جداول ۲ و ۳). روند تغییرات دو شاخص TF٪ و A_1 (به عنوان شاخص‌های عدم تقارن درون کروموزومی) در دو سیتوتیپ مورد بررسی بیانگر وجود رابطه معکوس بین دو شاخص فوق بود، همچنین روند تغییرات دو شاخص DRL و A_2 (به عنوان شاخص‌های عدم تقارن بین کروموزومی) در دو سیتوتیپ بیانگر رابطه مستقیم براساس سطوح پلوئیدی می‌باشد، یعنی هرچه سطح پلوئیدی بیشتر میزان این دو شاخص کمتر است (جداول ۲ و ۳). ویژگی‌های کروموزومی سیتوتیپ‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید در جداول ۲ و ۳ آمده است.

صفات مورفولوژیکی متمایزکننده بین سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید

به منظور شناسایی صفات متمایزکننده دو نوع سیتوتیپ از آزمون t (برای صفات کمی) و یا آزمون مانویتنی (برای صفات کیفی) استفاده گردید که نتایج آن در جداول ۴ و ۵ آمده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- ویژگی کروموزوم‌ها در سیتوتیپ تترا پلوئید آژیلوپس کراسا (۲n =۴x =۲۸)

شماره	Total (L+S) µm	Long arm(L) µm	Short arm(S) µm	Arm ratio(L/S)	CI (S*100/(L+S))	Sat	Type	L%	S%	RL%
۱	۱۳/۸۸±۰/۶۵	۷/۴۹± ۰/۴۲	۶/۳۹± ۰/۳۴	۱/۱۸± ۰/۰۶	۴۶/۲۵	-	m	۴/۷۷	۴/۰۸	۸/۸۵
۲	۱۳/۲۹±۰/۵۹	۷/۴۲± ۰/۴۶	۵/۸۷± ۰/۲۴	۱/۲۷± ۰/۰۸	۴۴/۳۸	-	m	۴/۷۳	۳/۷۴	۸/۴۷
۳	۱۲/۹۸±۰/۵۶	۷/۴۲± ۰/۴۰	۵/۵۶± ۰/۲۷	۱/۳۵± ۰/۰۸	۴۳/۱۳	-	m	۴/۷۳	۳/۵۴	۸/۲۷
۴	۱۲/۶۵±۰/۴۰	۷/۹۴± ۰/۳۵	۴/۷۱± ۰/۱۷	۱/۷۰± ۰/۱۰	۳۷/۱۳	۱/۳۳	sm	۴/۰۶	۳/۰۰	۸/۰۶
۵	۱۲/۳۶±۰/۵۴	۶/۵۱± ۰/۳۰	۵/۵۸± ۰/۲۷	۱/۱۲± ۰/۰۳	۴۷/۳۸	-	m	۴/۱۵	۳/۷۳	۷/۸۸
۶	۱۱/۹۸± ۰/۵۴	۷/۰۵± ۰/۳۹	۴/۹۳± ۰/۱۹	۱/۴۳± ۰/۰۶	۴۱/۳۸	-	m	۴/۴۹	۳/۱۴	۷/۶۳
۷	۱۱/۳۹± ۰/۴۹	۶/۴۰± ۰/۱۹	۴/۹۹± ۰/۳۶	۱/۳۲± ۰/۰۹	۴۳/۵۰	-	m	۴/۰۸	۳/۱۸	۷/۲۶
۸	۱۱/۱۲± ۰/۵۷	۷/۵۸± ۰/۵۵	۳/۵۳± ۰/۱۱	۲/۱۶± ۰/۱۷	۳۲/۲۵	-	sm	۴/۸۳	۲/۲۵	۷/۰۹
۹	۱۰/۵۷± ۰/۵۱	۶/۰۱± ۰/۳۵	۴/۵۶± ۰/۳۴	۱/۳۷± ۰/۱۳	۴۳/۱۳	-	m	۳/۸۳	۲/۹۱	۶/۷۴
۱۰	۱۰/۳۶± ۰/۳۸	۶/۲۳± ۰/۲۸	۴/۱۳± ۰/۲۱	۱/۵۳± ۰/۰۹	۳۹/۸۸	۲/۱۹	m	۳/۹۷	۲/۶۳	۶/۶۰
۱۱	۹/۵۵± ۰/۳۹	۵/۸۸± ۰/۳۰	۳/۶۷± ۰/۱۳	۱/۶۱± ۰/۰۷	۳۸/۵۰	-	m	۳/۷۵	۲/۳۴	۶/۰۹
۱۲	۹/۲۳± ۰/۳۷	۵/۲۲± ۰/۲۱	۴/۰۱± ۰/۱۹	۱/۳۱± ۰/۰۴	۴۳/۳۸	-	m	۳/۳۳	۲/۵۶	۵/۸۸
۱۳	۸/۷۸± ۰/۲۹	۵/۶۷± ۰/۲۶	۳/۱۱± ۰/۱۲	۱/۸۴± ۰/۱۲	۳۵/۵۰	-	sm	۳/۶۱	۱/۹۸	۵/۵۹
۱۴	۸/۷۵± ۰/۴۳	۴/۸۰± ۰/۲۸	۳/۹۵± ۰/۱۹	۱/۲۲± ۰/۰۵	۴۵/۲۵	-	m	۳/۰۶	۲/۵۲	۵/۵۸
میانگین	۱۱/۲۱± ۰/۲۰	۶/۵۴± ۰/۱۲	۴/۶۶± ۰/۱۱	۱/۴۶± ۰/۰۳	۴۱/۵۰					
کل	۱۵۶/۸۸							۵۸/۴۰	۴۱/۶۰	

فرمول کروموزومی = 2n=4x=28= 20m+2m^{sat}+2sm^{sat}+4sm; SC=1A; A_1=۰/۲۸; A_2=۰/۱۵; ٪TF= ۴۱/۵۹; ٪DRL=۳/۲۷

L: طول بازوی بلند کروموزوم (µm)، S: طول بازوی کوتاه کروموزوم (µm)، AR: نسبت بازوها، CI: شاخص سانترمری، (m: متاسنتریک، sm: ساب متاسنتریک) تیپ سانترومری مطابق (Levan et al., 1964). RL%: طول نسبی کروموزوم، Sat: ماهواره، SC: کلاس تقارن (Stebbins, 1971)، A_1, A_2 : شاخص‌های عدم تقارن، TF%: درصد چندشکلی، DRL٪: اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم، S% و L%: شاخص‌هایی که سهم هر بازوی کروموزوم را در طول کروموزوم کاریوتیپ نشان می‌دهد.

جدول۳- ویژگی کروموزوم‌ها در سیتوتیپ هگزاپلوئید آژیلوپس کراسا (۲n =۶x =۴۲)

شماره	Total (L+S) µm	Long arm(L) µm	Short arm(S) µm	Arm ratio(L/S)	CI (S*100/(L+S))	Sat	Type	L%	S%	RL%
۱	۱۲/۹۵± ۰/۵۶	۷/۴۲± ۰/۳۹	۵/۵۳± ۰/۱۷	۱/۳۴± ۰/۰۳	۴۲/۵۰	-	m	۳/۴۱	۲/۵۴	۵/۹۶
۲	۱۲/۶۱± ۰/۱۶	۶/۸۷± ۰/۴۷	۵/۷۴± ۰/۳۲	۱/۲۱± ۰/۱۵	۴۶/۰۰	-	m	۳/۱۶	۲/۶۴	۵/۸۰
۳	۱۲/۱۴± ۰/۰۸	۷/۷۲± ۰/۰۴	۴/۴۰± ۰/۰۶	۱/۷۶± ۰/۰۲	۳۶/۵۰	۱/۰۹	sm	۳/۵۵	۲/۰۲	۵/۵۸
۴	۱۱/۶۴± ۰/۰۶	۶/۴۳± ۰/۵۲	۵/۲۳± ۰/۵۸	۱/۲۶± ۰/۲۴	۴۵/۰۰	-	m	۲/۹۶	۲/۴۰	۵/۳۵
۵	۱۱/۳۶± ۰/۰۵	۶/۸۴± ۰/۱۷	۴/۵۳± ۰/۱۲	۱/۵۲± ۰/۰۸	۴۰/۰۰	-	m	۳/۱۴	۲/۰۸	۵/۲۳
۶	۱۱/۲۴± ۰/۰۷	۶/۰۰± ۰/۱۰	۵/۲۴± ۰/۰۳	۱/۱۵± ۰/۰۲	۴۶/۵۰	۲/۰۹	m	۲/۷۶	۲/۴۱	۵/۱۷
۷	۱۱/۱۴± ۰/۱۳	۶/۰۰± ۰/۴۳	۵/۱۵± ۰/۲۹	۱/۱۸± ۰/۱۵	۴۶/۰۰	-	m	۲/۷۶	۲/۳۷	۵/۱۲
۸	۱۰/۹۰± ۰/۰۴	۵/۷۱± ۰/۰۴	۵/۲۰± ۰/۰۴	۱/۱۰± ۰/۰۲	۴۷/۵۰	-	m	۲/۶۳	۲/۳۹	۵/۰۱
۹	۱۰/۸۵± ۰/۰۴	۶/۰۸± ۰/۱۶	۴/۷۸± ۰/۱۶	۱/۲۸± ۰/۰۸	۴۴/۰۰	-	m	۲/۷۹	۲/۲۰	۴/۹۹
۱۰	۱۰/۷۸± ۰/۰۵	۶/۵۸± ۰/۳۱	۴/۲۰± ۰/۲۶	۱/۵۸± ۰/۱۷	۳۹/۰۰	۱/۵۴	m	۳/۰۲	۱/۹۳	۴/۹۶
۱۱	۱۰/۵۹± ۰/۰۵	۶/۶۳± ۰/۲۴	۳/۹۷± ۰/۲۹	۱/۶۸± ۰/۱۸	۳۷/۵۰	-	m	۳/۰۵	۱/۸۲	۴/۸۷
۱۲	۱۰/۴۸± ۰/۰۵	۵/۹۲± ۰/۰۱	۴/۵۶± ۰/۰۱	۱/۳۰± ۰/۰۱	۴۳/۵۰	-	m	۲/۷۲	۲/۱۰	۴/۸۲
۱۳	۱۰/۳۳± ۰/۰۴	۵/۴۴± ۰/۰۱	۴/۸۹± ۰/۰۳	۱/۱۲± ۰/۰۱	۴۷/۰۰	-	m	۲/۵۰	۲/۲۵	۴/۷۵
۱۴	۱۰/۱۴± ۰/۱۸	۶/۲۵± ۰/۰۸	۳/۸۹± ۰/۲۶	۱/۶۲± ۰/۱۳	۳۸/۰۰	-	m	۲/۸۸	۱/۷۹	۴/۶۶
۱۵	۹/۶۸± ۰/۰۹	۵/۶۵± ۰/۱۲	۴/۰۳± ۰/۰۲	۱/۴۰± ۰/۰۴	۴۱/۵۰	-	m	۲/۶۰	۱/۸۵	۴/۴۵
۱۶	۹/۱۰± ۰/۰۷	۵/۰۷± ۰/۱۶	۴/۰۳± ۰/۲۲	۱/۲۶± ۰/۱۱	۴۴/۰۰	-	m	۲/۳۳	۱/۸۵	۴/۱۸
۱۷	۸/۸۴± ۰/۰۲	۵/۳۳± ۰/۱۲	۳/۵۱± ۰/۱۰	۱/۵۳± ۰/۰۸	۳۹/۵۰	-	m	۲/۴۵	۱/۶۱	۴/۰۶
۱۸	۸/۵۳± ۰/۰۹	۴/۵۹± ۰/۰۴	۳/۹۴± ۰/۱۴	۱/۱۷± ۰/۰۵	۴۶/۰۰	-	m	۲/۱۱	۱/۸۱	۳/۹۲
۱۹	۸/۴۰± ۰/۰۱	۴/۸۷± ۰/۱۰	۳/۵۴± ۰/۰۹	۱/۳۸± ۰/۰۶	۴۲/۰۰	-	m	۲/۲۴	۱/۶۳	۳/۸۶
۲۰	۸/۲۱± ۰/۱۰	۴/۷۴± ۰/۲۲	۳/۴۷± ۰/۱۳	۱/۳۷± ۰/۱۲	۴۲/۰۰	-	m	۲/۱۸	۱/۶۰	۳/۷۷
۲۱	۷/۵۳± ۰/۳۴	۴/۴۵± ۰/۰۸	۳/۰۸± ۰/۴۲	۱/۴۸± ۰/۲۳	۴۰/۵۰	-	m	۲/۰۵	۱/۴۱	۳/۴۶
میانگین	۱۰/۳۵± ۰/۲۳	۵/۹۳± ۰/۱۴	۴/۴۲± ۰/۱۲	۱/۳۶± ۰/۰۳	۴۲/۵۹		-			
کل	۲۱۷/۳۹							۵۷/۲۹	۴۲/۷۱	

فرمول کروموزومی = 2n=6x=42=36m+2m^{sat}+2m^{sat}+2sm^{sat}; SC=1A; A_1=۰/۲۵ A_2=۰/۱۴; ٪TF=۴۲/۷۰; ٪DRL=۲/۵

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۴- نتایج آزمون t برای شناسایی صفات کمی متمایزکننده دو سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید آژیلوپس کراسا

صفات	تتراپلوئید میانگین± انحراف معیار	هگزاپلوئید میانگین± انحراف معیار	مقدار t	sig
تعداد سنبلچه در سنبله	۸/۱۸±۰/۸۸	۸/۹۵±۲/۳۴	-۱/۷۵	۰/۰۸
عرض گره محور سنبله	۳/۷۶±۰/۲۶	۳/۹۵±۰/۲۶	-۱/۷۹	۰/۰۸
تعداد برگ زیر خوشه	۴/۲۸±۰ /۵۰	۴/۲۰±۰/۶۰	۰/۴۲	۰/۶۷
طول گره محور سنبله	۱/۳۰±۰/۱۱	۱/۲۸±۰/۱۰	۰/۵۱	۰/۶۱
تعداد بذر در سنبلچه	۳/۴۳±۰/۳۸	۳/۴۳±۰/۵۷	-۰/۰۰۵	۰/۹۹
عرض گلوم سنبلچه	۰/۹۷±۰/۰۰۷	۰/۹۵±۰/۰۰۴	۰/۶۷۷	۰/۵۰
تعداد گره در ساقه	۳/۲۷±۰/۴۶	۳/۲۷±۰/۳۷	۰/۱۶	۰/۸۷
طول برگ پرچم	۱۰/۱۰±۱/۱۰	۱۲/۶۴±۳/۸۴	-۲/۸۵	۰/۰۰۶
طول سنبله	۱۰/۴۰±۱/۱۳	۱۱/۲۲±۳/۵۶	-۱/۳۰	۰/۲۰
قطر سنبله	۶/۳۱±۰/۴۳	۶/۱۴±۰/۲۰	۰/۵۶	۰/۵۸
قطر ساقه	۱/۷۶±۰/۱۹	۱/۸۸±۰/۲۶	-۱/۴۱	۰/۱۶
طول دانه	۰/۷۳±۰/۰۰۷	۰/۷۸±۰/۰۰۵	-۱/۶۷	۰/۱۰
عرض دانه	۳/۱۳±۰/۱۶	۳/۲۵±۰/۱۹	-۱/۷۶	۰/۰۸
ارتفاع	۵۴/۶۴±۸/۲۰	۶۴/۸۵±۱۴/۹۸	-۲/۹۴	۰/۰۰۶
طول گلوم سنبلچه	۵/۰۱±۰/۳۳	۵/۱۸±۰/۲۳	-۱/۳۵	۰/۱۸

جدول۵- نتایج آزمون مانویتنی برای شناسایی صفات کیفی متمایزکننده دو سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید آژیلوپس کراسا

صفات	تتراپلوئیدها	هگزاپلوئیدها	مقدار z	sig
شکنندگی محور ساقه	۱/۴۳	۱/۵۷	-۰/۷۸	۰/۴۲
عادت رشد	۱/۳۷	۱/۲۹	-۰/۱۸	۰/۸۶
رنگ ساقه	۲/۶	۲/۴۳	-۰/۵۲	۰/۶۰
رنگ گلوم	۲/۲۲	۲/۵۷	-۲/۰۲	۰/۰۴
کرک گلوم	۵/۳۰	۷	-۲/۷۲	۰/۰۰
بافت دانه	۳/۵۷	۳/۵۷	-۰/۱۳	۰/۹۹
رنگ پرچم	۲/۰۹	۲/۱۴	-۰/۷۱	۰/۴۸
کرک ساقه	۱/۴۳	۱/۵۷	-۰/۷۸	۰/۴۴

نتایج این آزمون‌ها نشان می‌دهد که دو صفت کمی شامل: ارتفاع و طول برگ پرچم و دو صفت کیفی (کرک گلوم و رنگ گلوم) دارای تفاوت معنی‌داری در دو سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید می‌باشند. بنابراین از این صفات می‌توانند به عنوان صفات متمایزکننده برای شناسایی دو سیتوتیپ استفاده نمود. بر خلاف این تحقیق، در مطالعات قبلی (Kimber & Feldman, 1987; Van Slegeren, 1994) مشخص شده بود که دو سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید از طریق صفات مورفولوژیکی غیرقابل تشخیص می‌باشند.

نتیجه کلی

در مجموع نتایج مطالعات فلوسایتومتری و سیتولوژیکی نشان داد که هر دو سیتوتیپ گونه آژیلوپس کراسا در ایران وجود دارد و بر اساس کاربرد زیاد سیتوتیپ هگزاپلوئید در زمینه ایجاد نر عقیمی در گندم برای تولید گندم هیبرید و از بین بردن حساسیت به طول روز در گندم (Murai & Tsunewaki, 1993) مطالعه بیشتر روی این سیتوتیپ جدید برای کاربردهای اخیر لازم و ضروری به نظر می‌رسد. همچنین با توجه به اهمیت مطالعات مورفولوژیکی در اصلاح گیاهان، این ۴ صفت می‌توانند در شناسایی دو سیتوتیپ از نظر مطالعات مورفولوژیکی استفاده شود.

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES

1. Agayev, Y. M. (2002). New features in karyotype structure and origin of saffron *Crocus sativus* L. *Cytologia*, 67, 245-252.
2. Badeava, E. D., Friebe, B., Zoshchuk, S. A., Zelenin, A. V. & Gill, B. S. (1998). Molecular-cytogenetic analysis of tetraploid and hexaploid *Aegilops crassa*, *Chrom Res*, 6, 629-637.
3. Badeava, E. D., Amosova, A. V., Muravenko, O. v., Samatadze, T. E., Chikida, N. N., Zelenin, A. V., Friebe, B. & Gill, B. S. (2002). Genome differentiation in *Aegilops*. 3. Evolution of the D-genome cluster, *Plant Syst Evol*, 231, 163-190.
4. Bagwell, C. B., Baker, D., Whetstone, S., Munson, M., Hitchcox, S., Ault, K. A. & Lovett, E. J. (1989). A simple and rapid method for determining the linearity of a flow cytometer amplification system, *Cytometry*, 10, 689-694.
5. Badeava, E. D., Amosova, A. V., Samatadze, T. E., Zoshchuk, S. A., Shostak, N. G., Chikida, N. N., Zelenin., A. V., Raupp, W. J., Friebe, B. & Gill, B. S. (2004). Genome differentiation in *Aegilops*. 4. Evolution of the U-genome cluster, *Plant Syst Evol*, 246, 45-76.
6. Dubkovsky, J. & Dvorak, J. (1995). Genome identification of the *Triticum crassum* complex (Poaceae) with the restriction patterns of repeated nucleotide sequences, *AmerJ Bot*, 82, 131-140.
7. Friebe, B., Schubert, V., Bluthner, W. D. & Hammer, K. (1992). C-banding pattern and polymorphism of *Aegilops caudate* and chromosomal constitution of the amphiploid *T. aestivum-Ae. caudate* and six derived chromosome addition lines, *Theor Appl Genet*, 83, 589-596.
8. Kihara, H. & Tanaka, M. (1970). Attendum to the classification of the genus *Aegilops* by means of genome analysis, *Wheat Inf Serv*, 30,1-2.
9. Kihara, H. (1957). Completion of genome-analysis of three 6x species of *Aegilops*, *Wheat Inf. Serv*, 6,11.
10. Kihara, H. (1963). Interspecific relationship in *Triticum* and *Agilops*. *Seiken Ziho*, 15, 1-12.
11. Kimber, G. & Feldman, M. (1987). Wild wheat, an introduction. College of Agriculture University of Missouri. *Columbia*, 142pp.
12. Kimber, G. & Zhao, Y. H. (1983). The D genome of the Criticize. *Can J Genet Cytol*, 25, 581-589.
13. Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52, 201-220.
14. Murai, K. & Tsunewaki, K. (1993) Photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterility in wheat with *Ae. crassa* cytoplasm. *Euphytica*, 67, 41-48.
15. Pfosser, M., Amon, A., Lafferty, J., Heberle-Bors, E. & Lelley, T. (2006). Gain or loss of single chromosomes in wheat-rye addition lines and in 6x triticale detected by flow cytometry. *Plant Breeding*, 6, 555-557.
16. Ranjbar, M., M. R. Naghavi., A. Zali. & M. J. Aghaei. (2007). Multivariate analysis of morphological variation in accessions of *Aegilops crassa* from Iran. *Pakistan J Biol Sci*, 10(7), 1126-1129.
17. Sax, K. (1922). Sterility in wheat hybrids. II. Chromosome behavior in partially sterile hybrids, *Genetics*, 7, 513-552.
18. Stebbins, G. L. (1971). Chromosomal Evolution in higher plants. Edward Arnold Publisher LDT, London. 216pp.
19. Tsunewaki, K.(1993). Genome-plasmon interactions in wheat. *Jpn J Genet*, 68, 1-34.
20. Van Slegeren, M. W. (1994). Wild wheats: a monograph of *Agilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. & Spach.) Eig. (poaceae). Wageninge Agricultural University, International Certer for Agricultural Research in the Dry Areas,*Veenman Drukkers, Wageningen*, pp. 512.
21. Yokoya, K., Roberts, A. V., Mottley, J., Lewis, R. & Brandham, P. E. (2000). Nuclear DNA amounts in roses, *Annals of Botany*, 85, 557-561.
22. Zarifi, E., Agayev, Y. M., Ganavati, F., & Aminizadeh, Z. (2005). Cytogenetics and evolution of Karyotype in wormwood, *Artemisia vulgaris* L. *Seed and Plant Journal*, 22(1). (In Farsi).
23. Zhang, H. B., Dvorak, J. (1992). The genome origin and evolution of hexaploid *Triticum crassum* and *Triticum syriacum* determined from variation in repeated nucleotide sequences, *Genome* 35, 806-814.
24. Zohary, D. (1966). The evolution of genome in *Aegilops* and *Triticum*. In: Proceedings of *2nd International Wheat Genetic Symposium*, Sweden, Lund, pp. 207-217.

Archive of SID

www.SID.ir