مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره اول، شماره چهارم، پاییز ۱۳۹۰

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

مطالعه کاریوتیپ سه جمعیت گلایول Gladiolus Italicus Mill.

مهشید فخرایی لاهیجی*[۱]، اردشیر رحیمی میدانی[۲]، فرنگیس قنواتی[۳]

[۱] مربی، بانک ژن گیاهی ملی ایران، موسسه ی تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج- ایران
[۲] استادیار، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، کرج- ایران
[۳] استادیار، بانک ژن گیاهی ملی ایران موسسه ی تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج- ایران

چکیده

سابقه و هدف: گونه‌های گلایول در معرض خطر فرسایش ژنتیکی و حتی انهدام هستند و از طرفی این گونه ها بطور بالقوه می توانند برای اصلاح و کشاورزی مفید باشند، به علاوه تنوع موجود در کشور در ژرم پلاسم یا وجود ندارد و یا کافی نیست. بنابراین جمع‌آوری، حفظ و مطالعه تنوع ژنتیکی گو نه های گلایل امری مهم و ضروری است.

مواد و روش ها: بر اساس منابع موجود از فلور ایران به مناطق مختلف مراجعه و سه جمعیت گلایول ایرانی از محلات، الموت و مشهد جمع آوری و ویژگی های کاریوتیپی آن ها بررسی گردید. از هر جمعیت، سه گیاه برای اندازه گیری‌های مختلف به طور تصادفی انتخاب شد. مریستم انتهای ریشه به مدت ۳/۵ ساعت در محلول پیش تیمار ۸- هیدروکسی کینولین و سپس در محلول فیکساتور فارمر (محلول ۱:۳ اتانول و اسید اسیتیک) به مدت ۲۴ ساعت تثبیت شدند. رنگ آمیزی نمونه ها توسط هماتوکسیلین انجام شد. برای هر نمونه حداقل ۱۰ پهنه متافازی بررسی شد.

یافته ها: مطالعات کاریوتیپ در سه گونه از جمعیت گلایول ایران انجام شد. گو نه های گلایول در ایران دارای تعداد متنوعی کروموزوم ۲n=۲x=۳۰, ۶۰ که در جزئیات کروموزومی و نوع کروموزوم متفاوت می باشند.

نتیجه گیری: تقارن کاریوتیپ و تعداد کروموزوم SAT و طول کروماتین ها و همچنین بر اساس آنالیز کاریوتیپ، طول بازوهای کروموزوم نسبت به بازوی کروموزوم، کوتاه و به طور قابل توجه متفاوت بود. بنابراین کروموزوم های متوسط نشانه های از ژنوتیپ های دیپلوئید می باشند.

کلمات کلیدی:کاریوتیپ، گلایول، سیتوژنتیک، سطح پلوئیدی

مقدمه

جنس گلایول از گیاهان شاخه بریده زراعی می‌باشند که بالاترین سطح زیر کشت از گیاهان زینتی را به خود اختصاص داده است. با وجود این که بسیاری از گیاهان از ایران منشاء گرفته اند ولی کشور ما برای تأمین این گیاهان در اکثر موارد به صادرات کشورهای تولیدکننده وابسته است. به طور حتم کمبود اطلاعات مربوط به اصلاح، پرورش و تولید این دسته از گیاهان که امروزه جنبه تجارتی پیدا کرده‌اند، موجب شده است که سرزمین منشاء آن ها، در زمره خریداران قرار گیرد. کشور ما دارای پتانسیل عظیمی از گونه‌های وحشی و منابع ژنتیکی گسترده از این گیاه است که با دستیابی به تکنیک‌های اصلاحی جدید، اصلاح‌گران می توانند ارقام جدید و ارزشمندی از این گیاه را به جهانیان عرضه نمایند. لذا توجه به اصلاح آن از اهمیت بالائی برخوردار است. کروموزوم‌ها در کاریوتیپ بر اساس طول‌ها، بجز طول های ستلایت‌ها رتبه بندی می‌شوند

آدرس نویسنده مسئول: بانک ژن گیاهی ملی ایران، موسسه ی تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران
Email: fakhraie۱۰۰۰@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۵/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۷/۰۶

Archive of SID
www.SID.ir

italicus بسیار مهم است زیرا در مسیر تکامل و گسترش به باروری، افزایش هتروزیکوتی، تغییر بیان ژن و در نهایت چند گانگی آنزیمی کمک می نماید (Contereas et al., 2007) معمولا در طبیعت Gladiolus italicus و Gladiolus atroviolaceus با یکدیگر و در کنار هم رشد می کنند و تلاقی انجام نمی شود و در نتیجه هیبریداسیونی بوجود نمی آید (Suzuki and Takatsu., 2009). موقعیت کینه توکورها (سانترومرها) در Gladiolus italicus نشانه خیلی مفیدی برای تشخیص مورفولوژیکی و نامگذاری کروموزوم است (Singh et al., 2003). نتایج حاصله از بررسی‌های صورت گرفته بر روی گونه Gladiolus italicus آفریقای جنوبی نشان می دهد که بین ۳۰ تا ۹۰ کروموزوم دارد. به طور کلی دیپلوئید است اما گونه‌های تتراپلوئید و پلی‌پلوئیدی نیز برای آن دیده شده است. تتراپلوئیدها به دلیل داشتن کاریوتیپ نا متقارن‌تر، احتمالاً از نظر تکاملی از دیپلوئیدها و حتی پلی‌پلوئیدها، پیشرفته‌تر می‌باشند (Paszko et al ., 2006). برخی از گیاه شناسان بر این عقیده‌اند که اختلاف کروموزومی، صفت مورفولوژیکی دیگری است که باید مانند صفات مختلف مورفولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد (قنواتی و همکاران، ۱۳۸۹). در نتیجه یکی از اساسی‌ترین اقدامات در مطالعه سیتوژنتیکی، بررسی ساختار ژنوم گونه های وحشی است، به این طریق می‌توان مسیر گونه‌ها و روابط آن ها را بررسی نمود (Ghanavati et al., 2010). با این که تعداد پایه کروموزومی گلایل X=۱۵ می باشد، اما در بعضی از گونه های گرمسیری آفریقا، گلایل هایی با پایه کروموزومی X =۱۲ ، X=۱۱ و X =۱۳ نیز مشاهده شده است. گلد بلات همچنین با اندازه گیری کل طول کروموزوم ها بر اساس تعداد کروموزوم های پایه، مشاهده کرد که بیشتر گونه های دیپلوئید، دارای کروموزوم های شبیه به هم می باشند و سطوح بالاتر دیپلوئید به احتمال ۳۳ تا ۴۰٪ بر اثر رشد یا کاشت تکراری یا گل دهی خارج از موقع بوده است (Gold Blatt et al., 2003). با بررسی های سیتوژنتیکی بر روی گلایل دوبیوس مشاهده شد که گلایل دوبیوس دارای ۶۰ کروموزوم می باشد و در هیچ یک از کروموزوم های آن ماهواره دیده نشده است (Roudhinki and Nowak., 2001) همچنین تحقیقاتی بر روی بعضی از گونه های گلایل اروپایی مشاهده شد که گونه های اروپایی گلایل italicus با گونه byzantinus تلاقی و هیبریدی را بوجود آوردند که به صورت پلی پلوئید می باشد (Ramisdong et al., 2000). بررسی سیتولوژیکی بر روی گلایل caliantus نشان داد این گلایل تتراپلوئید و به صورت ۶۰= ۴n است (Yung et al., 2005). از آن جایی که گل شاخه بریده گلایول از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار است به منظور معرفی ارقام جدید، اصلاح و معرفی کالتیوار جدید و با تغییر مطالعات سیتوژنتیکی اطلاعات وسیعی در ساختار ژنتیکی گیاهان انجام شد که به عنوان اطلاعات اساسی و بنیادی تحقیقات آتی در اصلاح نباتات مفید واقع می‌گردند، انجام مطالعات سیتوژنتیکی در گیاهان وحشی و بومی اهمیت زیادی دارد. وجود اختلاف در شکل و اندازه کروموزوم‌ها و نیز رفتار آن ها طی مراحل تقسیم میوز بویژه تشکیل کیاسما می‌توانند بیانگر وجود اختلاف ژنتیکی باشد. مطالعات کاریوتیپی به منظور مقایسه اختلاف موجود و آشکار شدن سیر تکاملی در کروموزوم‌های تشکیل دهنده ژنوم انجام می‌گیرند. در این پژوهش ارزیابی سیتوژنتیکی کروموزوم های مرحله متافازی میتوز جمعیت های گونه، تعیین سطوح پلوئیدی گونه ها، مطالعه ویژه گی های کاریوتیپی و ریخت شناسی کروموزومی، تهیه کاریوتیپ استاندارد گونه ها و تعیین روابط گونه ها و جایگاه تکاملی گونه ها بر اساس مورفولوژی کروموزوم ها مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها

مواد گیاهی: به منظور بررسی سیتوژنتیکی نمونه‌های مورد کورم مطالعه گو نه های گلایول در سطح کشور که منشاء و زادگاهش محلات، مشهد و الموت می باشد جمع آوری و مورد استفاده قرار گرفتند. گیاهان مورد نیاز برای تجزیه سیتوژنتیکی با کاشت کورم ها در گلدان حاوی ماسه شسته و پرلیت، به گلخانه منتقل شدند. هر دو هفته یک بار گیاه را از گلدان به طور کامل در آورده و با شستشوی انتهای ریشه‌های رشد یافته قطع و استفاده شدند.

پیش تیمار: برای مطالعه متافازی سلول های مریستمی نوک ریشه های قطع شده بلافاصله پس از شستشو با آب مقطر، در

Archive of SID

www.SID.ir

محلول پیش تیمار ۸ - هیدروکسی کینولئین ۰/۰۰۳ مولار به مدت ۳/۵ ساعت در یخچال نگهداری شدند. این مرحله عملاً موجب توقف تشکیل رشته‌های دوک و یا تخریب و دپلی مریزاسیون رشته‌ها می‌شود.

تثبیت: مرحله بعد از توقف تقسیم سلولی، تثبیت سلول ها است که در این مرحله از یک فیکساتور استفاده می‌شود. فیکساتور سلول را در همان حال نگه می‌دارد، چربی‌ها را حل کرده و با تغییر ساختار پروتئین‌ها، دیواره سلولی را بسیار شکننده می‌کند و به پراکندگی کروموزوم‌ها بر روی لام کمک می‌کند. نمونه‌ها در ادامه پس از شستشو با آب مقطر در محلول فیکساتور فارمر (اتانول و اسید استیک خالص (۱:۳))قرار داده شدند تا مانع از کوتاه شدن بیش از حد کروموزوم ها شوند و در یخچال نگهداری گردیدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد، ریشه ها به مدت ۳ ساعت با آب شرب شستشو شدند و در اتانول۹۶ درصد نگهداری شدند. سلول‌های گیاهی دارای دیواره سلولی هستند و این دیواره می‌تواند مانع پراکنش کافی و مناسب کروموزوم‌ها بر روی لام شود.

هیدرولیز: بنابر این با روش‌های هیدرولیز، دیواره سلولی را حذف کرده و تهیه لام راحت‌تر صورت می‌گیرد. جهت هیرولیز از محلول اسید کلریدریک ۱ نرمال به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در حمام بخار آب (بن ماری) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. پس از هیدرولیز، ریشه ها به مدت ۳۰ دقیقه با آب شرب شستشو شده و با هماتوکسیلین به مدت ۴۵ دقیقه در انکوباتور ۶۰ درجه سانتی گراد رنگ‌آمیزی گردید. برای از بین بردن تیغه میانی و تهیه گسترش بهتر سلولی، ریشه ها به مدت یک الی دو ساعت در آنزیم سیتاز قرار گرفتند.

اسکواش: در پایان نمو نه های به دست آمده روی لام قرار داده پس از اسکواش با یک قطره اسید اسیتیک ۴۵٪ ،۱۰- ۵ پهنه متافازی میتوز سلول‌های مریستم نوک ریشه برای هر گونه بوسیله ی میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین عکاسی مطالعه گردیدند (قنواتی و همکاران، ۱۳۸۴). پس از اسکواش،۱۰-۵ پهنه متافازی میتوز سلول های مریستم نوک ریشه برای هر گونه مطالعه گردید.

تهیه کاریوتیپ: عکس‌های گرفته شده با وضوح مناسب و پراکنش بالا انتخاب شدند و پس از جدا کردن کروموزوم‌ها در Photoshop CS2، کروموزوم‌های هومولوگ در کنار هم قرار داده شدند و کاریوگرام آن ها رسم شد. پارامترهای کاریوتیپی نظیر طول کل کروموزوم (TL)، اندازه بازوی بلند (L)، اندازه بازوی کوتاه (S)، نسبت بازوی بلند به کوتاه و شاخص ضریب سانترومری (CI) توسط نرم افزار Micromeasure ۳/۳ در برنامه Excel 2003 اندازه‌گیری گردید. دیگر پارامترهای کاریوتیپی مورد استفاده مانند ٪S ,٪ DRL ,٪TF، ضریب نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1) و بین کروموزومی (A2) با استفاده از روابط ذکر شده زیر در برنامه Excel 2003 محاسبه شدند. برای محاسبه این صفات از میانگین ۵ تا ۱۰ صفحه متافازی استفاده گردید. ایدیوگرام مربوط به هرگونه نیز در برنامه Excel 2003 رسم گردید.

یافته ها

در مجموع ۳ جمعیت از گونه Gladiolus italicus از رویش گاه های طبیعی محلات، الموت قزوین و مشهد جمع آوری شد که ویژگی های کروموزومی آن ها بررسی گردیدند. نتایج هر جمعیت در زیر آمده است.

Gladiolus italicus جمعیت محلات

Gladiolus italicus محلات که از بزی جان، ۴۵ کیلومتری محلات، منطقه کم‌هون، جمع‌آوری شد، شامل ۱۵ جفت کروموزوم ۲n = ۲x = ۳۰ بود که در طبقه بندی استیبنز از نظر تقارنی در موقعیت 1B قرار می‌گیرد. مقدار شاخص پراکنش کروموزومی DI برای جمعیت گلایل Gladiolus italicus محلات ۰/۱۴۰ محاسبه شد. کروموزوم‌های این گونه شامل ۱۳ جفت کروموزوم متا-سنتریک و ۲ جفت کروموزوم ساب متاسنتریک است. طول کروموزوم‌ها در ایتالیکوس محلات از ۰/ ۳۹ تا ۰/۹۵۵ میکرومتر متغییر است. طول بازوی بلند از ۰/۲۰۷ تا ۰/۴۹۴ میکرومتر متغییر بوده است. طول بازوی کوتاه از ۰/۱۹۲ تا ۰/۴۶۱ میکرومتر متغییر بوده است. نسبت طول بازوها از ۱/۰۰۹ تا ۲/۴۵۷ متغییر بوده است که بیشترین آن

www.SID.ir

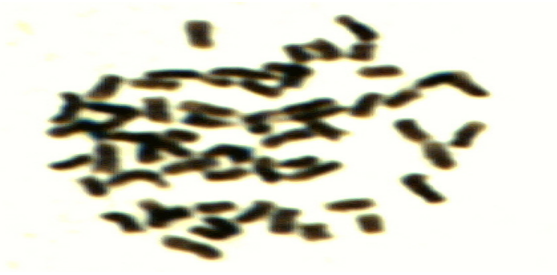
متعلق به کروموزوم شماره ۶ و کمترین آن متعلق به کروموزوم شماره ۱۸ بوده است. متوسط طول بازوی بلند ۰/۲۹۹ و متوسط طول بازوی کوتاه ۰/۲۲۲ میکرومتر بوده است. کمترین اختلاف بین بازوها در کروموزوم شماره ۱۸ و به مقدار ۰/۰۰۳ میکرومتر و بیشترین اختلاف بین بازوها در کروموزوم شماره ۶ و به مقدار ۰/۲۶۲ میکرومتر بوده است. شاخص سنترومری از ۰/۲۸۹ تا ۰/۴۷۹ متغییر بوده است. طول کل کروموزوم‌ها در یک دسته هاپلوئیدی آن نیز ۸/۲۸۳ میکرومتر و میانگین طول کروموزوم‌ها ۰/۵۵۲ میکرومتر می‌باشد. اختلاف بین طویل‌ترین و کوتاه ترین کروموزوم ۰/۵۵۶ میکرومتر بوده است (جدول ۱، شکل ۱).

جدول۱- ویژگی های مورفولوژیکی کروموزوم های Gladiolus italicus جمعیت محلات

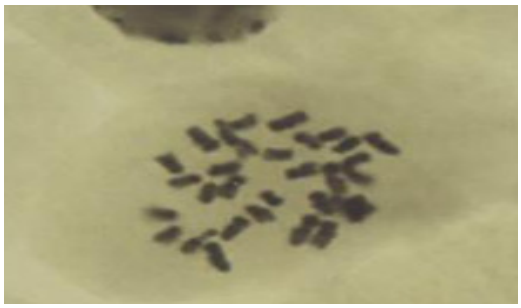
No	Cent. index	Arm ratio	Length each (mμ)	Short arm (mμ)	Long arm (mμ)	K F
1	0.48	1.07	0.95	0.46	0.49	.S
2	0.47	1.13	0.86	0.40	0.46	M
3	0.41	1.43	0.74	0.30	0.44	M
4	0.37	1.67	0.65	0.24	0.41	M
5	0.48	1.09	0.63	0.30	0.33	M
6	0.29	2.46	0.62	0.18	0.44	.S
7	0.44	1.28	0.58	0.26	0.33	M
8	0.44	1.25	0.58	0.26	0.32	M
9	0.47	1.13	0.58	0.27	0.30	M
10	0.49	1.06	0.57	0.27	0.29	M
11	0.32	2.12	0.56	0.18	0.38	.S
12	0.40	1.48	0.56	0.22	0.33	M
13	0.37	1.69	0.55	0.20	0.34	M
14	0.49	1.03	0.53	0.26	0.27	M
15	0.44	1.27	0.52	0.23	0.29	M
16	0.47	1.11	0.51	0.24	0.26	M
17	0.48	1.09	0.50	0.24	0.26	M
18	0.50	1.01	0.50	0.25	0.25	M
19	0.47	1.14	0.49	0.23	0.26	M
20	0.41	1.43	0.49	0.20	0.29	M
21	0.48	1.08	0.48	0.23	0.25	M
22	0.48	1.10	0.48	0.23	0.25	M
23	0.48	1.07	0.48	0.23	0.25	M
24	0.33	2.00	0.48	0.16	0.32	.S
25	0.44	1.24	0.46	0.21	0.26	M
26	0.46	1.16	0.46	0.21	0.25	M
27	0.44	1.27	0.46	0.20	0.26	M
28	0.44	1.26	0.44	0.19	0.24	M
29	0.38	1.62	0.42	0.16	0.26	M
30	0.48	1.08	0.40	0.19	0.21	M

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۱-کروموزوم های Gladiolus italicus جمعیت محلات ۲n =۲x=۶۰ در مرحله متافاز میتوز.



شکل۲-کروموزوم های Gladiolus italicus جمعیت محلات ۲n =۲x=۳۰ در مرحله متافاز میتوز.

Gladiolus italicus جمعیت الموت

Gladiolus italicus الموت که از رجایی شهر - روچ علی – ۲۰ کیلومتری الموت، جمع‌آوری شد، شامل ۳۰ جفت کروموزوم ۲n=۲x=۶۰ بود که در طبقه‌بندی استیبنز از نظر تقارنی در موقعیت 2B قرار می‌گیرد. مقدار شاخص پراکنش کروموزومی DI برای گلایل ایتالیکوس الموت ۰/۱۷۸ محاسبه شد. کروموزوم‌های این گونه شامل ۲۰ جفت کروموزوم متاسنتریک، ۹ جفت کروموزوم ساب متاسنتریک و ۱ جفت کروموزوم ساب آکروسنتریک می‌باشند. طول کروموزوم‌ها در Gladiolus italicus الموت از ۰/۶۸۶ تا ۱/۴۱۶ میکرو متر متغییر بوده است. طول بازوی بلند از ۰/۴۴۳ تا ۰/۹۲۳ میکرومتر متغییر بوده است. طول بازوی کوتاه از ۰/۲۴۳ تا ۰/۶۸۳ میکرومتر متغییر بوده است. نسبت طول بازوها از ۱/۰۰۱ تا ۳/۷۵۲ متغییر بوده است که بیشترین آن متعلق به کروموزوم شماره ۷ و کمترین آن متعلق به کروموزوم شماره ۱۷ بوده است. متوسط طول بازوی بلند ۰/۵۱۷ و متوسط طول بازوی کوتاه ۰/۳۵۴ میکرومتر بوده است. کمترین اختلاف بین بازوها در کروموزوم شماره ۱۷ و به مقدار ۰/۰۲۵ میکرومتر و بیشترین اختلاف بین بازوها در کروموزوم شماره ۷ و به مقدار ۰/ ۶۴۷ میکرومتر بوده است. شاخص سنترومری از ۰/۲۱۰ تا ۰/۴۹۹ متغییر بوده است. طول کل کروموزوم‌ها در یک دسته هاپلوئیدی آن نیز ۲۶/۱۵ میکرومتر و میانگین طول کروموزوم‌ها ۰/۸۷۱ میکرومتر می‌باشد. اختلاف بین طویل‌ترین و کوتاه‌ترین کروموزوم ۰/۷۳۰ میکرومتر بوده است (جدول ۲، شکل ۲)

.

Gladiolus italicus جمعیت مشهد

این گلایل که از مشهد، کلات، زاوین، بین روستای طاهرآباد کرکرها و طاهرآباد بربرها در ارتفاع ۱۵۰۰ متری از سطح دریا جمع آوری شد، دارای۳۰ جفت کروموزوم ۲n=۲x=۶۰ بود. که در طبقه بندی استیبنز در موقعیت 1C قرار می‌گیرد. مقدار شاخص پراکنش کروموزومی DI برای گلایل ایتالیکوس مشهد ۰/۱۹۰ محاسبه شد. کروموزوم‌های این گونه شامل ۱۶ جفت کروموزوم متاسنتریک، ۱۳ جفت کروموزوم ساب متاسنتریک و ۱ جفت کروموزوم ساب آکروسنتریک می‌باشند. طول کروموزوم‌ها در این گونه از ۰/۴۰۴ تا ۱/۶۹۵ میکرومتر متغییر است. طول کل کروموزوم‌ها در یک دسته هاپلوئیدی آن نیز ۲۸/۹۹۸ میکرومتر و میانگین طول کروموزوم ها ۰/۹۶۶ میکرومتر بوده است. اختلاف بین طویل‌ترین و کوتاه‌ترین کروموزوم ۱/۲۹۱ میکرومتر محاسبه شد. طول بازوی بلند از ۰/۲۶۰ تا ۰/۹۲۴ میکرومتر متغییر بوده است. طول بازوی کوتاه از ۰/۱۴۳ تا ۰/۸۳۴ میکرومتر متغییر بوده است. نسبت طول بازوها از ۰/۰۰۹ تا ۰/۲۹۱ متغییر بوده است که بیشترین آن متعلق به کروموزوم شماره ۸ و کمترین آن متعلق به کروموزوم شماره ۴۲ بوده است. متوسط طول بازوی بلند ۰/۵۸۹ و متوسط طول بازوی کوتاه ۰/۴۴۴ میکرومتر بوده است. کمترین اختلاف بین بازوها در کروموزوم شماره ۴۲ و به مقدار ۰/۱۰۴ میکرومتر و بیشترین اختلاف بین بازوها در کروموزوم شماره ۸ و به مقدار ۰/۵۷۷ میکرومتر بوده است. شاخص سنترومری از ۰/۳۰۳ تا ۰/۴۹۷ متغییر بوده است (جدول ۳، شکل ۳).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲- ویژگی های مورفولوژیکی کروموزوم های Gladiolus italicus جمعیت الموت

No	Cent. index	Arm ratio	Length each (mμ)	Short arm (mμ)	Long arm (mμ)	K.F
1	0.45	1.23	1.42	0.64	0.78	M
2	0.49	1.05	1.40	0.68	0.72	M
3	0.30	2.28	1.33	0.40	0.92	S.M
4	0.36	1.80	1.22	0.44	0.79	S.M
5	0.43	1.31	1.21	0.52	0.69	M
6	0.48	1.05	1.17	0.57	0.60	M
7	0.21	3.75	1.11	0.23	0.88	S.A
8	0.29	2.47	1.09	0.31	0.77	S.M
9	0.47	1.13	1.06	0.50	0.56	M
10	0.46	1.14	1.04	0.48	0.56	M
11	0.43	1.31	1.04	0.45	0.59	M
12	0.38	1.59	1.02	0.39	0.63	M
13	0.50	1.01	0.99	0.49	0.50	M
14	0.37	1.67	0.97	0.36	0.60	M
15	0.42	1.33	0.95	0.41	0.54	M
16	0.42	1.40	0.92	0.38	0.54	M
17	0.50	1.00	0.90	0.45	0.45	M
18	0.40	1.49	0.89	0.35	0.53	M
19	0.31	2.20	0.88	0.27	0.60	S.M
20	0.26	2.85	0.87	0.22	0.64	S.M
21	0.42	1.38	0.86	0.36	0.50	M
22	0.38	1.64	0.85	0.32	0.53	M
23	0.34	1.92	0.85	0.29	0.56	S.M
24	0.49	1.04	0.84	0.41	0.43	M
25	0.48	1.10	0.83	0.40	0.44	M
26	0.36	1.74	0.82	0.30	0.52	S.M
27	0.43	1.34	0.82	0.35	0.47	M
28	0.31	2.24	0.82	0.25	0.57	S.M
29	0.26	2.80	0.82	0.21	0.60	S.M
30	0.47	1.12	0.82	0.38	0.43	M
31	0.37	1.66	0.80	0.30	0.50	S.M
32	0.46	1.18	0.80	0.37	0.43	M
33	0.36	1.77	0.80	0.29	0.51	S.M
34	0.40	1.50	0.79	0.32	0.48	M
35	0.48	1.07	0.79	0.38	0.41	M
36	0.27	2.73	0.79	0.21	0.58	S.M
37	0.39	1.58	0.79	0.30	0.48	M
38	0.46	1.15	0.79	0.37	0.42	M
39	0.46	1.18	0.79	0.36	0.42	M
40	0.47	1.10	0.78	0.37	0.41	M
41	0.40	1.48	0.78	0.31	0.46	M
42	0.47	1.14	0.77	0.36	0.41	M
43	0.43	1.35	0.75	0.32	0.43	M

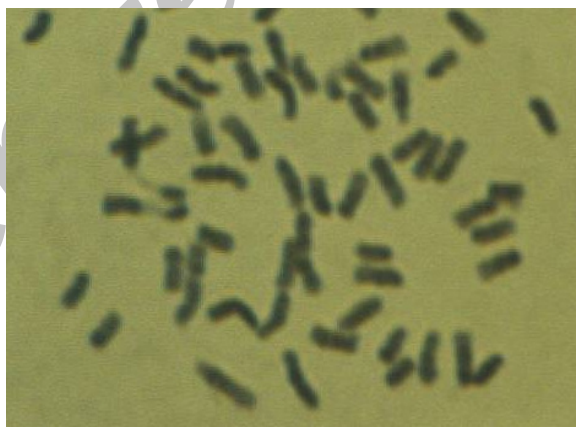
Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۲

44	0.44	1.25	0.75	0.33	0.41	M
45	0.43	1.34	0.74	0.32	0.43	M
46	0.47	1.11	0.74	0.35	0.39	M
47	0.38	1.64	0.74	0.28	0.46	S.M
48	0.43	1.33	0.73	0.31	0.42	M
49	0.33	1.95	0.73	0.25	0.48	S.M
50	0.31	2.22	0.73	0.23	0.50	S.M
51	0.44	1.29	0.72	0.31	0.41	M
52	0.49	1.04	0.71	0.35	0.37	M
53	0.24	3.08	0.72	0.17	0.54	S.A
54	0.48	1.09	0.71	0.34	0.37	M
55	0.48	1.06	0.70	0.34	0.36	M
56	0.47	1.11	0.70	0.33	0.37	M
57	0.42	1.39	0.70	0.29	0.40	S.M
58	0.49	1.05	0.69	0.34	0.35	M
59	0.44	1.26	0.69	0.30	0.38	M
60	0.35	1.82	0.69	0.24	0.44	S.M

M: کروموزوم متاسانتریک
S.M: کروموزوم ساب متاسانتریک
S.A: ساب آکروسانتریک



شکل۳- کروموزوم های Gladiolus italicus جمعیت مشهد ۲n=۲x=۶۰ در مرحله متافاز.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۳- ویژگی های مورفولوژیکی کروموزوم های Gladiolus italicus جمعیت مشهد

K.F	Long arm)mμ(	Short arm)mμ(	Length each)mμ(	Arm ratio	Cent. index	No
M	0.86	0.83	1.69	1.15	0.40	1
S.M	0.81	0.66	1.48	1.76	0.49	2
M	0.88	0.52	1.41	1.42	0.41	3
S.M	0.92	0.49	1.41	1.98	0.39	4
S.M	0.87	0.33	1.20	2.03	0.33	5
S.M	0.72	0.41	1.14	1.71	0.41	6
M	0.67	0.45	1.12	1.61	0.45	7
S.A	0.84	0.27	1.12	3.29	0.30	8
M	0.67	0.44	1.11	1.22	0.44	9
S.M	0.78	0.31	1.09	1.87	0.34	10
M	0.60	0.48	1.07	1.03	0.49	11
M	0.65	0.42	1.07	1.26	0.44	12
M	0.60	0.44	1.05	1.11	0.47	13
M	0.51	0.33	1.04	1.14	0.46	14
M	0.58	0.46	1.03	1.03	0.49	15
M	0.58	0.46	1.03	1.03	0.49	16
M	0.61	0.39	0.10	1.24	0.44	17
M	0.62	0.37	0.99	1.31	0.43	18
S.M	0.68	0.30	0.99	2.24	0.37	19
M	0.59	0.39	0.98	1.19	0.46	20
S.M	0.68	0.29	0.97	1.72	0.37	21
S.M	0.66	0.30	0.97	1.95	0.38	22
M	0.50	0.37	0.96	1.26	0.44	23
S.M	0.65	0.31	0.95	1.99	0.38	24
S.A	0.70	0.23	0.94	3.10	0.32	25
M	0.54	0.39	0.93	1.09	0.48	26
S.M	0.57	0.33	0.91	1.72	0.43	27
S.M	0.64	0.26	0.91	2.77	0.36	28
M	0.51	0.39	0.90	1.05	0.40	29
S.M	0.58	0.31	0.90	1.73	0.41	30
S.M	0.58	0.31	0.89	1.80	0.41	31
M	0.54	0.35	0.89	1.21	0.45	32
S.M	0.64	0.24	0.88	2.87	0.35	33
M	0.53	0.36	0.87	1.14	0.46	34
M	0.49	0.38	0.87	1.01	0.49	35
M	0.49	0.37	0.86	1.05	0.48	36
S.M	0.59	0.26	0.85	1.91	0.38	37
S.M	0.61	0.24	0.85	2.78	0.36	38
S.M	0.55	0.29	0.85	1.91	0.41	39
M	0.54	0.30	0.84	1.33	0.42	40
M	0.51	0.32	0.84	1.21	0.45	41
M	0.47	0.36	0.83	1.01	0.50	42
M	0.48	0.33	0.81	1.11	0.47	43
S.M	0.59	0.22	0.81	2.85	0.35	44

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۳

S.M	0.52	0.27	0.80	1.90	0.42	45
M	0.47	0.33	0.80	1.90	0.48	46
S.M	0.55	0.24	0.79	1.93	0.38	47
M	0.44	0.34	0.78	1.00	0.50	48
M	0.45	0.32	0.78	1.07	0.48	49
S.M	0.52	0.25	0.77	2.50	0.39	50
M	0.48	0.29	0.76	1.23	0.45	51
S.M	0.50	0.26	0.76	1.97	0.42	52
M	0.43	0.32	0.75	1.02	0.49	53
M	0.42	0.31	0.73	1.01	0.50	54
M	0.45	0.28	0.72	1.18	0.46	55
M	0.43	0.27	0.70	1.15	0.46	56
S.M	0.45	0.23	0.68	2.37	0.40	57
S.M	0.46	0.20	0.66	2.50	0.40	58
S.M	0.46	0.17	0.63	2.70	0.37	59
S.M	0.26	0.14	0.40	1.85	0.49	60

M : کروموزوم متاسانتریک
S.M : کروموزوم ساب متاسانتریک
S.A : ساب آکروسانتریک

بحث

همان گونه که نتایج حاصل از بررسی های سیتوژنتیکی در رابطه با جمعیت های سه گونه Gladiolus italicus نشان داد به لحاظ سطح پلوئیدی، با عدد پایه کروموزومی X=۱۵ و X=۳۰ کروموزوم می باشد که این نتایج با گزارش بن‌فورد (۲۰۰۶) و همچنین با گزارش گلد بلات و مانینگ (۲۰۰۲) مطابقت دارد. پژوهش حاضر برای اولین بار اطلاعات در مورد صفات کاریوتیپی Gladiolus italicus کشور ارائه داده شده است. در این پژوهش سطوح پلوئیدی این گونه مشخص شد که این اطلاعات برای انتخاب والدین قابل تلاقی در برنامه های به نژادی از اهمیت ویژه ای بر خوردار است. نتایج حاصله از بررسی‌های سیتولوژیکی صورت گرفته بر روی جمعیت های مختلف گونه گلایول Gladiolus italicus موید گزارش بن‌فورد (۲۰۰۶)، گلدبلات و مانینگ (۲۰۰۲) است که در مورد Gladiolus italicus آفریقای جنوبی ارائه دادند. آن ها بیان داشتند این گونه بین ۳۰ تا ۶۰ کروموزوم دارد و به طور کلی دیپلوئید می‌باشند اما گلایول‌های تتراپلوئید و پلی‌پلوئید نیز در این گونه مشاهده شده است و تتراپلوئیدها به دلیل داشتن کاریوتیپ نامتقارن‌تر احتمالاً متکامل تر از دیپلوئیدها می‌باشند و اکثر آن ها در دسته‌بندی کاریوتیپی بر اساس میزان تقارن آن ها بر اساس جدول استیبنز در موقعیت 2B قرار می‌گیرند اما گلایل‌هایی که در موقعیت 1C و حتی 2C نیز قرار می‌گیرند هم مشاهده شده است. طول کروموزوم‌ها از ۰/۴۷۶ تا ۱/۸۵۹ میکرومتر متغییر است و نسبت بازوها از ۱ تا ۴/۴۸۵ متغییر بوده است. نتایج این تحقیق نشان داد که Gladiolus italicus ایران نیز از لحاظ صفات کروموزومی کاملاً مشابه Gladiolus italicus آفریقای جنوبی است و تفاوت‌های اندک موجود می‌تواند به دلیل فاصله جغرافیایی و تفاوت‌های آب و هوایی باشد که به مرور زمان تفاوت های اندکی را در سطح کروموزومی به وجود آورده است به طوری که جمعیت های مختلف گلایول Gladiolus italicus محلات دارای ۳۰ کروموزوم و الموت و مشهد دارای ۶۰ کروموزوم بودند. با بررسی صفات مورفولوژیکی کروموزومی نیز مشاهده می‌شود که

Archive of SID
www.SID.ir

Gladiolus italicus مشهد دارای کروموزوم‌های طویل تری نسبت به الموت Gladiolus italicus محلات می‌باشد. به طوری که میانگین طول کروموزوم‌ها در ایتالیکوس مشهد برابر ۰/۹۶۶ میکرومتر و در Gladiolus italicus الموت برابر ۰/۸۷۱ میکرومتر و در ایتالیکوس محلات برابر ۰/۵۵۲ میکرومتر محاسبه شد. طویل‌ترین کروموزوم نیز در Gladiolus italicus مشهد و به طول ۱/۶۹۵ میکرومتر و کوچک‌ترین کروموزوم در Gladiolus italicus محلات و به طول ۰/۳۹۹ میکرومتر مشاهده شد. بالاترین نسبت بازوها به میزان ۳/۷۵۲ و کمترین نسبت بازوها به میزان ۱/۰۰۱ هر دو در جمعیت های مختلف گلایول Gladiolus italicus الموت مشاهده شد. طویل‌ترین بازوی بلند به طول ۰/۹۲۴ و در کروموزوم شماره ۴ و کوتاه‌ترین بازوی کوتاه به طول ۰/۱۴۳ در کروموزوم شماره ۶۰ Gladiolus italicus مشهد مشاهده شد. بیشترین اختلاف بین طویل‌ترین و کوتاه ترین کروموزوم در Gladiolus italicus مشهد و به مقدار ۱/۲۹۱ میکرومتر بوده است پلی پلوئیدی Gladiolus italicus به عنوان مهم ترین منابع تکامل و اهلی کردن گیاهان گل دار می باشد که این نتایج بیانگر وجود تنوع بیشتر در بین جمعیت کروموزوم‌های ایتالیکوس مشهد می‌باشد. بررسی کاریوتیپی ژنوتیپ های Gladiolus italicus نشان داد که اختلاف معنی داری بین طول کروموزوم ها وجود دارد. بنابر این جمعیت های گلایول های وحشی ایران موید تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی قابل توجه در بین آن ها می باشد، بنابر این تحقیقات بعدی برای شناسائی صفات مطلوب تجاری در گو.نه های وحشی و انتقال آن ها به کالتیوارهای زراعی حائز اهمیت می باشد. همچنین نتایج این تحقیق در مجموع نشان داد که نقش داده های مربوط به کروموزوم در تعیین تنوع بین گو نه های بسیار کم رنگ است که می تواند به دلیل این باشد که کروموزوم های سه گو نهGladiolus italicus محلات، الموت و مشهد دارای تشابه بسیار و در اندازه کوچک بوده (۳/۱µm-۱) و بسیار متقارن می باشند. از این رو مطالعات سیتوژنتیکی ضروری می باشد، تا نتایج حاصل ازدورگ گیری بین سه گونه دیپلوئید و تتراپلوئید، به مرحله ثبات و پایداری لازم برای کارهای به نژادی برسد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

قنواتی ف، مظفری ج، صفایی کاظم پور ش. روابط خویشاوندی جنس یونجه در ایران بر اساس نشانگر مولکولی RAPD. فصلنامه علمی پژوهشی وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۸۴؛جلد ۱۸، شماره ۱: ۲-۱۲.

قنواتی ف، تاجدینی م، یوسفی م، امیرعابدزاده ج. بررسی کاریوتیپی گونه بخش Heliobrychis از جنس اسپرس (Onobrychis) موجود در ایران. مجله به نژادی نهال و بذر، ۱۳۸۹؛ جلد ۱-۲۶، شماره ۲: ۲۵۳-۲۵۶.

Bamford R, Reynard B and Bellows JM. Chromosome Number in Some Tulip Hybrids; the University of Chicago Press. Botanical Gazette, 1939; 101(2): 482-490.

Contreas RN, Ranney TG and Talluy SP. Reproductive behavior of diploid and alotetraploid Gladiolus .Hort Science, 2007; 42:31-34.

Eliane T, koyuncu MA,Gunner SE. Taxonomical and Ecological researches on the geophytes of turkey with economical value. Ministry of agriculture, Forestry and rural affairs. General forestry directorate of management and marketing, Turkey. 2002; 669: 65.

Goldblatt P, Bernhardt P. Manning JC. Floral biology of romulea (Iridaceae: Crocoideae) : A progression from a generalist to a specialist pollination system, Ad Ansonia, 2002; 24: 243 – 262.

Golblatt P, Manning JC. Bernhardt P. Radiation of pollination systems in Gladiolus (Iridaceae: Crocoideae) in southern Africa. Ann Mo Bot Gard, 2003; 88:713–34.

Paszko B.A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. Plant Systematic and Evolution, 2006; 258:39-48.

Singh AK. Advances-in plant-sciences, 2003; 13(1): 39-40.

Suzuki K and Takatsu Y. Karyotype chromosome of wild Gladiolus species. Acta Hort, 2009; 673, ISHS.

Yung Sf. Regulation of ethylene biosynthesis. Hort Science, 2005; 25: 238-243.

Archive of SID

www.SID.ir

New Cell Mol Biotech J.1/4, 2011- novamber

Karyotypic Studies of Gladiolus Italicus Mill Population

Fakhraei Lahiji M[1*], Rahimi Midani A[2], Ghanavati F[3]

[1,3] National Plant Gene bank of Iran, Seed and Plant Improvement Research Institute, Karaj, Iran
[2] Research Institute and a certificate of registration of seeds and Plant, Karaj, Iran

Abstract

Aim and Background. Gladiolus italicus species are exposed to genetic erosion and even destruction. On the other hand, these species can be potentially useful for breeding and agriculture. Moreover, the diversity of germplasm is not sufficient. Therefore, the collection, preservation and .study of genetic diversity on Gladiolus species are important and essential

Materials and Methods. According to Flora of Iran books, different regions of the country were visited. Three populations of Gladiolus species from different area namely Alamout, Mahalat and Mashhad were collected and their karyotype characteristics were recorded .Three plants of each population was randomly selected for further studying. The root tips pretreated with 8-hydro-, xyquinolin for 3/5 hours, then fixed in Former solution 1:3 ethanol and acetic acid for 24 hours followed by being stained with hematoxylin. Images of ten appropriate metaphase plates with clearly .chromosomes morphology were then captured

Results. The species populations possessed 2n=2x=30, 60 chromosome number, but varied in details of karyotype including type of chromosomes.

Conclusion. Karyotype symmetry, number of SAT and chromosomes differed significantly. chromomatin length as well as length of chromosome arms were also differed. Therefore, medium-chromosome was designated as diploid.

Key words. Karyotype, Gladiolus, Chromosome, Cytogenetic, Ploidy Level

*** Corresponding Author:**
Address: Plant Gene bank of Iran, Seed and Plant Improvement Research Institute.
Email: fakhraie1000@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir