

بررسی سیتوژنتیکی جمعیت های ذغال اخته (*Cornus mas L.*) در ایران

فرنگیس فنواتی

استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج- ایران

چکیده

سابقه و هدف: ذغال اخته (*Cornus mas L.*) متعلق به خانواده (Cornaceae)، درختچه بلند یا درخت کوچک برگ ریز به ارتفاع ۵ تا ۸ متر است و در منطقه ی وسیعی از اروپا، آسیا به خصوص ایران، ارمنستان و قفقاز می روید. ذغال اخته به دلیل داشتن گل های زیبا به عنوان گیاه زینتی کشت می شود. میوه ذغال اخته نه تنها به صورت تازه خوری بلکه در تهیه مربا، ژله، مارمالاد، شربت و انواع نوشیدنی ها بکار می رود. همچنین به دلیل خواص ساقه، میوه و هسته، به عنوان دارو استفاده می شود. با وجود کاربرد وسیع، تاکنون مطالعه جامعی بر روی این گیاه در ایران صورت نگرفته است.

مواد و روش ها: در این تحقیق ۶ جمعیت از گونه *Cornus mas* جمع آوری شده از ۳ نقطه ایران با استفاده از مریستم انتهایی ریشه مورد مطالعه قرار گرفتند و تعداد و ابعاد کروموزوم ها در تقسیم میتوز اندازه گیری و فرمول کاریوتیپی هر جمعیت تعیین شد. **یافته ها:** تعداد کروموزوم پایه در جمعیت ها، ۹ و نوع کروموزوم ها از نوع متاسانتریک، ساب متاسانتریک و ساب تلو سانتریک بود. بیشترین میانگین طول کروموزوم متعلق به جمعیت C۲ (۷/۴۷ میکرون) و کمترین آن متعلق به جمعیت C۳ (۳/۵۰ میکرون) بود. جمعیت های مورد مطالعه با استفاده از روش استبینز از نظر کاریوتیپی نیز مورد مقایسه قرار گرفتند. جمعیت های C۲ و C۳ در کلاس A۱ و سایر جمعیت ها در کلاس A۲ قرار داشتند، بنابراین جمعیت های C۲ و C۳ نسبت به سایر جمعیت های مورد بررسی متقارن تر و در نتیجه ابتدایی تر می باشند. فرمول کاریوتیپی جمعیت های C۱، C۲، C۴، C۵ بر اساس روش لوان و همکاران، $8sm + 10m$ و جمعیت های C۳ و C۶، $12sm + 6m$ تعیین گردید. **نتیجه گیری:** بررسی سیتولوژیکی این نمونه ها بیانگر تفاوت هایی جزئی در این نمونه نسبت به سایر نمونه ها بود، بطور مثال در نمونه C۵، جفت کروموزوم شماره ۴ دارای ستلایت می باشد.

واژه های کلیدی: کروموزوم، سیتوژنتیک، ذغال اخته، ایران

مقدمه

ذغال اخته (*Cornus mas L.*) متعلق به خانواده Cornaceae بوده و بطور طبیعی در مناطق معتدل نیم کره شمالی، پروو در منطقه ی وسیعی از اروپا، آسیا به خصوص ایران، ارمنستان و قفقاز می روید (Mamedov and Craker., 2004; Tetera et al., 2006) ذغال اخته به دلیل داشتن گل های زیبا به عنوان گیاه زینتی کشت

آدرس نویسنده مسئول: استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج- ایران

E-mail: F_ghanavati83@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۶/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۸/۲۲

می شود، همچنین به دلیل خواص ساقه، میوه و هسته، به عنوان دارو استفاده می گردد. اغلب گونه ها را درختان و درختچه های خزان کننده (۲ گونه علفی) تشکیل می دهند که در وهله اول به خاطر داشتن گل های زیبا، میوه، علوفه یا رنگ شاخه های فرعی آن ها کاربرد دارند (Brindza et al., 2007). چندین وارسته برای تعدادی از گونه ها نیز معرفی شده است که ارزش باغبانی زیادی دارند. چوب برخی از انواع ذغال اخته کاربرد زیادی در صنایع نساجی دارد و امروزه بسیاری از گونه های ذغال اخته به عنوان گیاهان زینتی استفاده می شوند، برخی از گونه ها نیز میوه های خوراکی دارند (Edminster., 1951)

(شکل ۱) و پس از شستشو با آب مقطر، در محلول پیش تیمار ۸ - هیدروکسی کینولین ۰/۰۰۳ مولار به مدت ۳/۵ ساعت در یخچال نگهداری شدند. این مرحله عملاً موجب توقف تشکیل رشته های دوک و یا تخریب و دپلی مریزاسیون رشته ها می شود. مرحله بعد از توقف تقسیم سلولی، تثبیت سلول ها است. که در این مرحله از یک فیکساتور استفاده می شود. فیکساتور سلول را در همان حال نگه می دارد، چربی ها را حل کرده و با تغییر ساختار پروتئین ها، دیواره سلولی 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 اتانول ۹۶ درصد نگهداری شدند. سلول های گیاهی دارای دیواره سلولی هستند و این دیواره می تواند مانع پراکنش کافی و مناسب کروموزوم ها بر روی لام شود. بنابراین با روش های 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 سانتی گراد هیدرولیز و با هماتوکسیلین به مدت ۴۵ دقیقه در انکوباتور ۶۰ درجه سانتی گراد رنگ آمیزی شدند. برای از بین بردن تیغه میانی و تهیه گسترش بهتر سلولی ریشه به مدت یک الی دو ساعت در آنزیم سیتاز (استخراج شده از حلزون) قرار گرفتند. پس از اسکواش، ۱۰-۵ پهنه متافازی میتوز سلول های مریستم نوک ریشه برای هر گونه بوسیله ی میکروسکوپ نوری مدل Ziess ساخت کشور آلمان مجهز به دوربین عکاسی مطالعه گردیدند.

تهیه کاریوتیپ، کاریوگرام و ایدیوگرام

عکس های گرفته شده با وضوح مناسب و پراکنش بالا را انتخاب نموده و پس از جدا کردن کروموزوم ها در Photoshop CS۲ کروموزوم های هومولوگ را در کنار هم قرار داده 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 سانترومیری (CI) توسط نرم افزار Micromesure بر حسب میکرون در برنامه

مواد و روش ها

بر اساس منابع موجود به مناطق کشت این گیاه مراجعه و از انواع این گیاهان نمونه برداری (جدول ۱) و نهال های آن ها به گلخانه منتقل و در گلدان محتوی خاک سبک کشت شدند و هر دو هفته یک بار انتهای ریشه های رشد یافته قطع

لوان و همکاران، $10\text{m} + 8\text{sm}$ تعیین گردید. صفحه متافازی و کاریوگرام این نمونه در شکل ۱ و ایدیوگرام آن در شکل ۲ آمده است.

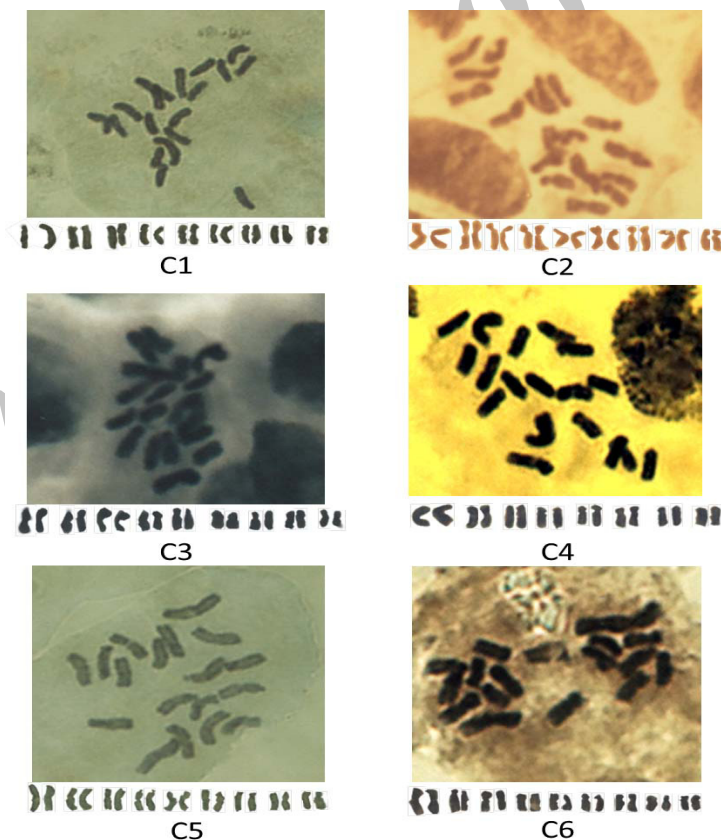
۶) نمونه C۶

این نمونه دیپلوئید بوده و دارای ۱۸ کروموزوم می باشد. مقدار درصد کلی (TF %) برابر $37/40$ و مقادیر اختلاف دامنه طول نسبی (DRL)، طول نسبی کوتاه ترین کروموزوم (S%)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A۱) و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A۲) به ترتیب $4/28$ ، $68/98$ ، $0/40$ و $0/5715$ ، محاسبه گردید. طول کل ژنوم (TL)، $43/07$ میکرون می باشد. این گونه بر اساس دسته بندی استینز در کلاس ۲A قرار گرفت و فرمول کاریوتیپی آن براساس روش لووان و همکاران، $12\text{sm} + 6\text{m}$ تعیین گردید. صفحه متافازی و کاریوگرام این نمونه در شکل ۱ و ایدیوگرام آن در شکل ۲ آمده است.

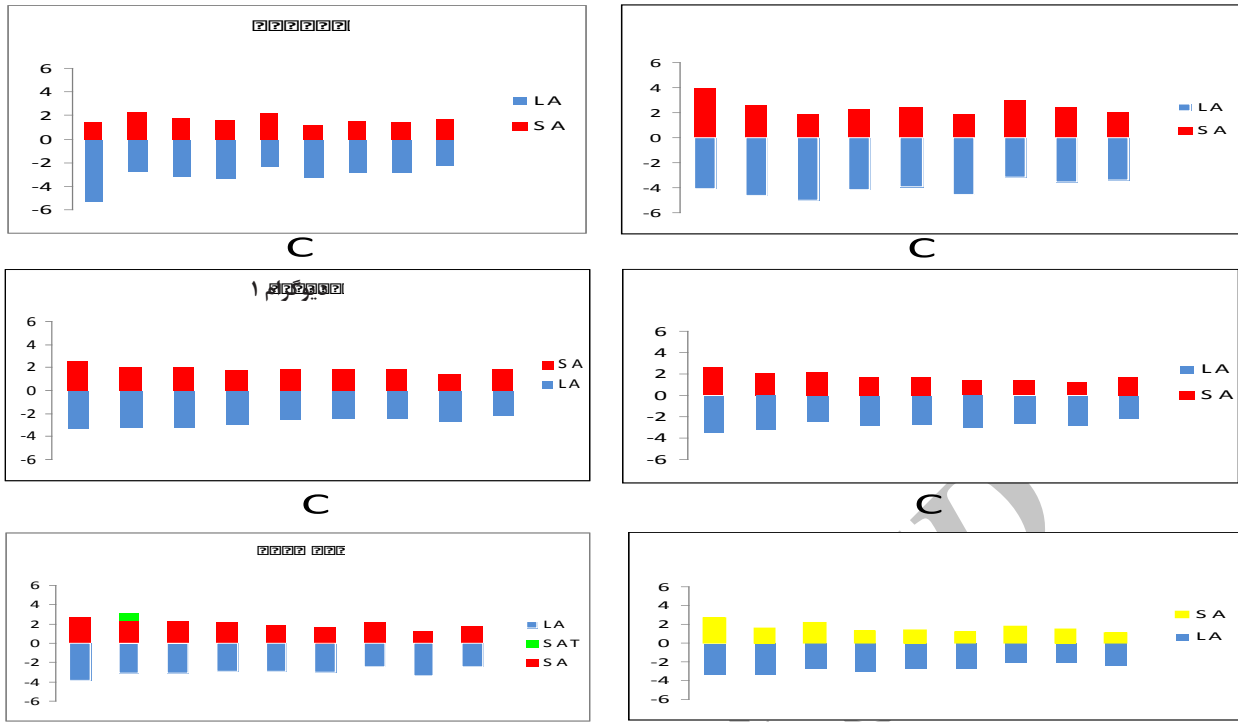
محاسبه گردید. طول کل ژنوم (TL)، $43/23$ میکرون می باشد. این گونه بر اساس دسته بندی استینز در کلاس A۲ قرار گرفت و فرمول کاریوتیپی آن براساس روش لووان و همکاران $10\text{m} + 8\text{sm}$ تعیین گردید. صفحه متافازی و کاریوگرام این نمونه در شکل ۱ و ایدیوگرام آن در شکل ۲ آمده است.

۵) نمونه C۵

این نمونه دیپلوئید بوده و دارای ۱۸ کروموزوم و ۲ ساتلایت می باشد. مقدار درصد کلی (TF %) برابر $37/92$ و مقادیر اختلاف دامنه طول نسبی (DRL)، طول نسبی کوتاه ترین کروموزوم (S%)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A۱) و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A۲) به ترتیب $6/52$ ، $58/17$ ، $0/39$ و $0/8024$ محاسبه گردید. طول کل ژنوم (TL)، $44/38$ میکرون می باشد. این گونه بر اساس دسته بندی استینز در کلاس ۲A قرار گرفت و فرمول کاریوتیپی آن براساس روش



شکل ۱- صفحه متافازی و کاریوگرام نمونه های ذغال اخته مورد بررسی.



شکل ۲- ایدیوگرام نمونه های ذغال اخته مورد بررسی.

است. همبستگی ساده صفات کاربوتیبی در نمونه های مورد بررسی (جدول ۳) نشان داد که بین صفت r-value و AR همبستگی منفی بسیار معنی دار داشت در حالی که همبستگی آن با CI مثبت بسیار معنی دار بود. AR با همبستگی منفی و TL با S و L همبستگی مثبت بسیار معنی دار داشت.

تجزیه و تحلیل داده ها

نتایج تجزیه واریانس صفات کاربوتیبی (جدول ۲) نشان داد که تفاوت معنی داری بین گونه ها از این نظر وجود نداشته است. بنظر می رسد که دلیل اصلی این عدم تفاوت کم بودن تعداد نمونه های مورد بررسی یا بخاطر زراعی بودن آن ها بوده

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات کاربوتیبی

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	S	L	میانگین مربعات (MS) TL	AR	r-value	CI
species	گونه گیاهی	5	4.56	23.73	52.60	1.67	0.09	0.03
Error	خطا	10	3.91	3.17	12.44	1.34	1.29	0.03
%CV	ضریب تغییرات		9.01	6.07	8.90	8.26	8.16	7.13

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

جدول ۳ - ضرایب همبستگی ساده صفات کاربوتیپی در نمونه های مورد مطالعه

	S	AR	r-value	L	TL
S	1				
AR	-0.28				
r-value	0.36	**0.97			
L	0.37	0.53	-0.47		
TL	**0.73	0.24	-0.19	**0.80	
CI	0.35	**0.98	**0.99	-0.47	-0.17

** : به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد
 S : مجموع بازوهای کوتاه، L : مجموع بازوهای بلند، TL : طول کل کروموزوم، AR : نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه، r-value : نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، CI : شاخص سانترومری.

CI را دربر می گیرد که صفات مربوط به تقارن کروموزوم ها می باشند. در مولفه دوم صفات TL، S و DRL که مربوط به اندازه کروموزوم ها است را در بر گرفته است (جدول ۴).

تجزیه به مولفه های اصلی کلیه صفات کاربوتیپی نشان داد که سه عامل اول بیش از ۹۷ درصد تغییرات مولفه اصلی را توجیه می نمایند و مولفه اول صفات A1، r-value، TF و

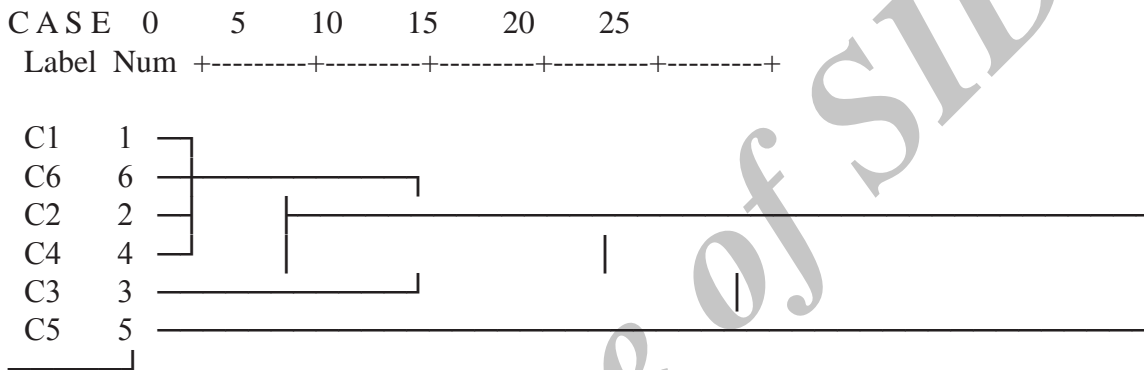
جدول ۴ - تجزیه به مولفه های اصلی صفات کاربوتیپی گونه های مورد مطالعه ذغال اخته

	Component		
	1	2	3
S	-0.008	0.83	0.527
L	-0.569	0.58	0.561
TL	-0.353	0.748	0.554
AR	-0.91	-0.354	0.129
r-value	0.933	0.314	-0.014
A1	-0.933	-0.311	0.013
A2	0.43	-0.502	0.728
DRL	0.476	-0.719	0.497
TF	0.943	0.295	-0.087
S	-0.479	0.71	-0.502
CI	0.893	0.353	-0.052

بحث

فرمول کاربوتیپی جمعیت های C1، C2، C4 و C5 براساس روش لوان و همکاران (Goldblatt et al., 2000)، $Asm + 10m$ و جمعیت های C3 و C6، $6m + 12sm$ تعیین گردید. شکل 3 گروه بندی نمونه های زغال اخته مورد بررسی را نشان می دهد. نتایج نشان داد که نمونه ها در دو گروه قرار گرفتند. نمونه C5 در گروه مجزای نسبت به سایر گونه ها قرار گرفت. نمونه های C1، C2، C4 و C6 دارای تشابه زیاد و در یک گروه فرعی قرار گرفتند.

تعداد کروموزوم های سوماتیکی جمعیت های C1، C2، C3، C4، C5 و C6 دارای 18 کروموزوم ($2n=2x=18$) و دیپلوئید بودند. جمعیت های مورد مطالعه با استفاده از روش استیپینز (8)، از نظر کاربوتیپی نیز مورد مقایسه قرار گرفتند. جمعیت های C2 و C3 در کلاس A1 و سایر جمعیت ها در کلاس A2 قرار دارند بنابراین جمعیت های C2 و C3 نسبت به سایر جمعیت های مورد بررسی متقارن تر و در نتیجه ابتدایی تر می باشند.



شکل 3- تجزیه کلاستر نمونه های زغال اخته مورد بررسی.

منابع

- Brindza P, Brindza J, Toth D, Klimenko SV, Grigorieva O. Slovakian Cornelian cherry (*Cornus mas* L.): Potential for cultivation. *Acta Hort*, 2007; 760: 433-437.
- Daniella I, Dimitrova D and Vladimirov V. Chromosome numbers of selected woody species from the Bulgarian flora. *Phytologia Balcanica*, 2006; 12 (1): 79–84.
- Edminster F C. Use of shrubs in developing farm wildlife habitat. *North American wildlife conference transactions*, 1950; 15:519-550.
- Edminster F C and May R M. Shrub plantings for soil conservation and wildlife cover in the Northeast. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, 1951; p:68
- Goldblatt P, and Johnson DE, (eds.). *Index to plant chromosome numbers 1996-1997*. – *Monogr Syst Bot Missouri Bot Gard*, 2000; pp:81
- Levan A, Fredga K and Sandberg AA. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 1964; 52:201-220.
- Mamedov N, Craker LE. Cornelian cherry. A prospective source for phytomedicine. *Acta Hort*, 2004; 629: 83-86.
- Melander Y and Wingstrand KG. Gomori's haematoxylin as a chromosome stain. *Stain Technol*, 1953; 28: 217.
- Rop O, Mlcek J, Kramarava D and Jurikova T. Selected cultivars of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) as a new food source for human nutrition. *African J Biotech*, 2010; 9(8): 205-1210.
- Seeram NP, Schutzki R, Chandra A and Nair M G. Cornelian cherry. *J Agric Food Chem*, 2002; 50: 2519 -2523.
- Stebbins G L. *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold (Publisher) Ltd, London. 1971.
- Tetera V. *Ovoce Bilych Karpat*. CSOP, Veseli na Moravou, Czech Republic, 2006; 110- 125.
- Yilmaz KU, Zengin Y, Ercisli S, Orhan E, Yalcikaya E, Taner O, Erdogan A. Biodiversity, ex-situ conservation and characterization of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Turkey. *Biotechnol Biotechno*, 2009a; 23: 1143-1149.

Cytogenetical Survey of *Cornus Mas* Populations in Iran

Farangis Ghanavati

Assistant professor of Seed and Plant Improvement Institute, Karaj

Abstract

Aim and background. Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) belongs to the family Cornaceae. It is a tall deciduous shrub or small tree of 5 to 8 m high. This plant is popular in Southern Europe and Asia. Fruits of these species are not only consumed fresh but also used to produce jam, jelly, stewed fruit, marmalade, syrup and several types of soft drinks. It is also used for medicinal purposes due to properties of stalk and fruits. The leaves and seed of this species is used in pharmaceuticals. The tree is also valuable for ornamentation as an evergreen broadleaf plant. Despite the widespread use of cornelian cherry, a few studies on this plant have been conducted in Iran.

Materials and Methods. In this research 6 populations of *Cornus mas* belongs to *Cornus* genus that collected from 3 locations of Iran, studied using root apex meristem, number and dimensions of chromosomes in the mitosis division measured, and determined karyotypic formula for any population.

Results. The number of genome was 9 and kind of chromosome was metacentric, sub-metacentric and sub-telocentric. The most and lowest mean of chromosome length belongs to C2 population (47.7 micron) and C3 population (3.50 micron) respectively. The populations were compared using stebbins method based on karyotype. C2 and C3 lied in 1A class and other populations in 2A class, so C2 and C3 populations were symmetrical than others. Karyotypic formula of C1, C2, C4, C5 and C3 and C6 was determined as $10m+8sm$ and $6m+12m$ respectively.

Conclusion. Cytological samples showed minor differences in this sample compared to other samples, for example, a satellite is in samples C5 pairs of chromosome No. 4.

Key words. Chromosome, *Cornus mas*, Cytogenetic

*Corresponding Author:

Address: Seed and Plant Improvement Institute, Karaj.

E-mail: F_ghanavati83@gmail.com