دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۱، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۱۴۹-۱۴۰ (۱۳۹۲)

بررسی تنوع کاریوتیپی در کلکسیون گونه *Aegilops umbellulata* ایران

فروزش حسینی[۱]، محمد جعفرآقایی*[۲]، شاهین واعظی[۳] و محمود خسروشاهلی[٤]

۱- کارشناس‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران
۲*- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، بانک ژن گیاهی ملی ایران، کرج
پست‌الکترونیک: mjaghaei@spii.ir
۳- استادیار، بانک ژن گیاهی ملی ایران، کرج
٤- استاد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰٤/۰٤

چکیده

به‌منظور بررسی تنوع صفات کاریوتیپی و اندازه ژنوم در کلکسیون گونه *Aegilops umbellulata* ایران، ۹٦ نمونه از کلکسیون موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران مورد مطالعه فلوسیتومتری و سیتوژنتیکی قرار گرفتند و پارامترهای کروموزومی در این جمعیت بررسی شدند. بررسی فلوسیتومتری نشان داد که نمونه‌های مورد مطالعه دیپلویید هستند. مطالعات سیتوژنتیکی، نتایج حاصل از داده‌های فلوسیتومتری را تأیید کرد و تمام گونه‌های مورد مطالعه دیپلویید، و عدد پایه کروموزومی آنها X=۷ بود. مقایسه نتایج فلوسیتومتری و کاریوتیپ نمونه‌ها، رابطه مستقیم بین محتوای DNA و متوسط طول کروموزومی را تأیید کرد. کاریوتیپ نمونه‌های انتخاب شده دارای کروموزوم‌هایی متقارن و از نوع متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک بودند و در کاریوتیپ نمونه‌های بررسی شده تعداد متفاوتی از کروموزوم‌های ماهواره‌دار مشاهده شد. ضریب تغییرات نمونه‌های بررسی شده به طور متوسط ۱۷/۷۳ بدست آمد. بنابراین بررسی کاریوتیپی و فلوسیتومتری نشان داد که این گونه در درون جمعیت خود نیز دارای تنوع می‌باشد. با توجه به پراکندگی وسیع گونه *Ae. umbellulata* در ایران، و تنوع سیتوژنتیکی در درون گونه نتیجه گرفته شد که این گونه از سابقه تنوع و تکامل زیادی در ایران برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: *Ae. Umbellulata*، فلوسیتومتری، کاریوتیپ، تنوع ژنتیکی.

مقدمه

آجیلوپس‌ها از خویشاوندان نزدیک گندم بوده و از اجداد وحشی گندم محسوب می‌شوند. جنس آجیلوپس شامل ۱۱ گونه دیپلوییدو ۱۲ گونه پلی‌پلوییداست. *Ae. umbellulata* یکی از گونه‌های دیپلوئید آجیلوپس (UU ،۲n=۲x=۱٤) می‌باشد. این گونه بخشندهٔ ژنوم U به گونه‌های پلی‌پلویید آجیلوپس مانند: *Ae. biuncialis* (UUM^{o}M^{o} ،۲n=٤x=۲۸)، *Ae. columnaris* (UUM^{c}M^{c} ،۲n=٤x=۲۸)، *Ae. kotshyi* (UUS^{l}S^{l} ،۲n=٤x=۲۸)، *Ae. ovata* (UUM^{o}M^{o} ،۲n=٤x=۲۸)، *Ae. triaristata* (UUM^{t}M^{t} ،۲n=٤x=۲۸)، *Ae. triancialis* (UUCC ،۲n=٤x=۲۸) *Ae. juvencialis* (DDMMUU،۲n=٦x=٤۲) می‌باشد (Van slageren, 1994).

Archive of SID

www.SID.ir

مرکز تنوع *Ae. umbellulata* نواحی مدیترانه‌ای ازجمله: یونان، ترکیه، سوریه، ایران، عراق و قفقاز است و توزیع این گونه در ایران نیز بیشتر در نواحی شمال‌غربی و غرب می‌باشد. جایگزینی ارقام بومی توسط ارقام اصلاح شده یکنواخت و پرمحصول منجر به فرسایش ژنتیکی و کاهش تنوع در بسیاری از محصولات زراعی شده است و درنتیجه ارقام تجاری اغلب برای ژن‌های مهم زراعی از تنوع اندکی برخوردار هستند. فرسایش ژنتیکی در ژرم‌پلاسم ارقام زراعی گندم ضرورت استفاده از تنوع ژنتیکی موجود در خویشاوندان وحشی گندم را موجب شده است (Ranjbar *et al*., 2010). گونه‌های خویشاوند گندم منابع ژنتیکی بی‌نظیری برای اصلاح گندم بوده و بهره‌برداری از آنها در اصلاح نباتات موجب بهبود کمیت و کیفیت ارقام زراعی خواهد شد. امکان انتقال ژن از گونه‌های آجیلوپس به گندم زراعی را Aghaei و همکاران (۲۰۰۷) مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که امکان تهیه هیبریدهای بین این گونه‌ها حداقل با استفاده از روش های نجات جنین وجود دارد. وجود صفات مهمی مانند سازگاری وسیع، مقاومت به بیماری‌ها، ژن‌های با کیفیت و غیره در برخی از ارقام بومی، این خزانه ژنی را به‌عنوان منابع ارزشمندی برای تنوع ژنتیکی در گندم مطرح می‌کنند (Dreisigacker *et al*., 2005; Akar & Ozgen, 2007). گونه *Ae. umbellulata* منبع ژن مقاومت به زنگ برگی Lr9 می‌باشد که از طریق تیمار با اشعه x به گندم معمولی انتقال یافته است و متعاقب آن مشخص شد که این ژن به بازوی بلند کروموزوم 6U گندم انتقال یافته است. علاوه بر این، ژن، ژن های مقاومت به سفیدک سطحی، مگس گندم و شته سبز گندم در این گونه وجود دارد (Gill *et al*., 1985). در این خصوص Ganeva و همکاران (۲۰۰۰) انتقال ژن مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای را از گونه *Ae. umbellulata* به گندم *T. aestivom* را انجام دادند. همچنین Chhuneja و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از هیبریداسیون بین گونه‌ای، دو ژن برای مقاومت زنگ برگ و یک ژن برای مقاومت زنگ نواری از *Ae. umbellulata* به گندم نان (*T. aestivum L.*) منتقل کردند. برای استفاده از این قابلیت ژنتیکی در برنامه‌های به‌نژادی گندم، ابتدا باید تنوع ژنتیکی برای صفات مورد نظر در درون یا بین گونه‌ها مورد بررسی قرار گیرد (Zhang *et al*., 2006; Warburton & Hoisington, 2001). از این تنوع می‌توان در برنامه‌های اصلاحی گندم‌های پلی‌پلوئید اهلی و همچنین برای وسیع کردن تنوع ژنتیکی در خزانه ژنی استفاده نمود. پژوهش‌های سیتوژنتیکی، نقش مهمی در تعیین قرابت گونه‌ها، خصوصاً گیاهان وحشی و بومی ایفا می‌کند و به‌عنوان اولین قدم در تجزیه فیلوژنی و تکامل گونه‌های خویشاوند مطرح است. به‌منظور بررسی تنوع کاریوتیپی درون گونه‌ای در *Ae. triuncialis*، توسط Ahmadabadi و همکاران (۲۰۰۵) سیزده جمعیت از این گونه را با استفاده از تکنیک اسکواش مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی زیاد بین جمعیت‌های گونه *Ae. triuncialis* بود. در مطالعه کاریوتایپ گونه‌های آجیلوپس Sheidaei *et al*., 2002 نشان دادند که چهار گونه آجیلوپس و ازجمله گونه *Ae. umbellulata* دارای کروموزوم‌های B هستند. در مطالعه‌ای Karimzade و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی تنوع سیتوژنتیکی و کاریوتیپ ۱۵ جمعیت آجیلوپس بومی مناطق مختلف ایران نشان دادند که بین جمعیت‌های دیپلوئید از لحاظ پارامترهای طول بازوهای بلند و کوتاه، طول کروموزوم و نسبت طول

Archive of SID

www.SID.ir

بازوی کوتاه به بلند و در بین جمعیت‌های تتراپلوئید برای اغلب پارامترها اختلاف معنی‌دار وجود دارد. در مقایسه‌ای که Badeva و همکاران (۲۰۰۱) با استفاده از روش‌های C- بندینگ و Fish بر روی گونه‌های خویشاوند گندم (*Aegilops*) که دارای کروموزوم‌هایی با سطوح مختلف پلوئیدی بودند انجام دادند، مشاهده شد که ژنوم D در بعضی از گونه‌ها بسیار شبیه یکدیگرند که می‌توان در رده‌بندی تاکسونومیکی گونه‌های جنس *Aegilops* استفاده کرد. با توجه به اینکه اهمیت و کاربرد خویشاوندان وحشی گندم در برنامه های اصلاحی بسیار مطرح می‌باشد و شناسایی تنوع ژنتیکی و سیتوژنتیکی موجود در کلکسیون خویشاوندان وحشی اساس کنترل فرسایش ژنتیکی در اصلاح نباتات است، تحقیق حاضر به منظور بررسی تنوع خصوصیات سیتوژنتیکی در کلکسیون گونه *Ae. umbellulata* و بررسی روابط تکاملی میان جمعیت‌های این گونه اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی شامل ۹۶ نمونه از کلکسیون *Ae. umbellulata* موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران بود که از نقاط مختلف ایران ازجمله آذربایجان، ایلام، خوزستان، کرمانشاه، لرستان، کردستان، فارس، همدان، زنجان، تهران و سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شده بود و در این آزمایش گندم زراعی (هگزاپلوئید) به‌عنوان شاهد جهت ارزیابی سطح پلوئیدی DNA مورد استفاده قرار گرفت.

مطالعه پلوییدی با استفاده از روش فلوسیتومتری

از هر کدام از ۹۶ نمونه مورد مطالعه، حدود دو سانتی‌متر مربع از برگ‌های جوان را بریده و مقدار ۱۶۰۰ میکرولیتر از بافر DAPI بر روی برگ‌های هر نمونه ریخته شد و با استفاده از تیغ کاملاً خرد شدند. سوسپانسیون حاصل از هر نمونه، از فیلتر مخصوص دستگاه عبور داده شد و تجمعات سلولی و قطعات درشت حذف شدند. مواد فیلتر شده در داخل لوله استوانه‌ای دستگاه فلوسیتومتری ریخته شد و در محل مخصوص نصب گردید. سپس سوسپانسیون هسته‌های سلول‌ها در دستگاه فلوسیتومتری مدل PARTEC PA ساخت آلمان تجزیه شدند. البته اجازه داده شد تا حداقل ۱۰ هزار سلول در دستگاه شمارش شوند (Lee *et al*., 1997, Arumuganathan & Earle 1991).

مطالعه سیتوژنتیک

از میان نمونه‌های مورد بررسی، افرادی از بین نمونه‌هایی که دارای پیک فلوسیتومتری بالا و یا پائین بودند انتخاب شدند. ابتدا ۱۰ عدد بذر از هر نمونه منتخب جوانه‌دار شدند. زمانیکه ریشه‌های بذرها به حدود ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متر رسیدند، از بذرها جدا شده و در چند قطره محلول ۸- هیدروکسی کوئینولین پیش‌تیمار شدند. در مرحله تثبیت و رنگ‌آمیزی، از محلول استوارسئین ۰/۲ درصد به مدت یک هفته و ۲ درصد به مدت یک شب در دو مرحله استفاده شد. به‌منظور هیدرولیز، ریشه‌ها در ۵ میلی‌لیتر اسید استیک ۴۵ درصد تا نزدیک نقطه‌جوش گرم شد. سپس نمونه‌ها اسکواش شدند (Mujeeb- kazi & Miranda, 1985). لام اسکواش شده با استفاده از میکروسکوپ دوربین‌دار مطالعه شدند. از کاریوتیپ متافازی نمونه‌های عکس تهیه شده و با استفاده از نرم‌افزار Micro measure (Reeves, 2001) و ضریب تغییرات نمونه‌ها (CV)، طول کل کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA)، نسبت بازوها

Archive of SID

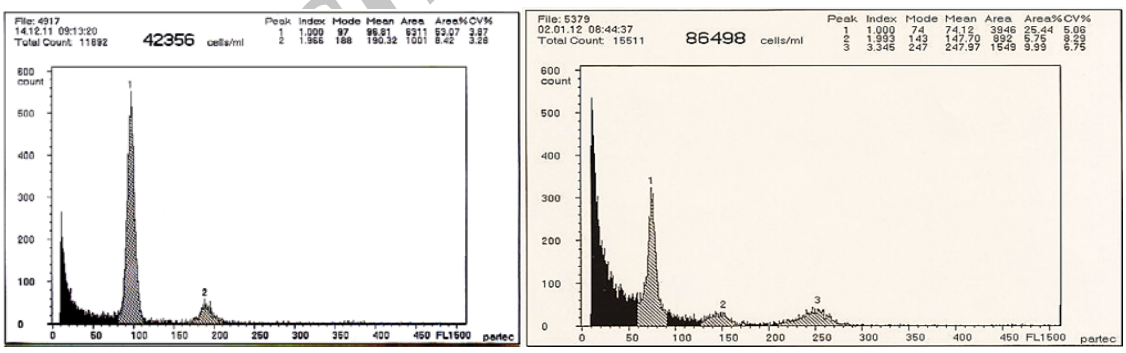
www.SID.ir

(AR:L/S)، شاخص سانترومری (CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است و شاخص پراکنش کروموزومی (DI) اندازه‌گیری شدند. در این بررسی برای تعیین وضعیت تکاملی و مطالعه تقارن کاریوتیپی نمونه‌ها از جدول دوطرفه استبینز (۱۹۷۱) و (SC) استفاده شد.

نتایج

مطالعه فلوسیتومتری

به‌منظور تعیین سطح پلوییدی ۹۶ نمونه از کلکسیون *Ae. umbellulata* موجود در بانک ژن با استفاده از دستگاه فلوسیتومتری، نسبت محتوای DNA *Ae. umbellulata* و گیاه شاهد *T. aestivom* مورد مطالعه قرار گرفت و براساس پیک نموداری که دستگاه برای هر نمونه نشان داد محتوای DNA در نمونه‌ها از ٦٤/٦ تا ١٠٠/٤ بودند. میانگین پیک نمونه‌ها ٨٤/٧٠ با انحراف معیار ٧/٧٥ بود. نمونه شاهد هگزاپلوئید دارای پیک محتوای DNA با میانگین ٢٨١/١٩ و انحراف معیار ١٧/٤٦ بود. نسبت محتوای DNA در نمونه‌های مورد بررسی به نمونه شاهد هگزاپلوئید بین ٠/٢٢٩ تا ٠/٣٤٨ با میانگین ٠/٣٠١ متغیر بود. بنابراین سطح پلوئیدی نمونه‌های مورد بررسی دیپلوئید برآورد گردید. اما از آنجا که محتوای DNA در نمونه‌های مورد بررسی دامنه زیادی را شامل می‌گردید، نمونه‌ها به دو گروه دارای محتوای DNA پائین و محتوای DNA بالا تقسیم شدند. نمونه‌های گروه اول میانگین پیکی از ٦٤/٦ تا ٨٥/٨٧ نشان داده و نسبت پیک آنها به پیک شاهد در حدود ٠/٣ بود (شکل١- سمت راست). **گروه دوم** محتوای DNA بالاتری نسبت به گروه اول داشت و پیک نمونه‌های این گروه از ٨٦/٨٠ تا ١٠٠/٤ متغیر بوده و نسبت میانگین پیک آنها به پیک نمونه شاهد در این گروه در حدود ٠/٣٤ بود (شکل١- سمت چپ). برای بررسی دقیق‌تر و تأیید نتایج فلوسیتومتری، با توجه به حدود پیک فلوسیتومتری، چند نمونه از هر گروه انتخاب شدند و کاریوتیپ آنها بررسی گردید.



شکل ١- نمودار پیک فلوسیتومتری. سمت راست: نمودار گروه اول با محتوای DNA پایین. سمت چپ: نمودار گروه دوم با محتوای DNA بالا. محور Xها محتوای DNA در هسته، محور Yها تعداد هسته‌های شمارش شده. پیک ١- پیک G1 نمونه *Ae. umbellulata* مورد بررسی، پیک ٢- پیک G2، پیک ٣- پیک شاهد هگزاپلوئید *T. aestivum*

Archive of SID

www.SID.ir

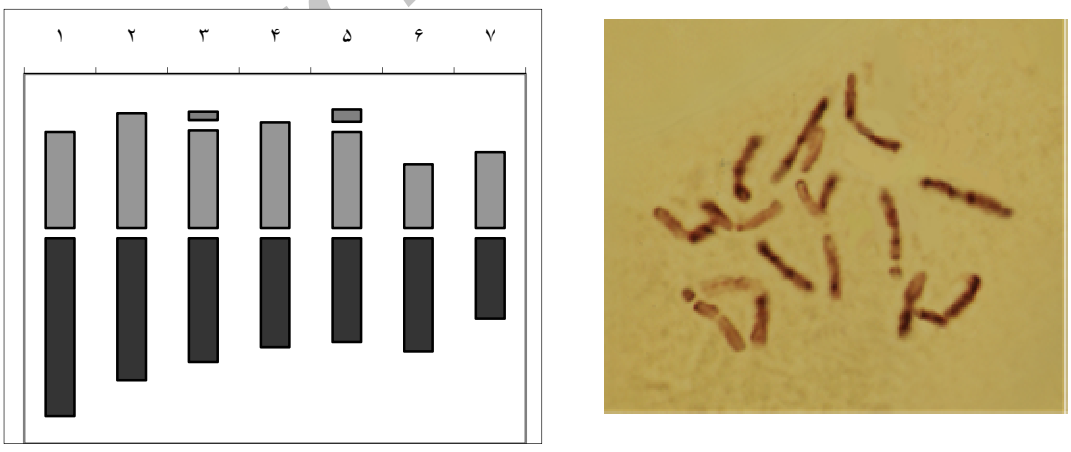
مطالعه کاریوتیپی

بررسی کاریوتیپ نمونه‌ها بیانگر آن بود که گونه *Ae. umbellulata* یک گونه دیپلوئید با 2n=2X=14 است. کروموزوم‌ها متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک هستند. از هفت جفت کروموزوم موجود در این گونه بر روی بازوهای کوتاه دو جفت از کروموزوم‌ها ماهواره مشاهده شد. خصوصیات کروموزوم‌های این گونه در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- خصوصیات کلی کاریوتیپی برای نمونه‌های *Ae. umbellulata* مورد بررسی

اجزاء نمونه‌های مورد بررسی	کروموزوم‌ها (L+S)	بازوی بلند (L)	بازوی کوتاه (S)	نسبت بازوها (L/S)	شاخص سانترومری (S/(L+S))
کل نمونه‌ها	۹/۳۳	۵/٦۸	۳/۵۷	۱/۸٤٦	۰/۳۸۳
انحراف معیار	۰/۳۹	۰/۳۵	۰/۳۲	۰/۸۷٤	۰/۲۸۷
ضریب تغییرات	٤/۲۵۷	٦/۲۱۹	۸/۹۵۰	٤۷/۳۷۱	۷٤/۹۳
میانگین کل کوتاه‌ترین کروموزوم	۸/۸۱	۵/۱۸	۳/٦٤	۱/٤۸۹	۰/٤۱۲
میانگین کل بلندترین کروموزوم	۱۰/٤۳	۵/۹۱	٤/۵۲	۱/۳۳	۰/٤۳۷

با این حال، میان دو گروه دارای محتوای DNA زیاد و کم تفاوت‌های کاریوتایپی محدودی مشاهده می‌شود. گروه اول دارای ۷ جفت کروموزوم متاسنتریک بود (شکل۲- سمت راست). طول بزرگترین کروموزوم ۱۳/۳۳ و طول کوچکترین کروموزوم ۷/٦۰ میکرومتر بود. نسبت طول بازوها در این گروه از ۱/۰۲۹ تا ۱/۸٦٦ میکرومتر متغیر بود. شاخص سانترومری نیز از۰/۳۵۰ تا ۰/٤۹۳ میکرومتر بدست آمد. در کاریوتیپ هر نمونه از این گروه دو جفت کروموزوم ماهواره‌دار مشاهده شد (شکل۲- سمت چپ). این گروه در جدول استبینز در موقعیت 1A قرار می‌گیرد.

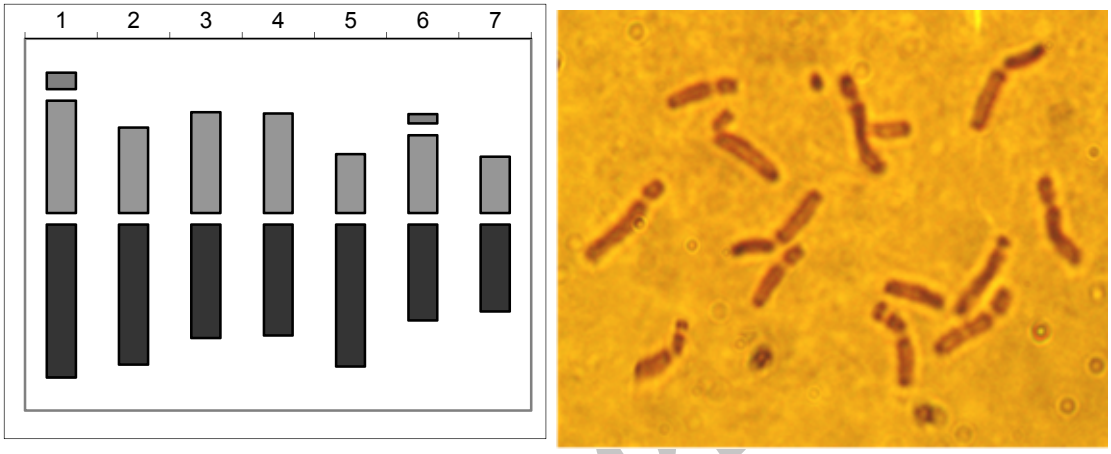


شکل ۲- سمت راست: یک نمونه از کروموزوم‌های متافاز میتوزی گروه دارای محتوای DNA پائین در نمونه‌های *Ae. umbellulata*. سمت چپ: ایدیوگرام کروموزوم‌های متافاز میتوزی گروه دارای محتوای DNA پائین در نمونه‌های *Ae. Umbellulata*

Archive of SID

www.SID.ir

کروموزوم‌های گروه دوم شامل کروموزوم‌های متاسنتریک و ساب‌متاسانتریک بودند (شکل۳- سمت راست). در این گروه به طور متوسط طول بزرگترین کروموزوم ۱۱/۸۳ و طول کوچکترین کروموزوم ٦/۰۱ میکرومتر بود. نسبت طول بازوها در این گروه از ۱/۰۹۳ تا ٤/۹۰۸ میکرومتر متغیر بود. شاخص سانترومری نیز از ۰/۱۷۹ تا ۰/٤۷۳ میکرومتر متغیر بود. در کاریوتیپ این گروه بر روی دو جفت از کروموزوم‌های هر نمونه ماهواره مشاهده شد (شکل۳- سمت چپ). این گروه در جدول استبینز در موقعیت ۲A قرار گرفت.



شکل ۳- سمت راست: یک نمونه از کروموزوم‌های متافاز میتوزی گروه دارای محتوای DNA بالا در نمونه‌های *Ae. umbellulata* سمت چپ: ایدیوگرام کروموزوم‌های متافاز میتوزی گروه دارای محتوای DNA بالا در نمونه‌های *Ae. umbellulata* .

به این ترتیب با آنکه هردو گروه با کروموزوم‌های متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک دارای کروموزوم‌های مشابهی هستند، اما کاریوتیپ گروه دوم با پراکنش کروموزومی ۱۱/٤٥ نامتقارن‌تر است. کروموزوم‌های نمونه گروه اول متاسانتریک بودند، به‌نحوی‌که با پراکنش کروموزومی ۱٤/٥۱ دارای کاریوتیپ متقارن‌تری هستند. شاخص پراکنش کروموزومی برای دو گروه در جدول (۲) نشان ارائه شده است.

جدول ۲- شاخص پراکنش کروموزومی و جایگاه نمونه‌های *Ae. umbellulata* مورد بررسی در جدول استبینز

شماره نمونه	ضریب تنوع (CV)	گرادیانت سانترومری (CG)	پراکنش کروموزومی (DI)	جایگاه در جدول استبینز
گروه اول	۱۹/۱	۰/۷٦	۱٤/٥۱	۱A
گروه دوم	۱٦/۳٦	۰/۷۰	۱۱/٤٥	۲A

Archive of SID

www.SID.ir

با مقایسه نتایج فلوسیتومتری و کاریوتیپ نمونه‌ها بین محتوای DNA با میانگین طول کروموزومی نمونه‌ها رابطه مستقیمی مشاهده شد، به این ترتیب که با افزایش محتوای DNA، میانگین طول کروموزومی نمونه‌ها افزایش یافت. همبستگی بین طول کل کروموزوم‌های هر نمونه با میانگین پیک فلوسیتومتری نمونه ۰/۸۹٦ در سطح ۵٪ معنی‌دار بود، همچنین همبستگی بین نسبت پیک نمونه به پیک نمونه شاهد با طول کل کروموزوم‌های هر نمونه ۰/۹٤۸ در سطح ۵٪ معنی‌دار است. بااین‌حال، نمونه گروه اول با اینکه محتوای DNA پایین‌تری داشت اما میانگین طول کروموزومی این نمونه از دیگر نمونه‌ها بیشتر بود. این اختلاف ممکن است به علت فاصله زیاد دو بازوی برخی از کروموزوم‌ها بر روی کاریوتایپ باشد که موجب می‌شود اندازه طول کل کروموزوم این نمونه بیشتر برآورد شود.

ضریب تغییرات (CV) نمونه‌های بررسی شده به طور متوسط ۱۷/۷۳ بدست آمد. ضریب تغییرات (CV) اجزاء نمونه‌های مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است. بنابراین بررسی کاریوتیپی و فلوسیتومتری نشان داد که این گونه در درون جمعیت خود نیز دارای تنوع می‌باشد.

بحث

بررسی‌های کاریوتیپی، نتایج حاصل از مطالعه فلوسیتومتری را تأیید کرد. به‌طوری‌که با مقایسه نتایج فلوسیتومتری و کاریوتیپ نمونه‌ها، بین محتوای DNA با میانگین طول کروموزومی نمونه‌ها رابطه مستقیمی مشاهده شد، به این ترتیب با افزایش محتوای DNA، میانگین طول کروموزومی نمونه‌ها افزایش یافت. در تحقیقی Bakhshi و همکاران (۲۰۱۰) تعداد ۱۰۰ نمونه از *Ae. cylindrica* را به‌منظور شمارش کروموزومی و تخمین سطح پلوئیدی با استفاده از روش تجزیه فلوسیتومتری مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاصل از فلوسیتومتری و شمارش کروموزومی مشابه بود. به‌منظور شناسایی سطح پلوئیدی جمعیت‌های آجیلوپس کراسای (*Ae. crassa*) بومی ایران، (Ranjbar *et al.*, 2010) ٦۷ نمونه جمع‌آوری شده از نقاط مختلف ایران را به دو روش فلوسیتومتری و سیتوژنتیکی مورد بررسی قرار دادند. براساس مقایسه نسبت شدت فلورسنس نمونه‌های *Ae. crassa* با *Ae. tauschii* (به‌عنوان شاهد) ؟ دو سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید در نمونه‌های بومی ایران را شناسایی کردند. مطالعات کاریوتیپی وجود دو سیتوتیپ در آجیلوپس کراسای بومی ایران را در بررسی که انجام دادند تأیید کرد. با بررسی سیتوژنتیکی و تهیه کاریوتیپ نمونه‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر، تعداد کروموزوم‌های همه نمونه‌ها 2n=2X=14 بدست آمد که از نظر سطح پلوئیدی، دیپلوئید بود. در این بررسی برای همه نمونه‌ها تعداد ۷ جفت کروموزوم همتا (همولوگ) از طریق مورفولوژی و اندازه کروموزوم‌ها تشخیص داده شد. بررسی کاریوتیپی نمونه‌ها نشان داد که کروموزوم‌ها اغلب از نوع متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک می‌باشند.

Asgharizakaria و همکاران (۲۰۰٤) کاریوتیپ و الگوی C– بندینگ دو جمعیت *Ae. umbellulata* از دو محل جغرافیایی شمال غرب ایران را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که ژنوم U در آجیلوپس چتری از دو جفت کروموزوم متاسانتریک (U4 و U1) و سه جفت کروموزوم ساب‌متاسانتریک (U7 و U3 و U5) و دو جفت کروموزوم آکروسانتریک (U6 و

Archive of SID

www.SID.ir

U2)تشکیل شده است. بررسی کاریوتیپی و فلوسیتومتری این بررسی نشان داد که این گونه در درون جمعیت خود نیز دارای تنوع می‌باشد. در مجموع با توجه به پراکندگی وسیع گونه *Ae. umbellulata* در ایران، مشخص گردید که این گونه سابقه تنوع و تکامل زیادی در ایران دارد. بنابراین با نظر به این که از این گونه در برنامه‌های اصلاحی گندم نان، به‌ویژه برای انتقال ژنهای مقاوت به بیماری‌ها در سطح وسیع استفاده می‌شود، پراکنش وسیع و تنوع زیاد این گونه توانمندی بالایی را برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی گندم نان در ایران فراهم می‌نماید.

سپاسگزاری

نگارندگان برخود لازم می‌دانند از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و بانک ژن گیاهی ملی ایران که امکانات اجرایی را برای انجام این تحقیق فراهم آورده‌اند تشکر نمایند.

منابع مورد استفاده

- Arumuganathan K. and Earle E., 1991. Estimation of nuclear DNA content of plants by flow cytometry. Plant Molecular Biology, 9 : 229-233
- Aghaei, M.J., Naghavi, M.R., Taleei, A.R., Omidi, M. and Mozafari, J., 2007. A study of chromosome homology between three Iranian *Aegilops* species with D genome and bread wheat (*T. aestivum*). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 15:95-112.
- Ahmadabadi, M., Ahmadian Tehrani, P., Omidi, M. and Davodi, D., 2005. Study of intra-specific karyotype variation in *Aegilops triuncialis* at north-west of Iran. Iranian Journal of Agricultural Sciences, 36:969-977.
- Akar, T. and Ozgen, M., 2007. Genetic diversity in Turkish durum wheat landraces. Wheat Production in Stressd Environments, Dev. Plant Breeding, 12: 753-760.
- Asgharizakaria, R., Kazemi, H., Aghayev, Y., Valizade, M. and Moghadam, M., 2004. Karyotype and C-banding pattern in two populations of *Aegilops umbellulata*. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 11:115-126.
- Badeva, 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. and Gill, B.S., 2004. Genome differentiation in *Aegilops*. 4. Evolution of the U-genome cluster. Plant Systematics and Evolution, 246: 45–76.
- Bakhshi, B., Aghaei, M.J., Bihamta, M.R., Darvish, F. and Zarifi, E., 2010. Ploidy determination of *Aegilops cylindrica* host accessions of Iran by using flow cytometry and chromosome counting. Iran Journal Botany, 16 (2): 258-266.
- Chhuneja, P., Kaur, S., Goel, R.K., Aghaee – Sarbarzeh, Prashar M. and Dhaliwal, H. S., 2008. Transfer of leaf rust and stripe rust resistance from *Aegilops umbellulata* ZHUK. to bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Genetic Resources and Crop Evolution, 55:849-859
- Dreisigacker, S., Zhang p., Warburton, M. L., Skovmand, B., Hoisington, D. and Melchinger, A. E., 2005. Genetic diversity among and within CIMMIT wheat landrace accessions investigated with SSRs and implications for plant genetic resources management. Crop Science, 45: 65-661.
- Ganeva, G., Georgieva, V., Panaiotova, M., Stoilova, T.S. and Balevska, P., 2000. The transfer of genes Brown Rust resistance from *Aegilops umbellulata* Eig to wheat (*Triticum aestivum L.*) genome, Genetica Journal, 36: 60-71.
- Gill, B. S., Sharma, H., Raupp, C., Browder, L.E., Hatchett, J.H., Harvay, T.L., Moseman, J.G. and Waines, J.G., 1985. Evaluation of *Aegilops* species for resistance to wheat powdery mildew, wheat rust, Hessian fly and green bug. Plant Diseases, 69: 314-316.
- Karimzade, GH., Ashkani, S., Ahmadian Tehrarani, P., Davoudi. D and Mirzaghaderi, GH., 2010. Cytogenetic studies of some Iranian wild wheat species (*Aegilops*) and OR banding faculty of agriculture. Iranian Journal of Field Crop Science (Iranian Journal of Agricultural Sciences), 41: 305-313.
- Lee J.H., Yen Y., Arumuganathan K., and Baenziger P.S., 1997. DNA content of wheat monosomics at interphase estimated by flow cytometry. Theoretical and Applied Genetics, 95: 1300-1304
- Mujeeb-Kazi, A. and Miranda, J.L., 1985. Enhanced resolution of somatic chromosome constriction as an aid to identifying intergeneric hybrids among some Triticeae. Cytologia, 50: 701-709.
- Ranjbar, M., Naghavi, M., Zali , A., Aghaei, M. and Zarifi, A., 2010. Study of high wheat citotype *Aegilops crassa* from Iran and the distinguishing

Archive of SID

www.SID.ir

traits of their polymorphism , Iranian Journal of Crop, 41: 225-234
- Reeves, A., 2001. Micromeasure: A new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. Genome, 44: 439-443.
- Sheidaei, M., 2002. Cytogenetic, Adena Pub. Co. Tehran. 76-85.
- Stebbines, G. L., 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Addison-Wesley Reading. MA.
- 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.
- Warburton, M., and Hoisington, D., 2001. Application of molecular marker techniques to the use of international germpelasm collections. In: Henrey, R. (ed.). Plant Genotyping. The DNA Fingerprinting of Plants. CAB International, Oxon, UK.
- Zhang, P., Dreisigacker, S., Buerkert, A., Alkhanjari, S., Melchinger, A.E. and Warburton, M.L., 2006. Genetic diversity and relationships of wheat landraces from Oman investigated with SSR markers. Genetic Resources and Crop Evolution, 53: 1351-1360.

Archive of SID

www.SID.ir

Karyotypic diversity in *Aegilops umbellulata* collection of Iran

F. Hosseini[1], M. J. Aghaei[2*], Sh. Vaezi[3] and M. K. Shahli[4]

1- M.Sc., Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, I.R. Iran.
2*- Corresponding Author, Assist. Prof., National Plant Gene Bank of Iran, Karaj, I.R. Iran.
Email: mjaghaei@spii.ir
3- Assist. Prof., National Plant Gene Bank of Iran, Karaj, I.R. Iran.
4- Prof., Azad University, Science and Research Branch, Tehran, I.R. Iran.

Received: 10.21.2012 Accepted: 06.25.2013

Abstract

To evaluate the diversity of the collection of *Aegilops umbellulata,* cytogenetic characteristics of 96 accessions of the collection of *Ae. umbellulata* obtained from National Plant Gene Bank of Iran were studied by flow-cytometry and cytogenetic. Flow cytometry studies showed that ploidy level of the accessions were diploid. Cytogenetic studies, confirmed the results of flow cytometry. In other words the basic chromosome number of the accessions was X=7. Comparing the results of flow cytometry and karyotypic studies, direct relationship between DNA content and chromosome length was confirmed. The studied accessions contained symmetrical karyotypes with metacentric and submetacentric chromosomes. Satellites were also observed on all of the studied karyotypes. Average coefficient of variation of the accessions was 13.15. Therefore, karyotypic and flow cytometry studies revealed intra-population variation in the species. Thus, given the wide dispersal of *Ae. umbellulata* in Iran, diversity and evolutionary history of a species were shown in the country.

Key words: *Ae. umbellulata*, Flow cytometry, Karyotype, Diversity.

Archive of SID

www.SID.ir