Archive of SID

تجزیه و تحلیل کاریوتیپی ژنوتیپهای بومادران با استفاده از روشهای آماری چند متغیره

محمد ضابط[۱*] و فاطمه افشاری[۲]

[۱] بیرجند، دانشگاه بیرجند، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

[۲] بیرجند، آموزش و پرورش خراسان جنوبی

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۱۲

چکیده

به منظور مطالعه سیتوژنتیکی و تعیین سهم هر یک از صفات کاریوتیپی در ایجاد تنوع شش ژنوتیپ از دو گونه بومادران *A. millefolium* و *A. santolina* مورد بررسی قرار گرفت. برای تهیه نمونه کروموزومی مناسب ۰/۵ سانتیمتر نوک ریشه جدا و پس از پیش تیمار تثبیت گردید. بعد از هیدرولیز، اسکواش و در نهایت عکسبرداری و تهیه کاریوتیپ صورت گرفت. عدد پایه کروموزومی در تمام ژنوتیپها x=9 بود. ژنوتیپهای الیگودرز، اردبیل، مشکین شهر دیپلوئید و اراک، ایلام و استهبان تتراپلوئید بودند. براساس جدول دو طرفه استبینز اراک و ایلام در کلاس 1A، اردبیل و مشکین شهر در کلاس 2A و الیگودرز و استهبان در کلاس 1B قرار گرفتند. مقایسه میانگینها نشان داد که از نظر S، L و T استهبان دارای کمترین و الیگودرز دارای بیشترین مقدار می‌باشد. در تجزیه به عاملها دو عامل در مجموع بیش از ۹۰/۹۲ درصد از کل تغییرات داده‌ها را توجیه کردند. عامل اول با توجیه ۴۶/۶۵ درصد از تغییرات شامل ضرایب عاملی مثبت و معنی دار برای صفات L/S و L-S و ضرایب عاملی منفی و معنی دار برای صفات F% و S/L بود؛ لذا عامل نسبت بازوهای کروموزومی و شاخص‌هازیوارا نام گذاری شد. عامل دوم با توجیه ۴۴/۲۷ درصد ازتغییرات، دارای ضرایب عاملی مثبت و معنی دار برای صفات S، L، T و RL% بود؛ لذا عامل اندازه کروموزوم یا ژنوم نامیده شد. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپها را در دو خوشه گروه بندی نمود. در تجزیه‌های آماری از نرم افزارهای Excel (2007)، Photoshop (Adobe Photoshop CS2) و SPSS (PASW Statistics18) استفاده شد.

واژه های کلیدی: سیتوژنتیک، کاریوتیپ، عاملها، کلاستر

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۵۱۶۰۵۶۴۵ ، پست الکترونیکی: mzabet@birjand.ac.ir

مقدمه

گیاهان دارویی و معطر جزء مهمی از پوشش گیاهی مدیترانه ای و مناطق نیمه خشک جهان است. آنها نقش مهمی در معیشت جوامع روستایی هم از جهت تأمین سلامت و هم به لحاظ مادی دارند. گیاهان دارویی هنوز هم به طور گسترده‌ای در طب سنتی استفاده می شوند و به شدت در صنعت داروسازی مورد تقاضا می‌باشند (۱۹). بومادران متعلق به خانواده کاسنی‌ها (Asteraceae) می‌باشد و دارای ۱۳۰ گونه علفی چند ساله در جهان است (۱۳ و ۲۱) که اکثراً در آسیا و اروپا، بعضاً در آفریقای شمالی و تعداد کمی در آمریکای شمالی و نیمکره جنوبی پراکنده شده اند (۴). تعداد زیادی از گونه‌های آن اهلی و محدود به نواحی مشخص؛ در حالی که گونه‌های دیگری از آن در دامنه وسیع جغرافیایی رشد می کند (۲۳). ۱۹ گونه از بومادران که در نواحی مختلفی از ایران رشد می کنند گزارش شده است (۱۸).

انجام مطالعات سیتوژنتیکی در گیاهان بومی و وحشی اهمیت زیادی دارد. اولین قدم در جهت شناخت خصوصیات ژنتیکی یک گیاه تشخیص وضعیت کروموزومهای آن گیاه می باشد. به کمک اطلاعات

www.SID.ir

Archive of SID

کروموزومی امکان مقایسهٔ گونه‌ها و جمعیتها فراهم می گردد. جمعیتهای متعلق به یک گونه هر یک سازش ژنومی خاص خود را با محیطی که در آن می رویند، نشان می دهند. با افزایش اختلافات سازشی ممکن است واریته‌های جدید و حتی گونه‌های جدید در رویشگاههای گیاهی به وجود آیند. بنابراین کروموزومها عوامل مناسبی هستند که می توان براساس آنها روند تکاملی گیاهان را تعیین نمود (۱۲، ۲۵، ۲۶ و ۲۷).

عدد پایه کروموزومی در جنس بومادران x=9 و اکثراً دیپلوئید می‌باشند؛ لیکن گونه‌های 4x، 6x و 8x نیز وجود دارند (۶). تجزیه و تحلیل سیتولوژیکی ۱۹ ژنوتیپ متعلق به هفت گونه نشان داد که دو گونه *A. filipendulina* و *A. tenuifolia* دیپلوئید (2n=2x=18) و سه گونه *A. bieberstinii*، *A. pachycephala* و *A. aucheri* تتراپلوئید (2n=4X=36) هستند. دو سطح پلوئیدی 2n=6x=54 و 2n=8x=72 در *A. millefolium* و دو سطح پلوئیدی 2n=2x=18 و 2n=4X=36 در گونه *A. santolina* نیز مشاهده شد. تجزیه و تحلیل خوشه‌ای ژنوتیپهای مورد مطالعه را در سه گروه دسته بندی نمود. در گروه اول گونه‌های دیپلوئید، در گروه دوم گونه‌های تتراپلوئید و در گروه سوم گونه *A. millefolium* (هگزاپلوئید، اکتاپلوئید و *A. bieberstinii* (تتراپلوئید) قرار گرفتند. ژنوتیپهای متعلق به گروه یک از لحاظ تکاملی در اولین سطح قرار داشتند و گروههای دیگر متکامل تر بودند. بر اساس جدول دو طرفه استبینز همه گروهها در کلاس A گروه بندی شدند (۵). بررسی کاریوتیپ شش گونه بومادران (*A. falcata, A. millefolium, A. setacea, A. nobilis, A. bieberstinii, A.*) از نواحی جغرافیایی مختلف ترکیه نشان داد که تعداد کروموزومها 2n 2x=18، 2n=4x=36 و 2n=7-8x=67 می‌باشد. آنالیز کاریوتیپی نشان داد که کروموزومهای گونه‌های بومادران غالباً متا و ساب‌متاسنتریک می‌باشند (۲). در مطالعه سیتولوژیکی دیگری بر روی ۱۴ جمعیت از ۸ گونه بومادران ایران به این نتیجه رسیدند که گونه‌های *A. eriophora*، *A. tenuifolia*، *A. oxyodonta*، *A. talagonica* و *A. bieberstinii* دارای 2n = 2x = 18، گونه‌های *A. wilhelmsii* و *A. vermicularis* دارای 2n = 4x = 36 و گونه *A. millefolium* دارای 2n = 6x = 54 کروموزوم می‌باشد. گونه‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید در متافاز میوز تنها بیوالانت نشان دادند که این احتمالاً نشان دهنده طبیعت آلوپلوئیدی این گونه‌ها می‌باشد (۲۳). با بررسی ویژگیهای مورفولوژی شش گونه از بومادران مشخص گردید که شش گونه مورد مطالعه به دو گروه دیپلوئید (*A. filipenula*، *A. eriophora*، *A. tenuifolia*، *A. bieberstinii*) 2n=2x=18 و تتراپلوئید (*A. wilhelmsii*، *A. millefolium*) 2n=4x=36 تقسیم می شوند (۱۰).

مطالعات کاریوتیپی به منظور مقایسه اختلاف موجود و آشکار شدن سیر تکاملی در کروموزومهای تشکیل دهنده ژنوم انجام می گیرد. اهمیت مطالعات سیتولوژیکی به این موضوع برمی گردد که کروموزومها حامل ژنها هستند و آنها اطلاعات ژنتیکی مربوط به فنوتیپ گیاه را دارا می‌باشند (۲۴). با توجه به اینکه خصوصیات گیاهی تا حدود زیادی تحت کنترل مواد ژنتیکی هسته‌ای هستند، بنابراین یکی از روشهای بررسی تنوع در ارقام و گونه‌های مختلف گیاهی، انجام مطالعات سیتوژنتیکی و کاریوتیپی می‌باشد. بدیهی است گونه‌هایی که از لحاظ پارامترهای سیتوژنتیکی و خواص کروموزومی به هم شبیه هستند در بحث روابط بین گونه‌ای قرابت بیشتری داشته و در صورت وجود صفات مطلوب در این گونه‌ها امکان تلاقی بین گونه‌ای برای جمع‌آوری ژنهای مطلوب در یک گیاه وجود خواهد داشت (۲۸). اولین قدم در شناخت ژنوم یک گونه مطالعه تعداد، شکل و رفتار کروموزومهای آن است (۷).

در این تحقیق سعی شده با استفاده از روشهای آماری چند متغیره تشخیص و تفکیک ژنوتیپها دقیق‌تر صورت گیرد،

www.SID.ir

Archive of SID

لذا مهم‌ترین اهداف این بررسی عبارتند از: ۱- تعیین کاریوتیپ، شکل، اندازه کروموزومها و تعیین سطح پلوئیدی ژنوتیپها ۲ – گروه‌بندی ژنوتیپها با در نظر گرفتن کلیه پارامترهای کاریوتیپی و تعیین قرابت و دوری ژنوتیپها با استفاده از تجزیه کلاستر ۳ –تعیین سهم هر یک از صفات کاریوتیپی در ایجاد تنوع بین ژنوتیپها و ۴- تعیین والدین جهت تلاقی و معرفی بهترین هیبرید با توجه به ژنوتیپهای موجود.

مواد و روشها

این پژوهش در آزمایشگاه گیاه شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۹۰-۸۹ انجام شد. مواد گیاهی شامل ۶ ژنوتیپ از دو گونه بومادران بود. ۴ ژنوتیپ متعلق به گونه *Achillea millefolium* و مربوط به نواحی اردبیل، مشکین شهر، ایلام و استهبان و دو ژنوتیپ متعلق به گونه *Achillea santolina* و مربوط به نواحی اراک و الیگودرز بود. برای تهیه نمونه کروموزومی مناسب مراحل زیر اجرا شد: ۱- جمع آوری ریشه: پتری دیشهای حاوی بذور به مدت ۱ تا ۲ روز در یخچال قرار داده شد و سپس برای ادامه جوانه زنی به محیط منتقل شدند. بعد از ۳ الی ۴ روز که ریشه ها جوانه زده و طول آنها به ۱ تا ۲ سانتیمتر رسید، برداشت شدند. ۰/۵ سانتیمتر از نوک ریشه برای انجام مراحل بعد به وسیله تیغه جدا گردید. ۲- پیش تیمار ریشه: به دلیل ریز بودن کروموزومها ریشه ها به مدت ۲ تا ۴ ساعت در محلول ۸- هیدروکسی کینولین پیش تیمار شدند. زمان مطلوب برای به دام انداختن کروموزومها در متافاز ۲/۵ ساعت به دست آمد. ۳- تثبیت ریشه: ریشه ها پس از پیش تیمار به خوبی با آب مقطر شسته شده و سپس به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در اپندورف‌های حاوی تثبیت کننده (محلول تثبیت کننده کارنوی –۱) در دمای ۱ تا ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ۴- هیدرولیز ریشه: در دماهای بالا متلاشی شدن کروموزومها و در دماهای پایین عدم هیدرولیز مناسب مشاهده شد. پس از چندین بار تکرار آزمایش ریشه ها در اسید کلریدریک نرمال (۱ HCl نرمال) در دمای محیط به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند تا بافتهای ریشه نرم شده و نتیجه مورد نظر حاصل گردید. ۵- رنگ آمیزی ریشه: پس از شست و شوی کامل انتهای مریستمی ریشه؛ عمل آب‌گیری انجام و رنگ آمیزی صورت گرفت. ریشه ها به مدت ۴۵ دقیقه در دمای محیط درون استواورسئین قرارداده شدند. ۶- اسکواش: بعد از رنگ آمیزی، نوک ریشه با تیغ جدا و با سوزن آزمایشگاه خرد و له کردن بافت مریستمی نوک ریشه انجام گردید. به منظور نرم کردن بافت، رنگ پذیری بهتر، تورم سلولها و خنثی کردن اثرهای اتانول، یک قطره اسید استیک ۴۵ درصد به نمونه های واقع بر روی لام اضافه شد و له کردن بر روی اسید استیک انجام گردید. ۷-عکسبرداری و تهیه کاریوتیپ: پس از اسکواش، اسلاید آماده شده به وسیله فتومیکروسکوپ نوری مدل Olympus-BX41 مورد بررسی قرارگرفت و سپس از سلولهای متافازی مناسب عکسبرداری گردید. برای عکسبرداری از فیلم ۱۳۵ میلیمتری سیاه و سفید با وضوح ۴۰۰ استفاده شد (۳ و ۱۷). با استفاده از اطلاعات به دست آمده از اندازه‌گیری بازوی بلند (L)، بازوی کوتاه (S) و طول کل کروموزوم (T) پارامترهای کاریوتیپی شامل: اختلاف طول دو بازوی کروموزومی (L-S) (۱۵)، شاخص‌هازیوارا (F%) (۱۴)، طول نسبی کروموزوم (RL%) (۳ و ۱۷)، شاخص درصد شکلی کلی (TF%) (۱۴)، شاخص r-value (L/S) (۲۶)، شاخص نسبت بازوها (S/L) (۱۶)، اختلاف دامنه طول نسبی (DRL%)، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S%)، طول یک سری کامل کروموزومی (TCL)، میانگین طول کروموزوم (MCL) سطح پلوئیدی (2n) و فرمول کاریوتیپی (KF) محاسبه شد. در نهایت با استفاده از اطلاعات موجود کاریوگرام و ایدیوگرام ژنوتیپهای مربوطه ترسیم گردید (۳ و ۱۷).

به منظور تشخیص وجود تفاوت بین کاریوتیپها داده‌های کاریوتیپی در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با تعداد

www.SID.ir

Archive of SID

تکرار متفاوت مورد تجزیه واریانس قرار گرفت. برای تشخیص تفاوت بین کروموزومها از تحلیل واریانس دو طرفه بدون اثرات متقابل استفاده شد. مقایسه میانگین صفات مختلف با استفاده از آزمون دانکن انجام گردید. برای تعیین جایگاه ژنوتیپهای مختلف از تجزیه کلاستر به روش وارد و معیار فاصله اقلیدسی استفاده شد. بررسی رابطه همبستگی بین کاریوتیپها با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون و در نهایت جهت تعیین سهم هر یک از صفات کاریوتیپی در ایجاد تنوع بین ژنوتیپها، تجزیه به عاملها به روش مؤلفه های اصلی انجام شد. در تجزیه‌های آماری از نرم افزارهای Excel (2007)، Photoshop (Adobe Photoshop CS2) و SPSS (PASW Statistics18) استفاده شد.

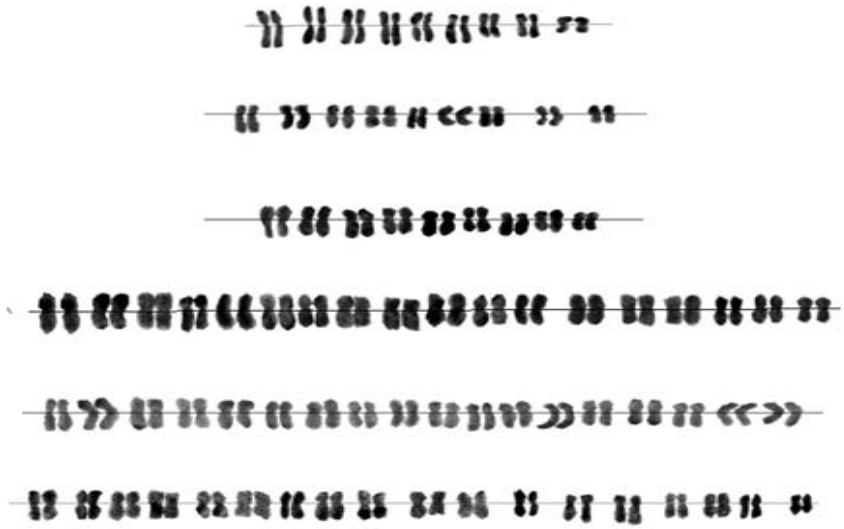
نتایج

بررسی ویژگیهای کاریوتیپی: پارامترهای TF%، DRL%، S%، TCL، MCL، L/S، S/L،2n و KF در جدول ۱ و کاریوگرام ژنوتیپهای مد نظر در شکل ۱ ارائه گردیده است.

جدول ۱- پارامترهای اندازه‌گیری شده در ژنوتیپهای بومادران

ژنوتیپ	2n	%TF	%DRL	MCL	%S	L/S(µm)	S/L(µm)	TCL(µm)	KF
الیگودرز	۱۸	۴۲/۰۸	۷/۸۲	۵/۵۰	۶/۲۰	۲/۱۰	۰/۴۴	۴۹/۹	8m +1sm
اردبیل	۱۸	۴۰/۹۰	۴/۹۲	۲/۹۰	۹/۰۹	۱/۵۴	۰/۶۴	۲۶/۴	1M+8m
مشکین شهر	۱۸	۴۰/۸۰	۶/۹۰	۲/۷۲	۷/۳۰	۱/۹۴	۰/۵۱	۲۴/۵	1M+6m+2sm
اراک	۳۶	۴۶/۰۷	۲/۵۰	۲/۶۰	۴/۲۰	۱/۶۰	۰/۶۲	۴۷/۱	2M+16m
ایلام	۳۶	۴۰/۵۰	۲/۲۰	۳/۳۸	۴/۲۶	۱/۵۷	۰/۶۳	۶۰/۹	16m+2sm
استهبان	۳۶	۴۱/۸۰	۴/۴۹	۲/۲۷	۲/۶۸	۲/۶۳	۰/۳۷	۴۱/۰	17m+1sm

TCL: طول یک سری کامل کروموزومی، S/L: شاخص نسبت بازوها (نسبت بازوی کوتاه به بلند)، L/S: شاخص r-value (نسبت بازوی بلند به کوتاه، S%: طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم، MCL: میانگین طول کروموزوم، DRL%: اختلاف دامنه طول نسبی، TF%: شاخص درصد شکلی کلی، 2n: سطح پلوئید (تعداد کروموزومها)



شکل ۱- کاریوگرام شش اکوتیپ بومادران (به ترتیب از بالا به پایین: الیگودرز، اردبیل، مشکین شهر، اراک، ایلام و استهبان)

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی کمی مقدار TF% نشان می‌دهد که حداکثر این مقدار(۴۶/۰۷ درصد) مربوط به ژنوتیپ اراک و حداقل آن (۴۰/۵ درصد) مربوط به ژنوتیپ ایلام است. بیشترین مقدار S % مربوط به ژنوتیپ اردبیل (۹/۰۹ درصد) و کمترین مقدار آن مربوط به ژنوتیپ استهبان (۲/۶۸ درصد) می باشد. حداکثر میزان کمیت DRL% مربوط به ژنوتیپ الیگودرز (۷/۸۲) و حداقل آن مربوط به ژنوتیپ ایلام (۲/۲) می‌باشد. حداکثر میزان کمیت TCL (۶۰/۹) مربوط به ژنوتیپ ایلام و حداقل این مقدار (۲۴/۵) مربوط به ژنوتیپ مشکین شهر می‌باشد. حداقل مقدار S/L (۰/۳۷) مربوط به ژنوتیپ استهبان و بیشترین مقدار آن (۰/۶۴) مربوط به ژنوتیپ اردبیل می‌باشد. کمترین مقدار L/S (۱/۵۴) مربوط به ژنوتیپ اردبیل و بیشترین مقدار آن (۲/۶۳) مربوط به ژنوتیپ استهبان می‌باشد.

بررسی فرمول کاریوتیپی نشان می‌دهد که ژنوتیپ اراک با داشتن فرمول کاریوتیپی 2M+16m و ژنوتیپ اردبیل با داشتن فرمول کاریوتیپی 1M+8m متقارن‌ترین ژنوتیپها می باشند. عدم وجود کروموزومهای دیگر نشان می‌دهد که این دو ژنوتیپ از نظر تیپ کروموزومی نسبتاً یکسان هستند. ژنوتیپ مشکین شهر با دارا بودن فرمول کاریوتیپی 1M+6m+2sm و ژنوتیپ ایلام با داشتن فرمول کاریوتیپی 16m+2sm به دلیل داشتن ۲ کروموزوم ساب‌متاسانتریک، نامتقارن‌ترین فرمول کاریوتیپی را دارا می‌باشند. با توجه به جدول استبینز (جدول ۲) ژنوتیپهای اراک و ایلام در کلاس 1A، ژنوتیپهای اردبیل و مشکین شهر در کلاس 2A و ژنوتیپهای الیگودرز و استهبان در کلاس 1B قرار گرفتند.

تحلیل واریانس یک طرفه و دو طرفه داده‌های کاریوتیپی: همان گونه که مشاهده می گردد (جدول ۳) ژنوتیپهای مد نظر از لحاظ کلیه صفات دارای تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد می‌باشند. این امر مؤید وجود تنوع کروموزومی در ژنوتیپهای مورد بررسی می باشد؛ به عبارت دیگر بین حداقل دو ژنوتیپ از لحاظ کلیه صفات فوق تفاوت وجود دارد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس دو طرفه (جدول ۴) برای ژنوتیپهای ۹ و ۱۸ جفت کروموزومی به طور جداگانه نشان می‌دهد که در هر دو حالت ۹ و ۱۸ کروموزومی بین ژنوتیپها از نظر پارامترهای S، L و T تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد وجود دارد. بین کروموزمها نیز به طور جداگانه از لحاظ پارامترهای کروموزومی S،L، T و RL% تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد وجود دارد. کروموزومهای مختلف از نظر سایر پارامترهای کروموزومی با یکدیگر اختلافی ندارند.

جدول۲- تقارن کاریوتیپی (دسته بندی دوطرفه ی استبینز) در ژنوتیپهای بومادران

بلندترین کروموزوم/کوتاهترین کروموزوم	نسبت کروموزومها با L/S بیشتر از ۲			
	0.00	0.01-0.5	0.51-0.99	1.0
۲>	1A (G4, G5)	2A (G2, G3)	3A	4A
۴-۲	1B (G1, G6)	2B	3B	4B
۴<	1C	2C	3C	4C

توضیح: G1: الیگودرز، G2: اردبیل، G3: مشکین شهر، G4: اراک، G5: ایلام، G6: استهبان

جدول ۳- تجزیه واریانس یک طرفه صفات کاریوتیپی ژنوتیپهای بومادران

		میانگین مربعات							
منبع تغییر	درجه آزادی	%RL	%F	L-S	S/L	L/S	T	L	S
تیمار	۵	۱۱۱/۱۳**	۴۷/۸۳**	۰/۰۷**	۰/۰۷**	۰/۲۴**	۱۴/۶۱**	۵/۱۹**	۲/۴۸**
خطا	۷۵	۱/۹۴	۱۷/۷۰	۰/۰۹	۰/۰۲	۰/۰۶	۰/۳۳	۰/۱۴	۰/۰۷

* و **: معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- تجزیه واریانس دو طرفه صفات کاریوتیپی در ژنوتیپهای بومادران

منبع تغییرات		DF	S	L	T	L/S	S/L	L-S	%F	%RL
۹جفت کروموزومی	ژنوتیپ	۲	۴/۱۸**	۷/۱۸**	۲۲/۲۴**	۰/۰۸	۰/۰۰	۰/۴۰	۷/۶۴	۰/۰۰
	کروموزوم	۸	۰/۲۹**	۰/۶۳**	۱/۶۲**	۰/۱۰	۰/۰۲	۰/۲۱	۲۹/۸۷	۱۲/۷۸**
	خطا	۱۶	۰/۰۸	۰/۱۵	۰/۲۸	۰/۱۳	۰/۰۳	۰/۱۹	۳۰/۸۵	۰/۵۶
۱۸جفت کروموزومی	ژنوتیپ	۲	۰/۷۹**	۲/۵۷**	۵/۵۷**	۰/۴۴**	۰/۱۵**	۰/۸۸**	۹۸/۸۹**	۰/۰۰
	کروموزوم	۱۷	۰/۰۷**	۰/۱۵**	۰/۴۱**	۰/۰۳	۰/۰۰	۰/۰۴	۱۲/۹۵	۱/۷۳**
	خطا	۳۴	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۰۴	۱۲/۰۳	۰/۱۵

*: در سطح ۵٪ معنی دار **: در سطح ۱٪ معنی دار

مقایسه میانگین ژنوتیپها از نظر صفات کاریوتیپی: نتایج حاصل از این تجزیه نشان داد (جدول ۵) که شش ژنوتیپ مورد مطالعه از نظر صفات مورد اندازه‌گیری در دسته های مختلفی قرار می گیرند. از نظر صفات L،S و T ژنوتیپ استهبان دارای کمترین مقدار بود. ژنوتیپ الیگودرز از نظر صفات L،S، T، L-S، F% و RL% دارای بیشترین مقدار بود. از لحاظ سایر صفات نیز ژنوتیپ استهبان به طور مشترک با ژنوتیپهای ایلام و اراک دارای کمترین مقدار از لحاظ آماری بود.

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات کاریوتیپی در ژنوتیپهای بومادران

ژنوتیپ	صفات							
	% RL	%F	L-S	S/L	L/S	T	L	S
الیگودرز	۱۱/۰۹^{b}	۴۲/۳۳^{ab}	۰/۸۸^{d}	۰/۷۴^{a}	۱/۳۳^{ab}	۵/۵۴^{d}	۳/۲۱^{d}	۲/۳۳^{d}
اردبیل	۱۱/۰۸^{b}	۴۱/۱۸^{a}	۰/۵۲^{bc}	۰/۷۱^{a}	۱/۴۵^{b}	۲/۹۳^{bc}	۱/۷۲^{bc}	۱/۲۰^{bc}
مشکین شهر	۱۱/۰۷^{b}	۴۰/۵۱^{a}	۰/۵۰^{bc}	۰/۷۰^{a}	۱/۵۲^{b}	۲/۷۲^{ab}	۱/۶۱^{ab}	۱/۱۱^{ab}
اراک	۵/۵۱^{a}	۴۵/۱۰^{b}	۰/۲۱^{a}	۰/۸۶^{b}	۱/۱۸^{a}	۲/۶۲^{ab}	۱/۴۱^{ab}	۱/۲۱^{bc}
ایلام	۵/۵۴^{a}	۴۰/۵۰^{a}	۰/۶۴^{cd}	۰/۶۹^{a}	۱/۴۹^{b}	۳/۳۸^{c}	۲/۰۱^{c}	۱/۳۷^{c}
استهبان	۵/۵۳^{a}	۴۲/۰۲^{ab}	۰/۳۷^{ab}	۰/۷۳^{a}	۱/۳۸^{ab}	۲/۲۸^{a}	۱/۳۲^{a}	۰/۹۶^{a}

S: بازوی کوتاه، L: بازوی بلند، T: طول کل کروموزوم، L/S: نسبت بازو بلند به کوتاه، S/L: نسبت بازوی کوتاه به بلند، L-S: اختلاف بازوی بلند و کوتاه، F%: شاخص‌هازیوارا، RL%: طول نسبی کروموزوم

تجزیه همبستگی: نتایج تجزیه همبستگی (جدول ۶) نشان می‌دهد که بین کلیه ژنوتیپها همبستگی معنی داری در سطح ۱ درصد وجود دارد. آنچه از این جدول معلوم می گردد این است که بین ژنوتیپهای ۳۶ کروموزومی (ایلام، اراک و استهبان) و بین ژنوتیپهای ۱۸ کروموزومی (اردبیل و مشکین شهر) همبستگی ۱۰۰ درصد وجود دارد.

تجزیه به مؤلفه های اصلی و تجزیه به عاملها: بر اساس نتایج حاصل از تجزیه به عاملها (جدول ۷) دو عامل و در مجموع ۹۰/۹۲ درصد از کل تغییرات داده‌ها (واریانس) را توجیه کردند. عامل اول ۴۶/۶۵ درصد از واریانس و عامل دوم ۴۴/۲۷ درصد از واریانس موجود در داده‌ها را توجیه نمودند.

جدول ۶- تجزیه همبستگی داده‌های کاریوتیپی در ژنوتیپهای بومادران

	الیگودرز	اردبیل	مشکین شهر	اراک	ایلام	استهبان
الیگودرز	۱					
اردبیل	۰/۹۹۷**	۱				
مشکین شهر	۰/۹۹۶**	۱**	۱			
اراک	۰/۹۹۳**	۰/۹۸۹**	۱**	۱		
ایلام	۰/۹۹۵**	۰/۹۹۰**	۰/۹۸۹**	۱**	۱	
استهبان	۰/۹۹۴**	۰/۹۹۱**	۰/۹۹۰**	۱**	۱**	۱

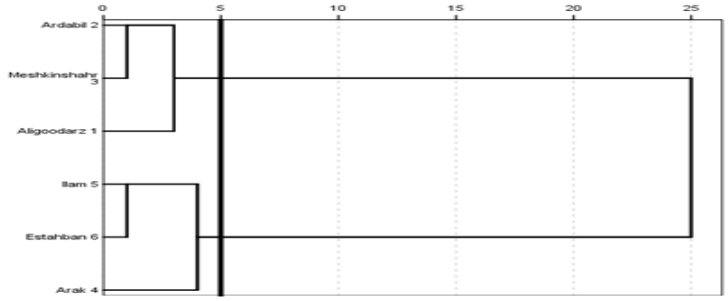
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۷- مقادیر ویژه، درصد واریانس، واریانس تجمعی و ضریب بردارهای ویژه حاصل از تجزیه به عامل‌ها در ژنوتیپهای بومادران

صفات	مولفه اول	مولفه دوم
طول بازوی کوتاه(S)	-۰/۲۱	۰/۹۶
طول بازوی بلند (L)	۰/۲۹	۰/۹۴
طول کل کروموزوم(T)	۰/۰۹	۰/۹۸
نسبت بازوی بلند به کوتاه (L/S)	۰/۹۸	-۰/۰۱
نسبت بازوی کوتاه به بلند (S/L)	-۰/۹۹	-۰/۰۷
تفاوت بازوی بلند و کوتاه (L-S)	۰/۸۲	۰/۵۲
% F	-۰/۹۸	-۰/۰۴
%RL	۰/۱۶	۰/۷۰
مقدار ویژه	۴/۴۳	۲/۸۵
در صد واریانس توجیه شده	۴۶/۶۵	۴۴/۲۷
در صد واریانس تجمعی توجیه شده	۴۶/۶۵	۹۰/۹۲

تجزیه کلاستر: دندروگرام به دست آمده از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپها را در دو خوشه گروه بندی نمود (شکل ۲). در خوشه اول ژنوتیپهای اردبیل، مشکین شهر و الیگودرز و در خوشه دوم ژنوتیپ‌های اراک، ایلام و استهبان قرار گرفت. بررسی خوشه ها نشان می‌دهد که ژنوتیپهای با سطوح پلوئیدی یکسان ولو اینکه از گونه‌های متفاوت باشند در یک گروه قرار گرفته است. ژنوتیپ اردبیل و مشکین شهر در یک زیر گروه و ژنوتیپهای ایلام و استهبان در زیر گروه دیگر قرار گرفت و این نشان می‌دهد که این ژنوتیپها قرابت کروموزومی زیادی با یکدیگر دارند.



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر ژنوتیپهای بومادران

بحث و نتیجه گیری

در بررسی کاریوتیپ اندازه کروموزومها متفاوت بود؛ متفاوت بودن اندازه طول کروموزومها حکایت از یک کاریوتیپ پیشرفته و دارای کروموزومهایی با اندازه مختلف می نماید (۲۹). اندازه بزرگ کروموزومی ممکن است ناشی از تکرار در مکانهای ژنی و در سریهای مختلف باشد که خود نشانگر حرکت به سوی سازگاری است؛ البته عکس این مطلب نیز صادق است چرا که مضاعف شدن ژنها به صورت عرضی، توأم با کوتاه شدن کروموزومها در گونه‌های مختلف بعضی از جنسها بوده است (۲۲).

حداکثر میزان TCL در ژنوتیپهای ایلام و الیگودرز و حداقل این مقدار در ژنوتیپهای اردبیل و مشکین شهر مشاهده شد. مقدار طول کل کروموزومهای ژنوتیپ الیگودرز علی رغم داشتن ۱۸ کروموزوم از ژنوتیپ استهبان که ۳۶ کروموزوم دارد بیشتر است. میزان DNA همبستگی بسیار خوبی با طول کاریوتیپ و سطح پلوئیدی از خود نشان می‌دهد؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مقدار DNA در ژنوتیپهای ایلام و الیگودرز در بالاترین سطح و در ژنوتیپهای اردبیل و مشکین شهر در پایین ترین سطح قرار دارد. تغییرات میزان ژنوم به روند تکامل و سایر تفاوتهای مربوط به انتخاب اکولوژیکی محیط وابسته است. اختلاف طول کاریوتیپ در ژنوتیپها با سطح پلوئیدی متفاوت کاملاً مشخص است و طول کاریوتیپ را می‌توان در ژنوتیپ تتراپلوئید دو برابر طول کاریوتیپ همتای

www.SID.ir

Archive of SID

دیپلوئید آن دانست؛ لیکن این امر در مورد ژنوتیپ الیگودرز (دیپلوئید) و استهبان (تتراپلوئید) صادق نمی‌باشد و بر خلاف گزارشات قبلی می‌باشد؛ علت این امر شاید این باشد که استهبان از دو برابر شدن الیگودرز به وجود نیامده است (۳۰). مقایسه میانگینها نشان می دهد که استهبان و الیگودرز از لحاظ اکثر پارامترهای مربوط به کروموزوم متفاوت بوده و در گروههای مختلفی قرار گرفته اند. قرار گرفتن در گروههای مختلف نشان دهنده متفاوت بودن ژنهای آنها دارد. از طرف دیگر با نگاهی به جدول ملاحظه می شود که اکوتیپهای تتراپلوئید (اراک، ایلام و استهبان) هیچ کدام از لحاظ طولی دو برابر الیگودرز نمی باشند؛ لیکن تقریباً اندازه آنها دو برابر اکوتیپهای اردبیل و مشکین شهر می‌باشد؛ بنابراین این ژنوتیپها (اراک، ایلام و استهبان) می توانند از اکوتیپهای اردبیل و مشکین شهر به وجود آمده باشند. با در نظر گرفتن فرمول کاریوتیپی؛ اردبیل متقارن تر از مشکین شهر می باشد؛ لذا احتمال منشاء گرفتن استهبان، اراک و ایلام از اکوتیپ اردبیل بیشتر از مشکین شهر می باشد. به طور کل بررسی خصوصیات کروموزومی ژنوتیپهای مختلف بومادران نشان می‌دهد که تفاوت قابل ملاحظه ای بین طول کروموزومها وجود دارد و هم در بین گونه‌ها و هم درون گونه‌ها برای شاخصهای محاسبه شده تنوع وجود دارد و این مؤید این مطلب است که بین ژنوتیپهای مختلف تغییرات ژنتیکی و به تبع آن تغییرات فنوتیپی قابل توجه می‌باشد. از این رو تحقیقات بعدی برای شناسایی صفات مطلوب و انتقال آنها در یک واریته و معرفی آن به عنوان یک رقم زراعی حائز اهمیت می‌باشد.

در این تحقیق گونه *A. millefolium* هم به صورت دیپلوئید و هم تتراپلوئید مشاهده شد و تعداد کروموزومها در اکوتیپهای اردبیل و مشکین شهر 2n=2x=18 و در اکوتیپهای ایلام و استهبان 2n=4x=36 می‌باشد که این با گزارشات قبلی که آن را گونه‌ای تتراپلوئید (2n=4x=36)، هگزاپلوئید (2n=6x=54) و اکتاپلوئید (2n=8x=72) گزارش کرده بودند متفاوت است (۵، ۱۰ و ۲۳). با توجه به اینکه ژنوتیپهای مورد مطالعه در واقع اکوتیپ بوده و برگرفته از یک ناحیه جغرافیایی خاص می باشد؛ لذا ممکن است که این اکوتیپها با ژنوتیپهای قبلی دقیقاً از یک ناحیه جمع آوری نشده باشد و در واقع نمونه بررسی شده در این مطالعه با نمونه مورد مطالعه در گزارشات قبلی دقیقاً یکسان نباشد. از طرف دیگر امکان دارد که این ژنوتیپها از دو ناحیه متفاوت از یک منطقه جغرافیایی بزرگتر جمع آوری شده باشند و این نواحی دارای اقلیمهای متفاوتی باشند. اقلیمهای متفاوت ممکن است با افزایش اختلافات سازشی همراه باشد و این منجر به تولید واریته های جدید و حتی گونه های جدید در رویشگاههای گیاهی گردد (۱۲، ۲۵، ۲۶، ۲۷). برای اینکه کاملا یکسان بودن این ژنوتیپها مورد تأیید قرار گیرد لازم است تا آزمایشهای گیاه شناسی و مولکولی بیشتر و دقیق تری صورت گیرد تا صحت و سقم این مسئله معلوم گردد. همچنین در این تحقیق تعداد کروموزومهای *A. santolina* به دو صورت دیپلوئید (اکوتیپ الیگودرز، 2n=2x=18) و تتراپلوئید (اکوتیپ اراک، 2n=4x=36) گزارش شد که تأییدی بر گزارشات قبلی بود (۵). مکانیسم کاهش در تعداد کروموزومها با اطمینان بیشتری نسبت به کاهش در اندازه کروموزومها شناسایی گردیده و در نمونه های متعددی نشان داده شده است که این وضع باعث به وجود آمدن کاریوتیپهای نامتقارن و با اندازه های متفاوت می‌شود که این خود نتیجه تکامل گونه‌های مورد مطالعه می‌باشد (۲۰). با توجه به این نتایج می‌توان قضاوت نمود که گونه‌های مورد مطالعه بومادران در حال تکامل می‌باشند.

با توجه به همبستگی مثبت TF% و تقارن کاریوتیپی؛ ژنوتیپ اراک با دارا بودن حداکثر مقدار، متقارن‌ترین کاریوتیپ و ایلام به لحاظ داشتن حداقل مقدار، نامتقارن‌ترین کاریوتیپ از لحاظ این پارامتر می‌باشد (۱۴). از دیگر معیارهای تشخیص تقارن کاریوتیپی DRL% است که بین مقادیر آن با تقارن همبستگی منفی وجود دارد.

www.SID.ir

Archive of SID

حداکثر میزان این کمیت مربوط به ژنوتیپ الیگودرز و حداقل آن مربوط به ژنوتیپ ایلام می‌باشد که نشان می‌دهد ژنوتیپ ایلام متقارن‌ترین ژنوتیپ و الیگودرز نامتقارن‌ترین ژنوتیپ از نظر این شاخص می‌باشد. هرچه مقدار S% کمتر باشد تقارن کاریوتیپ کمتر است؛ لذا جمعیت اردبیل متقارن‌ترین و جمعیت استهبان نامتقارن‌ترین کاریوتیپ از نظر پارامتر S% می باشد (۱۱). به طور کل با توجه به نتایج متفاوت به دست آمده از پارامترهای فوق نمی‌توان یک ژنوتیپ خاص را به عنوان متقارن‌ترین ژنوتیپ معرفی نمود و بهتر است فرمول کاریوتیپی این ژنوتیپها مد نظر قرار گیرد. بررسی فرمول کاریوتیپی نشان می‌دهد که کروموزومها بیشتر از نوع متاسانتریک و برخی کروموزومها از نوع ساب‌متاسانتریک (sm) می‌باشد که این با نتایج اکسو و همکاران مطابقت دارد (۲). در این ژنوتیپها کروموزوم آکروسانتریک، ساب تلوسانتریک و تلو سانتریک مشاهده نشد. از آنجا که در نهاندانگان کاریوتیپهای نامتقارن از نظر تکاملی پیشرفته ترند (۱)، لذا با توجه به فرمول به دست آمده ژنوتیپهای اراک و اردبیل متقارن‌ترین کاریوتیپها را دارند و نسبت به ژنوتیپهای دیگر ابتدایی‌تر می باشند. ژنوتیپهای استهبان و الیگودرز و مشکین شهر دارای نامتقارن‌ترین کاریوتیپها بوده و نسبت به ژنوتیپهای دیگر پیشرفته تر هستند. تا حدودی می توان نتیجه گرفت که شاید ژنوتیپ مشکین شهر از ژنوتیپ اردبیل به وجود آمده است. با توجه به تنوع فرمول کاریوتیپی در ژنوتیپهای مورد بررسی معلوم می‌شود که فرم کروموزمی ژنوتیپهای مورد بررسی متفاوت بوده و از نظر فرم کروموزمی هم در بین گونه‌ها (الیگودرز با اردبیل) و هم درون گونه‌ها (الیگودرز با اراک و اردبیل با مشکین شهر) تنوع وجود دارد. با توجه به وجود تنوع برای پارامترهای تقارن این پارامترها می‌تواند در تفکیک گونه‌ها از همدیگر مؤثر باشد. شاید مسیرهای مختلفی که این ژنوتیپها از نظر انتخاب طبیعی و مصنوعی در محیطهای مختلف طی زمان طولانی سپری نموده اند سبب تغییراتی در بین و درون گونه و در نهایت اختلافات کاریوتیپی گردیده است.

براساس روش استبینز ژنوتیپهای مورد مطالعه در کلاسهای 1A، 2A و 1B قرار گرفتند؛ براین اساس ژنوتیپهای اراک و اردبیل متقارن‌ترین کاریوتیپها را دارند و در نتیجه ابتدایی‌تر هستند و ژنوتیپهای استهبان و الیگودرز دارای نامتقارن‌ترین کاریوتیپها بوده، لذا این دو ژنوتیپ نسبت به ژنوتیپهای دیگر جدیدتر و پیشرفته تر هستند. بر اساس گزارش ابراهیم و همکاران (۵) ۱۹ ژنوتیپ مورد مطالعه همه در سه کلاس A قرار گرفتند که این با نتایج به دست آمده از این مطالعه همخوانی ندارد. نامتقارنی کاریوتیپ احتمالاً به علت وقوع تغییرات ساختمانی کروموزوم از قبیل حذف کروموزومی و یا جابه جایی های نابرابر و غیره است. کاریوتیپهای متقارن معمولاً ابتدایی بوده وگرایش به سوی نامتقارن بودن از طریق واژگونیهای پری سانتریک و جابه جایی نابرابر قسمتهایی از بازوهای کروموزم بدون تغییر در تعداد سانترومرها و کروموزومهای مستقل صورت می گیرد؛ گرچه عکس این گرایش با جوش خوردن کروموزوم آکروسانتریک و تلوسانتریک و ایجاد کروموزومهای متاسانتریک صورت می گیرد (۸ و ۲۶). با توجه به آنکه ژنوتیپهای مختلف بومادران از نقاط مختلفی جمع آوری شده بود لذا ممکن است تکامل شکل در کروموزومها منجر به نامتقارنی خاصی در کاریوتیپها به ویژه آنها که محیطهای متغیری را به خود اختصاص می دهند گردیده باشد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اندازه کروموزومها از یک ژنوتیپ به ژنوتیپ دیگر تفاوت می کند. تنوع حاصل شده در بین ژنوتیپها بیشتر ناشی از افزایش یا کاهش طول بازوهای کروموزومی بود. بررسی مقایسه میانگینها نیز مؤید این مطلب می‌باشد و نشان می‌دهد که همه ژنوتیپهای گونه *A.millefolium* از نظر کلیه شاخصهای کاریوتیپی به جز S/L و F% در گروههای جداگانه قرار می گیرند. دو ژنوتیپ گونه *A.santolina* نیز

www.SID.ir

Archive of SID

از نظر شاخصهای مذکور به جز L/S وF% در گروههای جداگانه قرار گرفتند. بنابراین ژنوتیپهای با سطح پلوئیدی یکسان (2X یا 4X) و یا یک گونه در یک گروه مجزا قرار نگرفتند؛ این در حالی است که بین ژنوتیپهای مورد نظر از نظر مورفولوژی اختلافی دیده نشده است (۹). قرار گرفتن ژنوتیپهای اردبیل و مشکین شهر از لحاظ کلیه صفات در یک گروه می‌تواند دلیلی بر مشترک بودن ژنوم آنها باشد. وجود ژنوتیپهای مختلف با سطوح پلوئیدی یکسان و گونه متفاوت (مانند اراک با ایلام و استهبان از لحاظ بعضی صفات و الیگودرز با اردبیل و مشکین شهر از لحاظ بعضی صفات) در یک گروه و ژنوتیپهای با سطح پلوئید متفاوت و گونه مشترک در یک گروه (مانند اردبیل و مشکین شهر با ایلام و استهبان در یک گروه از لحاظ اکثر صفات) نشان دهنده مشترک بودن بعضی از ژنهای آنها از یک جد مشترک دارد. به همین دلیل می‌توان احتمال داد که در اینجا اتوپلی پلوئید بودن رخ داده است. قرار گرفتن ژنوتیپهای مختلف در گروههای مختلف نشان می‌دهد که در تمایز این ژنوتیپها مقدار DNA نقش به سزایی داشته است و این علت اصلی تفاوتهای ژنتیکی در این شش ژنوتیپ می‌باشد. اختلاف معنی دار بین طول کروموزومهای بومادران نشان می‌دهد که ژنوتیپهای بومادران وحشی ایران دارای تغییرات ژنتیکی و به تبع آن تغییرات فنوتیپی قابل توجهی می‌باشند. بنابراین تحقیقات بعدی برای شناسایی صفات مطلوب تجاری و انتقال آنها به واریته های زراعی حائز اهمیت می‌باشد.

بررسی همبستگی ژنوتیپها نشان می‌دهد که کمترین همبستگی معنی دار بین ژنوتیپهای مشکین شهر با اراک می‌باشد. وجود همبستگی بالا بین ژنوتیپها نشان از قرابت ژنتیکی آنها دارد. لازم به ذکر است که یافتن همبستگیهای بالا حکایت از لینکاژ ژنهای کنترل کننده آن صفات و یا کنترل صفات همبسته یک ژن یا بلوک ژنی خواهد داشت. ولی در هنگام استفاده از این روش آماری مشاهده همبستگی در میان ژنوتیپها، ناشی از هماهنگ بودن (ضریب مثبت) یا نبودن (ضریب منفی) تغییرات در ساختار درون و بین کروموزومی خواهد بود.

نتایج تجزیه به عاملها نشان داد که عامل اول با توجیه ۴۶/۶۵ درصد از تغییرات، شامل ضرایب عاملی مثبت و معنی دار برای L/S و L-S و ضرایب عاملی منفی و معنی دار برای صفات F% و S/L بود؛ لذا عامل نسبت بازوهای کروموزومی نامیده شد. انتخاب بر اساس عامل اول می-تواند منجر به انتخاب ژنوتیپهایی گردد که نسبت بازوی بلند به کوتاه و تفاوت دو بازوی زیادی دارند؛ لیکن نسبت بازوی کوتاه به بلند و شاخص‌هازیوارای آنها کم می‌باشد. عامل دوم با توجیه ۴۴/۲۷ درصد ازتغییرات، دارای ضرایب عاملی مثبت و معنی دار برای صفات S، L، T و RL بود؛ بنابراین عامل مذکور عامل اندازه کروموزوم یا اندازه ژنوم نامیده شد. انتخاب بر اساس این عامل می‌تواند به انتخاب ژنوتیپهای با کروموزومهای بزرگتر یا ژنوم بزرگتر و در نتیجه مقدار DNA بیشتر منجر شود.

نتایج حاصل از تجزیه کلاستر نشان داد که ژنوتیپها بر اساس سطح پلوئیدی به خوبی تفکیک شدند. به عبارت دیگر ژنوتیپهای ۱۸ کروموزومی در یک گروه و ژنوتیپهای ۳۶ کروموزومی در گروه دیگر قرار گرفتند. ژنوتیپهای گروه اول (دیپلوئید شامل اردبیل، مشکین شهر و الیگودرز) از نظر اکثر صفات مقادیر کمتری نسبت به ژنوتیپهای گروه دوم (تتراپلوئید شامل ایلام،اراک و استهبان) داشتند. در مطالعه ابراهیم و همکاران (۵) نیز ژنوتیپهای دیپلوئید در یک گروه و ژنوتیپهای تتراپلوئید در گروه دیگر قرار گرفتند. ژنوتیپهای گروه دوم دارای بازوی بلند، بازوی کوتاه و طول کروموزومی بیشتر و درنتیجه مقدار ژنوم بیشتری نسبت به ژنوتیپهای گروه اول دارا می‌باشند. با توجه به تتراپلوئید بودن این ژنوتیپها این نتیجه منطقی به نظر می رسد؛ زیرا ژنوتیپهای تتراپلوئید دارای ژنوم بیشتری نسبت به دیپلوئیدها می‌باشند. احتمال می رود که اصل و منشاء ژنوتیپهای قرار گرفته در یک گروه یکی بوده و در

www.SID.ir

Archive of SID

اثر گذشت زمان و متحمل شدن موتاسیون تغییراتی جزئی با یکدیگر پیدا نموده اند و از یکدیگر کمی فاصله گرفته اند.

در این پژوهش سطوح پلوئیدی گونه‌ها مشخص گردید که این اطلاعات برای انتخاب والدین در برنامه های دورگ گیری از اهمیت ویژه ای برخوردار است. به عبارت دیگر در صورت انجام تلاقی بایستی بین ژنوتیپهای با سطح پلوئیدی یکسان (الیگودرز، اردبیل و مشکین شهر با یکدیگر و بین ژنوتیپهای اراک، استهبان و ایلام با یکدیگر) تلاقی صورت گیرد. چنانچه بین ژنوتیپهای متعلق به گونه‌های متفاوت با سطح پلوئیدی یکسان تلاقی صورت گیرد (بین ژنوتیپهای ایلام و استهبان با اراک و ژنوتیپهای اردبیل و مشکین شهر با الیگودرز) احتمال به وجود آمدن هیبریدهای مناسبی خواهد بود؛ زیرا در بحث روابط بین گونه‌ای قرابت بیشتری داشته و در صورت وجود صفات مطلوب در این گونه‌ها امکان تلاقی بین گونه‌ای برای جمع‌آوری ژنهای مطلوب در یک گیاه وجود خواهد داشت (۲۸). هم چنین نتایج این تحقیق نشان داد که داده‌های مربوط به کروموزوم می‌تواند در تعیین تنوع ارزشمند باشد.

منابع

۱ - خسروی، ا.ر.، ۱۳۷۵. تاکسونومی گیاهی و سیستماتیک زیستی (ترجمه). انتشارات دانشگاه شیراز، شیراز، ۳۹۲ صفحه.

2-Aksu, N., Inceer, H., Hayırlıoğlu-Ayaz, S., 2013. Karyotype analysis of six *Achillea* L. (*Asteraceae, Anthemideae*) taxa from Turke. Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics, 66 (2): 103-108.

3-Alishah, O., Omidi, M., 2008. Laboratory Methods of Cytogenetics. Tehran University Press, Tehran, Iran. (In Farsi). PP: 188.

4-Bremer, K., haumphries, C. J., 1993. Genetic monograph of the Asteraceae Anthemideae. Bull Nat Hist Mus Lond (Bot) 23:71-177.

5-Ebrahim, F., Pakniyat, H., Arzani, A., Rahimmalek, M., 2012. Karyotype analysis and new chromosome number reports in *Achillea* species. Biologia, 67 (2): 284-288.

6-Ehrendorfer, F., Guo, Y. P., 2006. Multidisciplinary studies on *Achillea* sensulato (Compositae- Anthemideae): new data on systematics and phylogeography Willdenowia, 36: 69-87.

7-Estilai, A., Hashemi, A., 1990. Chromosome number and Meiotic behavior of cultivated Chia, Salvia, hisponica. Hort science, 25(12):1646-1647.

8-Evans, G. M., 1968. Nuclear changes in flax. Heredity, 23: 25-38.

9-Farajpour, M., Ebrahimi, M., Amiri, R., Golzari, S., Sanjari, S., 2012. Assessment of genetic diversity in *Achillea millefolium* accessions from Iran using ISSR marker. Biochemical Systematic and Ecology, 37: 73–79.

10-Farsi, M., Qureshi Alhosaini, J., Jaafari, E., 2001. Cytogenetic evaluation of several species of yarrow in Iran. Agricultural Knowledge 11 (4): 17 -28. (In Farsi).

11-Gennur, M. N., Kadapa, S. N., Habit, A. F., Goud, J. V., 1988. Karyomorphologycal studies in Asiatic cotton II. Karyotypic analysis of species and races of Asiatic cottons based on nucleolar chromosome and symmetry of karyotoype. Cytologia, 53:107-114

12-Goldblatt, P. 1987. Index to Plant Chromosome Numbers 1984–1985. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 23: 1–264.

13-Guo, Y. P., Saukel, J., Mittermayer, R., Ehrendorfer, F., 2005. AFLP analysis demonstrates genetic divergence, hybridization, and multiple polyploidization in the evolution of *Achillea* (*Asteraceae Anthemideae*). New Phytol, 166:273-289.

14-Huziwara, Y., 1962. Karyotype analysis in some genera of composite. VIII. Further studies on the chromosome of Aster. American Journal of Botany, 49:116-119.

15-Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A. A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosome. Hereditas, 52 (2): 201-220.

16-Mathew, P., Mathew, M. A., 1983. Studies on the South Indian Compositae V. Cytotaxonomic

www.SID.ir

Archive of SID

consideration of tribes Vernonieae and Eupatorieae. Cytologia, 48: 679–690.

17-Omidi, M., Alishah, O., Samanfar, B., 2009. Plant Cytogenetcs. Tehran University Press, Tehran, Iran. PP: 764. (In Farsi).

18-Podlech, D., 1986. Compositeae VI. Antenideae. In: Flora Iranica, ed. Rechinger K. H., NO. 158., pp 49-71. Skademische Druck-u., Verlagsans Talt, Graz, Austria.

19-Rawashdeh, I. M., Haddad, N. I., Amri, A., 2009. Genetic Diversity Analysis of *Achillea fragrantissima* (Forskal) Schultz Bip. Populations from Jordan Using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). Dirasat, Agricultural Sciences, 36 (2): 89 -99.

20-Saeedi, K., Jalili, A., Azarnivand, H., Ghamari Zareh, A., 2005. Karyotypic study of the species of *Artemisia* genus in West Azerbaijan Province. Natural Resources Research and Development 67: 2-10. (In Farsi).

21-Saukel, J., Ancheev, M., Guo, Y P., Vitkova, A., Nedelcheva, A., Goranova, A., Konakchiev, A., Lambrou, M., Nejati, S., Rauchensteiner, F., 2003. Comments on the biosystematics of *Achillea* (*Asteraceae Anthemideae*) in Bulgaria Phytol Balcania, 9 (3): 361-400.

22-Sharma, A., Sen, S., 2002. Chromosome Botany. Science publication, Inc. Enfield, USA, pp. 41-53.

23-Sheidai, M., Azanei, N., Attar, F., 2009. New chromosome number and unreduced pollen formation in *Achillea* species (*Asteraceae*). Acta Biologica Szegediensis, 53(1):39-43.

24-Skula, P., Misra, S. P., 1994. An introduction to taxonomy of Angiosperms. Vikas publishing house pub. Ltd. New Dehli.

25-Stebbins, G. L., 1950. Variation and evolution in plant. Clumbia University Press, New York.

26-Stebbins, G. L., 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold Press, London.

27-Stuessy, T. F., 1990. Cytology, Genetics and cytogenetics in plant taxonomy. Columbia University Press, New York.

28-Swanson, K. P., Mertz, T., Young, W. J., 1997. Cytogenetic - chromosome in division, inheritance and evolution.Translation: c. Ahmadian Tehrani. Tehran University Press, PP: 702.

29-Torrell, M., Gracia Jacas, N., Susanna, A., Valles, J., 1999. Phylogeny in Artemisia (Asteraceae, Anthemideae) inferred from nuclear, ribosomal DNA (ITS) sequences. Taxon, 48:721-736.

30-Vallès, J., McArthur, E. D., 2001. Artemisia systematics and phylogeny: Cytogenetic and moleculor Insights, In Proceedings: Shrubland Ecosystem Genetics and Biodiversity. June 13-15, 2000, Provo, Utah, Proceedings RMRS-P-000 Edited by E.D. McArthur and D.J. Fairbanks. United States Department of Agriculture Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Ogden, Utah.

www.SID.ir

Archive of SID

Karyotypic analysis of Yarrow (*Achillea* spp) genotypes using multivariate statistical methods

Zabet M.[1] and Afshari F.[2]

[1] Agronomy and plant breeding Dept., Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, I.R. of Iran

[2] Ministry of Education, Southern Khorasan, Birjand, I.R. of Iran

Abstract

In order to cytogenetic study were examined six genotypes of Achillea including, *A. millefolium* and *A. Santolina.* In this study were done karyotype determination and determination of the traits contribution in variation. To provide appropriate examined samples, after gathering roots, 0.5 cm root tip was removed and then was carried out pre-treatment and fixation, respectively. After hydrolysis and squash were done imaging and finally were prepared karyotypes. In all genotypes basic chromosome number was x = 9. Three genotypes Aligoodarz, Ardabil and Meshkinshar were diploid and Arak, Ilam and Estahban were tetraploid. Based on Stebbins method, Arak and Ilam were classified in Class 1A, Ardabil and Meshkinshar in Class 2A and Aligoodarz and Estahban in Class 1B, respectively. Mean comparisons revealed that the Estahban and Aligoodarz had the lowest and highest the value of the S, L and T respectively. In factor analysis, two factors were explained more than %90.92 of the variance. The first factor was explained %46.65 of variance and was correlated positively with the L/S and the L-S was correlated negatively with %F and the ratio S/L. Therefore, this factor was named as the arm chromosome ratio arm and Huziwara index. The second factor explained %44.27 of variance and was correlated positively with the S, L, T and %RL. Therefore, this factor was named as the chromosome or genome size. Cluster analysis was classified genotypes into two clusters. In statistical analysis employed software's including, excel (2007), Photoshop (Adobe Photoshop CS2) and SPSS (PASW Statistics18).

Key words: Cytogenetics, Karyotype, Factor, Cluster.

www.SID.ir