6th Conference on Recent Research in Science and Technology
ششمین همایش پژوهش های نوین در علوم و فناوری
تابستان ۱۳۹۵
Summer 2016

بررسی تنوع سیتوژنتیکی درچهار ژنوتیپ پیاز بومی ایران در شرایط شور و غیر شور

اسداله عبادیان شرودانی[۱] ، حسین زینلی[۲]، آزاده صدر ارحامی[۳]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه پیام نور اصفهان

آدرس: اصفهان-فلاورجان-شرودان- کروج –کوچه ولی عصر ۱ پ۲۱ همراه ۰۹۱۳۷۳۶۶۳۵۴ asadebad@gmail.com

۲-استادیار و عضو هیئت علمی مرکزتحقیقات کشاورزي ومنابع طبیعي اصفهان

آدرس: اصفهان- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان hoszeinali@yahoo.com

۳- استادیار وعضو هیئت علمی دانشگاه پیام نوراصفهان

آدرس:اصفهان خیبان ایت الله اشرفی اصفهانی دانشگاه پیام نور اصفهان aza_sadr@yahoo.com

چکیده

پیاز از جمله محصولات زراعی-باغی مهمی است که در بیش از ۱۰۰ کشور جهان کشت می‌شود.و راندمان بالایی در تولید در واحد سطح زمین دارد. شوری و مقابله با آن از مشکلاتی است که بشر سالها با آن دست به گریبان بوده است. اهمیت این مسأله در اواخر نیمهٔ اول قرن بیستم به طور جدی آشکار شد، بنابراین لزوم دستیابی به گیاهان با عملکرد بالا و مقاوم به شرایط تنش با استفاده از روش جهش از جمله ضروریات کارهای اصلاحی گردید. این مطالعه جهت بررسی تنوع سیتوژنتیکي چهار ژنوتیپ از پیازهای بومی ایران در محیط شور با شوری8ds/m و محیط غیرشور با شوری صفر با استفاده از روش استوآهن‌هماتوکسیلین طراحی گردید .پس از تهیه صفحه متافازی از جمعیتها، صفات کاریوتیپي شامل طول کل کروموزوم، شاخص‌هاي عدم تقارن درون و بین کروموزمي، درصد شکل کلي کاریوتیپ، شاخص عدم تقارن و فرمول کاریوتیپی اندازه‌گیري گردید. نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که اثر ژنوتیپ و اثر متقابل شوری و ژنوتیپ در سطح آماری یک درصد و اثر شوری به تنهایی در سطح ۱ و ۵ درصد معنی دار بوده که این موضوع بیانگر تفاوت میان سطوح مختلف شوری، و تفاوت میان ژنوتیپ‌ها برای اکثر صفات است. نتایج نشان داد که جمعیتهاي مورد مطالعه دیپلوئید، با تعداد کروموزوم پایه x=8 .بود. همه ژنوتیپ‌ها به غیر از قم شور و درچه غیرشور در کلاس دوم تقارن استبینز قرار گرفتند و محیط شور باعث تغییر در تقارن کاریوتیپ‌ها گردیده است. تجزیه خوشه‌اي بر اساس صفات مورد مطالعه جمعیتها را در ۴دسته مجز اقرا ردداد.

کلمات کلیدی: پیاز، سیتوژنتیک، کاریوتایپ ،شوری

مقدمه

سیتوژنتیک یکی از قدیمی‌ترین و بزرگترین شاخه‌های علم ژنتیک می‌باشد. به طور کلی سیتوژنتیک عبارت از مطالعه کروموزوم‌ها در طی تقسیم‌های میتوزی و میوزی و نحوه انتقال آن در سطح سلول است (۱۴). تغییر در ساختار و اندازه کروموزوم‌ها، صفات فنوتیپی متفاوتی را بروز می‌دهد. اختلاف در اندازه کروموزوم‌ها، نشان دهنده اختلاف موجود در انواع محصولات ژنی یا پروتئینی آن‌ها است و اختلاف در تعداد کروموزوم‌ها، معرف اختلاف‌های موجود در آرایش ژن یا مضاعف شدن ژن و یا هر دو می باشد. هم چنین بسیاری از اختلاف‌های موفولوژیکی و فیزیولوژیکی بیانگر تفاوت در محصولات عمل ژن است که با اثرهای محیطی تغییر می‌یابد(5). به کمک اطلاعات

Archive of SID
www.SID.ir

کروموزومی، امکان مقایسه گونه‌ها و جمعیت‌های آن‌ها فراهم گردید. جمعیت‌های متعلق به یک گونه، هر یک سازش ژنومی خاص خود را با محیطی که در آن می‌رویند، نشان می‌دهند. با افزایش اختلاف‌های سازشی، ممکن است واریته های جدید و حتی گونه های جدید در جوامع گیاهی بوجود آیند. در تعیین روابط خویشاوندی بین گونه‌های یک جنس، تنها تعداد کروموزوم کافی نیست ، بلکه باید صفاتی از قبیل اندازه، مورفولوژی، تنوع در رنگ پذیری، محل سانترومر و رفتار کروموزومی نیز مشخص باشد(17). اطلاعات کروموزومی و اطلاعات کاریوتیپی در بررسی جمعیتهای مختلف بسیار دارای اهمیت می‌باشد. بطورکلي تحقيقات سيتوتاكسونومي، علاوه بر مشخص كردن ارتباط و قرابت بين گونه‌ها، مي‌تواند اطلاعات با ارزشي در مورد خزانه ژني موجود در كشور به منظور بهره‌گيري در بانك ژن فراهم آورد. لذا انجام مطالعات سيتوژنتيكي در گونه‌هاي گياهي و همچنين جمعيتهاي متعلق به آنها، خصوصاً گياهان وحشي و بومي بدليل فراهم نمودن اطلاعات كمي روي تاريخچة تكاملي گياه، تعيين قرابتهاي بين گونهاي، تعيين مشخصات كاريولوژيكي و غيره ازاهميت فوق العاده‌اي برخورداراست (4). پیاز خوراکی بانام علمی آلیوم سه‌پا (*Allium cepa L*) از خانواده آلیاسه(*Alliaceae*) گیاهی دیپلویید با ۱۶ کروموزوم، یکی از قدیمی ترین سبزیجات مورد کشت است. پیاز گیاهی دوساله است که توسط بذر،پیاز ویا پیازهای کوچک هوایی قابل تکثیراست در این گیاه در سال اول اندام‌های رویشی به وجود آمده و در سال دوم اندام‌های زایشی ایجاد می‌شوند که تولید تخم می کنند.تولیدات کشاورزی بیش از هر چیز به وسیله تنشهای محیطی از جمله شوری تهدید می‌شود و یافتن نواحی بدون تنش که گیاهان زراعی بتوانند به پتانسیل عملکرد خود دست یابند بسیار مشکل است. در سالیان گذشته، روش اصلی مواجه با تنشهای محیطی، تغییر شرایط به وسیله ابیاری، خاک ورزی، مصرف کودها و غیره بوده است. ولی محدودیتهای اقتصادی و محیطی باعث شد تا اصلاح گران به روشهای بهبود ژنتیکی مقاومت در برابر تنش های محیطی روی آورند. شوری با اثر بر میزان جذب سایر یونها، اثر بر فتوسنتز و رشد، اثر بر تغییرات ریختی و تشریحی واثر بر پروتینها ولیپیدها در فعالیت گیاه اختلال ایجاد کرده و به محصولات زراعی خسارت وارد می‌کند. تنش شوری از تنشهای غیر زنده مهم بوده که اثرات زیانباری بر عملکرد گیاه وکیفیت محصول دارد(۲). درشیوه‌های متداول اصلاحی، برای ایجاد تنوع ژنتیکی از دورگ‌گیری بین واریته‌ها و یا گونه‌های دارای صفات زراعی متفاوت استفاده می‌شود و در نسل‌های تفکیک صفات مطلوب گزینش می‌شوند و در واقع نوترکیبی بین ژنها اساس روش های سنتی اصلاح نباتات است ولی علاوه بر نوترکیبی بین ژنها، ایجاد تنوع ژنتیکی از طریق تغییر در تعداد و یا بخشهایی از کروموزوم نیز امکان پذیر است. لذا این مطالعه به منظور بررسی تاثیر محیط شور بر تنوع کاریوتیپ و فرمول کروموزومی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در مقایسه با نمونه شاهد طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به منظور بررسی صفات سیتوژنتیکی چهار ژنوتیپ از پیازهای بومی ایران شامل سفید کاشان، سفید قم، درچه اصفهان و قرمز هرسین در مرکز تحقیقات کشاورزی ومنابع طبیعی اصفهان به اجرا در آمد.. بذور جمعیتها ازمرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تهیه شدند. بذرها، به ترتیب با استفاده از قارچ کش بنوميل با غلظت ۲در۱۰۰۰به مدت ۱۰ دقيقه ضدعفوني شدند پس ازآن بذرها را باآب استريل شستشو داده ، و در پتری دیش حاوی کاغذ صافی واتمن شماره۱ در یک محیط شور با سطح شوری8ds/m و یک محیط غیر شور با سطح شوری صفر مورد کشت قرارداده و در ژرمیناتور در دمای ۲۲ درجه و فتوپریود ۱۶ ساعته با شدت نور

Archive of SID

www.SID.ir

۴۵میکرمول بر متر مربع برثانیه قرار گرفتند. به منظور تهیه کاریوتیپ از مریستم انتهایی ریشه استفاده شد. برای تهیه سلولهای مناسب در مرحله تقسیم میتوزی، ریشه چه‌ها در محلول پیش تیمار آلفا برومونفتالین ۱% به مدت ۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد، محلول تثبیت لویتسکی به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد، هیدرولیز توسط سود یک نرمال در دمای ۶۰ درجه به مدت ۱۰ دقیقه و رنگ آمیزی با استفاده از استو آهن هماتوکسین به مدت ۲ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه انجام گردید. نمونه‌ها توسط میکروسکوپ بررسی و از سلول‌های واقع در مرحله متافاز که کروموزوم های آن خوب پخش شده و رنگ‌آمیزی شده و قابل اندازه‌گیری بودند عکسبرداری شد. ان گاه تعداد آنها در سلول‌های مختلف از هر جمعیت شمارش شد لازم به ذکر است که از بین کلیه سلول‌های عکسبرداری شده، حداقل ۳ سلول مناسب از هر جمعیت انتخاب و به عنوان تکرارهای این تحقیق بررسی شد. پس از شمارش تعداد کروموزومهای هر جمعیت، خصوصیات کاریوتیپی و پارامترهای کاریولوژیکی از جمله طول بازوی کوچک، طول بازوی بزرگ، طول کل کروموزوم به میکرون، توسط نرم افزار میکرومیژر و نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه و شاخص سانترومری با استفاده از نسبت بازوی کوتاه به مجموع طول بازوها محاسبه شد سپس میانگین طول بازوهای بلند و کوتاه هر کروموزوم در هر جمعیت محاسبه و با استفاده از نرم‌افزار Excel ایدیوگرام کلیه جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس طول بازوی کوتاه و بلند رسم گردید. ترتیب قرار گرفتن کروموزوم‌ها در ایدیوگرام از چپ به راست و از بزرگترین به کوچکترین کروموزوم در نظر گرفته شد. سپس به منظور بررسی و تشخیص تفاوت بین جمعیت‌ها از نظر صفات کروموزومی فوق، از تجزیه واریانس و مقایسات میانگین (نرم افزار Spss) استفاده شد. برای بررسی تقارن کاریوتیپی نیز از شاخص‌های زیر استفاده شد:

۱- **طول نسبی کوتاهترین کروموزوم** :هرچه مقدار این پارامتر بیش‌تر شود نشان دهنده تفاوت کمتر بین اندازه کروموزوم‌ها و تقارن بیشتر کاریوتیپ است.

q = طول کوتاه ترین کروموزوم کاریوتیپ p = طول بلندترین کروموزوم کاریوتیپ %S=q/p*100

۲-روش ديگر براي مقايسه تقارن كاريوتيپي توسط رومرو زاركو، ۱۹۸۶ارائه شده است و درآن نامتقارن بودن كاريوتيپ از لحاظ ارتباط بين بازوهاي كروموزومي از رابطه زير بدست مي آيد:

$$A_1 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n} \frac{S_i}{L_i}}{n}$$

A_1 شاخص نامتقارن درون كروموزومی است كه بين ۰ و۱ متغير مي‌باشد. همچنين در اين فرمول n تعداد جفت كروموزوم‌هاي همولوگ، S_iطول متوسط بازوهاي كوچك در هر جفت كروموزومي همولوگ و L_i طول متوسط بازوهاي بزرگ در هر جفت كروموزومي همولوگ است. طبق اين رابطه مقدار A_1 در مورد كروموزوم‌هاي متاسانتريك كمتر است به طوري‌كه اگر تمام كروموزوم‌هاي يك گونه متاسانتريك باشند مقدار A_1 برابرصفر خواهد بود ودر اين حالت گونه بالاترين درجه تقارن كاريوتيپي را خواهد داشت.

$$A_2 = \frac{SD}{\overline{X}}$$ $A_{2=SD/X}$

Archive of SID

www.SID.ir

در این رابطهA_2 شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومي، $\overline{X}$ میانگین طول کروموزوم‌ها و SD انحراف استاندارد طول کروموزوم‌ها براي هر گونه است. هر چه میزان A_2 بیشتر باشد اختلاف بین اندازه طول کروموزوم‌ها بیشتر بوده، کاریوتیپ نامتقارنتر و گونه تکامل یافته تر است.

شکل کلی کاریوتیپ یا درصد کل فرم: جهت مقایسه و بررسی تقارن کاریوتیپ ها، تعیین ارتباط کاریوتیپی بین گونه ها و جنس ها و به عنوان شاخص دسته بندی کاریوتیپ استفاده شده است (پازکو، ۲۰۰۶) این نسبت همبستگی مثبتی با تقارن کاریوتیپ دارد و از نسبت مجموع طول بازوهای کوتاه به مجموع طول کل کروموزوم ها بدست می آید. هرچه میزان TF% به عدد ۵۰ نزدیکتر باشد، نشان دهنده حضور بیش تر کروموزوم های متاسنتریک نسبت به سایر حالت های کروموزومی می باشد. چنانچه به عدد صفر نزدیک تر شود، نشان دهنده حضور بیش تر کروموزوم های آکروسانتریک و تلوسانتریک می‌باشد و نشان دهنده نامتقارن بودن کاریوتیپ است $\%TF = \frac{\sum S}{\sum TL} \times 100$.

اختلاف دامنه طول نسبی: به عنوان شاخصی برای وضعیت تقارن کاریوتیپ به کار می رود. کم بودن آن نشان دهنده تفاوت کم تر در بین طول کروموزوم ها و متقارن تر بودن کاریوتیپ است.

$$\%DRL = RL_{\max} - RL_{\min}$$

دسته بندی کروموزوم های هر کاریوتیپ بر اساس روش لوان و همکاران (۱۹۶۴) انجام شد. همچنین مقایسه تقارن کاریوتیپ بر اساس روش استیبنز (۱۹۷۱) انجام شد. برای گروه بندی و مقایسه تفاوتهای کاریوتیپی جمعیتها از تجزیه خوشه ای به روش سلسله مراتبی و طبقه بندی *Ward,s* استفاده شد و دندروگرام مربوطه نیز جهت دسته بندی کاریوتیپها رسم گردید.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس(جدول۲) صفات نشانگرآن است که اثرات ژنوتیپ و اثر متقابل شوری و ژنوتیپ در سطح آماری یک درصد معنی دار است و اثر شوری به تنهایی در سطح ۱ و ۵ درصد معنی دار بوده وتنها از نظر صفت درصد فرم کلی در شوری تفاوت معنی دار مشاهده نشده است این موضوع بیانگر تفاوت میان سطوح مختلف شوری، وهمچنن تفاوت میان ژنوتیپ‌ها برای اکثر صفات است. مقایسه میانگین صفات برای چهار ژنوتیپ مورد مطالعه نشان داد که همه صفات باعث شدند که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در گروه‌های متفاوت قرار گیرند(جدول-۳). همچنین مقایسه میانگین صفات برای دو سطح شور وغیر شور نشان داد که به غیر از دو صفت نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه و درصد شکل کلی**سایر صفات در دو گروه متفاوت قرار گرفتند(جدول-۴). مقایسه میانگین صفات برای** اثر متقابل شوری و ژنوتیپ **نیز نشان داد که کلیه صفات، جمعیت‌های مورد مطالعه را در گروه‌های متفاوت قرار دادند.** همچنین نتایج بیان می‌دارد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به لحاظ سطح پلوییدی، دیپلوئید با عدد پایه کروموزومی x=8 و دارای 2n=2x=16 کروموزوم بوده و در جمعیتها هر ۴ تیپ کروموزوم لوان و همکاران (۱۹۶۴) مشاهده شد و کروموزومهای از نوع متاسانتریک، ساب متاسانتریک، تلوسانتریک و ساب تلوسانتریک می باشد.و ساتلیت در همه جمعیتها به جز جمعیت کاشان در محیط شور مشاهده می‌شود که تعداد و محل قرار گیری ستلایت با تغییرات مواجه است. تغییرات محل ستلایت‌ها احتمالا تحت تاثیر تغییرات اندازه کروموزومها و جابه جایی

Archive of SID

www.SID.ir

ترتیب کروموزومها در ایدئوگرام جمعیت‌ها می‌باشد. همچنین تنش شوری نیز می‌تواند در این موثر باشد. همچنین در مشاهدات و بررسی‌های به عمل آمده مشاهده شد که شوری باعث کاهش در شاخص میتوزی، افزایش بی‌نظمیها در طول فرایند میتوز و کاهش مقاومت دیواره سلول گردیده است. اکثر جمعیتها در کلاس تقارن 2A (جدول-۱)، بیانگر تقارن کاریوتیپی بالا در بین جمعیتها می‌باشد که کروموزومها نسبتا متقارن هستند و سانترومر در نقطه میانی یا تقریبا میانی قرار دارد و فرمول کاریوتیپی آنها نیز نشاندهنده این مطلب نیز هست. پس می توان گفت که اغلب گونه ها در مراحل ابتدایی تکامل قرار داشته که با نتایج حاصل از فرمول کاریوتیپی نیز هماهنگ است.

مقایسه میانگین طول کل ژنوم بین چهار ژنوتیپ بیانگر آن است که چهار ژنوتیپ در چهار گروه متفاوت آماری قرار گرفته‌اند. طول کل ژنوم از ۱۱۷/۹۱ میکرون در ژنوتیپ درچه تا ۹۴/۶۸ میکرون در ژنوتیپ هرسین متغیر بوده است(جدول۴-۳). مقایسه میانگین طول کل ژنوم در دو سطح شور و غیر شور بیانگر آن است که دو سطح مورد نظر در دو گروه آماری متفاوت قرار گرفته‌اندو با اعمال شوری طول کل ژنوم کاهش یافته است و طول کل ژنوم از ۱۰۲/۲۴ میکرون در محیط شور تا ۱۰۸/۱۶ میکرون در محیط غیر شور متغیر بوده است(جدول ۴).مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و دو سطح شور و غیر شور برای صفت طول کل ژنوم نشان داد که طول کل ژنوم از ۱۲۲/۲۸ میکرون در ژنوتیپ درچه در محیط غیر شور تا ۹۰/۱۴ میکرون در ژنوتیپ هرسین در محیط شور متغیر بوده است(جدول۴-۵).

مقایسه میانگین طول بازوی بلند بین چهار ژنوتیپ بیانگر آن است که چهار ژنوتیپ در سه گروه متفاوت آماری قرار گرفته‌اند. طول بازوی بلنداز ۸/۹۲ میکرون در ژنوتیپ درچه تا ۷/۱۶ میکرون در ژنوتیپ هرسین متغیر بوده است(جدول۴-۳).مقایسه میانگین طول بازوی بلنددر دو سطح شور و غیر شور بیانگر آن است که دو سطح مورد نظر در دو گروه آماری متفاوت قرار گرفته‌اند و با اعمال شوری طول بازوی بلند کاهش یافته است و طول بازوی بلنداز ۸/۱۴ میکرون در محیط غیرشور تا ۷/۷۰ میکرون در محیط شور متغیر بوده است(جدول ۴-۴).مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و دو سطح شور و غیر شور برای صفت طول بازوی بلند نشان داد که طول بازوی بلنداز ۹/۳۴ میکرون در ژنوتیپ درچه در محیط غیرشور تا ۷/۶۹ میکرون در ژنوتیپ هرسین در محیط شور متغیر بوده است(جدول۴-۵).

مقایسه میانگین طول بازوی کوتاه بین چهار ژنوتیپ بیانگر آن است که چهار ژنوتیپ در چهار گروه متفاوت آماری قرار گرفته‌اند. طول بازوی کوتاه از ۵/۸۱ میکرون در ژنوتیپ درچه تا ۴/۶۹ میکرون در ژنوتیپ هرسین متغیر بوده است(جدول۴-۳).مقایسه میانگین طول بازوی کوتاه در دو سطح شور و غیر شور بیانگر آن است که دو سطح مورد نظر در دو گروه آماری متفاوت قرار گرفته‌اندو با اعمال شوری طول بازوی کوتاه کاهش یافته است و طول بازوی کوتاه از ۵/۳۸ میکرون در محیط غیرشور تا ۵/۰۷ میکرون در محیط شور متغیر بوده است(جدول ۴-۴).مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و دو سطح شور و غیر شور برای صفت طول بازوی کوتاه نشان داد که طول بازوی کوتاه از ۵/۹۴ میکرون در ژنوتیپ درچه در محیط غیرشور تا ۴/۵۷ میکرون در ژنوتیپ هرسین در محیط شور متغیر بوده است(جدول۴-۵).

مقایسه میانگین نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه بین چهار ژنوتیپ بیانگر آن است که ژنوتیپ کاشان در یک گروه متفاوت از سایرین قرار گرفته است. نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه از ۱/۵۱ در ژنوتیپ کاشان تا ۱/۶۶ در ژنوتیپ قم متغیر بوده است(جدول۴-۳). مقایسه میانگین نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه در دو سطح شور و غیر شور بیانگر آن است که دو سطح مورد نظر در یک گروه آماری قرار گرفته‌اندو با اعمال شوری نسبت

Archive of SID

www.SID.ir

طول بازوی بلند به بازوی کوتاه تفاوت چندانی نکرده است و نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه از ۱/۶۲ در محیط شور تا ۱/۶۰ در محیط غیر شور متغیر بوده است(جدول ۴-۴).مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و دو سطح شور و غیر شور برای صفت نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه نشان داد که نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه از ۱/۷۱ در ژنوتیپ قم در محیط شور تا ۱/۴۶در ژنوتیپ کاشان در محیط غیرشور متغیر بوده است(جدول۴-۵).

مقایسه میانگین درصد شکل کلی بین چهار ژنوتیپ بیانگر آن است که چهار ژنوتیپ در سه گروه متفاوت آماری قرار گرفته‌اند. درصد شکل کلیاز ۴۱/۱۸ درصد در ژنوتیپ کاشان تا ۳۸/۷ درصد در ژنوتیپ قم متغیر بوده است(جدول۴-۳). مقایسه میانگین درصد شکل کلیدر دو سطح شور و غیر شور بیانگر آن است که دو سطح مورد نظر در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند و با اعمال شوری درصد شکل کلی به میزان کمی کاهش یافته است و درصد شکل کلی از ۳۹/۷۷ درصد در محیط غیرشور تا ۳۹/۶۴ درصد در محیط شور متغیر بوده است(جدول ۴-۴). مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و دو سطح شور و غیر شور برای صفت درصد شکل کلی نشان داد که درصد شکل کلیاز۴۲/۱۷ درصد در ژنوتیپ کاشان در محیط غیرشور تا ۳۸/۰۸ درصد در ژنوتیپ درچه در محیط شور متغیر بوده است(جدول۴-۵).

مقایسه میانگین طول نسبی کوتاهترین کروموزوم در دو سطح شور و غیر شور بیانگر آن است که دو سطح مورد نظر در دو گروه آماری متفاوت قرار گرفته‌اند و با اعمال شوری **طول نسبی** کوتاهترین کروموزوم افزایش یافته است و طول نسبی کوتاهترین کروموزوم از ۶۵/۸۰ درصد در محیط شور تا ۵۹/۵۰ درصد در محیط غیرشور متغیر بوده است(جدول ۴-۴).مقایسه میانگین طول نسبی کوتاهترین کروموزوم بین چهار ژنوتیپ بیانگر آن است که چهار ژنوتیپ در سه گروه متفاوت آماری قرار گرفته‌اند. طول نسبی کوتاهترین کروموزوم از 34/57ذرصد در ژنوتیپ درچه تا ۷۴/۷۱ درصد در ژنوتیپ کاشان متغیر بوده است(جدول۴-۳).مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و دو سطح شور و غیر شور برای صفت طول نسبی کوتاهترین کروموزوم نشان داد که طول نسبی کوتاهترین کروموزوم از ۷۵/۰۹ درصد در ژنوتیپ کاشان در محیط شور تا ۵۰/۲۶ درصد در ژنوتیپ درچه در محیط غیرشور متغیر بوده است(جدول۴-۵).

مقایسه میانگین ضرایب نامتقارن بودن بین کروموزومی بین چهار ژنوتیپ بیانگر آن است که چهار ژنوتیپ در چهار گروه متفاوت آماری قرار گرفته‌اند. ضرایب نامتقارن بودن بین کروموزومی از ۰/۰۸۹ در ژنوتیپ کاشان تا ۰/۰۴۴ در درچه متغیر بوده است(جدول۴-۳). مقایسه میانگین ضرایب نامتقارن بودن بین کروموزومی در دو سطح شور و غیر شور بیانگر آن است که دو سطح مورد نظر در دو گروه آماری متفاوت قرار گرفته‌اندو با اعمال شوری ضرایب نامتقارن بودن بین کروموزومی افزایش یافته است و ضرایب نامتقارن بودن بین کروموزومی از ۰/۰۷۲ در محیط شور تا ۰۶۹/ در محیط غیرشور متغیر بوده است(جدول ۴-۴). مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و دو سطح شور و غیر شور برای صفت ضرایب نامتقارن بودن بین کروموزومی نشان داد که ضرایب نامتقارن بودن بین کروموزومی از ۰/۱۳۳ در ژنوتیپ قم در محیط غیر شور تا ۰/۰۳۹ در ژنوتیپ قم در محیط شور متغیر بوده است(جدول۴-۵).

مقایسه میانگین ضرایب نامتقارن بودن درون کروموزومی بین چهار ژنوتیپ بیانگر آن است که چهار ژنوتیپ در دوگروه متفاوت آماری قرار گرفته‌اند.و تنها ژنوتیپ کاشان در یک گروه متفاوت قرار گرفته است. ضرایب نامتقارن بودن درون کروموزومی از ۰/۳۳۴ در ژنوتیپ قم تا ۰/۲۸۳ در ژنوتیپ کاشان متغیر بوده است(جدول۴-

Archive of SID

www.SID.ir

۳). مقایسه میانگین ضرایب نامتقارن بودن درون کروموزومی در دو سطح شور و غیر شور بیانگر آن است که دو سطح مورد نظر در دو گروه آماری متفاوت قرار گرفته‌اندو با اعمال شوری ضرایب نامتقارن بودن درون کروموزومی افزایش یافته است و ضرایب نامتقارن بودن درون کروموزومی از ۰/۰۹۰ در محیط غیر شور تا ۰/۰۹۲ در محیط شور متغیر بوده است(جدول ۴-۴). مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و دو سطح شور و غیر شور برای صفت ضرایب نامتقارن بودن درون کروموزومی نشان داد که ضرایب نامتقارن بودن درون کروموزومی از ۰/۳۶۱ در ژنوتیپ قم در محیط شور تا ۰/۲۵۴ در ژنوتیپ کاشان در محیط غیرشور متغیر بوده است(جدول۴-۵). مقایسه میانگین ضریب عدم تقارن کروموزومی بین چهار ژنوتیپ بیانگر آن است که چهار ژنوتیپ در چهار گروه متفاوت آماری قرار گرفته‌اند. ضریب عدم تقارن کروموزومی از ۱/۰۲۲ در ژنوتیپ کاشان تا ۰/۳۲۵ در ژنوتیپ هرسین متغیر بوده است(جدول۴-۳). مقایسه میانگین ضریب عدم تقارن کروموزومی در دو سطح شور و غیر شور بیانگر آن است که دو سطح مورد نظر در دو گروه آماری متفاوت قرار گرفته‌اندو با اعمال شوری ضریب عدم تقارن کروموزومی افزایش یافته است.ضریب عدم تقارن کروموزومی از ۰/۵۶ در محیط غیرشور تا ۰/۶۷ در محیط شور متغیر بوده است(جدول ۴-۴). مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و دو سطح شور و غیر شور برای صفت ضریب عدم تقارن کروموزومی نشان داد که ضریب عدم تقارن کروموزومی از ۱/۴۱۶ در ژنوتیپ کاشان در محیط شور تا ۰/۳۲۲ در ژنوتیپ درچه در محیط غیرشور متغیر بوده است(جدول۴-۵).

بحث

ژنوم افراد حاوی اطلاعات ژنتیکی است و نتیجه بیان ژن‌ها بروز صفات فنوتیپی می باشد. ژنتیک صفات را به دو دسته کمی و کیفی تقسیم می‌نماید. صفات کمی توسط یک یا چند ژن اصلی و هم چنین ژن‌هایی با اثر کم کنترل می شوند که به این ژن‌ها، ژن تغییردهنده گفته می‌شود، لذا این تغییر در ساختار و اندازه کروموزوم‌ها، صفات فنوتیپی متفاوتی را بروز می‌دهد. اختلاف در اندازه کروموزوم‌ها، نشان دهنده اختلاف موجود در انواع محصولات ژنی یا پروتئینی آن‌ها است و اختلاف در تعداد کروموزوم‌ها، معرف اختلاف‌های موجود در آرایش ژن یا مضاعف شدن ژن و یا هر دو می باشد. هم چنین بسیاری از اختلاف‌های موفولوژیکی و فیزیولوژیکی بیانگر تفاوت در محصولات عمل ژن است که با اثرهای محیطی تغییر می‌یابد(لیونگ و سیدا، ۲۰۰۷).از جمله خصوصیات مورفولوژیکی کروموزوم ها که در بررسی های کاریوتیپی در مرحله متافاز میتوز مورد بررسی قرار می‌گیرد، می توان به تفاوت در اندازه ی مطلق کروموزوم‌ها، تفاوت در موقعیت سانترومرها، تفاوت در عدد پایه‌ی کروموزومی، تفاوت در تعداد و موقعیت ماهواره‌ها اشاره نمود(استک،۲۰۰۰).نتایج تجزیه واریانس(جدول ۴-۲) کلیه صفات نشانگر آن است که اثرات شوری، ژنوتیپ و اثر متقابل شوری و ژنوتیپ در اکثر صفات در سطح آماری یک درصد معنی داراست این موضوع بیانگر تفاوت میان سطوح مختلف شوری، وهمچنن تفاوت میان ژنوتیپ‌هاست. و همچنین نتایج بیان می‌دارد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به لحاظ سطح پلوییدی، دیپلوئید با عدد پایه کروموزومی x=8 و دارای 2n=2x=16 کروموزوم بوده که این نتایج با گزارشات لوان (۱۹۸۳)، دهداری و همکاران(۱۳۸۶)، رفیعی و همکاران (۱۳۸۸) و عرب و کاشی (۱۳۶۸) مطابقت دارد. کروموزومهای ژنوتیپ‌ها از نوع متاسانتریک، ساب متاسانتریک و ساب تلو سانتریک می باشد و یک عدد از کروموزوم ها در هر چهار ژنوتیپ در نمونه فاقد مربوط به محیط غیرشور دارای ساتلیت است و بعد از اعمال شرایط شور تغییری در این فرمول ایجاد نشده و تنها تغییرات در طول ژنوم و طول کروموزومها ایجاد شده است. تنها ساتلیت در ژنوتیپ کاشان در محیط شور مشاهده نشده است. وبه نظر می‌رسد که

Archive of SID

www.SID.ir

محیط شور باعث کاهش طول ژنوم گردیده است. همچنین افزایش درضرایب نامتقارن بودن بین کروموزومی،ضرایب نامتقارن بودن درون کروموزومیو ضریب عدم تقارن کروموزومی بیانگر این مطلب است که شوری با تغییر در تقارن کاریوتیپ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه باعث نامتقارن‌تر شدن کاریوتیپ ها شده و به نوعی جمعیت‌ها را به سمت تکامل بیشر هدایت کرده است. در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ژنوتیپ درچه دارای بیشترین طول ژنوم می باشد و براساس صفت ضرایب نامتقارن بودن بین کروموزومی وضریب عدم تقارن کروموزومی ژنوتیپ درچه دارای تقارن کمتری نسبت به سایرین است.البته اینک و همکاران(۲۰۱۳)،نیز به بررسی اثرات ژنوتوکسیک و سیتوتوکسیک مونوسدیم‌گلوتامات که به عنوان یک ماده طعم‌دهنده در غذاها استفاده می‌شود بر روی پیاز پرداختند، که ازاین ماده در غلظت‌های (۱-۳-۵-۷)گرم در لیتر استفاده کردند. که خصوصیات ماکروسکوپی(مورفولوژی و رنگ ریشه) و خصوصیات میکروسکوپی (شاخص میتوزی و ناهنجاری‌های کروموزومی) مورد بررسی قرار گرفت، و بیان داشتند که همه غلظت‌های به کار رفته مونوسدیم‌گلوتامات اثر بازدارندگی بر روی ریشه داشته است و رنگ ریشه در یک محدوده بین سفید، قهوه‌ای تا سیاه متغیر بوده است. بیشترین ناهنجاری‌های کروموزومی در مرحله تلوفاز بوده که در تمام غلظت‌های به کار رفته مشاهده شده است، که برخی از این ناهنجاری‌ها عبارتند از ایجاد پل و قطعه در آنافاز و تلوفاز، همچنین ایجاد قطعات با انتهای چسبنده در تلوفاز و یا وجود پل‌های متعدد در آنافاز است. این ماده همچنین باعث کاهش شاخص میتوزی گردیده و به طور کلی باعث افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی نسبت به نمونه شاهد گردیده است. پانیرسلوام و پالانی (۲۰۰۷)، در پژوهشی به منظور تاثیرات سیتولوژیکی متابیسولفیت پتاسیم نگاه‌دارنده‌ی غذا برسلول‌های نوک ریشه‌ی پیاز به این نتیجه رسیدند که نگاه دارنده غذا باعث کاهش تقسیم میتوزی در مقایسه با شاهد شده است ودرصد شاخص میتوزی با افزایش میزان متابیسولفیت پتاسیم وزمان، کاهش یافته است.

بطور کلی نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر این مطلب است که شوری باعث تغییر در تقارن کاریوتیپ‌ها شده و با افزایش اختلال در فرایند تقسمات سلولی در رشد گیاهان اختلال ایجاد می‌نماید.

جدول ۱: تعداد کروموزومو فرمول کاریوتیپی جمعیتهای مورد مطالعه گیاه پیاز

شماره	ژنوتیپ	سطح شوری	سطح پلوئیدی وتعداد کروموزوم	دسته بندی کاریوتیپی استبینز	فرمول کاریوتیپی
۱	هرسین	۰	2n=2x=16	2A	5 m+sm^{sat}+2sm
۲	هرسین	۸	2n=2x=16	2A	5 m+2sm+st sat
۳	درچه	۰	2n=2x=16	2B	6 m+ sm +1 st ^{sat}
۴	درچه	۸	2n=2x=16	2A	M+6 m+st^{sat}
۵	کاشان	۰	2n=2x=16	2A	6 m+m^{sat}+ sm
۶	کاشان	۸	2n=2x=16	2A	M+6 m+sm
۷	قم	۰	2n=2x=16	2A	5 m+m^{sat}+2 sm
۸	قم	۸	2n=2x=16	3A	4 m+3sm+st^{sat}

جدول۲: تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده در چهار ژنوتیپ پیاز

منابع تغییر	درجه ازادی	TL	Long arm	Short arm	rvalue	TF%	S%	A_2	A_1	AI
ژنوتیپ	۳	572/49**	3/20**	1/57**	0/027**	6/71**	393/07**	0/0027**	0/0029**	0/518**
شوری	۱	210/80**	1/18**	0/57**	0/0043**	0/098ns	237/79**	0/000007**	0/00064*	0/077**
ژ*ش	۳	37/37**	0/46**	0/83**	0/0143**	4/79**	153/317**	0/0075**	0/0053**	0/470**
خطا	۱۶	1/140	0/0063	0/0094	0/0010	0/246	0/565	0/000001	0/0002	0/0002

TL : طول کل کروموزوم، Long arm : طول بازوی بلند، Short arm : طول بازوی کوتاه، r value :نسبت طول بازوی بلند به کوتاه،TF%: : درصد فرم کلی، S% :طول نسبی کوتاه ترین کروموزوم،A_2: ضریب نا متقارن بین کروموزومی، A_1: ضریب نامتقارن درون کروموزومی،:AI شاخص عدم تقارن، **و* به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۱% و۵%وns بدون معنی

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۳: مقایسه میانگین صفات کاریوتیپی برای چهار ژنوتیپ مورد مطالعه

ژنوتیپ	TL	Long arm	Short arm	rvalue	TF%	S%	A_2	A_1	AI
هرسین	94/68d	7/16c	4/69d	1/63a	39/65b	59/49b	0/063c	0/322a	0/325d
درچه	117/91a	8/92a	5/81a	1/64a	39/29bc	57/34c	0/044d	0/320a	0/519c
کاشان	106/51b	7/82b	5/48b	1/51b	41/18a	۷۴/۷۱a	0/089a	0/283b	1.022a
قم	101/70c	7/79b	4/92c	1/66a	38/7c	59/6bc	0/086b	0/334a	0/599b

جدول۴ مقایسه میانگین صفات کاریوتیپی برای دو سطح شور و غیر شور

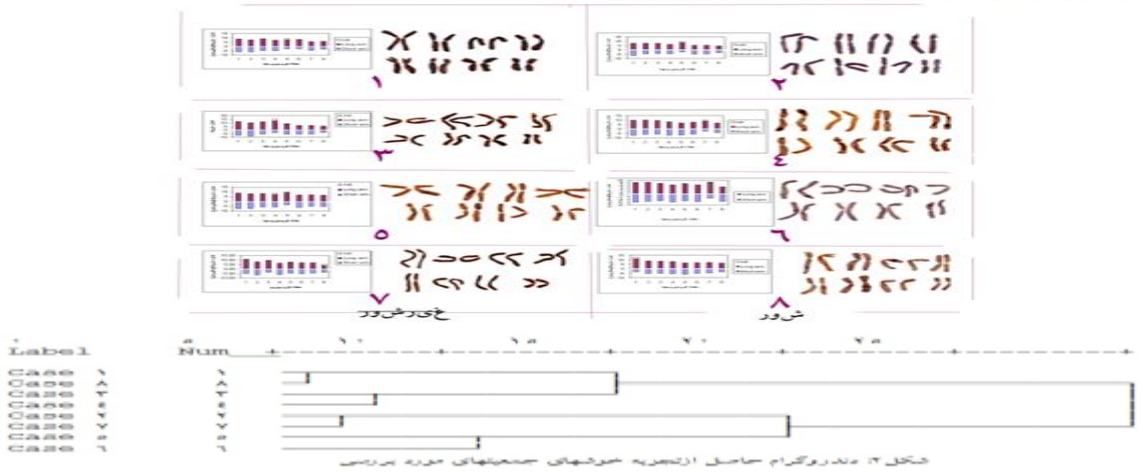
سطح شوری	TL	Long arm	Short arm	rvalue	TF%	S%	A_2	A_1	AI
۰	108/16a	8/14a	5/38a	1/60a	39/77a	59/50b	0/069b	0/090b	0/56b
۸	102/24b	7/70b	5/07b	1/62a	39/64a	65/80a	0/072a	0/092a	0/67a

جدول۵ مقایسه میانگین اثرات متقابل ژنوتیپ و سطح شوری روی صفات کاریوتیپی

شماره	TL	Long arm	Short arm	rvalue	TF%	S%	A_2	A_1	AI
۱	99/21e	7/63d	4/82d	1/67ab	38/71ef	62/07c	0/027h	0/357a	0/146h
۲	90/14f	6/69e	4/57e	1/60c	40/59b	56/92d	0/099c	0/288d	0/503e
۳	122/28a	9/34a	5/94a	1/66ab	38/88def	50/26e	0/042f	0/320b	0/716c
۴	113/54b	8/50b	5/68b	1/62bc	39/70bcd	64/41bc	0/045e	0/319b	0/322g
۵	110/20c	7/96c	5/81ab	1/46d	42/17a	74/73a	0/073d	0/254e	0/628d
۶	102/82d	7/68d	5/16c	1/56c	40/20bc	75/09a	0/105b	0/312bc	1/416a
۷	10096de	7/65d	4/96d	1/60c	39/32cde	51/35e	0/133a	0/307bc	0/748b
۸	102/44d	7/92c	4/87d	1/71a	38/08f	66/77b	0/039g	0/361a	0/451f

به زیر نویس جدول ۲ مراجعه شود

شکل ۱ –کاریوگرام، و آیدیوگرام جمعیت های مورد مطالعه(۱ –۳ –۵ –۷ به ترتیب هرسین، درچه، کاشان وقم در شرایط غیرشور و ۲ –۴ –۶ و۸ به ترتیب هرسین، درچه، کاشان وقم در شرایط شور)



شکل ۲: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مورد بررسی

منابع

1- Bakhshi khaniki, Gh ۱۳۸۴. *Plant cytogenetics*. Payam Noor University Press, page ۳۸۹. (In Farsi).

2- Dehdary, A., A, Rezai and., M, Mobli. ۱۳۸۶. *Cytological variation and grouping bulbs native to Iran using chromosomal charactrristics and packing tape - C. Abstracts Fifth Iranian Horticultural Science Congress*, September ۱۳۸۶, College of Agriculture, Shiraz University, pp .۳۵-۳۴. (In Farsi).

3- Fu, YB and., R.G, Allaby., 2010. *Phylogenetic network of Linum species as revealed by non-coding chloroplast DNA sequences. Genet Resour Crop Evol*. 57:667–677.

4- Hesamzadeh Hejazi, S.M,. and , M, ZiaeiNasab. 2007. *Cytogenetic study on several species of Hedysarum in natural gene bank of iran. Rangelands and Forest Plant Breeding and Genetic Reserch*, 15:85-94 (In Farsi).

5- Leong-s kornickova, J. and , o, Sida.(2007), *Chromosome Numbers and Genome Size Variation in Indian Species of Curcuma (Zingiberaceae), Annals of Botany*,100: 505–526.

6- Levan, A., K. Fredga, and A.A, Sandberg., 1964. *Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas*, 52: 201-220.

7- Muravenko, O. V., V. A, Lemesh., T. E, Samatadze., A. V, Amosova., O, Semenova., and A. V, Zelenin., 2003. *Genome Comparisons with Chromosomal and Molecular Markers for Three Closely Related Flax Speciesand Their Hybrids Russian Journal of Genetics*, 39(4):510-8

8- Muravenko, O.V., N.L, Bolsheva., O.Yu, Yurkevich., I. V, Nosova., and , O.A, Rashinskaya.,2010. *Karyogenomics of species of the genus Linum L. Genetics*; 46(10)1182-1185

www.SID.ir

9- Oyenike. A. Adeyemo and E. F, Ayomide., 2013, *Genotoxic and cytotoxic effects of food flavor enhancer, monosodium glutamate (MSG) using Allium cepa assay African Journal of Biotechnology* Vol. 12(13), pp. 1459-1466, 27.
10-Palani kumar, L., and N, Panneerselvam. (2007), *Cytogenetic studies of foodnpreserative in Allium cepa root meristem cells. Medicine and Biology* Vol. 14:No 2. Pp:60-63.
11- Paszko, B. 2006. *A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices.* Pl. Syst. 258: 39–48
12- Peruzzi, L., E, Halil., M, Erogl. (2013). *Karyotype asymmetry: Again, How to measure and what to measure? CompCytogen* 7(1): 1–9
13- Peruzzi, L., I.J, Leitchand., K.F, Caparelli. (2009*). Chromosome diversity and evolution in Liliaceae .Annals of Botany. (London).* 103: 459–475. doi: 10.1093/aob/mcn230
14- Samadi, A., A, Mahmodzadeh., A, Hasanzadeh., and M.R, Torkamani. (2007).*Cytogenetic Studies in Four Species of Flax (Linum spp.). Journal of Applied Sciences*, 7: 2832-2839.
15-Singh, R.J.(2003), *Plant Cytogenetics, Department of crop science , university of Illinois,urbana lllinois cop pres.*
16- Stace, C.A.(2000), *Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. Taxon*, 49: 451–477.
17- Stebbins, G. L. (1971). *Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold publisher. L. T. D. London, PP 216.*
18- Vanessa, M., and E, De Oliveira.(2007), *Cytotaxonomy of species of Vernonia, section Lepidaploa, Group Axilliflorae (Asteraceae, Vernonieae). Botanical Journal of the Linnean Society*, 154 ;99–108.

Cytogenetically variation in four onion genotypes of native non-saline and saline conditions

Abstract

Onionis one of the most products of agronomic and garden that cultivated in more from one hundred country of world. Onion has efficiency than to other crops for production crop and is rich as vitamin resource, necessary amino acid, other composition and medicinalattribute. Salinity is a major limitation of environment for production of agronomical crops in dry and semi-dry zones. In order to obtain of high production and resistance to stress conditions, it is necessary to use from mutagenic method. This study designed in order to study of cytogeneticallyvariation of four populationsof Iranian onion in two environments of salinity and normal. This study was carried out by hematoxylin method. After obtain accurate meiotic levels,Karyotypecharactersinclude total length chromosome, asymmetric Index of within and betweenchromosome, total form, asymmetric Index and karyotype formula measured.

Analysis of variance showed significant differeneces among populations, salinity and their Interactions($p \geq 0.01$).Results alsoshowed thatstudied populationsare diploid and number of base was x = 8. All populatios located in class of 2c Estibeans symmetric exception topopulation of Gom under salinity environment and Dorcheh undernormal condition that indicated studied populations have the most evolutionary.Cluster analysis on the basis all studied charactersClustered populations indifferentfour groups. On the basis,Dorcheh population located in a group and Kashan population located in the other group. Result showed that salinity may change evaluation.

Key word: Onions, cytogenetics, karyotype, salinity

Archive of SID

www.SID.ir