



بررسی تنوع کاریوتیپی پنج رقم سیر با استفاده از تجزیه به عامل‌ها

لیلا غیرتی^۱, پریناز نقوی^۲, حسین زینلی^۳ و صلاح الدین موادی^۴

^۱- استادیار، دانشگاه پیام نور تهران، (نویسنده مسؤول: Leylagheyrati@yahoo.com)

^۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان

^۳- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان

^۴- مربی، دانشگاه پیام نور

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۴

چکیده

این تحقیق بهمنظور بررسی تنوع کاریوتیپی ارقام سیر در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان بر روی پنج رقم سیر (Allium Sativum L.) انجام شد. کاریوتیپ سلول‌های میتوزی در مرحله متافاز در مریستم انتهایی پیشه در بذرهای جوانه‌دار شده تهیه شد. عدد پایه کروموزومی در تمام جمعیت‌ها $x=8$ و همه جمعیت‌ها دیبلوئید بودند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۵%) بین پنج رقم سیر انجام شد. بر اساس جدول دو طرفه Stebbins ^{۲B} و جمعیت‌های بهم، کرمان و همدان در کلاس ^{۲B} قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس، نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ صفات طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱% و در صفات نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچک‌ترین کروموزوم، شاخص عدم تقارن، درصد شکل کلی و درصد طول نسبی بازوی بلند اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵% وجود داشت که نشان‌دهنده تنوع کروموزومی بود. در تجزیه به عامل‌ها، سه عامل اول، دوم و سوم بیش از ۹۹٪ از کل تنوع موجود بین جمعیت‌ها را توجیه کردند. در عامل اول صفات r-value و درصد شکل کلی و در عامل دوم صفات طول کروموزوم و طول بازوی بلند بیشترین سهم را به خود اختصاص دادند. در عامل سوم طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم بیشترین اهمیت را داشت. تجزیه خوش‌های، جمعیت‌های مورد نظر را به دو گروه تقسیم کرد، به‌طوری‌که جمعیت‌های بهم، حیرفت، کرمان و همدان در گروه اول و جمعیت اصفهان در گروه دوم قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه به عامل‌ها، تجزیه خوش‌های، سیر (Allium Sativum L.), کاریوتیپ، کروموزوم

مقدمه

سیتوژنتیکی، بحث تکامل کاریوتایپی است. به‌طور کلی صفات طول، تعداد و شکل کروموزوم‌ها سه عامل مهم در بررسی روابط تکامل هستند. عقیده بر این است که کاریوتایپ‌های متقاضن درجه تکاملی ابتدایی‌تری نسبت به کاریوتایپ‌های نامتقاضن دارند (۱۲). آنالیز کاریوتیپ ۵ گونه‌ی سیر توسط پاترジ نشان داد که گونه‌ها دارای خصوصیات مورفو‌لوجی و عدد کروموزوم متفاوتی هستند (۳). یعقوبی و ملک‌زاده شفارودی (۱۴) با بررسی کاریوتیپ ۱۹ رقم سیر بومی ایران نشان دادند که عدد پایه کروموزومی در اکوتیپ بجود $x=7$ ($2n=14$) و در سایر اکوتیپ‌ها $x=8$ ($2n=16$) بود. همچنین گونه‌ها در صفات طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه دارای اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بودند. آنالیز ژنتیک در سطح درون گونه‌ای برای بررسی تغیرات تکاملی و برنامه‌های اصلاحی آینده مهم می‌باشد. بررسی مورفو‌لوجی، فعالیت و تغییرات کروموزوم‌ها در درون گونه‌ها و یا بین گونه‌ها در شناخت تفاوت‌های ژنومی آنها بسیار مهم می‌باشد. آگاهی از شکل کروموزوم یا به‌طور کلی کاریولوژی می‌تواند مانند نشانگرهای مورفو‌لوجیکی به عنوان معیاری مهم برای طبقه‌بندی سیستماتیکی و فیلوجنی محسوب گردد همچنین عدد پایه کروموزومی و مورفو‌لوجی کروموزوم می‌تواند به عنوان یک عامل مهم برای طبقه‌بندی گونه‌ها به کار رود. کروموزم‌ها تنها عوامل مناسبی هستند که می‌توان براساس آنها نحوه روند تکامل گونه‌ها را دریافت. لذا در سیتوژنتیک علاوه بر طبقه‌بندی، ارتباط بین گیاهان نیز نشان داده می‌شود. تنوع ژنتیکی مدیون انحراف‌های کروموزومی و جهش و یا حتی به‌دلیل دورگه‌گیری رویشی در سطح کروموزومی می‌باشد و در طول زمان یکی از دلایل ایجاد

سیر (Garlic) با نام علمی (Allium Sativum L.) گیاهی متعلق به راسته مارچوبه‌سانان (Asparagales) و از خانواده پیاز (Alliaceae) می‌باشد. جنس معروف این خانواده سیر می‌باشد که بیش از ۳۰۰ گونه دارد. سیر گیاهی علفی و دارای ساقه‌ای به ارتفاع ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متر و حتی بیشتر است. بالب آن که قسمت متورم و زیرزمینی گیاه را تشکیل می‌دهد، مرکب از ۵ تا ۱۰ قطعه متورم، محصور در غشاء‌های نازک و ظریف، بدنگ خاکستری مایل به سفید است. سیر از گیاهان غده‌ای دائمی است و تنها نوع زراعی شناخته شده آن دیبلوئید و دارای فرمول کروموزومی $2n=16$ می‌باشد (۲). بیشتر اعضای این خانواده تولید قسمت های متورم می‌کنند که به آنها پیاز می‌گویند. سیر در حال حاضر از نظر جهانی در بین گیاهان پیازی بعد از پیاز خوراکی قرار دارد و به لحاظ ارزش غذائی و داروئی (تصفیه و کاهش چربی خون و ...) از اهمیت زیادی برخوردار است (۸). سیر در سال‌های اخیر در زمرة محصولات صادراتی کشور قرار گرفته است. بوته سیر در مناطق سردسیر یا معتدل بذر تولید نمی‌کند ولی گاهی اوقات ممکن است به جای گل، پیازهای کوچکی روی ساقه ظاهر شوند که بتوان با آن گیاه را نیز تکثیر کرد. تنوع ژنتیکی یک فاکتور مهم در مطالعه گونه‌های این گیاه می‌باشد که میزان و توزیع این تنوع به‌طور باور نکردنی بر روی توان تکاملی گونه یا جنس موثر می‌باشد (۲). یکی از روش‌های بررسی تنوع در ارقام و گونه‌های مختلف گیاهی، انجام مطالعات سیتوژنتیکی و کاریوتایپی است. برای اینکه دقیقاً مزدیان گونه‌ای در یک جنس مشخص شود، شمارش تعداد کروموزوم‌ها، مشاهده تشابهات کروموزومی و تهیه کاریوتایپ، ضرورت پیدا می‌کند (۱). یکی از مباحث مهم در مطالعات

(r-value)، اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچک‌ترین کروموزوم (DRL)، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1)، درصد شکل کلی کاریوتیپ یا درصد کل فرم (%TF)، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (%S)، درصد طول نسبی بازوی بلند (%L) محاسبه شدند (۱۰). برای تعیین نوع کروموزوم‌ها نیز از روش لیون و همکاران (۷) استفاده شد. درصد شکل کلی جهت مقایسه و بررسی تقارن کاریوتیپ‌ها، تعیین ارتباط کاریوتیپی بین گونه‌ها و جنس‌ها و به عنوان شاخص دسته‌بندی کاریوتیپ استفاده شده است (۹). این نسبت همبستگی مثبتی با تقارن کاریوتیپ دارد و از نسبت مجموع طول بازوی‌های کوتاه به مجموع طول کل کروموزوم‌ها بدست می‌آید (رابطه ۱).

$$\text{رابطه ۱} \quad \% \text{TF} = \frac{\sum S}{\sum TL} \times 100$$

هرچه میزان TF به عدد ۵۰ نزدیکتر باشد، نشان‌دهنده حضور بیشتر کروموزوم‌های متاستریک است. به منظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۵%) بین پنج رقم سیر انجام شد. برای گروه‌بندی ژنتیک‌ها از تجزیه به عامل‌ها و همچنین تجزیه کلاسستر به روش Ward و معیار فاصله افیدیسی با استاندارد Z-scores استفاده شد (۵). تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد.

نتایج و بحث

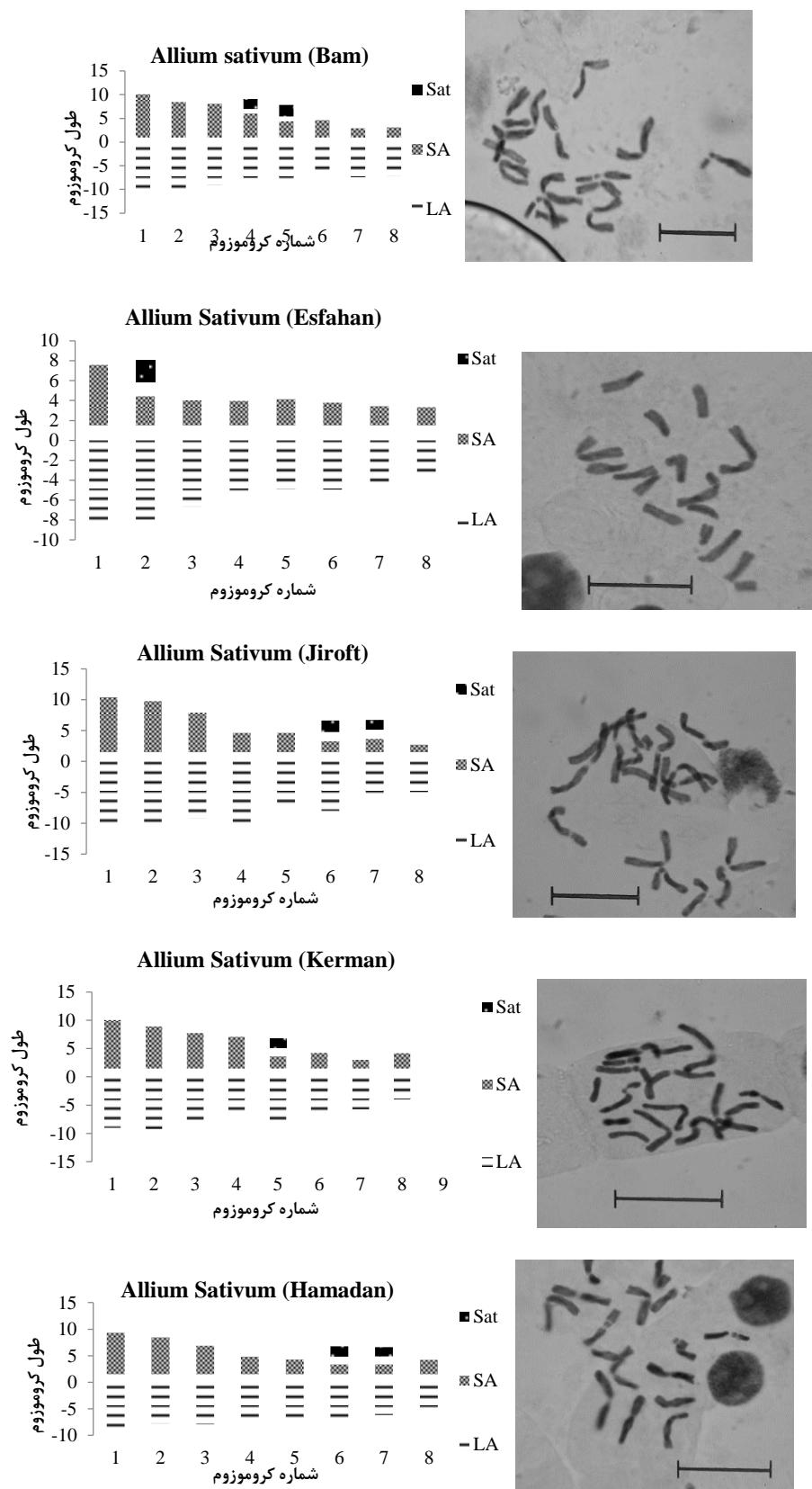
تصاویر متافاز میتوzی جمعیت‌های مطالعه شده به همراه ایدیوگرام در شکل ۱ و نتایج آمار توصیفی صفات کاریوتیپی در جدول ۱ ارائه شده است. همه جمعیت‌های مطالعه شده از لحظ سطح پلوئیدی، دیپلولئید (۲n=۱۶) بودند (جدول ۱). فرمول کاریوتیپی جمعیت‌ها نشان داد که همه جمعیت‌ها دارای سه نوع کروموزوم متاستریک، ساب متاستریک و ساب تلوستریک هستند. تنها رقم اصفهان کروموزوم ساب متاستریک را با داده شده این نوع کروموزوم ایجاد گردد. بیشترین تعداد کروموزوم متاستریک مربوط به جمعیت کرمان و کمرتین تعداد کروموزوم متاستریک متعلق به ژنتیک اصفهان بود. جمعیت جیرفت بیشترین تعداد کروموزوم ساب تلوستریک را به خود اختصاص داد. در همه جمعیت‌ها ماهواره^۱ مشاهده شد (جدول ۱). بررسی ویژگی‌های کاریوتیپی نشان داد که بیشترین مقدار نسبت بازوی بلند به کوتاه متعلق به جمعیت جیرفت و بیشترین مقدار ساختار سانترومی متعلق به جمعیت کرمان بود و جمعیت جیرفت کمترین شاخص سانترومی را به خود اختصاص داد. مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیشترین مقادیر صفات طول کروموزوم، طول بازوی بلند و کوتاه متعلق به جمعیت‌های بهم و جیرفت است. کمترین مقادیر صفات نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، درصد شکل کلی و طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم مربوط به اصفهان و جیرفت و بیشترین مقادیر صفات مربوط به جمعیت کرمان بود.

جهاش اثرات محیطی می‌باشد. سود و همکاران (۱۱)، در مطالعه‌ای با بررسی تنوع ژنتیکی بین ۵ واریته سیر در هندستان نشان دادند که تنوع زیادی در بین صفات از جمله عملکرد سیر در واحد سطح به صورت تر و خشک، قطر، طول و وزن سیرچه‌ها وجود دارد و ارقام ۶ HG و ۱۷ HG را به عنوان ارقام برتر معرفی کردند. روستانی و همکاران (۱۰) در آزمایشی بر روی ۶۵۰ لاین سیر بومی در شرایط تنش خشکی نشان دادند که در تجزیه به عامل‌ها پنج عامل وارد مدل شده و ۶۵/۵٪ درصد از تغییرات را توجیه می‌کنند. آنها عامل اول را مؤثر بر اجزای عملکرد، عامل دوم را مؤثر بر وزن دانه، عامل سوم را مؤثر بر عملکرد و شاخص برداشت، عامل چهارم را مؤثر بر طول ریشک و تعداد روز تا رسیدن و عامل پنجم را مؤثر بر تعداد دانه در سنبله و قطر ساقه نام‌گذاری نمودند.

هدف از انجام این تحقیق تهیه کاریوتیپ، تجزیه و تحلیل ژنوم رقم‌های مطالعه شده، مقایسه و تفکیک رقم‌ها بر اساس اطلاعات کروموزومی و مقایسه نتایج حاصل از بررسی قربات و نزدیکی رقم‌ها بر اساس اطلاعات کاریوتیپی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پنج رقم سیر از مناطق اصفهان، به، جیرفت، همدان و کرمان جمع‌آوری شد. به منظور بررسی خصوصیات کاریوتیپ، سیرچه‌های ارقام مختلف روی کاغذ صافی مربوط داخل پتربی دیش کاشته و در دمای ۱۹-۲۰ درجه سانتی‌گراد و روشنایی نگهداری شدند. پس از جوانهزنی، بذرهای با طول ریشه‌چه ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر از هر ژنتیک انتخاب و در محلول الگا برمونتالین ۰/۵٪ اشباع شده در آب به مدت ۸ ساعت پیش تیمار شدند. پس از آن ریشه‌ها با استفاده از کاغذ صافی خشک و به محلول تثبیت لویتسکی منتقل شدند. از محلول لویتسکی به عنوان تثبیت کننده و جهت جلوگیری از کوتاه شدن بیش از حد کروموزوم‌ها استفاده شد. این ماده مخلوطی از اسید کرومیک یک درصد و فرمالدیئید ده درصد است. مدت زمان لازم برای تثبیت ۱۶ ساعت در یخچال با دمای ۳ تا ۴ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. سپس ریشه‌ها به مدت دو و نیم ساعت با آب شستشو داده شدند. سپس، ریشه‌ها به اتانول ۷۰ درصد منتقل و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. ریشه‌ها از کل خارج شده و به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از آن ریشه‌ها جهت انجام عمل هیدرولیز به محلول ۱ نرمال هیدروکسید سدیم در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵-۱۸ دقیقه انتقال داده شدند. پس از هیدرولیز، به مدت ۱۰ دقیقه ریشه‌ها با آب مقطر شستشو شده و سپس با رنگ استو-آهن-هماتوکسیلین در دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت رنگ‌آمیزی شدند. در پایان، از هر نمونه چند لام تهیه شد و با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. حداقل ۵ سلول متافازی مناسب جهت اندازه‌گیری پارامترهای کروموزومی انتخاب و پس از تهیه کاریوتیپ با استفاده از نرم‌افزار Micromeasure، صفات طول کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA)، نسبت بازوها (Arm ratio: L/S) محاسبه شدند. در این بررسی همچنین پارامترهای نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند،



Scale bar=20 μ m و آیدیوگرام در جمیعت‌های مطالعه شده سیر،
Figure 1. Images of mitotic metaphase and ideogram in studied garlic populations, Scale bar=20 μ m

عامل داشته در حالی که در عامل دوم صفات طول کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، بیشترین سهم را به خود اختصاص دادند. همچنین در ایجاد عامل سوم صفت طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S%)، بیشترین اهمیت را داشت. به منظور گروه‌بندی جمعیت‌ها از لحاظ تکاملی، تجزیه کلاستر به روش Ward انجام شد (شکل ۲). در تجزیه کلاستر، با برش دندروگرام در فاصله ۱/۹۵، جمعیت‌های مورد نظر به دو گروه تقسیم شدند، به طوری که جمعیت‌های بم، جیرفت، کرمان و همدان در گروه اول و جمعیت اصفهان در گروه دوم قرار گرفتند. بیشترین و کمترین فاصله به ترتیب بین جمعیت بم و اصفهان و جمعیت بم و همدان بود (شکل ۲).

از لحاظ صفات درصد طول نسبی بازوی بلند و شاخص عدم تقارن درون کروموزومی بیشترین و کمترین مقادیر به ترتیب به جمعیت‌های جیرفت و کرمان اختصاص داشت. بر اساس صفات درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم و طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم، جمعیت‌ها به ۲ گروه تحقیک شدند (جدول ۳). جهت تعیین سهم هر یک از صفات کاریوتیپی در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها، تجزیه به عامل‌ها به روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی انجام شد (جدول ۴). بر این اساس سه عامل اول تا سوم در مجموع بیش از ۹۹ درصد از کل تنوع موجود بین جمعیت‌ها را توجیه کردند. مقادیر ضرایب بردارهای ویژه در عامل اول نشان داد که صفات r-value و درصد شکل کلی (TF%) بیشترین نقش را در تشکیل این

جدول ۱- نتایج آمار توصیفی برخی از صفات کاریوتیپی در ۵ جمعیت گیاه سیر

Table 1. The descriptive results of karyotype in 5 garlic populations

Type	SC	CI	AR	X	۲n	نام علمی	جمعیت
$st^{\text{sat}}\text{Ysm}^{\text{sat}}+\text{Ym}^{\text{sat}}+4$	۲B	.۳۵	۲/۲۵	۸	۱۶	<i>Allium Sativum L.</i>	بم
$\text{Sm}^{\text{sat}}\text{Ym}^{\text{sat}}$	۲B	.۳۲	۲/۴۱	۸	۱۶	<i>Allium Sativum L.</i>	اصفهان
$st^{\text{sat}}\text{Ysm}^{\text{sat}}+\text{Ym}^{\text{sat}}+3$	۲B	.۳۲	۲/۶۳	۸	۱۶	<i>Allium Sativum L.</i>	جیرفت
$st^{\text{sat}}\text{Ysm}^{\text{sat}}+\text{Ym}^{\text{sat}}+5$	۲B	.۳۷	۲/۳۳	۸	۱۶	<i>Allium Sativum L.</i>	کرمان
$st^{\text{sat}}\text{Ysm}^{\text{sat}}+\text{Ym}^{\text{sat}}+3$	۲B	.۳۴	۲/۲۵	۸	۱۶	<i>Allium Sativum L.</i>	همدان

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی بر مبنای طرح کاملاً تصادفی در ۵ جمعیت از گیاه سیر

Table 2. Analysis of variance karyotype based on completely randomized design in five populations of garlic

A1	میانگین مریعات							درجه آزادی	منابع تغییر
	%L	%S	%DRL	%TF	r-value	SA	LA	TL	
۰/۰۱*	۲۰/۱۸*	۱۵۲/۷۴**	۱۰/۱۴*	۲۰/۱۸*	۰/۰۱*	۱/۹۸**	۳/۱۳**	۶۰/۰۵**	۴ جمعیت
۰/۰۰۲	۵/۴۶	۲۰/۳۵	۱/۸۹	۵/۴۶	۰/۰۰۲	۰/۰۸	۰/۰۵	۶/۶۹	۱۰ خطأ
۱۰/۲۰	۳/۶۶	۱۱/۵۱	۱۱/۶۷	۶/۴۵	۸/۲۱	۲/۰۱	۳/۰۸	۲/۸۲	- ضرب تغییرات

** و * به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات کاریوتیپی در جمعیت‌های بررسی شده در گیاه سیر به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد

Table 3. Karyotype mean comparison in the studied populations of garlic using Duncan 5%

A1	%L	%S	%DRL	%TF	r-value	SA	LA	TL	رقم
۰/۴۱bc	۶۲/۶۱bc	۴۷/۴۹a	۹/۶۴b	۳۷/۳۹ab	۰/۰۸ab	۴/۹۵a	۸/۲۸a	۱۰۵/۸۳a	بم
۰/۵۱a	۶۷/۳۰b	۳۵/۷۰b	۱۳/۴۹a	۳۲/۶۹c	۰/۴۹c	۲/۸۳c	۵/۷۸c	۶۸/۸۷d	اصفهان
۰/۵۰ab	۶۵/۱۳ab	۳۲/۲۵b	۱۳/۰۴a	۳۴/۸۷bc	۰/۵۰bc	۴/۳۸b	۸/۱۹a	۱۰۰/۶۷b	جیرفت
۰/۳۵c	۶۰/۴۳c	۳۴/۱۷b	۱۲/۸۸a	۳۹/۵۸a	۰/۶۴a	۴/۵۸ab	۷/۰۰b	۹۲/۶۶c	کرمان
۰/۴۴abc	۶۳/۳۹abc	۴۶/۲۸a	۹/۹۱b	۲۶/۶۰abc	۰/۵۶abc	۴/۰۹b	۷/۰۹b	۸۹/۴۹c	همدان

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشترک در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند

(۲n=۲x=۱۶) و در سایر اکوتیپ‌ها (۲n=۲x=۱۶، x=۸) است. اما نتایج این تحقیق نشان داد که سطح پلولی‌دی همه جمعیت‌ها برابر با ۲n=۲x=۱۶ می‌باشد. فرمول کاریوتیپی جمعیت‌ها نشان داد که نوع کروموزوم‌ها در ۴ جمعیت مطالعه شده متاستریک و ساب متاستریک و ساب تلوسترنیک است که بیانگر کاریوتیپ نامتقارن در این جمعیت‌ها می‌باشد. ولی در جمعیت اصفهان فقط دو نوع کروموزوم متاستریک، ساب متاستریک مشاهده شد. از نظر تعداد ماهواره و موقعیت قرار گرفتن آن بر روی کروموزوم‌ها نیز، تنوع بین جمعیت‌ها مشاهده شد. جمعیت کرمان دارای بیشترین تعداد کروموزوم متاستریک بود که بیانگر کاریوتیپی متقاضان و یکنواخت‌تر می‌باشد. جمعیت‌های اصفهان و جیرفت در کلاس ۳B و جمعیت‌های بم، کرمان و همدان در کلاس ۲B جدول دو طرفه Stebbins قرار گرفتند که این امر بیانگر وضعیت تکاملی متفاوت در بین جمعیت‌های مطالعه شده می‌باشد.

بر اساس تجزیه واریانس متعدد مشخص گردید که در این فاصله اگر برش انجام داده شود براساس آن صفات بین گروه‌ها متنوع شده‌اند و معنی‌دار گردیدند. نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی بین ۵ رقم سیر، نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ صفات طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱% و از لحاظ صفات نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم، شاخص نامقاضن بودن دون کروموزومی، درصد شکل کلی و درصد طول نسبی بازوی بلند (L%) اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵% وجود دارد (جدول ۲). نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققین بیانگر سطح پلولی‌دی متفاوت ۲n=۱۶ و ۲n=۱۴ برای سیر می‌باشد (۱۳). یعقوبی و ملک‌زاده شفارودی (۱۴) نشان دادند که عدد پایه کروموزومی در اکوتیپ بجنورد

تکاملی است به طوری که از چپ به راست و از بالا به پایین کاریوتیپ نامتقارن تر می‌شود (جدول ۵).

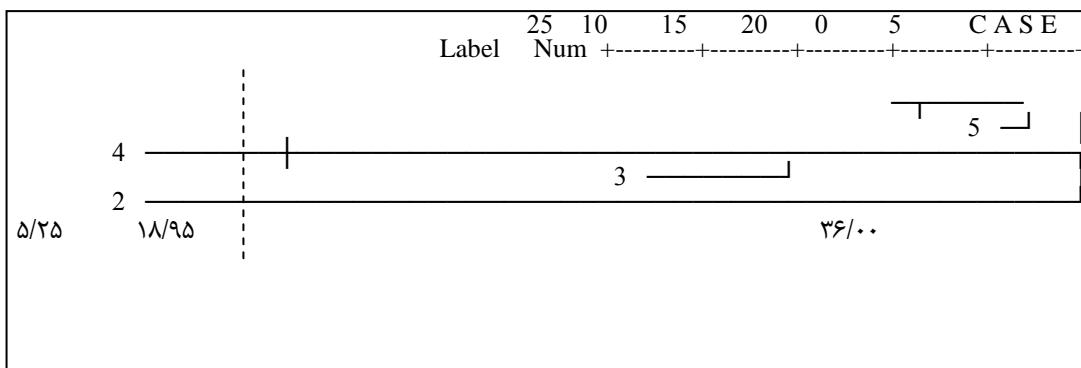
جدول دو طرفه Stebbins یکی از کارآمدترین روش‌های دسته بندی کاریوتیپ‌ها است (Stebbins, 1971). این روش ابزار مناسبی برای تعیین جایگاه کاریوتیپ گونه‌ها از لحاظ

جدول ۴- مقادیر ویژه، درصد واریانس و ضرایب بردارهای ویژه مربوط به سه عامل اصلی حاصل از تجزیه به عامل‌ها به روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

Table 4. Eigenvalues, percent variance, and coefficients of eigenvalues related to three main factors resulting from factor analysis, principal component analysis

مؤلفه سوم	مؤلفه دوم	مؤلفه اول	صفات
.۰/۱۷	.۰/۹۴	.۰/۲۸	TL
.۰/۱۵	.۰/۹۸	.۰/۰۹	LA
.۰/۱۸	.۰/۸۱	.۰/۵۴	SA
.۰/۱۲	.۰/۱۰۷	.۰/۹۸	r-value
.۰/۱۱	.۰/۳۲	.۰/۹۳	%TF
-.۰/۹۳	-.۰/۳۰	-.۰/۱۸	DRL
.۰/۹۹	.۰/۰۸	.۰/۱۰۲	%S
-.۰/۱۱	-.۰/۳۲	-.۰/۹۳	%L
-.۰/۱۲	-.۰/۱۰۷	-.۰/۹۸	A1
۱/۹۹	۲/۸۶	۴/۱۲	مقدار ویژه
۲۲/۱۹	۳۱/۸۱	۴۵/۷۸	واریانس توجیه شده
۹۹/۷۹	۷۷/۵۹	۴۵/۷۸	واریانس توجیه شده تجمعی

اعدادی که زیر آنها خط کشیده شده است دارای ارزش بیشتری در عامل‌ها هستند



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش (Ward) و معیار فاصله اقلیدسی از نظر ویژگی‌های کاریوتیپی

Figure 2. The dendrogram of cluster analysis (Ward) and standard Euclidean distance from karyotype characteristics

جدول ۵- جدول دو طرفه Stebbins برای دسته‌بندی کاریوتیپ

Table 5. Stebbins two-way table to classify karyotype

طول بزرگترین کروموزوم/طول کوچکترین کروموزوم	نسبت کروموزوم های با Arm ratio بزرگتر	.	.	.
<۲ : ۱	۱A	۲A	۳A	۴A
۲ : ۱ - ۴ : ۱	۱B	۲B	۳B	۴B
> ۴ : ۱	۱C	۲C	۳C	۴C

(%) به عنوان فاکتورهای تقارن درون کروموزومی در نظر گرفته می‌شوند که با یکدیگر رابطه عکس دارند، بنابراین با اندازه‌گیری یکی از دو عامل فوق، به میزان متقاضن و نامتقارن بودن کروموزوم‌ها پی خواهیم برد (۶). کمترین مقادیر شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1)، طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (%S)، درصد طول نسبی بازوی بلند (L) و بیشترین مقدار درصد شکل کلی (%TF) متعلق به جمعیت کرمان بود که بیانگر متقاضن بودن کاریوتیپ در این

در این روش با توجه به این که نسبت بزرگترین کروموزوم به کوچکترین کروموزوم در چه محدوده‌ای باشد، کاریوتیپ در یکی از کلاس‌های A، B یا C یا در کلاس نیز بسته به نسبت کروموزوم‌های با Arm ratio از ۲، کاریوتیپ یکی از درجات چهارگانه را به خود اختصاص می‌دهد. در نتیجه ۱۲ گروه بر مبنای عدم تقارن کاریوتیپی بدست می‌آید. به طور کلی فاکتورهای شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1) و درصد شکل کلی

را توجیه کنند. به طوری که در عامل اول، صفات درصد شکل کلی ($\%TF$) و r -value بالاترین ضرایب بردارهای ویژه را به خود اختصاص داد و تحت عنوان عامل تقارن کروموزومی نام‌گذاری شد. در عامل دوم، صفات طول کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بودند که تحت این عامل به عنوان عامل طول ژنوم نام‌گذاری شد و در عامل سوم، صفت طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S ٪)، دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بود نتایج حاصل از تجزیه خوش‌های نشان داد که بیشترین فاصله بین دو جمعیت بم و اصفهان وجود دارد. همچنین بهمنظور ایجاد حداقل تنوع در جامعه تلاقی بین این دو والدی قابل انجام است. بر اساس محاسبات بدست آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که جمعیت‌های اصفهان و جیرفت دارای کاریوتیپ‌های نامتقارن‌تر و جمعیت‌های بم، همدان و کرمان دارای کاریوتیپ‌های متقارن‌تر می‌باشند.

جمعیت می‌باشد. بیشترین مقادیر درصد طول نسبی بازوی بلند ($/L$ ٪)، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1) و کمترین مقدار درصد شکل کلی ($/TF$ ٪) متعلق به جمعیت‌های اصفهان و جیرفت بود، لذا جزء نامتقارن‌ترین کاریوتیپ‌ها محسوب می‌شوند. کمترین مقدار r -value متعلق به جمعیت‌های اصفهان و جیرفت بود که این امر بیانگر بالا بودن درجه تکاملی (جامعه متنوع‌تر) در دو جمعیت اصفهان و جیرفت می‌باشد. بیشترین مقدار r -value متعلق به جمعیت کرمان بود که نشان‌دهنده تقارن کاریوتیپی است و این امر تأییدی بر نتایج دیگر صفات بود. با توجه به خصوصیات کروموزومی، جمعیت کرمان با دو جمعیت اصفهان و جیرفت دارای کمترین قرابت و نزدیکی بود که بدون شک انجام تلاقی بین جمعیت کرمان با دو جمعیت اصفهان و جیرفت باعث ایجاد حداقل هتروزیگوستی و تنوع خواهد شد. در تجزیه به عامل‌ها، بر اساس ۹ صفت مطالعه شده (LA, SA, r -value, A1, DRL, TL, $/L$ ٪, $/TF$ ٪, $/S$ ٪) عوامل اول تا سوم توانستند بیش از ۹۹ درصد از واریانس کل

منابع

1. Alishah, A. and M. Omidi. 2012. Laboratory methods in cytogenetics. Tehran University Press, 188pp (In Persian).
2. Arvin, M.J. and N. Kazemi-Pour. 2002. Effects of Salinity and Drought Stresses on Growth and Chemical and BioChemical compositions of 4 Onion (*Allium cepa*) Cultivars. Journal of Water and Soil Science (Science and technology of Agriculture and Natural Resources)-Isfahan University of Technology, 5: 41-52 (In Persian).
3. Banerjee, N. 1980. Chromosome studies in some species of Allium. Proceeding Journal of Indian Science Congress, 23: 35- 67.
4. Gupta, A.K., R.K. Mittal and A.Z. Ziauddin. 1999. Association and factor analysis in spring wheat. Annals of Agricultural Research, 20: 481-485.
5. Johnson, D.E. 1998. Applied multivariate methods for data analysis. Dunbury Press, New York, USA, 567pp.
6. Hesamzadeh Hejazi, S.M. and M. Ziaeinasab. 2007. Cytogenetic study of Hedysarum species in natural resources gene bank of Iran. Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 15: 85-94 (In Persian).
7. Levan, A., K. Fedga and A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centrometric position on chromosome. Hereditas, 52: 201-220.
8. Nosratty, A.E. 2004. Effect of planting method, plant density and seed clove size on yield of Hamedan garlic. Seed and Plant, 20: 401-404.
9. Paszko, B. 2006. A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. Plant Systematics and Evolution, 258: 39-48.
10. Romero Zarco, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 35: 526-530.
11. Roostaie, M., D. Sadegh-Zadeh and Y. Arshad. 2003. Evaluate the relationship traits affecting wheat grain yield using factor analysis in rainfed conditions. Agriculture Science, 13 pp (In Persian).
12. Sood, D.R., V. Chokar and J. Singh. 2000. Studies on growth, pungency and flavour characteristics of five varieties of garlic (*Allium sativum L.*) bulbs during development. Vegetable Science, 27: 180-184.
13. Stebbins, G.L. 1971. Choromosome evolution in higher plant .Edward Arnold publisher LTD, London, 216pp.
14. Wajahatullah, M.K. and A.A. Vahidy. 1990. Karyotyping and localization of nucleolar organizer regions in Garlic, *Allium sativum L.* Journal of Cytologia, 55: 501-504.
15. Yaghoobi, E. and S. Malekzadeh-Shafaroudi. 2013. Genetic variation of Iranian ecotypes of Garlic (*Allium sp.*) using karyotype analysis. Genetic e Novin, 4: 411-422 (In Persian).

Karyotype Diversity in 5 Varieties of Garlic using Factor Analysis

Leyla Gheyrati¹, Parinaz Naghavi², Hossein Zeinali³ and Salahedin Moradi⁴

1- Assistant Professor, Payame Noor University, Tehran,
(Corresponding Author: Leylagheyrati@yahoo.com)

2- MSc. Student, Payame Noor University, Isfahan Center.

3- Assistant Professor, Agricultural and Natural Resources Research Center of Isfahan.

4- Department of Agriculture, Payame Noor University

Received: January 11, 2016

Accepted: December 24, 2016

Abstract

This investigation was carried out to study the karyotype diversity of five garlic (*Allium Sativum L.*) varieties in Isfahan Research Center for Agriculture and Natural Resources. Karyotype of mitotic cells in metaphase of root apical meristem in germinated seeds was studied. The base number of chromosomes was $x = 8$ and all populations were diploid. Experiment was conducted as a completely randomized design with five replicates and mean comparison with Duncan's multiple range test (at 5%) among the five varieties of garlic. Based on Stebbins two-way table the Isfahan and Jiroft populations in class 3B and Bam, Kerman and Hamedan populations were located in class 2B. Analysis of variance showed significant differences for the total chromosome length, long and short arm length and the relative length of the shortest chromosome ($p < 0.01$), short arm length to long arm length, differences between the largest and smallest relative length of chromosomes, asymmetry index, the percentage of the overall shape and relative length of the long arm ($p < 0.05$) which indicates the chromosomal diversity in the populations. Factor analysis introduced three factors (first, second and third) that justified more than 99 percent of total variation among populations. In first factor TF% and r-value traits were identified as the most important factors while TL and LA traits in the second factor were highly effective. As well as S% was the most important in creation of the third factor. All populations were classified in two groups by cluster analysis. Bam, Jiroft, Kerman, and Hamedan in the first group and Isfahan population in the second group.

Keywords: Chromosome, Cluster Analysis, Factor Analysis, Garlic (*Allium Sativum L.*), Karyotype