دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

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

لیلا غیرتی[۱]، پریناز نقوی[۲]، حسین زینلی[۳] و صلاح الدین مرادی[۴]

۱- استادیار، دانشگاه پیام نور تهران، (نویسنده مسوول: 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 ریشه در بذرهای جوانه‌دار شده تهیه شد. عدد پایه کروموزومی در تمام جمعیت‌ها x=۸ و همه جمعیت‌ها دیپلوئید 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، جمعیت‌های اصفهان و جیرفت در کلاس ۳B و جمعیت‌های بم، 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 به‌خود 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 بم، جیرفت، 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

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 غشاهای نازک و ظریف، به‌رنگ خاکستری مایل به سفید است. سیر از گیاهان غده‌ای دائمی است و تنها نوع زراعی شناخته شده آن دیپلوئید و دارای فرمول کروموزومی ۲n=۱۶ می‌باشد (۲). بیشتر اعضای این خانواده تولید قسمت های متورمی 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 زمره محصولات صادراتی کشور قرار گرفته است. بوته سیر در مناطق سردسیر یا معتدل بذر تولید نمی‌کند ولی گاهی اوقات ممکن است به‌جای گل، پیازهای کوچکی روی ساقه ظاهر شوند که بتوان با آن گیاه را نیز تکثیر کرد. تنوع ژنتیکی یک فاکتور مهم در مطالعه‌ی 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 مرزهای بین 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 سیتوژنتیکی، بحث تکامل کاریوتایپی است. به‌طورکلی صفات طول ، تعداد و شکل کروموزوم‌ها سه عامل مهم در بررسی روابط تکامل هستند. عقیده بر این است که کاریوتایپ های متقارن درجه تکاملی ابتدایی‌تری نسبت به کاریوتایپ‌های نامتقارن دارند (۱۲). آنالیز کاریوتیپ ۵ گونه‌ی سیر توسط بانرجی نشان داد که گونه‌ها دارای خصوصیات مورفولوژی 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 بجنورد x=۷، (۲n=۲x=۱۴) و در سایر اکوتیپ‌ها x=۸، (۲n=۲x=۱۶) 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 مورفولوژی، فعالیت و تغییرات کروموزوم‌ها در درون گونه‌ها و یا بین گونه‌ها در شناخت تفاوت‌های ژنومی آنها بسیار مهم می‌باشد. آگاهی از شکل کروموزوم یا به‌طورکلی کاریولوژی می‌تواند مانند نشانگرهای مورفولوژیکی به‌عنوان معیاری مهم برای طبقه‌بندی سیستماتیکی و فیلوژنی محسوب گردد همچنین عدد پایه کروموزومی و مورفولوژی کروموزوم می‌تواند به‌عنوان 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

جهش اثرات محیطی می‌باشد. سود و همکاران (۱۱)، در مطالعه‌ای با بررسی تنوع ژنتیکی بین ۵ واریته سیر در هندوستان نشان دادند که تنوع زیادی در بین صفات از جمله عملکرد سیر در واحد سطح به‌صورت تر و خشک، قطر، طول و وزن سیرچه‌ها وجود دارد و ارقام HG-6 و HG-17 را به‌عنوان ارقام برتر معرفی کردند. روستائی 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 ۶۵/۵۷ 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 قرابت و نزدیکی رقم‌ها بر اساس اطلاعات کاریوتیپی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پنج رقم سیر از مناطق اصفهان، بم، جیرفت، همدان و کرمان جمع‌آوری شد. به‌منظور بررسی خصوصیات کاریوتیپ، سیرچه‌های ارقام مختلف روی کاغذ صافی مرطوب داخل پتری دیش کاشته و در دمای ۲۰-۱۹ درجه سانتی‌گراد و روشنایی نگهداری شدند. پس از جوانه‌زنی، بذرهای با طول ریشه‌چه ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر از هر ژنوتیپ انتخاب و در محلول آلفا برمونفتالین 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 به‌عنوان تثبیت کننده و جهت جلوگیری از کوتاه شدن بیش از حد کروموزوم‌ها استفاده شد. این ماده مخلوطی از اسید کرومیک یک درصد و فرمالدئید ده درصداست. مدت زمان لازم برای تثبیت ۱۶ ساعت در یخچال با دمای ۳ تا ۴ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. سپس ریشه‌ها به‌مدت 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 الکل 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 ۱۸-۱۵ 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 ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت 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، (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 به‌عنوان شاخص دسته‌بندی کاریوتیپ استفاده شده است (۹). این نسبت همبستگی مثبتی با تقارن کاریوتیپ دارد و از نسبت مجموع طول بازوهای کوتاه به مجموع طول کل کروموزوم‌ها بدست می‌آید (رابطه ۱).

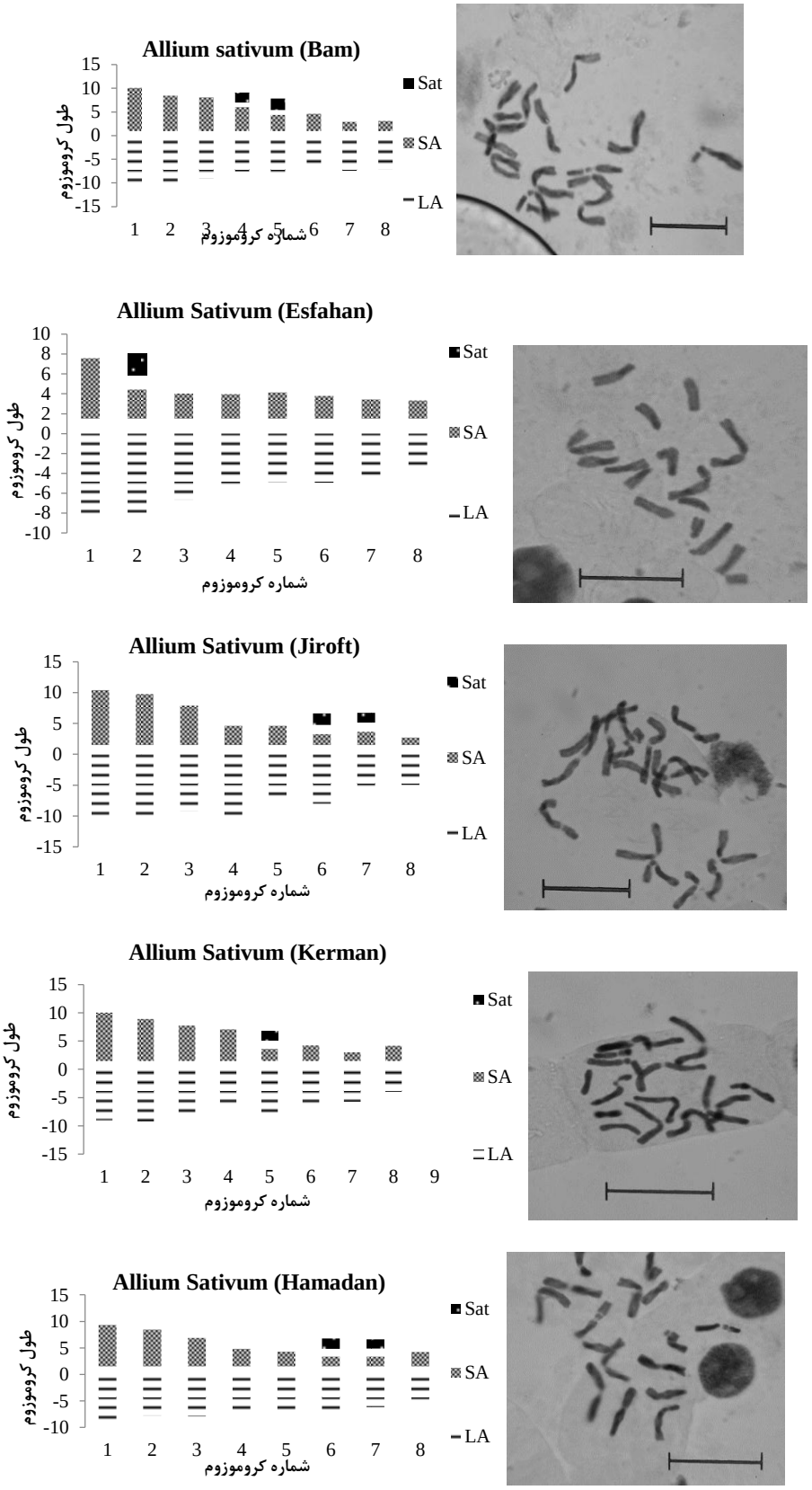
$$\%TF= \frac{\sum S}{\sum TL}\times 100$$ رابطه ۱

هرچه میزان TF به عدد ۵۰ نزدیکتر باشد، نشان‌دهنده حضور بیشتر کروموزوم‌های متاسنتریک است. به‌منظور 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 ژنوتیپ‌ها از تجزیه به‌عامل‌ها و همچنین تجزیه کلاستر به‌روش Ward و معیار فاصله اقلیدسی با استاندارد Z-scores استفاده شد (۵). تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد.

نتایج و بحث

تصاویر متافاز میتوزی 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 لحاظ سطح پلوئیدی، دیپلوئید (۲n=۱۶) بودند (جدول ۱). فرمول کاریوتیپی جمعیت‌ها نشان‌داد که همه جمعیت‌ها دارای سه نوع کروموزوم متاسنتریک، ساب متاسنتریک و ساب تلوسنتریک هستند. تنها رقم اصفهان کروموزوم ساب تلوسنتریک نداشت (جهش با استفاده از ماده جهش زا باعث شده این نوع کروموزوم ایجاد گردد). بیشترین تعداد کروموزوم متاسنتریک مربوط به جمعیت کرمان و کمترین تعداد کروموزوم متاسنتریک متعلق به ژنوتیپ اصفهان بود. جمعیت جیرفت بیشترین تعداد کروموزوم ساب تلوسنتریک را به خود اختصاص داد. در همه جمعیت‌ها ماهواره[1] مشاهده شد (جدول ۱). بررسی ویژگی‌های کاریوتیپی نشان‌داد که بیشترین مقدار نسبت بازوی بلند به کوتاه متعلق به جمعیت جیرفت و بیشترین مقدار شاخص سانترومری متعلق به جمعیت کرمان بود و جمعیت جیرفت کمترین شاخص سانترومری را به خود اختصاص داد. مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیشترین مقادیر صفات طول کروموزوم، طول بازوی بلند و کوتاه متعلق به جمعیت‌های بم 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.

1-Satellite



شکل ۱- تصاویر متافاز میتوزی و آیدیوگرام در جمعیت‌های مطالعه شده سیر، Scale bar=20µm

Figure 1. Images of mitotic metaphase and ideogram in studied garlic populations, Scale bar=20µm

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 تفکیک 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 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. به‌منظور گروه‌بندی جمعیت‌ها از لحاظ تکاملی، تجزیه کلاستر به‌روش Ward انجام شد (شکل ۲). در تجزیه کلاستر، با برش دندروگرام در فاصله ۱۸/۹۵، جمعیت‌های مورد نظر به دو گروه تقسیم شدند، به‌طوری‌که 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 (شکل۲).

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

جمعیت	نام علمی	۲n	X	AR	CI	SC	Type
بم	*Allium Sativum* L.	۱۶	۸	۲/۲۵	۰/۳۵	۲B	st۲sm^{sat}+۲m^{sat}+۴
اصفهان	Sm^{sat}۷m+۱	۱۶	۸	۲/۴۱	۰/۳۲	۳B	Sm^{sat}۷m+۱
جیرفت	st^{sat}۳sm^{sat}+۲m+۳	۱۶	۸	۲/۶۳	۰/۳۲	۳B	st^{sat}۳sm^{sat}+۲m+۳
کرمان	st^{sat}۲sm+ ۱m+۵	۱۶	۸	۲/۳۳	۰/۳۷	۲B	st^{sat}۲sm+ ۱m+۵
همدان	st^{sat}۲sm+۳m+۳	۱۶	۸	۲/۲۵	۰/۳۴	۲B	st^{sat}۲sm+۳m+۳

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

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		TL	LA	SA	r-value	٪TF	٪DRL	٪S	٪L	A1
جمعیت	۴	۶۰۵/۰۵ **	۳/۱۳ **	۱/۹۸**	۰/۰۱ *	۲۰/۱۸*	۱۰/۳۴*	۱۵۳/۷۴**	۲۰/۱۸*	۰/۰۱*
خطا	۱۰	۶/۶۹	۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۰۰۲	۵/۴۶	۱/۸۹	۲۰/۳۵	۵/۴۶	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات	–	۲/۸۲	۳/۰۸	۷/۰۱	۸/۲۱	۶/۴۵	۱۱/۶۷	۱۱/۵۱	۳/۶۶	۱۰/۲۰

** 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%

رقم	TL	LA	SA	r-value	٪TF	٪DRL	٪S	٪L	A1
بم	۱۰۵/۸۳^{a}	۸/۲۸^{a}	۴/۹۵^{a}	۰/۵۸^{ab}	۳۷/۳۹^{ab}	۹/۶۴^{b}	۴۷/۴۹^{a}	۶۲/۶۱^{bc}	۰/۴۱^{bc}
اصفهان	۶۸/۸۷^{d}	۵/۷۸^{c}	۲/۸۲^{c}	۰/۴۹^{c}	۳۲/۶۹^{c}	۱۳/۴۹^{a}	۳۵/۷۰^{b}	۶۷/۳۰^{b}	۰/۵۱^{a}
جیرفت	۱۰۰/۶۷^{b}	۸/۱۹^{a}	۴/۳۸^{b}	۰/۵۰^{bc}	۳۴/۸۷^{bc}	۱۳/۰۴^{a}	۳۲/۲۵^{b}	۶۵/۱۲^{ab}	۰/۵۰^{ab}
کرمان	۹۲/۶۶^{c}	۷/۰۰^{b}	۴/۵۸^{ab}	۰/۶۴^{a}	۳۹/۵۶^{a}	۱۲/۸۸^{a}	۳۴/۱۳^{b}	۶۰/۴۳^{c}	۰/۳۶^{c}
همدان	۸۹/۴۹^{c}	۷/۰۹^{b}	۴/۰۹^{b}	۰/۵۶^{abc}	۳۶/۶۰^{abc}	۹/۹۱^{b}	۴۶/۲۸^{a}	۶۳/۳۹^{abc}	۰/۴۴^{abc}

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

بر اساس تجزیه واریانس متعدد مشخص گردید که در این فاصله اگر برش انجام 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 نامتقارن بودن درون 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 پلوئیدی متفاوت ۲n=۱۶ و ۲n=۱۴ برای سیر می‌باشد (۱۳). یعقوبی و ملک‌زاده شفارودی (۱۴) نشان‌دادند که عدد پایه کروموزومی در اکوتیپ بجنورد x=۷، (۲n=۲x=۱۴) و در سایر اکوتیپ‌ها x=۸، (۲n=۲x=۱۶) است. اما نتایج این تحقیق نشان داد که سطح پلوئیدی همه جمعیت‌ها برابر با ۲n=۲x=۱۶ می‌باشد. فرمول کاریوتیپی جمعیت‌ها نشان‌داد که نوع کروموزوم‌ها در ۴ جمعیت مطالعه شده متاسنتریک و ساب متاسنتریک و ساب تلوسنتریک است که بیانگر کاریوتیپ نامتقارن در این جمعیت‌ها می‌باشد. ولی در جمعیت اصفهان فقط دو نوع کروموزوم متاسنتریک، ساب متاسنتریک 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 متاسنتریک بود که بیانگر کاریوتیپی متقارن 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.

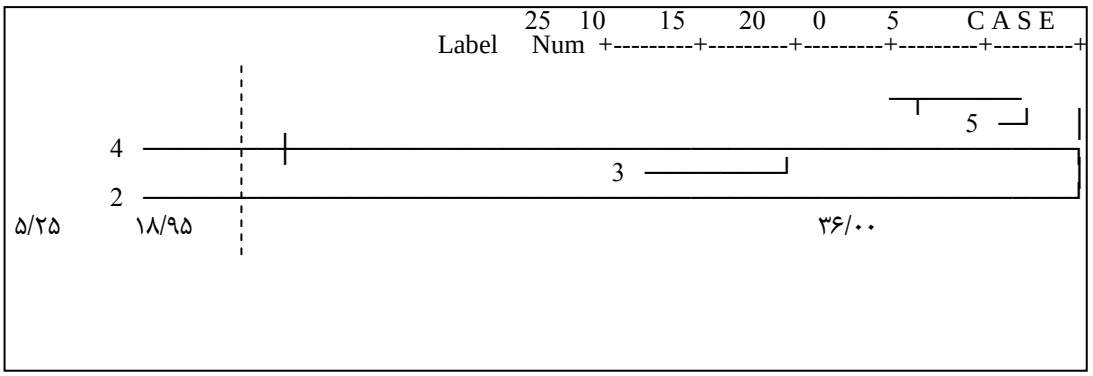
جدول دو طرفه Stebbins یکی از کارآمدترین روش‌های دسته بندی کاریوتیپ‌ها است (Stebbins, 1971). این روش ابزار مناسبی برای تعیین جایگاه کاریوتیپ گونه‌ها از لحاظ تکاملی است به‌طوری‌که از چپ به راست و از بالا به پایین کاریوتیپ نامتقارن تر می‌شود (جدول ۵).

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

صفات	مؤلفه اول	مؤلفه دوم	مؤلفه سوم
TL	۰/۲۸	۰/۹۴	۰/۱۷
LA	۰/۰۵۹	۰/۹۸	۰/۱۵
SA	۰/۵۴	۰/۸۱	۰/۱۸
r-value	۰/۹۸	۰/۱۰۷	۰/۱۲
٪TF	۰/۹۳	۰/۳۲	۰/۱۱
DRL	-۰/۱۸	-۰/۳۰	-۰/۹۳
٪S	۰/۱۰۲	۰/۰۸	۰/۹۹
٪L	-۰/۹۳	-۰/۳۲	-۰/۱۱
A1	-۰/۹۸	-۰/۱۰۷	-۰/۱۲
مقدار ویژه	۴/۱۲	۲/۸۶	۱/۹۹
واریانس توجیه شده	۴۵/۷۸	۳۱/۸۱	۲۲/۱۹
واریانس توجیه شده تجمعی	۴۵/۷۸	۷۷/۵۹	۹۹/۷۹

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



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به‌روش (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			
	۰	۰/۰۱ -۰/۵	۰/۵۱ -۰/۹۹	۱
<۲ : ۱	۱A	۲A	۳A	۴A
۲ : ۱ – ۴ : ۱	۱B	۲B	۳B	۴B
> ۴ : ۱	۱C	۲C	۳C	۴C

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 قرار می‌گیرد و در هر کلاس نیز بسته به‌نسبت کروموزوم‌های با Arm ratio بزرگتر از ۲، کاریوتیپ یکی از درجات چهارگانه را به‌خود اختصاص می‌دهد. در نتیجه ۱۲ گروه بر مبنای عدم تقارن کاریوتیپی بدست می‌آید. به‌طورکلی فاکتورهای شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1) و درصد شکل کلی (٪TF) به‌عنوان فاکتورهای تقارن درون کروموزومی درنظر گرفته می‌شوند که با یکدیگر رابطه عکس دارند، بنابراین با اندازه‌گیری یکی از دو عامل فوق، به میزان متقارن 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 متقارن بودن کاریوتیپ در این

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 حداکثر هتروزیگوسیتی 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 را توجیه کنند. به‌طوری‌که در عامل اول، صفات درصد شکل کلی (TF٪) و r-value بالاترین ضرایب بردارهای ویژه را به خود اختصاص داد و تحت‌عنوان 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 به‌عنوان 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 حداکثر 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.

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. Nosraty, 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. Choromosomalevolutin in higher plant .Edward Arnold publisher LDT, 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 Gheyrati[1], Parinaz Naghavi[2], Hossein Zeinali[3] and Salahedin Moradi[4]

1- Assistance Professor, Payame Noor University,Tehran,
(Corresponding Author: Leylagheyrati@yahoo.com)
2- MSc. Student, Payame Noor University, Isfahan Center.
3- Assistance 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