



بررسی تنوع کروموزومی چند جمعیت از گونه *Aegilops cylindrica* شمال غرب ایران

تورج خیبری^۱، رسول اصغری زکریا^۲، ناصر زارع^۳ و امید سفالیان^۳

۱ و ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشار، دانشگاه محقق اردبیلی
۲- دانشیار، دانشگاه محقق اردبیلی، (نویسنده مسول: r-asghari@uma.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۰

چکیده

به منظور مطالعه تنوع کروموزومی جمعیت‌های مختلف *Aegilops cylindrica* از شمال غرب ایران، کاریوتیپ هر جمعیت با استفاده از رنگ آمیزی استو-فریک-هماتوکسلین تهیه و ویژگی‌های مختلف کروموزومی تعیین شد. نتایج نشان داد که کاریوتیپ این جمعیت‌ها شامل ۷ جفت کروموزوم متاستریک، ۳ جفت ساب متاستریک و ۴ جفت ساب تلوسنتریک می‌باشد که یک جفت از آن‌ها (کروموزوم شماره ۳) دارای فرورفتگی ثانویه و ماهواره بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات متقابل کروموزوم × جمعیت برای صفات طول نسبی و شاخص نسبت بازوی کروموزوم معنی‌دار است. برش‌دهی اثر متقابل نشان داد که جمعیت‌های مختلف از لحاظ طول نسبی کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۶، ۷، ۱۱، ۱۳ و ۱۴ و از لحاظ شاخص نسبت بازوی کروموزوم‌های شماره ۵، ۱۰، ۱۳ و ۱۴ با هم اختلاف معنی‌دار دارند. بر اساس جدول دو طرفه استیجیز همه جمعیت‌ها در کلاس ۲A قرار گرفتند. تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها بر اساس برخی خصوصیات کاریولوژیکی و شاخص‌های تقارن به روش دورترین همسایه‌ها، آن‌ها را به سه گروه مجزا تقسیم نمود که این گروه‌بندی از توزیع جغرافیایی تبعیت نمی‌کرد. تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که دو مولفه اول و دوم به ترتیب ۵۰/۴۶ و ۳۳ درصد از واریانس کل را توجیه می‌کنند. میانگین طول کروموزوم، میانگین طول بازوهای بلند و کوتاه در مولفه اول و شاخص پراکندگی، نامتقارنی بین کروموزومی، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم و دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها در مولفه دوم، بیشترین سهم را در توجیه واریانس بین جمعیت‌ها داشتند.

واژه‌های کلیدی: آزیلوپس، تجزیه خوشه‌ای، تنوع کروموزومی، منابع ژنتیک

مقدمه

در طول چند دهه اخیر تنوع ژنتیکی گندم نان (*Triticum aestivum*) به طور قابل توجهی کاهش یافته است. علاوه بر آن، اکثر واریته‌های گندمی که بیشتر مورد کشت قرار می‌گیرند از منابع ژنتیکی مشابهی حاصل می‌شوند که این امر باعث افزایش حساسیت و آسیب‌پذیری واریته‌های گندم در برابر پاتوژن‌ها و سایر عوامل تنش‌ی می‌شود. بنابراین، توسعه خزانه ژنی گندم ضروری به نظر می‌رسد (۱۱).
جنس *Aegilops* متعلق به خانواده *Poaceae* بوده و شامل ۲۳ گونه می‌باشد که ۱۱ گونه آن دیپلوئید و ۱۲ گونه پلی‌پلوئید هستند که دارای تعداد کروموزوم پایه (x=۷) می‌باشند (۱۵).

Ae. cylindrica گیاهی یکساله، خودبارور و آلوتتراپلوئید با ساختار ژنومی ($2n=4x=28, C^cC^cD^cD^c$) بوده که جزو خویشاوندان وحشی گندم نان محسوب می‌شود (۱۵). مطالعات نشان داده که این گیاه در نتیجه آمفی‌پلوئیدی هیبرید حاصل از تلاقی گونه‌های دیپلوئید *Ae. tauschii* و *Ae. caudata* ($2n=2x=14, CC$) و *Ae. caudata* ($2n=2x=14, DD$) وجود آمده است، که به عنوان بخشنده ژنوم C^c و D^c به عنوان بخشنده ژنوم D^c به این گونه محسوب می‌شوند.

الگوی نواریندی C برای کروموزوم‌های ژنوم D^c و C^c در گیاه *Ae. cylindrica* به ترتیب مشابه با الگوی نواریندی کروموزوم‌های ژنوم D و C در گونه‌های اجدادی دیپلوئید به نام‌های *Ae. tauschii* و *Ae. caudata* می‌باشد (۱۱). آقایی

و همکاران (۱) در مطالعه‌ای نشان دادند که امکان تهیه هیبرید بین گونه‌های گندم و آزیلوپس، حداقل با استفاده از روش‌های نجات جنین وجود دارد، اما میزان جفت‌شدگی کروموزوم‌های گونه *Ae. cylindrica* با گندم نان کمتر بوده و به طور متوسط ۷/۳۷ کیاسما در هر سلول مشاهده گردید. آسیب‌پذیری ژنتیکی گیاهان زراعی در اثر کاهش تنوع ژنتیکی از مهمترین نگرانی‌های اصلاح‌گران می‌باشد، بنابراین خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی نقش مهمی را در توسعه خزانه ژنتیکی و بهبود برخی خصوصیات زراعی آن‌ها دارند. در نتیجه، مطالعه تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی گیاه استراتژیکی مثل گندم نان و متعاقب آن مطالعه پتانسیل دورگ‌گیری با گونه‌های وحشی خویشاوند به منظور اصلاح برخی صفات و افزایش تنوع ژنتیکی ضروری به نظر می‌رسد. انجام مطالعات کاریولوژیکی در گیاهان وحشی دارای اهمیت ویژه‌ای است، چرا که وجود اختلاف در شکل و اندازه کروموزوم‌ها بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بالایی می‌باشد که از این تنوع می‌توان در برنامه‌های پیش‌اصلاحی استفاده کرد.

بر اساس اطلاعات ما گزارشی از مطالعه تنوع ویژگی‌های کروموزومی در بین جمعیت‌های طبیعی این گونه در ایران وجود ندارد. بنابراین، هدف از این پژوهش، بررسی ویژگی‌های کاریولوژیکی کروموزوم‌های میتوزی و مطالعه تنوع کروموزومی در تعدادی از جمعیت‌های گونه *Ae. cylindrica* بود. انجام این تحقیق می‌تواند در مطالعه روابط تکاملی این گونه، انتقال ژن‌های مطلوب و توسعه خزانه ژنی گندم سودمند باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق بذر ۱۰ جمعیت مختلف از گونه *Ae. cylindrica* از مناطق مختلف شمال غرب کشور جمع‌آوری و از لحاظ ویژگی‌های کاربولوجیکی مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۱). جهت تهیه کاربوتیپ از روش Aghayev استفاده شد (۲). بدین منظور ابتدا بذور در ظروف پتری بر روی کاغذ صافی

مرطوب به منظور جوانه‌زنی و ظهور ریشه‌ها قرار داده شدند. زمانی که نوک ریشه‌ها به یک سانتی‌متر رسید در محلول کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد به مدت سه ساعت در دمای اتاق پیش‌تیمار شدند. ریشه‌ها بلافاصله به محلول تثبیت‌کننده لویتسکی (نسبت حجمی ۱:۱ از اسید کرومیک ۱٪ و فرمالدئید ۱۰٪) منتقل گردیدند.

جدول ۱- محل جمع‌آوری جمعیت‌های مورد مطالعه از گونه *Ae. cylindrica*

شماره	استان و محل جمع‌آوری	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (m)
۱	اردبیل	۳۸° ۱۱' ۵۴"	۴۸° ۱۶' ۳۳"	۱۴۱۴
۲	اردبیل، شهرستان مغان	۳۹° ۳۶' ۸۲۴"	۴۷° ۵۲' ۳۹"	۷۴
۳	اردبیل، جاده نمین به عنبران	۳۸° ۲۵' ۸۳۷"	۴۸° ۲۹' ۰۲"	۱۴۳۰
۴	آذربایجان شرقی، شهرستان اهر	۳۸° ۲۸' ۸۳۹"	۴۷° ۰۴' ۳۱"	۱۳۳۹
۵	آذربایجان شرقی، روستای صومعه دل ورزقان	۳۸° ۰۲' ۸۱۳"	۴۶° ۲۵' ۴۵"	۱۶۴۵
۶	آذربایجان شرقی، مرند- پلیس‌راه	۳۸° ۲۱' ۸۳۸"	۴۵° ۴۶' ۴۵"	۱۷۰۶
۷	آذربایجان شرقی، شبستر، روستای امیرزکریا	۳۸° ۱۲' ۳۸"	۴۵° ۵۱' ۱۰"	۱۴۱۰
۸	آذربایجان شرقی، شبستر، روستای کندرود	۳۸° ۰۰' ۸۵۲"	۴۶° ۲۸' ۴۶"	۱۷۰۸
۹	آذربایجان غربی، جاده مرند به ماکو	۳۸° ۵۱' ۸۰۲"	۴۵° ۱۳' ۴۵"	۹۴۷
۱۰	آذربایجان غربی، شهرستان میان‌دوآب	۳۶° ۵۸' ۸۱۰"	۴۶° ۰۶' ۴۶"	۱۲۹۷

منظور گروه‌بندی جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار *NTSYSpc* 2.02، تجزیه کلاستر و تجزیه به مولفه‌های اصلی، صفاتی نظیر میانگین طول کروموزوم، میانگین طول بازوی بزرگ و کوچک، میانگین شاخص نسبت بازو، طول ماهواره، دامنه طول نسبی کروموزوم، نامتقارنی درون و بین کروموزومی، شاخص پراکندگی، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم و درصد شکل کلی کاربوتیپ جمعیت‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

بررسی کروموزومی ۱۰ جمعیت مورد مطالعه در این گونه نشان داد که تمامی جمعیت‌ها تتراپلوئید و دارای ۱۴ جفت کروموزوم ($2n=4x=28$) با فرمول کروموزومی $14m:6sm:Ast$ می‌باشند. در اکوتیپ‌های مورد بررسی، کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۸ و ۱۲ کروموزوم متاستریک، کروموزوم‌های شماره ۷، ۹ و ۱۱ کروموزوم ساب متاستریک و کروموزوم‌های شماره ۵، ۱۰، ۱۳ و ۱۴ کروموزوم ساب تلوستریک بودند. فقط کروموزوم شماره ۳ دارای فرورفتگی ثانویه بود (جدول ۲). همچنین در هیچ یک از جمعیت‌ها، تغییرات کروموزومی از لحاظ تغییر در تعداد کروموزوم و نیز حضور کروموزوم‌های *B* مشاهده نشد.

شاخص‌های مختلف عدم تقارن نشان داد که جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه تفاوت زیادی از این لحاظ با همدیگر ندارند. بر اساس شاخص تقارن استینز (۱۴)، کاربوتیپ این گونه در جمعیت‌های مورد مطالعه در رتبه ۲A قرار گرفت که کاربوتیپ متقارن محسوب می‌شود (جدول ۷). تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ماتریس فاصله مربع اقلیدسی و به روش دورترین همسایه‌ها (*Complete linkage*) جمعیت‌ها را به سه گروه مجزا تقسیم نمود. این گروه‌بندی حاکی از عدم

پس از ۳۶-۲۴ ساعت تثبیت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، در زیر جریان آب معمولی به مدت سه ساعت شسته شده و در الکل ۷۰٪ در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت تهیه لام نوک ریشه‌ها با استفاده از هیدروکسیدسدیم یک نرمال به مدت ۹ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۶۰°C هیدرولیز شده و در نهایت در محلول استوفریک‌هماآتوکسیلین به مدت یک شب رنگ‌آمیزی شدند. لام‌ها به روش اسکواش تهیه شدند. تعداد پنج یا شش گستره متافازی خوب از هر جمعیت بررسی شدند. کروموزوم‌ها بر اساس محل سانترومر، شاخص نسبت بازوها و وجود یا عدم وجود ماهواره از بزرگ به کوچک چیده شده و کاربوگرام تهیه گردید. طول کروموزوم، طول بازوی بزرگ و کوچک، نسبت بازوی بزرگ به کوچک (شاخص نسبت بازوها) و شاخص طول نسبی کروموزوم‌ها توسط نرم‌افزار *Micromesure* اندازه‌گیری شد. نام‌گذاری کروموزوم‌ها به روش لوان و همکاران (۹) انجام گرفت. شاخص‌های تقارن کاربوتیپ به منظور مقایسه تقارن کاربوتیپ جمعیت‌ها محاسبه شد. تجزیه واریانس جمعیت‌ها از لحاظ طول نسبی و شاخص نسبت بازوی هر یک از کروموزوم‌ها که کمتر تحت تاثیر فشردگی متفاوت کروموزوم‌ها در مرحله پیش‌تیمار قرار می‌گیرند، انجام شد. شاخص‌های تقارن و عدم تقارن کاربوتیپ شامل طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (*S%*)، دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها (*DRL*)، شکل کلی کاربوتیپ (*%TF*) (۷)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (*AI*) و بین کروموزومی (*A2*) (۱۳)، شاخص پراکندگی *DI* (*A*) و درصد ضریب تغییرات (*CV*) به منظور مقایسه تقارن کاربوتیپ جمعیت‌ها محاسبه و درجه تقارن کاربوتیپ آن‌ها به روش *Stebbins* برای جمعیت‌های مورد مطالعه تعیین شد (۱۴). همچنین به

تبعیت تنوع ژنتیکی از توزیع جغرافیایی بود. بدین معنی که، جمعیت‌هایی با فاصله جغرافیایی نزدیکتر در گروه مجزایی قرار گرفتند و برعکس، جمعیت‌هایی با فاصله جغرافیایی دورتر در گروه یکسانی واقع شدند (شکل ۱).

جدول ۲- ویژگی‌های کروموزومی در جمعیت‌های گونه *Ae. cylindrica*

Table 2. Chromosomal characteristics of *Ae. cylindrica* populations

جمع کل طول کروموزوم هاپلوئید (μm)	میانگین طول ماهواره (μm)	میانگین شاخص نسبت بازو	میانگین طول بازوی کوچک (μm)	میانگین طول بازوی بزرگ (μm)	میانگین طول کروموزوم (μm)	فرمول کروموزومی	جمعیت
۸۹/۵۶	۰/۸۶	۲/۸۱	۲/۱۸	۴/۲۵	۶/۴۳	۱۴m۶sm:st	اردبیل
۱۰۰/۹۰	۱/۲۱	۲/۷۸	۲/۵۴	۴/۶۹	۷/۲۳	۱۴m۶sm:st	عنبران
۸۹/۶۳	۱/۰۸	۲/۸۱	۲/۲۰	۴/۲۰	۶/۴۰	۱۴m۶sm:st	اهر
۱۰۹/۲۵	۱/۷۱	۲/۹۸	۲/۶۲	۵/۱۸	۷/۸۰	۱۴m۶sm:st	ماکو
۱۰۵/۷۸	۱/۳۶	۳/۱۲	۲/۵۳	۵/۰۳	۷/۵۵	۱۴m۶sm:st	مرند
۱۰۶/۰۷	۱/۷۱	۳/۲۵	۲/۵۰	۵/۰۷	۷/۵۷	۱۴m۶sm:st	مغان
۱۰۵/۷۸	۱/۱۶	۳/۰۳	۲/۵۳	۵/۰۲	۷/۵۵	۱۴m۶sm:st	میاندوآب
۱۰۰/۳۵	۱/۱۶	۲/۸۷	۲/۳۸	۴/۷۸	۷/۱۷	۱۴m۶sm:st	شبه‌سرا
۱۰۱/۸۰	۱/۱۶	۲/۹۲	۲/۴۴	۴/۸۴	۷/۲۸	۱۴m۶sm:st	شبه‌سرا ۲
۱۰۴/۴۸	۱/۰۸	۲/۷۸	۲/۵۳	۴/۸۹	۷/۴۲	۱۴m۶sm:st	ورزقان

m کروموزوم متاستتریک، sm کروموزوم ساب‌متاستتریک و st کروموزوم ساب‌تلوستریک می باشد.

بازو انجام گردید تا مشخص گردد که کدام یک از کروموزوم‌ها در جمعیت‌های مختلف با همدیگر اختلاف دارند. سایر ویژگی‌های کروموزومی مانند طول کروموزوم‌ها و طول بازوهای بلند و کوتاه، به دلیل این که کروموزوم‌ها در مراحل تهیه لام و شرایط مختلف پیش تیمار دچار فشردگی‌های متفاوت می‌شوند، جهت مقایسه جمعیت‌ها مورد استفاده قرار نگرفتند.

تجزیه واریانس داده‌های حاصل برای طول نسبی کروموزوم و نسبت بازو نشان داد که اثر متقابل بین جمعیت × کروموزوم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۳). بدین مفهوم که هر جفت از کروموزوم‌های هومولوگ در جمعیت‌های مختلف، متفاوت از همدیگر هستند. بدین منظور برش‌دهی اثر متقابل جمعیت × کروموزوم توسط عامل کروموزوم برای صفات طول نسبی کروموزوم و شاخص نسبت

جدول ۳- تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی در گونه *Ae. cylindrica* به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی نامتعادل
Table 3. Analysis of variance of *Ae. cylindrica* populations for chromosomal characteristics as a factorial experiment based on unbalanced completely randomized design

میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
۱/۳۶۹۴**	۹	جمعیت
۳۹۹/۸۸۰**	۱۳	کروموزوم
۰/۷۶۴۸**	۱۱۷	جمعیت × کروموزوم
۰/۲۹۴۱	۶۵۸	خطا
۶/۸۸۰	۷۹۷	کل

ns: غیرمعنی‌دار و **: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

مجزا قرار گرفتند. در ارتباط با کروموزوم شماره ۶ جمعیت‌های عنبران، ماکو و شبه‌سرا از بیشترین طول نسبی کروموزوم برخوردار بودند و بقیه جمعیت‌ها در گروه مجزایی قرار گرفتند. در کروموزوم شماره ۷، کمترین طول نسبی مربوط به جمعیت شبه‌سرا بود و بقیه در گروه مجزایی قرار گرفتند. در جمعیت میاندوآب، طول نسبی در کروموزوم شماره ۱۱ کمترین مقدار خود را داشت. بیشترین طول نسبی در کروموزوم ۱۳ نیز به ترتیب مربوط به جمعیت‌های میاندوآب، اردبیل، مرند و مغان بود. از لحاظ نسبت بازو نیز (جدول ۶) در کروموزوم‌های شماره ۵، ۱۰، کمترین نسبت بازو مربوط به جمعیت اردبیل بود. همچنین، جمعیت شبه‌سرا در کروموزوم شماره ۱۳ و جمعیت ورزقان در کروموزوم شماره ۱۴ نیز کمترین نسبت بازو را به خود اختصاص دادند.

بین جمعیت‌ها از لحاظ طول نسبی کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۶ و ۱۴ در سطح احتمال یک درصد و کروموزوم‌های شماره ۷، ۱۱ و ۱۳ در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. جمعیت‌های مورد مطالعه از لحاظ شاخص نسبت بازو نیز در کروموزوم‌های شماره ۵، ۱۰، ۱۳ و ۱۴ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند (جدول ۴). مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که از لحاظ طول نسبی بلندترین کروموزوم (کروموزوم ۱) جمعیت ورزقان، مرند، میاندوآب، عنبران و شبه‌سرا بیشترین و بقیه کمترین مقدار را داشتند. در کروموزوم شماره ۲ از لحاظ طول نسبی بیشترین مقدار متعلق به جمعیت‌های شبه‌سرا و ۲، اردبیل، عنبران بود. بیشترین طول نسبی در کروموزوم شماره ۳ مربوط به جمعیت میاندوآب بود و بقیه جمعیت‌ها در گروه

جدول ۴- برش‌دهی اثر متقابل کروموزوم×جمعیت برای صفات طول نسبی و شاخص نسبت بازوی کروموزوم‌ها
Table 4. Slicing of chromosome×population interaction for relative chromosome length and arm ratio index of chromosomes

میانگین مربعات		درجه آزادی	شماره کروموزوم
شاخص نسبت بازو	طول نسبی کروموزوم		
۰/۰۰۳ ^{NS}	۰/۳۸۱ ^{°°}	۹	۱
۰/۰۱۹ ^{NS}	۱/۴۱۳ ^{°°}	۹	۲
۰/۰۱۷ ^{NS}	۱/۰۲۸ ^{°°}	۹	۳
۰/۰۳۰ ^{NS}	۰/۰۴۶ ^{NS}	۹	۴
۱/۱۵ ^{°°}	۰/۱۰۴ ^{NS}	۹	۵
۰/۰۱۳ ^{NS}	۰/۶۶۳ ^{°°}	۹	۶
۰/۱۵۷ ^{NS}	۰/۳۵۵ [°]	۹	۷
۰/۰۱۳ ^{NS}	۰/۱۶۷ ^{NS}	۹	۸
۰/۱۱۹ ^{NS}	۰/۲۰۵ ^{NS}	۹	۹
۲/۸۸ ^{°°}	۰/۱۴۵ ^{NS}	۹	۱۰
۰/۰۷۰ ^{NS}	۰/۳۳۷ [°]	۹	۱۱
۰/۰۱۰ ^{NS}	۰/۲۶۴ ^{NS}	۹	۱۲
۲/۳۶۸ ^{°°}	۰/۳۲۷ [°]	۹	۱۳
۴/۴۵۷ ^{°°}	۰/۴۹۶ ^{°°}	۹	۱۴

NS: غیرمعنی‌دار، * و **: به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد.

اختلاف نسبت بازوی هر جفت کروموزوم هومولوگ را نشان می‌دهد در حالی که شاخص نامتقارنی بین کروموزومی (A_۲) با ضریب پراکندگی پیرسون مطابق بوده و نامتقارنی حاصل از آن تفاوت طول کروموزوم‌ها را نشان می‌دهد. بنابراین روند تغییرات دو شاخص *TF%* و A_۱ (به عنوان شاخص‌های عدم تقارن درون کروموزومی) نشان داد که از لحاظ این دو پارامتر جمعیت شبستر ۱ به عنوان کاریوتیپ نامتقارن و جمعیت اهر به عنوان کاریوتیپ متقارن در نظر گرفته شد. همچنین از لحاظ شاخص‌های دامنه طول نسبی و A_۲ (به عنوان شاخص‌های عدم تقارن بین کروموزومی) جمعیت میان‌دوآب نامتقارن‌ترین و جمعیت اردبیل به عنوان متقارن‌ترین کاریوتیپ انتخاب گردید (جدول ۷). از لحاظ شاخص طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (*S%*) نیز بیشترین مقدار مربوط به اکتوپ اربیل و کمترین آن مربوط به جمعیت ورزقان بود. به منظور درک بهتری از اندازه نامتقارنی کاریوتیپی، از شاخص پراکندگی (*DI*) استفاده شد چرا که از پتانسیل مناسبی برای کشف حتی انحرافات کوچک کاریوتیپی برخوردار است. شاخص *DI* با در نظر گرفتن تغییرات تدریجی در اختصاصی شدن کاریوتیپ، دارای نقش مهمی در مرتب کردن گونه‌های واجد گروه یکسان از لحاظ نامتقارنی کاریوتیپی می‌باشد (۸). بنابراین با توجه به این که جمعیت میان‌دوآب دارای بیشترین مقدار *DI* (۰/۰۵۱۳) می‌باشد، می‌توان آن را به افزایش رتبه اختصاصیت کاریوتیپی در اثر دستخوش تغییرات در این جمعیت نسبت داد.

با توجه به جدول شاخص‌های تقارن (جدول ۷) همه اکتیپ‌های مورد مطالعه از نظر درجه تقارن *Stebbins* (۱۴)، در رتبه ۲A قرار گرفتند که حاکی از متقارن بودن کاریوتیپ این گونه در جمعیت‌های مورد بررسی می‌باشد. کاریوتیپ‌هایی که غالباً دارای کروموزوم‌های نوع متاستریک و ساب متاستریک هستند و اندازه نسبتاً یکسانی دارند به عنوان کاریوتیپ‌های اولیه محسوب شده و متقارن هستند و در طی تکامل در ساختمان کروموزوم‌های آن تغییر و نوآرایی‌های قابل توجهی در آنها رخ نداده است (۱۲، ۱۴). از طرف دیگر افزایش نامتقارنی کروموزومی می‌تواند یا از طریق تغییر جایگاه سانترومر از ناحیه میانی یا نزدیک به میانی به جایگاه‌های انتهایی یا نزدیک به انتها رخ دهد و یا اینکه از طریق افزایش اختلافات در اندازه نسبی بین کروموزوم‌ها حاصل شود (۱۴). دامنه طول نسبی، اختلاف بیشترین و کمترین طول نسبی را در یک کاریوتیپ نشان می‌دهد که به عنوان پارامتری برای تعیین میزان تقارن استفاده می‌شود. به این ترتیب، ژنوتیپ‌هایی که کمترین دامنه طول نسبی را دارند دارای تقارن کاریوتیپی خواهند بود. کاریوتیپ‌های نامتقارن شاخص درصد شکل کلی (*TF%*) کمتری داشته و نسبت بازوی کروموزومی آنها بیشتر از ۲ می‌باشد. به عبارت دیگر هر چه *TF%* به ۵۰٪ نزدیکتر باشد درجه تقارن کاریوتیپی افزایش خواهد یافت (۱۸). از طرفی با استفاده از شاخص‌های عدم تقارن (۱۳) می‌توان بین جمعیت‌هایی که از لحاظ کلاس (۱۴) در یک گروه قرار گرفته‌اند، نامتقارن‌ترین جمعیت را شناسایی کرد. شاخص نامتقارنی درون کروموزومی (A_۱)

جدول ۵- مقایسه میانگین بین جمعیت‌های مختلف از لحاظ طول نسبی کروموزوم‌ها

Table 5. Mean comparison of populations for relative length of chromosomes

کروموزوم								جمعیت
۱۴	۱۳	۱۱	۷	۶	۳	۲	۱	
۵/۸۶ ^a	۵/۹۳ ^c	۶/۴۲ ^{abc}	۶/۶۹۳ ^{ab}	۶/۷۷۲ ^{bc}	۶/۸۶ ^b	۷/۷۳۳ ^c	۸/۰۲۲ ^b	اهر
۶/۱۱۰ ^a	۶/۴۶۷ ^{ab}	۶/۷۰۳ ^a	۶/۹۰۱ ^a	۶/۷۵۹ ^{bc}	۷/۱۱۶ ^b	۸/۲۰۳ ^{abc}	۸/۱۷۳ ^b	اردبیل
۵/۸۶۴ ^a	۵/۸۴۳ ^c	۶/۴۹۱ ^{ab}	۶/۵۰۹ ^{ab}	۷/۱۷۸ ^{ab}	۷/۱۳۱ ^b	۸/۱۸۹ ^{abc}	۸/۲۵۷ ^{ab}	عنبران
۵/۱۸۷ ^b	۶/۵۵۳ ^{ad}	۵/۹۹۶ ^c	۶/۶۱۰ ^{ab}	۶/۴۵۳ ^{cd}	۸/۰۱۶ ^a	۷/۹۲۷ ^{bc}	۸/۲۵۴ ^{ab}	میاندوآب
۵/۸۷۴ ^a	۶/۰۳۱ ^{bc}	۶/۷۰۵ ^a	۶/۷۴۷ ^{ab}	۷/۰۸۹ ^{ab}	۶/۹۲۱ ^b	۷/۹۲۲ ^{bc}	۸/۰۱۷ ^b	ماکو
۵/۸۳۶ ^a	۶/۱۸ ^{abc}	۶/۴۹۵ ^{ab}	۶/۸۷۵ ^a	۶/۷۵۵ ^{bc}	۶/۹۸۷ ^b	۷/۷۵۵ ^c	۸/۶۸۷ ^a	مرند
۵/۶۹۵ ^{ab}	۶/۲۱۶ ^{abc}	۶/۶۹۹ ^a	۶/۷۱۸ ^{ab}	۶/۵۹۳ ^{cd}	۶/۸۶۷ ^b	۸/۰۱۳ ^{bc}	۸/۲۱۸ ^b	مغان
۵/۹۸۱ ^a	۶/۰۳۸ ^{bc}	۶/۰۸۷ ^{bc}	۶/۲۹۵ ^b	۷/۳۵۳ ^a	۷/۰۶۰ ^b	۸/۶۱۳ ^a	۸/۲۶۴ ^{ab}	شبستر ۱
۶/۰۳۴ ^a	۵/۹۶۷ ^c	۶/۲۹۳ ^{abc}	۶/۹۰۵ ^a	۶/۵۴۸ ^{cd}	۷/۱۱۴ ^b	۸/۲۴۹ ^{ab}	۸/۰۱۰ ^b	شبستر ۲
۵/۲۸۲ ^b	۶/۰۲۵ ^{bc}	۶/۳۸۶ ^{abc}	۶/۲۰۱ ^b	۶/۲۴۰ ^d	۷/۰۸۵ ^b	۸/۰۵۴ ^{bc}	۸/۷۴۳ ^a	ورزقان

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۶- مقایسه میانگین جمعیت‌های مختلف از لحاظ شاخص نسبت بازوی کروموزوم‌ها

Table 6. Mean comparison of populations for arm ratio index of chromosomes

کروموزوم					جمعیت
۱۴	۱۳	۱۰	۵		
۸/۰۸۳ ^c	۷/۸۷۸ ^{de}	۵/۴۸۱ ^{bc}	۳/۹۷۹ ^{bc}		اهر
۹/۸۹۴ ^a	۷/۷۲۵ ^{de}	۴/۱۵۴ ^e	۳/۱۰۹ ^d		اردبیل
۸/۶۸۴ ^{bc}	۸/۵۴۹ ^{bc}	۵/۰۹۰ ^{bcd}	۳/۹۲۴ ^{bc}		عنبران
۸/۴۲۷ ^{bc}	۹/۳۹۵ ^a	۴/۴۷۱ ^{de}	۳/۸۷۶ ^{bc}		میاندوآب
۹/۹۰۴ ^a	۷/۸۷۰ ^{de}	۵/۵۴۱ ^{bc}	۴/۲۳۱ ^{abc}		ماکو
۹/۶۸۱ ^a	۹/۱۲۰ ^{ab}	۵/۰۵۳ ^{cd}	۴/۶۱۵ ^a		مرند
۹/۴۵۵ ^a	۸/۸۸۳ ^{ab}	۵/۵۸۷ ^a	۴/۳۸۵ ^{ab}		مغان
۸/۰۴۶ ^c	۷/۴۴۶ ^c	۵/۶۹۹ ^b	۴/۳۹۸ ^{ab}		شبستر ۱
۸/۷۴۷ ^b	۸/۱۴۶ ^{cd}	۵/۶۴۶ ^{bc}	۴/۳۳۴ ^{ab}		شبستر ۲
۷/۲۹۷ ^d	۸/۰۶۹ ^{cde}	۴/۶۸۰ ^{de}	۳/۶۵۰ ^{cd}		ورزقان

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۷- شاخص‌های تقارن کاریوتیپ در ۱۰ جمعیت از گونه *Ae. cylindrica*

Table 7. Karyotype symmetry indices of 10 *Ae. cylindrica* populations

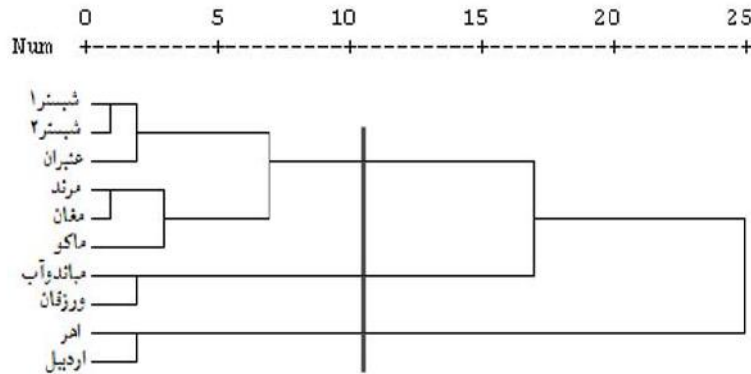
جمعیت	شاخص پراکندگی (DI)	طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (S%)	نامتقارنی بین کروموزومی (A2)	نامتقارنی درون کروموزومی (A1)	دامنه طول نسبی	کلاس تقارن استینیز	درصد شکل کلی (TF %)
اردبیل	-۰/۳۲۷	۶/۱۶	-۰/۰۹	-۰/۴۵۶۲	۲/۱۷	۲A	۳۴/۱۱
عنبران	-۰/۳۷۸	۵/۸۵	-۰/۱۱	-۰/۴۵۸۳	۲/۴۱	۲A	۳۳/۸۹
اهر	-۰/۴۰۳	۵/۷۷	-۰/۱۱	-۰/۴۴۷۷	۲/۴۸	۲A	۳۴/۳۹
ماکو	-۰/۳۲۵	۵/۸۸	-۰/۰۹	-۰/۴۶۴۵	۲/۲۵	۲A	۳۳/۶۱
مرند	-۰/۳۹۴	۵/۸۸	-۰/۱۱	-۰/۴۶۶۴	۳/۴۸	۲A	۳۳/۴۶
مغان	-۰/۳۸۱	۵/۸۲	-۰/۱۱	-۰/۴۶۷۷	۲/۷۷	۲A	۳۳/۲۹
میاندوآب	-۰/۵۱۳	۵/۴۰	-۰/۱۵	-۰/۴۶۰۹	۳/۸۵	۲A	۳۳/۵۵
شبستر ۱	-۰/۴۰۸	۵/۹۵	-۰/۱۲	-۰/۴۷۱۲	۲/۶۳	۲A	۳۳/۲۷
شبستر ۲	-۰/۳۸۵	۵/۷۷	-۰/۱۱	-۰/۴۶۴۷	۲/۳۰	۲A	۳۳/۵۳
ورزقان	-۰/۴۹۲	۴/۸۸	-۰/۱۴	-۰/۴۶۱۸	۳/۴۶	۲A	۳۴/۰۱

ژنومی در دو نمونه مختلف با استفاده از تکنیک *GISH* قبلا توسط لینک و همکاران (۱۱) مشخص شده بود. همولوژی بالای ژنوم‌های *Ae. cylindrica* با ژنوم‌های والدینی خود و چندشکلی درون گونه‌ای پایین آن می‌تواند به منشا نسبتا اخیر آن نسبت داده شده است که در تشکیل آن نوارآیی‌های وسیع

مطالعات بادوا و همکاران (۳) روی *Ae. cylindrica* نشان داد که گرچه این گونه دارای توزیع جغرافیایی وسیعی است اما از لحاظ نواربندی C دارای پلی‌مورفیسم نسبتا کمی می‌باشد. با استفاده از نواربندی C آن‌ها در این گونه موفق به کشف نوارآیی کروموزومی نشدند هر چند که دو جابجایی بین

ناحیه سازمان‌دهنده هستکی والدینی بطور بالقوه در *Ae. cylindrica* فعال است هر چند که سطح بیان آنها احتمالاً به ترتیب زیر کاهش می‌یابد $1C^c > 5D^c > 5C^c$. مکان ژنی *NOR* روی کروموزوم $1C^c$ در اکثر نمونه‌های *Ae. cylindrica* در نتیجه آمفی‌پلاستی یا حذف قسمتی از ژن‌های *DNA* ریپوزومی $26s-5/18s-18s$ در فرم والدی *Ae. caudata* غیرفعال است. همچنین یک مکان کوچکی از *DNA* ریپوزومی $26s-5/18s-18s$ در بازوی بلند کروموزوم *Ae. cylindrica* YD^c کشف شد که از *Ae. tauschii* به ارث رسیده است (۳، ۱۱، ۱۶، ۱۷). (تجزیه کلاستر با استفاده از ویژگی‌های کاربولوجیکی و شاخص‌های تقارن به روش دورترین همسایه‌ها (*Complete linkage*) انجام شد و بر اساس آن جمعیت‌ها به سه گروه تقسیم شدند (شکل ۱).

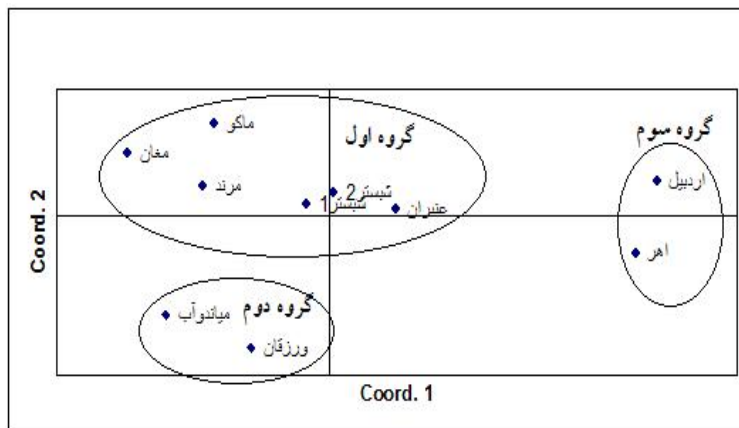
کروموزومی دخالت نداشته است، این نتیجه توسط هیبریداسیون درجا (*ISH*) نیز حاصل شده است (۳). در این مطالعه در گستره متافازی همه جمعیت‌ها تنها در یکی از کروموزوم‌ها (کروموزوم ۳) فرو رفتگی ثانویه مشاهده شد که احتمالاً سایر فرو رفتگی‌ها در نتیجه آمفی‌پلاستی مهار شده‌اند. اما در مطالعات لینک و همکاران (۱۱) با استفاده از نواریندی *Ag-NOR* فقط دو جفت *NOR* که متعلق به ژنوم C^c بود در *Ae. cylindrica* یافت شد که در نتیجه رونوشت‌برداری فعال بودند و فعالیت هستکی *NOR* روی کروموزوم $5D^c$ در نتیجه آمفی‌پلاستی خاموش شده بود. چناوبریاه (۶) اظهار داشت که تعداد متغیری از کروموزوم‌های ماهواره‌دار (۳-۱ جفت) در *Ae. cylindrica* وجود دارد. همچنین نواریندی *Ag-NOR* دو جایگاه فعال را در ناحیه سازمان‌دهنده هستکی نشان می‌دهد (۵). هر سه



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش دورترین همسایه‌ها از نظر ویژگی‌های کاربوتیپی
Figure 1. Dendrogram from cluster analysis of populations for karyological characteristics using complete linkage method

درصد واریانس کل را توجیه کردند بنابراین، از این دو مولفه برای گروه‌بندی جمعیت‌ها استفاده شد که با نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای مطابقت داشت (شکل ۲).

این گروه‌ها با استفاده از تجزیه تابع تشخیص نیز تأیید گردید و واریانس‌ها در سه گروه توجیه شد. محاسبه ضریب کوفنتیک (۰/۷۸) حاکی از کارایی بالای گروه‌بندی بود. در تجزیه به مولفه‌های اصلی، دو مولفه اول و دوم بیش از ۸۳

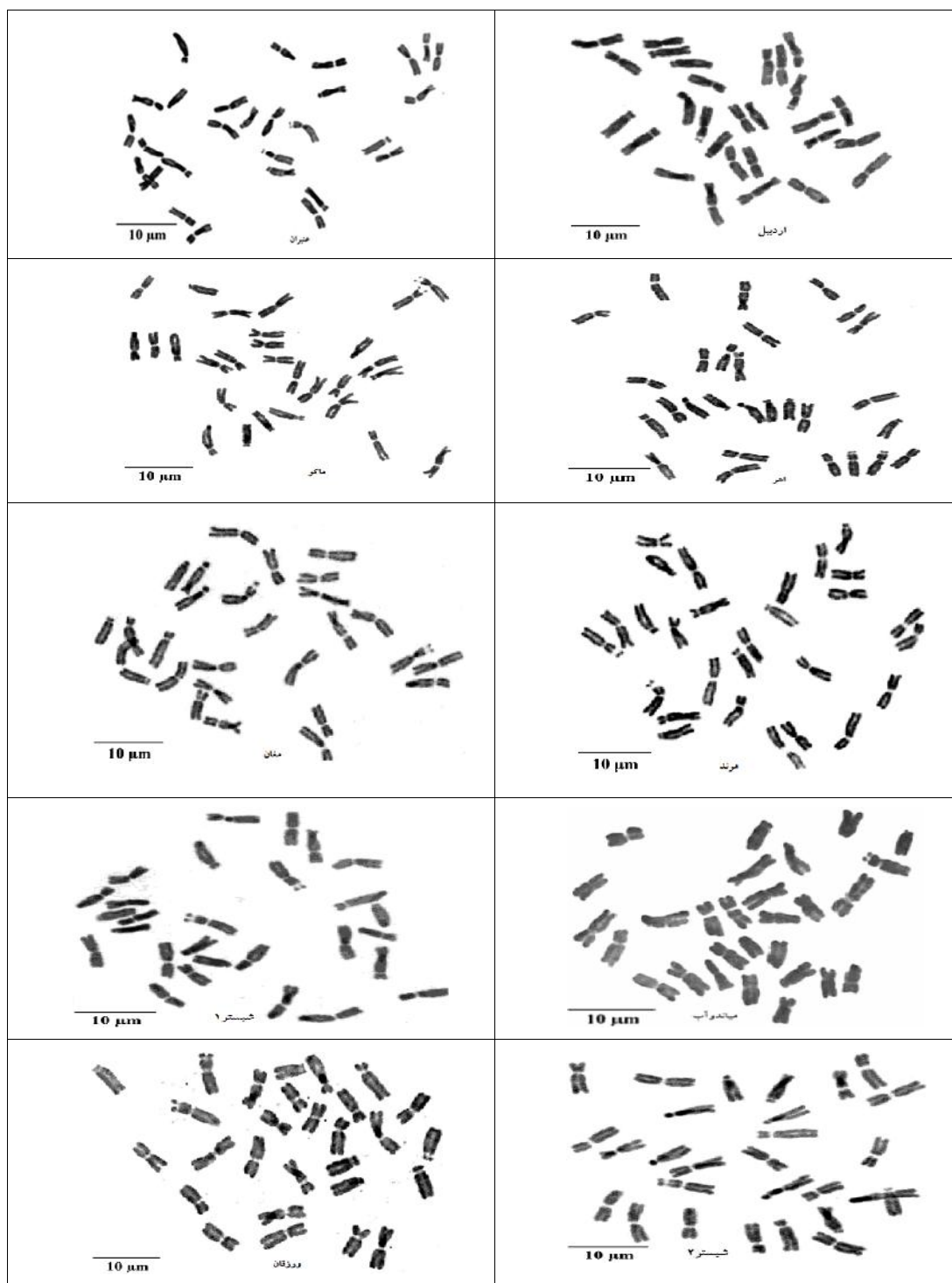


شکل ۲- دیاگرام پراکنش جمعیت‌ها بر اساس دو مولفه اصلی اول و دوم حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی
Figure 2. Diagram of populations Scattering based on two first components from principle component analysis

مقادیر ضرایب بردارهای ویژه در مولفه اول نشان می‌دهد که صفات میانگین طول کروموزوم، میانگین طول بازوی بلند و میانگین طول بازوی کوتاه بیشترین سهم را در ایجاد تنوع در بین جمعیت‌ها داشتند. و از طرف دیگر، در مولفه دوم اختلاف دامنه نسبی، نامتقارنی بین کروموزومی، طول نسبی کوتاهترین کروموزوم و شاخص پراکندگی با داشتن بالاترین ضریب بردار ویژه، دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بود (جدول ۸).

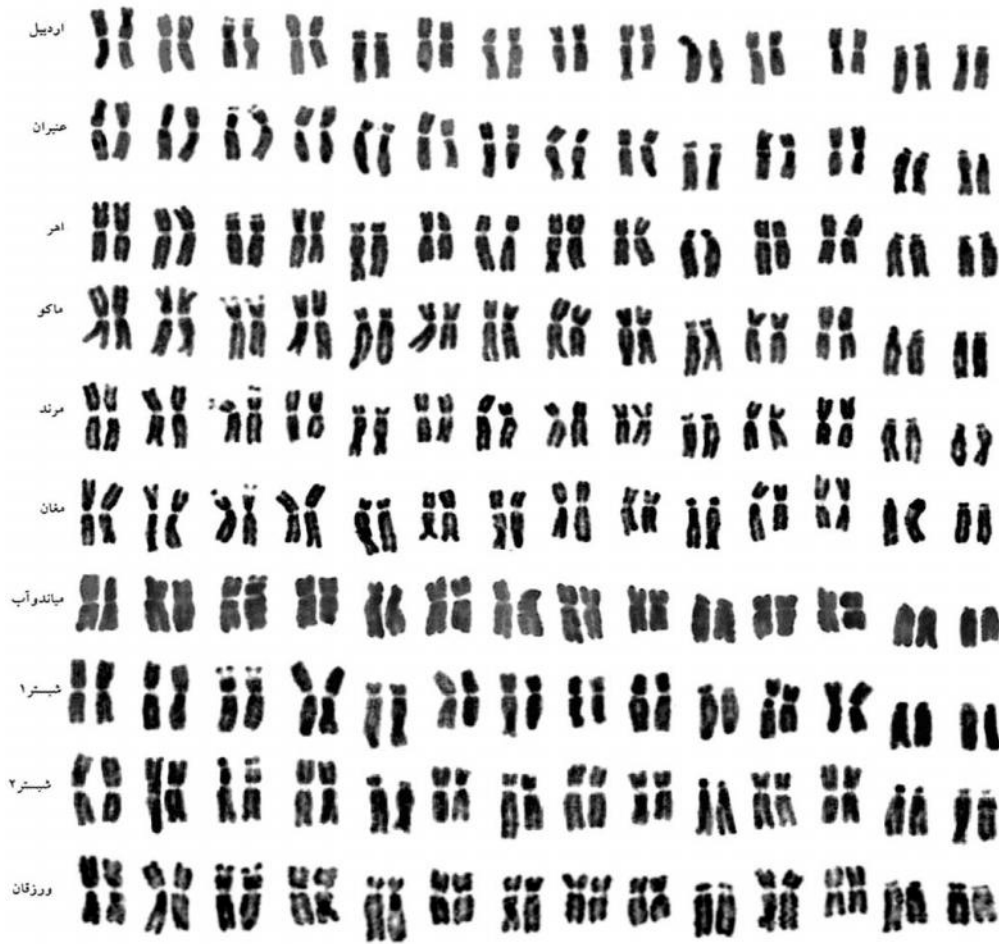
جدول ۸- مقادیر ویژه، درصد واریانس و ضرایب بردارهای ویژه در مولفه اول و دوم در تجزیه به مولفه‌های اصلی
Table 8. Eigen values, variance percentage and coefficients of eigenvectors in two first components of principle component analysis

مولفه اول	مولفه دوم	صفات
۰/۴۰۷	-۰/۰۵۳	میانگین طول کروموزوم
۰/۴۱۲	-۰/۰۷۰	میانگین طول بازوی بلند
۰/۳۷۱	-۰/۰۱۱	میانگین طول بازوی کوتاه
-۰/۲۹۳	-۰/۲۰۲	نسبت بازو
-۰/۲۹۱	-۰/۲۹۱	طول ماهواره
-۰/۳۳۲	۰/۴۱۳	دامنه طول نسبی (DRL)
-۰/۳۳۸	۰/۲۰۷	درصد شکل کلی (TF)
-۰/۳۲۴	-۰/۱۶۶	نامتقارنی درون کروموزومی (A1)
-۰/۱۷۹	۰/۴۵۴	نامتقارنی بین کروموزومی (A2)
-۰/۱۵۹	-۰/۴۳۹	طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (S%)
۰/۱۵۷	۰/۴۷۵	شاخص پراکندگی (DI)
۵/۵۵	۳/۶۳	مقادیر ویژه
۵۰/۴۶	۳۳	درصد واریانس
۵۰/۴۶	۸۳/۴۶	درصد واریانس تجمعی



شکل ۳- گستره‌های متافازی ۱۰ جمعیت از گونه *Ae. cylindrica*

Figure 3. Spreads of metaphase chromosomes for 10 *Ae. cylindrica* populations



شکل ۴- کاریوگرام کروموزوم‌های متافازی ۱۰ جمعیت از گونه *Ae. cylindrica*
Figure 4. Karyogram of metaphase chromosomes of 10 *Ae. cylindrica* populations.

منابع

1. Aghae, M.J., M.R. Naghavi, A.R. Taleei, M. Omid and J. Mozafari. 2007. A study of chromosome homology between three Iranian *Aegilops* species with D genome and bread wheat (*T. aestivum*). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 15: 95-112.
2. Aghayev, Y.M. 1998. Advanced squash methods for investigation of plant chromosomes. Presented papers in the Forth Iranian Congress on Crop Production and Breeding Sciences, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, pp: 1-20.
3. Badaeva, E.D., A.V. Amosova, O.V. Muravenko, T.E. Samatadze, N.N. Chikida, A.V. Zelenin, B. Friebe and B.S. Gill. 2004. Genome differentiation in Aegilops. 3. Evolution of the D-genome cluster. *Plant Systematic and Evolution*, 231: 163-190.
4. Badaeva, E.D., B. Friebe and B.S. Gill. 1996. Genome differentiation in Aegilops. 1. Distribution of highly repetitive DNA sequences on chromosomes of diploid species. *Genome*, 39: 293-306.
5. Cermeno, M.C., J. Orellana, J.L. Santos and J.R. Lacadena. 1984. Nucleolar activity and competition (amphiplasty) in the genus Aegilops. *Heredity*, 53: 603-611.
6. Chennaveeraiah, M.S. 1960. Karyomorphologic and cytotoxic studies in Aegilops. *Acta Horticulture. Gotob*, 23: 85-178.
7. Huziwaru, Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of compositae. VIII. Further studies on the chromosomes of Aster, *American Journal of Botany*, 49: 116-119.
8. Lavania, U.C. and S. Srivastava. 1992. A simple parameter of dispersion index that serves as an adjunct to karyotype asymmetry. *Journal of Biosciences*, 17: 179-182.
9. Levan, A., K. Fredgam and A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position of chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
10. Linc, G. 2001. Molecular cytogenetic analysis in wheat and related species. Thesis of PhD. Hungarian University.
11. Linc, G., B.R. Friebe, R.G. Kynast, M. Molnar-Lang, B. Kőszegi, J. Sutka and B.S. Gill. 1999. Molecular cytogenetic analysis of *Aegilops cylindrica* Host. *Genome*, 42: 497-503.
12. Paszko, B. A. 2006. Critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indexes. *Plant Systematics and Evolution*, 258: 39-48.
13. Romero Zarco, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon*, 35: 526-530.
14. Stebbins, G.L. 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edward Arnold Publication. London.
15. Van Slageren, M.V. 1994. Wild wheats: A monograph of *Aegilops* L., and *Amblyopyrum* (Jaub. & Spach) Eig (Poaceae). Wageningen Agricultural University Papers 7-94. Joint Publication of ICARDA, Aleppo, Syria and Herbarium Vadense, Department of Plant Taxonomy, Wageningen University, The Netherlands.
16. Yamamoto, M. 1992. Detection of ribosomal RNA genes in Aegilops by in situ hybridization. [In Japanese.] *Bulletin of Osaka Private College Association*, 29: 77-82.
17. Yamamoto, M. and Y. Mukai. 1995. Physical mapping of ribosomal RNA genes in Aegilops and Triticum. In: Li Z.S., Xin Z.Y. (eds.) Proc. 8th Int. Wheat Genetics Symposium, Beijing, China, 20-25 July 1993, pp: 807-811.
18. Zuo, L. and Q. Yuan. 2001. The difference between the heterogeneity of the centromeric index and intrachromosomal asymmetry. *Plant Systematics and Evolution*, 297: 141-145.

Study of Chromosomal Variation in Several Populations of *Aegilops Cylindrica* from Northwest of Iran

Toraj Khabiri¹, Rasool Asghari-Zakaria², Nasser Zare³ and Omid Sofalian³

1 and 3- Graduated M.Sc. and Associate Professor, University of Mohaghegh Ardabili
2- Associate Professor, Mohaghegh Ardabili University (Corresponding author: r-asghari@uma.ac.ir)
Received: June 19, 2014 Accepted: July 26, 2014

Abstract

In order to investigation of chromosomal variation in various populations of *Aegilops cylindrica* from northwest of Iran, the karyotype of each populations was prepared using aceto-iron-hematoxilin staining and different chromosomal characteristics were measured. The results showed that the karyotype of these populations consisted of seven pairs of metacentric, three pairs of submetacentric and four pairs of subtelocentric chromosomes which one pair of them (chromosome 3) had a secondary constriction and was satellited chromosome. The analysis of variance showed that the chromosome \times population interaction was significant for the relative length and arm ratio index of chromosomes. Slicing of this interaction indicated that there were significant differences among populations in terms of relative length of chromosomes 1, 2, 3, 6, 7, 11, 13, 14 and for arm ratio index of chromosomes 5, 10, 13, 14. According to Stebbins's karyotype asymmetry categories, all of populations placed in 2A class. Cluster analysis of populations using some karyological characteristics and symmetry indices based on complete linkage method separated the populations into three groups; without any following from their geographical distribution. Principle components analysis indicated that the first two components accounted for 50.5 and 33 percentage of total variance, respectively. In the first component, mean of chromosome length, mean of long and short arm length and in the second component, dispersion index, inter-chromosomal asymmetry index, relative length of the shortest chromosome and range of relative length of chromosomes, showed the highest proportion of variance among populations.

Keywords: *Aegilops*, Chromosomal variation, Cluster analysis, Genetic Resources