ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵
صفحه ۲۰۶ - ۱۹۷

بررسی تنوع سیتوژنتیکی در جمعیت‌های گشنیز (*Coriandrum sativum L.*) ایران

Cytogenetic diversity in the populations of *Coriandrum sativum L.* of Iran

نسترن اسماعیلی*[۱]، حسین زینلی[۲]، آزاده صدرارحامی[۱]، منصوره صرامی[۱]

۱- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، مربی، دانشگاه پیام نور اصفهان
۲- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، ایران

Esmaeili N*[1], Zeinali H[2], Sadrearhami A[1], Sarrami M[1]

1-Msc Student, Assistant Professor,Instructor, Payame Noor University, Isfahan, Iran
2-Assistant Professor, Research Center of Agriculture and Natural Resources, Isfahan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: esmaeili.nas@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۵ - تاریخ پذیرش: ۹٤/۷/۱۹)

چکیده

برای بررسی تنوع سیتوژنتیکی تعداد ۱۲ جمعیت گشنیز ایران، از تکنیک اسکواش و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین استفاده شد. هم‌چنین جهت تجزیه صفات کاریوتیپی بدست آمده، از تجزیه واریانس در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون دانکن (در سطح احتمال یک درصد) ، تجزیه به عامل‌ها به روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه کلاستر به روش Ward با استاندارد Z-scores استفاده شد. نتایج حاصل از مطالعه کاریولوژیکی نمونه‌های نوک ریشه نشان داد که عدد پایه کروموزومی در تمام جمعیت‌های مورد بررسی x=11 و تعداد کروموزوم 22 = 2n = 2x بود. از لحاظ سطح پلوئیدی، همه جمعیت‌ها دیپلوئید بودند. بین جمعیت‌ها از لحاظ صفات طول کل کروموزومی (TL)، طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA)، اختلاف دامنه طول نسبی (DRL)، طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (S%) و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A2) اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. از لحاظ صفات درصد شکل کلی کاریوتیپ (TF%) و درصد طول نسبی بازوی بلند (L%) اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد وجود داشت که این امر مؤید وجود تنوع کروموزومی در جمعیت‌های مورد بررسی می‌باشد. تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها بر اساس خصوصیات کاریوتیپی، آن‌ها را در سه گروه مجزا قرار داد. در این بررسی بیش‌ترین شباهت بین دو جمعیت نیشابور و همدان و کم‌ترین شباهت بین دو جمعیت اردبیل و اراک بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس خوشه‌ها نشان داد که از نظر همه صفات به غیر از صفت SA اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار است. جمعیت‌های نیشابور، اراک، مرکزی، مبارکه، نجف آباد و همدان در گروه اول از نظر صفات CI، r-value، TF% و S% بیش‌ترین مقادیر را به خود اختصاص داده بودند که بیانگر تقارن کاریوتیپی در این گروه می‌باشد. جمعیت‌های اصفهان، قزوین و نهاوند۲ در گروه دوم از لحاظ مقادیر صفات ما بین گروه اول و سوم قرار گرفتند. جمعیت‌های ملایر، نهاوند۱ و اردبیل در گروه سوم از نظر صفات حاصل از طول کروموزومی (TL, LA, SA, AR, DRL,%L) و شاخص‌های عدم تقارن (A1, A2, AI) بیش‌ترین مقادیر را به خود اختصاص دادند که نشان دهنده عدم تقارن کاریوتیپی در این گروه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه واریانس
تجزیه خوشه‌ای
کاریوتیپ
گشنیز (*Coriandrum sativum* L.)

مقدمه

خانواده Apiaceae یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های نهاندانگان و شامل ۳۰۰ جنس و حدود ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ گونه می‌باشد و مصارف بالایی در داروسازی و پزشکی دارند. اعضای خانواده که عموماً گیاهان علفی هستند بیش‌تر در مناطق معتدل شمالی جهان یافت می‌شوند. این خانواده توسط گل‌آذین چترمانند خود، معروف به Umbel تشخیص داده می‌شود. گشنیز (*Coriandrum sativum L.*) گیاهی یکساله از خانواده چتریان (Apiaceae) است که به عنوان یک محصول، سازگاری گسترده‌ای را در سراسر جهان نشان می‌دهد و در انواع مختلف خاک و شرایط آب و هوایی، حتی در عرض‌های جغرافیایی شدید و ارتفاعات به‌خوبی رشد می‌کند (Guenther 1952; Purseglove 1981; Simon 1990). این گیاه دیپلویید دارای ۲۲ کروموزوم است (Baijal 1973; Hore 1977; Das 1989; poggio 1994). گشنیز، مانند بسیاری از ادویه‌جات و سبزی‌ها، حاوی آنتی‌اکسیدان است که برای به تأخیر انداختن یا جلوگیری از فساد مواد غذایی آمیخته شدن با این ادویه می‌تواند مفید باشد (Wangensteen 2004). گشنیز حداقل دارای ۰/۳ درصد (حجم/وزن) روغن فرار می‌باشد. این گیاه در باختران، آبادان، تبریز، بلوچستان، کرمان، بوشهر، برازجان، تهران، دماوند، دره آبشار و در غالب نقاط ایران کشت می‌شود. مصرف گشنیز در بیماری‌های عفونی مختلف مانند تب تیفوئید و به‌طور کلی بیماری‌های مختلف با منشاء کلی باسیل و تب‌های دانه‌ای توصیه شده‌است (Elgayyar 2001).

برای ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از توده‌های بومی گشنیز ایران، قنبری با بکارگیری نشانگر مولکولی SRAP توده‌های گشنیز را به دو گروه اصلی خوشه‌بندی کرد. بیش‌ترین تشابه بین توده‌های کرج و ورامین و کم‌ترین تشابه بین توده‌های ورامین و کرمانشاه بود (Ghanbari 2012). تعداد کروموزوم‌های پایه در گیاه گشنیز را 2n=22 گزارش کرده‌اند (Baijal and Kaul 1973) و ۱۱ جفت کروموزوم گشنیز که سه جفت آن‌ها دارای ماهواره بودند، در ۷ گروه طبقه‌بندی شدند.

چهار نوع کروموزوم (K, H, D, C) با توجه به طول کروموزوم، موقعیت سانترومر و وجود انقباضات دوم، ملاحظه شد (Subramanian 1986). کاریوتیپی جدید با ۷ نوع کروموزوم که چهار جفت از آن‌ها دارای یک یا دو انقباضات دوم بودند، در گیاه گشنیز معرفی شد (Das 1989). تنوع ژنتیکی کرفس کوهی را جابرالانصار بررسی کرد. کرفس کوهی یا کِلُوس (*Kelussia odoratissima Mozaff.*) یکی از گیاهان مرتعی و دارویی خانواده چتریان و بومی دامنه‌ی رشته کوه‌های زاگرس است که متأسفانه به علت برداشت غیر مجاز در معرض انقراض می‌باشد. نتایج شمارش کروموزومی در ۸ توده کرفس کوهی نشان داد که آن‌ها دیپلویید، دارای ۲۲ کروموزوم و از سه نوع متاسنتریک، ساب متاسنتریک و ساب تلوسنتریک هستند (Jaberollansar 2005). با بررسی سیتوژنتیکی ٦ واریته کرفس زراعی، Anuradha نتیجه‌گیری کرد که همه واریته‌ها دارای ۲۲ کروموزوم بوده و این واریته‌ها فقط در تعداد کروموزوم‌های دارای فرورفتگی ثانویه، با یکدیگر متفاوت بودند (Anuradha 1977).

تنوع سیتوژنتیکی گیاه باریجه را پارسا بررسی کرد. باریجه (*Ferula gummosa*) گیاهی از خانواده چتریان و یکی از مهم‌ترین گیاهان داروئی بومی ایران محسوب می‌شود. باریجه کاربردهای فراوانی در صنایع داروئی، بهداشتی و عطر سازی دارد و عموماً به شرایط کوهستانی و ارتفاعات بالای ۲۰۰۰ متری سازگاری دارد. چهار جمعیت باریجه از سه استان اصفهان، تهران و مرکزی جمع آوری شدند. بررسی‌های کاریوتیپی و شمارش تعداد کروموزوم‌های متافازی هریک از ٤ جمعیت فریدون‌شهر، اصفهان، دماوند و تفرش گیاه باریجه نشان داد همه جمعیت‌های مورد مطالعه دیپلوئید بوده و دارای ۲۲ کروموزوم هستند (2n=22). فرمول کاریوتیپی برای تمام جمعیت‌های باریجه به‌صورت $7m_{+}3sm+1st$ بود (Parsa 2010). رازیانه گیاهی علفی، چندساله و متعلق به خانواده چتریان می‌باشد که منشأ آن نواحی مدیترانه و جنوب اروپا گزارش شده‌است (Ghasemidehkordi 2002). تعداد کروموزوم‌های پایه در گیاه رازیانه را 2n = 22 گزارش کرده‌اند (Pamela and Maude 1939; Chitra 1955) تحقیقات انجام شده توسط دیگر محققین نیز، نتایج آن‌ها را تأیید کرده است (Heywood and Zohary 1939; Shanmugavelu et al. 2002 and Deng et al. 2006). تنوع سیتوژنتیکی و کاریوتیپی پنج جمعیت رازیانه را صفایی بررسی کرد. تعداد کروموزوم، طول بزرگ‌ترین کروموزوم، طول کوچک‌ترین کروموزوم، نسبت طول

بزرگ‌ترین به کوچک‌ترین کروموزوم، میانگین نسبت بازوی بلند به کوتاه، میانگین نسبت بازوی کوتاه به بلند، میانگین طول کروموزوم‌ها و تقارن کاریوتیپی در هر جمعیت مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج بدست آمده، عدد پایه کروموزومی در تمام جمعیت‌های مورد مطالعه x=11 و تعداد کروموزوم 2n=2x=22 بود (Safaei et al. 2008). ۱۳ جمعیت رازیانه را بر اساس تقسیمات میوز دانه گرده مقایسه کردند و ضمن اعلام تعداد کروموزوم پایه، حالت‌های بی والانت و کوآدراوالانت را در آن‌ها مشاهده کردند (Sheidaei et al. 2007).

با توجه به اهمیت گیاه گشنیز، تاکنون در کشور ما مطالعات زیادی در زمینه‌های مختلف اصلاحی و به‌نژادی آن صورت نگرفته است، در تحقیقات به‌نژادی انجام مطالعات سیتوژنتیک از اقدامات اولیه است زیرا شناخت تعداد کروموزوم‌ها در انتخاب روش به‌نژادی موثر است. به‌نژادی گیاهی به منظور اهلی‌سازی و حفظ ذخایر ژنتیکی این گیاه ارزشمند امری ضروری به نظر می‌رسد. در این تحقیق سعی شده با کمی کردن اطلاعات سیتوژنتیکی، تشخیص و تفکیک جمعیت‌های این جنس دقیق‌تر صورت گیرد. لذا عمده‌ترین اهدافی که در این بررسی دنبال شده است عبارتند از: تعیین کاریوتیپ جمعیت‌ها، دسته‌بندی جمعیت‌ها از نظر تکامل کاریوتیپی

مواد و روش‌ها

دوازده جمعیت گشنیز از مناطق اردبیل، اصفهان، اراک، قزوین، مبارکه، مرکزی، ملایر، نجف آباد، نیشابور، همدان و نهاوند جمع‌آوری شد. برای مطالعه کروموزوم‌های متافازی ریشه، از روش رنگ‌آمیزی استو-آهن هماتوکسیلین (Agayef 1996) استفاده شد. برای این منظور، ابتدا بذور در حدود ۱۲ الی ۱۵ ساعت خیس شدند. پس از ضد عفونی بذور با محلول ویتاواکس دو در هزار به مدت دو دقیقه، روی کاغذ صافی مرطوب داخل پتری دیش کاشته شدند و در دمای متناوب حداکثر ۲۰-۱۹ حداقل ۱۶-۱۴ درجه سانتی‌گراد و روشنایی نگهداری شدند. پس از جوانه‌زنی، بذرهای با طول ریشه‌چه یک تا ۱/۵ سانتیمتر از هر ژنوتیپ در ساعت ۹ صبح برداشت شدند و در محلول آلفا برمونفتالین ۰/۵ درصد در آب به مدت سه ساعت پیش تیمار شدند. پس از آن ریشه‌ها شسته شده و با استفاده از کاغذ صافی خشک شده و به محلول تثبیت لویتسکی منتقل شدند. از محلول لویتسکی به‌عنوان تثبیت کننده و جلوگیری از کوتاه شدن بیش از حد کروموزوم‌ها استفاده شد. این ماده مخلوطی از اسید کرومیک یک درصد و فرمالدئید ده درصد بود. مدت زمان لازم برای تثبیت ۲۷ ساعت در یخچال با دمای سه تا چهار درجه سانتی‌گراد بود. سپس ریشه‌ها به مدت سه ساعت با آب شهری شستشو داده شدند. در مرحله نگهداری، ریشه‌ها به الکل ۷۰ درصد منتقل و در یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت نگهداری شدند. سپس ریشه‌ها از الکل خارج شدند و به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از آن ریشه‌ها جهت انجام عمل هیدرولیز به محلول یک نرمال هیدروکسید سدیم در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۱-۱۸ دقیقه انتقال داده شدند. پس از هیدرولیز، به مدت ۱۰ دقیقه ریشه‌ها با آب‌مقطر شستشو شده و سپس با رنگ استوآهن هماتوکسیلین در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت رنگ‌آمیزی شدند. در پایان، از هر نمونه چند لام تهیه شد و با میکروسکوپ نوری المپیوس با بزرگ‌نمایی۱۰۰، مجهز به دوربین ویدیویی Canon عکس‌برداری انجام شد. حداقل سه سلول متافازی مناسب جهت اندازه‌گیری پارامترهای کروموزومی انتخاب شد 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 شد. در این بررسی پارامترهای اختلاف درصد طول نسبی بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین کروموزوم (DRL)، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A2)، شاخص عدم‌تقارن (AI)، درصد شکل کلی (TF%) و درصد طول محاسبه شد (Romero Zarco 1986). برای تعیین نوع کروموزوم‌ها نیز از روش (Levan et al. 1964) استفاده شد.

به‌منظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای گروه‌بندی جمعیت‌ها تجزیه کلاستر به روش Ward و معیار فاصله اقلیدسی انجام شد (Johnson 1998).

تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزارهای Excel، SAS و SPSS انجام شد.

نتایج

تصاویر متافاز میتوزی جمعیت‌های مورد مطالعه به همراه آیدیوگرام در شکل ۱ و شکل ۲ و نتایج حاصل از تجزیه کاریوتیپی در جدول ۱ ارائه شده‌است. بر اساس نتایج بدست آمده از جدول پارامترهای کاریوتیپی، همه جمعیت‌های مورد مطالعه از لحاظ سطح پلوئیدی، دیپلوئید (2n=22) بودند. فرمول کاریوتیپی جمعیت‌ها نشان داد که همه‌ی جمعیت‌ها دارای دو نوع کروموزوم ساب متاسنتریک و ساب تلوسنتریک بودند. بیش‌ترین تعداد کروموزوم ساب تلوسنتریک و کم‌ترین تعداد کروموزوم ساب متاسنترک مربوط به جمعیت نهاوند ۱ با فرمول کاریوتیپی $4sm+7st^{sat}$ بود (جدول ۱). جمعیت‌های اصفهان، مرکزی، نجف‌آباد و ملایر فاقد ماهواره و بقیه‌ی جمعیت‌ها دارای ماهواره بودند. در جمعیت‌های قزوین، نهاوند ۲ و همدان بر روی دو جفت کروموزوم ماهواره مشاهده شد. تجزیه واریانس داده-های حاصل از اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ صفات TL، LA، SA، DRL%، S% و A2 اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و از لحاظ صفات TF% و L% اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد (جدول ۲). مقایسه میانگین پارامترها در جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داد که بیش‌ترین مقادیر صفات طول کلی ژنوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، اختلاف درصد طول نسبی بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین کروموزوم (DRL)، درصد طول نسبی بازوی بلند (L%) و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A2) و کم‌ترین مقدار شکل کلی کاریوتیپ TF% (۲٤/۰٦) متعلق به جمعیت ملایر بود. بیش‌ترین مقدار شکل کلی کاریوتیپ TF% و کم‌ترین مقادیر درصد طول نسبی بازوی بلند (L%) و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A2) مربوط به جمعیت نجف آباد بود. کم‌ترین مقدار طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (S%) متعلق به جمعیت نهاوند ۱ بود. جمعیت‌های مورد مطالعه از لحاظ صفات L% و TF% در سه گروه قرار گرفتند که قرار گرفتن جمعیت‌های ملایر و نهاوند ۱ با جمعیت نجف‌آباد در گروه‌های جداگانه بیانگر اختلاف معنی‌دار آن‌ها با یکدیگر می‌باشد. همچنین از لحاظ صفت A2 جمعیت‌ها در شش گروه قرار گرفتند (جدول ۳). برای تعیین اختلاف ژنتیکی بین جمعیت‌ها، فاصله ژنتیکی بین آن‌ها به روش اقلیدسی محاسبه و دندروگرام رسم شد. در تجزیه کلاستر، با برش دندروگرام در فاصله٦٠/١٢، جمعیت‌های مورد نظر در سه گروه قرار گرفتند، به طوری که جمعیت‌های نیشابور، همدان، اراک، مرکزی، مبارکه و نجف‌آباد در گروه اول، جمعیت‌های اصفهان، قزوین و نهاوند ۲ در گروه دوم و جمعیت‌های اردبیل، نهاوند ۱ و ملایر در گروه سوم قرار گرفتند. از آنجاکه جمعیت‌هایی از مناطق مختلف در یک گروه قرار گرفتند نشان‌دهنده عدم ارتباط گوناگونی جغرافیایی با تنوع ژنتیکی بود که می‌تواند به دلیل مبادله مواد از طریق انسان باشد. در این بررسی کم‌ترین فاصله اقلیدسی (۰/۲۳) بین دو جمعیت نیشابور و همدان و بیش‌ترین فاصله اقلیدسی (١٥٤) بین دو جمعیت اردبیل و اراک بود (شکل۳).

جدول۱- فرمول کاریوتیپی، سطوح پلوئیدی و کلاس استیبنز در جمعیت‌های مورد بررسی

جمعیت	سطح پلوئیدی	2n	کلاس استیبنز	فرمول کاریوتیپی
اردبیل	x= 11	22	4B	$7sm^{sat}+4st$
اصفهان	x= 11	22	4A	8sm+3st
اراک	x= 11	22	4A	$7sm+4st^{sat}$
قزوین	x= 11	22	4A	$5sm^{sat}+6st^{sat}$
مبارکه	x= 11	22	4A	$9sm^{sat}+2st$
مرکزی	x= 11	22	4A	9sm+2st
ملایر	x= 11	22	4B	7sm+4st
نجف آباد	x= 11	22	3A	8sm+3st
نهاوند۱	x= 11	22	4B	$4sm+7st^{sat}$
نهاوند ۲	x= 11	22	3A	$7sm^{sat}+٤st^{sat}$
نیشابور	x= 11	22	4A	$٩sm^{sat}+2st$
همدان	x= 11	22	4A	$٩sm^{sat}+2st^{sat}$

جدول۲- تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی، در جمعیت‌های مورد مطالعه گیاه گشنیز

منابع تغییر	درجه آزادی	طول کروموزومی (TL)	طول بازوی بلند (LA)	طول بازوی کوتاه (SA)	درصد فرم کلی (%TF)	اختلاف‌دامنه طول نسبی(%DRL)	طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (%S)	طول نسبی بازوی بلند (%L)	ضریب نامتقارن بین کروموزومی (A2)
جمعیت	۱۱	۳۹/۱۵**	۰/۱۹ **	۰/۰۲۷**	۷/۰۰*	۳/۷۹**	۹۳/٤٦**	۷/۰۰*	۰/۰۰۳**
خطا	۲٤	۱/۸۳	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۲/۹٦	۰/٤۷	۱۷/٦٤	۲/۹٦	۰/۰۰۰۳
ضریب تغییرات	-	۳/۹٦	۳/۷۷	۹/۳۷	٦/٤۸	۱۲/۸٦	۷/٤٤	۲/۳٤	۱۱/۳۱

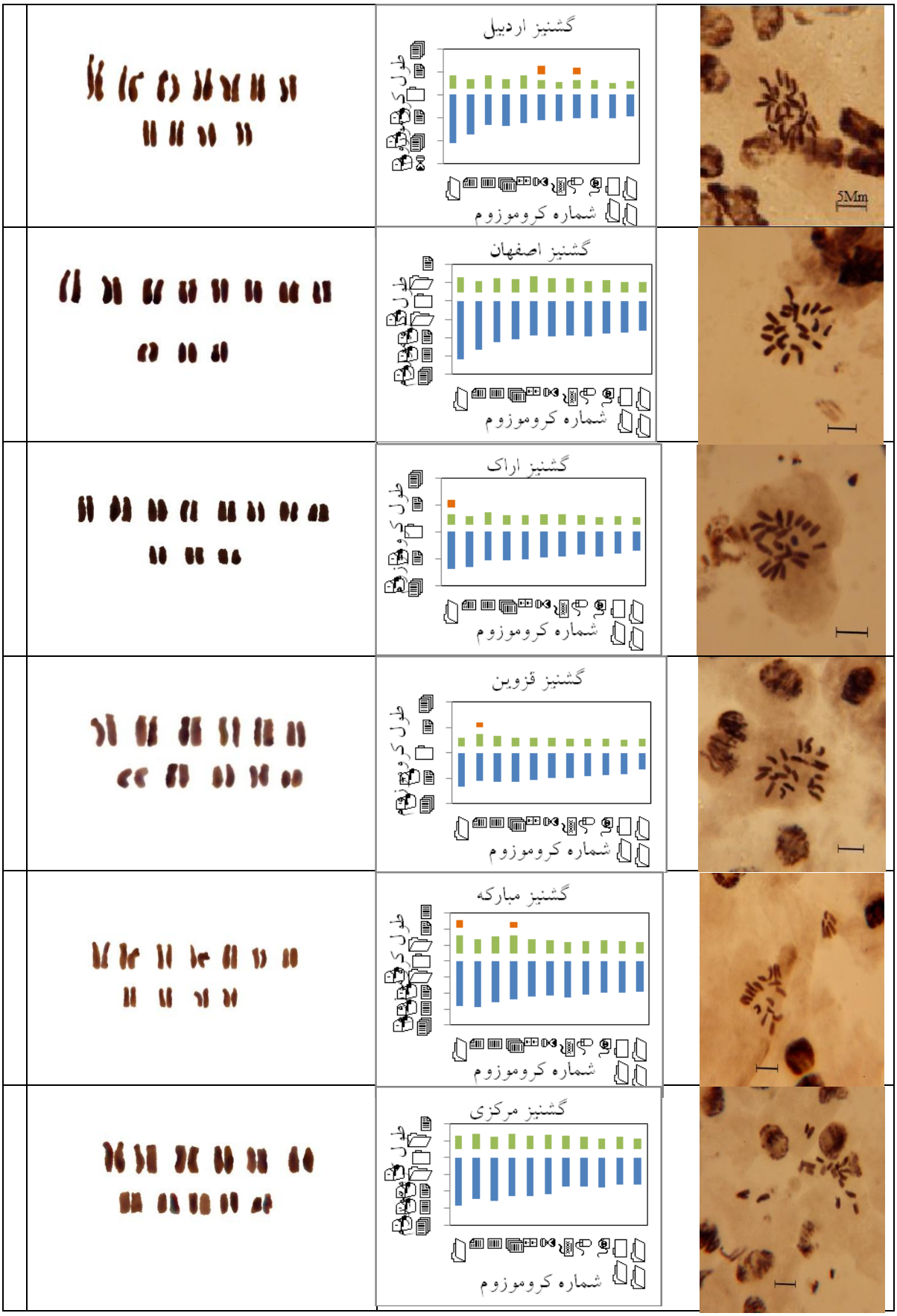
* و ** تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول۳- مقایسه میانگین صفات کاریوتیپی در جمعیت‌های مورد بررسی در گیاه گشنیز به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد

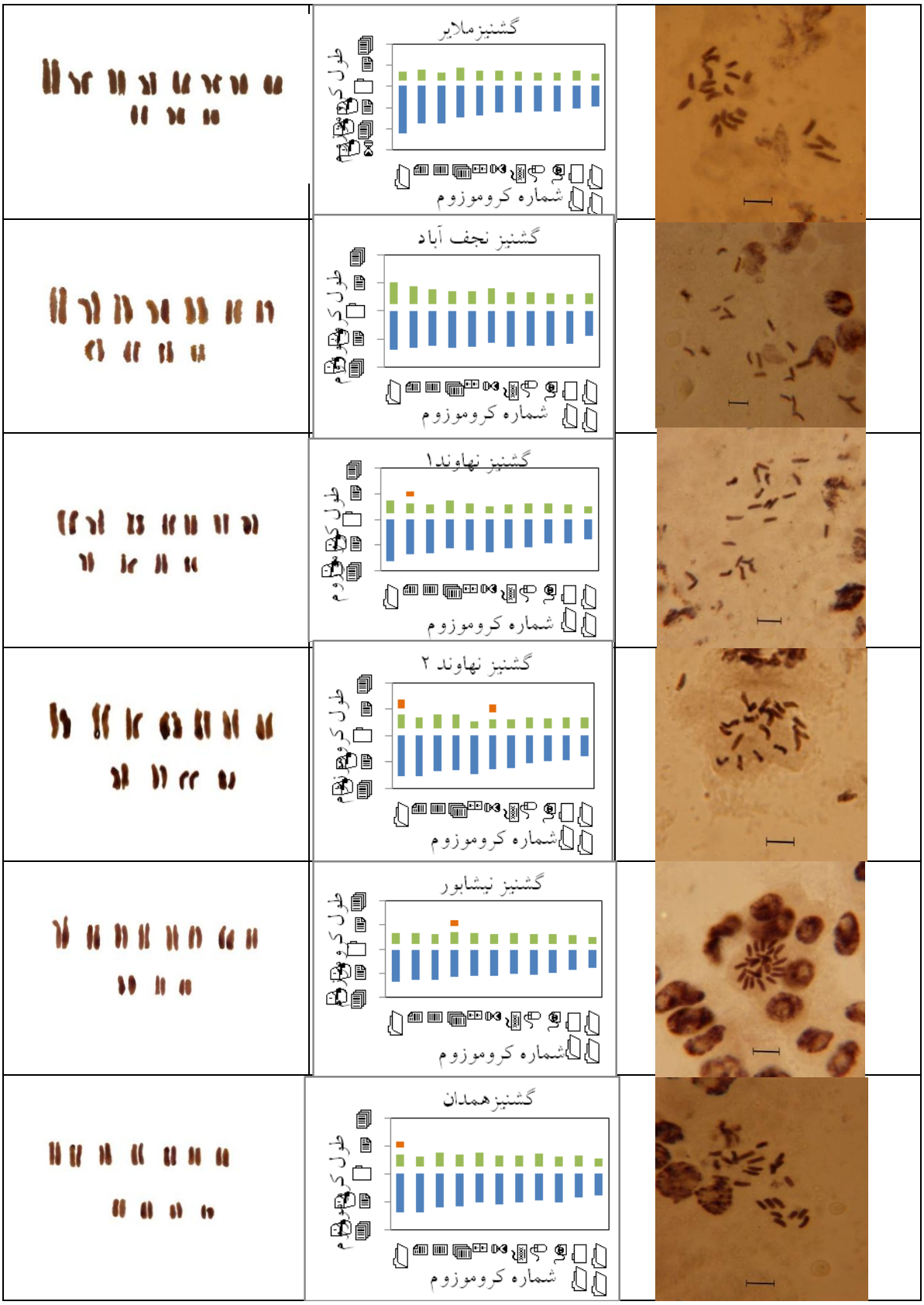
جمعیت	TL	LA	SA	%TF	%DRL	%S	%L	A2
اردبیل	۳۸/۰۵ ab	۲/۵۵ b	۰/۹۱ ab	۲٦/۳۹ ab	۷/۵۵ a	٤۸/۲٤ c	۷۳/٦۰ ab	۰/۲٤ a
اصفهان	۳۰/٤۷ ef	۲/۰٦ ef	۰/۷۰ c	۲۵/٤٦ ab	۵/۹۷ abcd	۵٤/۲۳ bc	۷٤/۵٤ ab	۰/۱۸ bc
اراک	۲۹/۹۰ f	۱/۹۹ f	۰/۷۳ bc	۲٦/٦٦ ab	۵/۲۰ bcde	۵٦/۸۷ abc	۷۳/۳۳ ab	۰/۱٦ bcd
قزوین	۲۹/۹٦ f	۲/۰۲ f	۰/۷۰ c	۲۵/۹۰ ab	٤/۹۷ cde	۵۷/٤۹ abc	۷٤/۰۹ ab	۰/۱٦ bcd
مبارکه	۳٤/۸۰ bcd	۲/۲۷ cde	۰/۸۹ abc	۲۸/۱۸ ab	۳/۸۳ e	٦٦/۸۸ a	۷۱/۸۱ ab	۰/۱٤ cd
مرکزی	۳۱/٦۱ def	۲/۰۹ ef	۰/۷۸ bc	۲۷/۳۵ ab	٤/۹۵ cde	۵۹/۹۹ ab	۷۲/٦٤ ab	۰/۱۷ bcd
ملایر	٤۱/۰۷ a	۲/۸۳ c	۰/۹۰ abc	۲٤/۰٦ b	٦/۸۹ ab	٤۹/۳۷ bc	۷۵/۹۳ a	۰/۲۱ ab
نجف‌آباد	۳۷/۸۸ ab	۲/٤٤ bc	۱/۰۰ a	۲۹/۰۲ a	٤/٦۳ de	۵۹/۱۰ ab	۷۰/۹۷ b	۰/۱۳ d
نهاوند۱	۳۳/۷۷ cde	۲/۳۳ cd	۰/۷٤ bc	۲٤/۱٦ b	٦/٦۳ abc	٤۸/۱۳ c	۷۵/۸۳ a	۰/۱۹ bc
نهاوند ۲	۳٦/٦۲ bc	۲/٤۷ bc	۰/۸٦ abc	۲۵/۸۲ ab	٤/۷۰ de	۵۹/۲۱ ab	۷٤/۱۷ ab	۰/۱٦ bcd
نیشابور	۳۲/٤۳ def	۲/۱۳ def	۰/۸۱ abc	۲۷/٦۷ ab	٤/۷۲ de	۵۷/٦۸ abc	۷۲/۳۲ ab	۰/۱۵ cd
همدان	۳۳/۰۲ def	۲/۱۷ def	۰/۸۳ abc	۲۷/۵۲ ab	٤/۵۳ de	۵۹/۹۹ ab	۷۲/٤۷ ab	۰/۱٤ cd

در هر ستون میانگین صفات در جمعیت‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار ندارد.

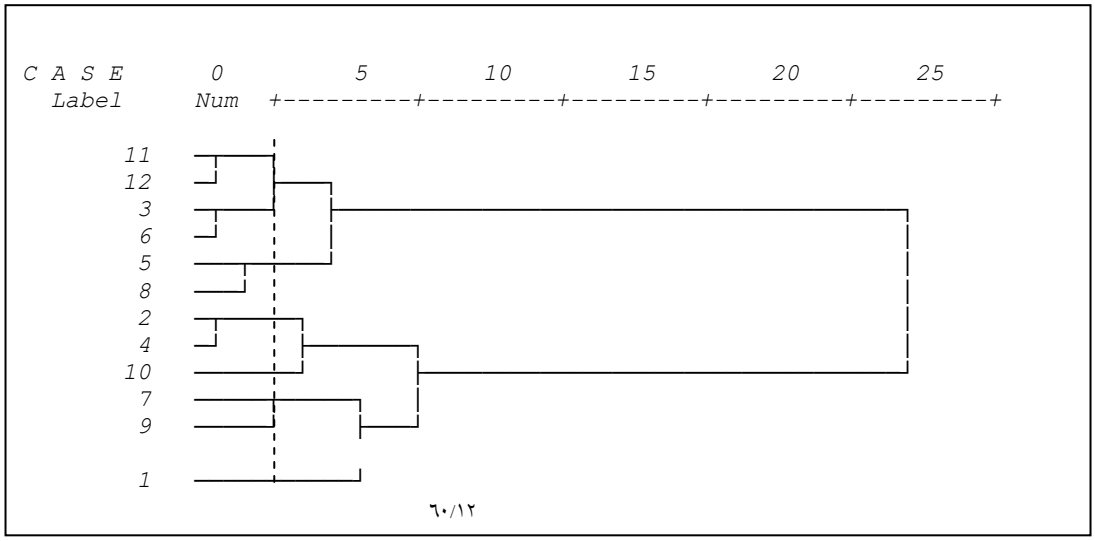
نتایج تجزیه واریانس خوشه‌ها حاصل از اندازه‌گیری ۱۳ ویژگی کاریوتیپی (TL، LA، SA، AR، CI، r-value، DRL، %TF، %S ، %L، A1، A2، AI) نشان داد که از لحاظ همه صفات به غیر از صفت SA اختلاف بسیار معنی‌داری بین گروه‌ها وجود دارد (جدول ٤). جمعیت‌های نیشابور، اراک، مرکزی، مبارکه، نجف‌آباد و همدان در گروه اول از نظر صفات CI، r-value، %TF و %S بیش‌ترین مقادیر را به خود اختصاص داده بودند که بیانگر تقارن کاریوتیپی در این گروه می‌باشد. جمعیت‌های اصفهان، قزوین و نهاوند۲ در گروه دوم از لحاظ مقادیر صفات ما بین گروه اول و سوم قرار گرفتند. جمعیت‌های ملایر، نهاوند ۱ و اردبیل در گروه سوم از نظر صفات حاصل از طول کروموزومی (TL، LA، SA ، AR، DRL، %L) و شاخص‌های عدم تقارن (AI، A2، A1) بیش-ترین مقادیر را به خود اختصاص دادند که نشان دهنده عدم تقارن کاریوتیپی در این گروه می‌باشد.



شکل ۱- سلول‌های متافازی و آیدیوگرام و کاریوگرام جمعیت‌های مورد بررسی گشنیز؛ نوار مقیاس= پنج میکرومتر



شکل ۲- سلول‌های متافازی و آیدیوگرام و کاریوگرام جمعیت‌های مورد بررسی گشنیز؛ نوار مقیاس= ۵ میکرومتر



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش (وارد) و معیار فاصله اقلیدسی از نظر ویژگی‌های کاریوتیپی

جدول ٤-تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات بین گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر

صفات	میانگین مربعات بین گروه‌ها	میانگین صفات در گروه‌ها		
		گروه ۱	گروه ۲	گروه۳
TL	۷٦/۱٤ **	۳۳/۲۷ b	۳۲/۳۵ b	۳۷/٦۳ a
LA	۰/۵۰ **	۲/۱۸ b	۲/۱۸ b	۲/۵۷ a
SA	۰/۰۲	۰/۸٤ a	۰/۷۵ a	۰/۸۵ a
AR	۰/۵۸ **	۲/۷۳ b	۳/۰۵ a	۳/۱۳ a
CI	۰/۰۰۲ **	۰/۲۷ a	۰/۲٦ ab	۰/۲۵ b
r-value	۰/۰۰۸ **	۰/۳۹ a	۰/۳٦ ab	۰/۳٤ b
%TF	۲۸/۳٦ **	۲۷/۷۳ a	۲۵/۷۳ b	۲٤/۸۷ b
%DRL	۱۷/۱٦ **	٤/٦٤ b	۵/۲۱ b	۷/۰۲ a
%S	۳۹۸/٦٤ **	٦۰/۰۸ a	۵٦/۹۸ a	٤۸/۵۸ b
A1	۰/۰۰۸ **	۰/٦۰ b	۰/٦٤ ab	۰/٦۵ a
%L	۲۸/۳٦ **	۷۲/۲٦ b	۷٤/۲٦ a	۷۵/۱۲ a
A2	۰/۰۱ **	۰/۱۵ b	۰/۱۷ b	۰/۲۱ a
AI	٦/۱٦ **	۲/۹۰ b	۳/۹۲ ab	٤/۱۸ a

* و ** تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

حروف یکسان در هر ردیف نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

بحث

نتایج مطالعات سیتوژنتیکی در این تحقیق نشان داد هر ۱۲ جمعیت دارای سطح پلوئیدی 2n=2x=22 بودند. نتایج حاصل از تحقیقات دیگر محققین (Baijal 1973; Hore 1977; Das 1989; poggio 1994)، در مورد جنس گشنیز نیز تأییدی بر نتایج این تحقیق می‌باشد. (Subramanian 1986) نشان داد که کروموزوم-های این جنس با توجه به طول، موقعیت سانترومر و وجود انقباضات دوم، دارای چهار نوع (C، D، H،K) می‌باشد. فرمول کاریوتیپی جمعیت‌های مورد بررسی نشان داد که نوع کروموزوم-ها در ۱۲ جمعیت مورد مطالعه ساب متاسنتریک و ساب تلوسنتریک بودند. از نظر داشتن ماهواره و موقعیت قرار گرفتن آن بر روی کروموزوم‌ها نیز، تنوع بین جمعیتی مشاهده شد. جمعیت نهاوند ۱ دارای بیش‌ترین تعداد کروموزوم ساب تلوسنتریک بود که بیانگر کاریوتیپی نا متقارن نسبت به کاریوتیپ-های دیگر می‌باشد. جمعیت‌های نجف آباد و نهاوند ۲ در کلاس 3A و دوجمعیت ملایر و نهاوند۱ و اردبیل در کلاس 4B و بقیه جمعیت‌ها در کلاس 4A بر مبنای جدول دو طرفه Stebbins استقرار یافتند که این امر بیانگر عدم تقارن کروموزومی در بین جمعیت‌ها بود (Stebbins 1971). به‌طور کلی عامل‌های L% و TF%، به‌عنوان عامل‌های متقارن بودن درون کروموزومی و عامل-های A2 و S% به‌عنوان عامل‌های متقارن بودن بین کروموزومی

هستند که رابطه آن‌ها با هم یک رابطه معکوس است. با توجه به اینکه در جمعیت‌های مورد مطالعه، این عامل‌ها رابطه معکوس نشان دادند، بنابراین با اندازه‌گیری یکی از این عامل‌های فوق، به میزان متقارن و نامتقارن بودن کروموزوم‌ها پی خواهیم برد (Hesamzadeh Hejaz and Ziyai Nasab 2007). کم‌ترین مقادیر صفات A2، L% و بیش‌ترین مقادیر TF%، S% متعلق به جمعیت نجف‌آباد بود که بیانگر کاریوتیپی متقارن می‌باشد. کم‌ترین مقادیر TF% و S% متعلق به جمعیت ملایر بود، لذا از نامتقارن‌ترین کاریوتیپ‌ها محسوب شد. بیش‌ترین مقدار اختلاف دامنه طول نسبی (DRL) متعلق به جمعیت ملایر بوده که این امر بیانگر بالا بودن درجه تکاملی در جمعیت ملایر بود. کم‌ترین مقدار متعلق به جمعیت‌های نجف‌آباد، همدان و نهاوند ۲ بود که نشان دهنده تقارن کاریوتیپی بوده و این امر تأییدی بر نتایج دیگر صفات بود. با توجه به خصوصیات کروموزومی، جمعیت نجف‌آباد و جمعیت ملایر این دو دارای کم‌ترین قرابت و نزدیکی بودند که بدون شک انجام تلاقی بین جمعیت نجف‌آباد و جمعیت ملایر باعث حداکثر هتروزیگوتی و تنوع خواهد شد.

نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد که بیش‌ترین فاصله بین دو جمعیت اردبیل و اراک وجود داشته است. این نتایج نشان می‌دهد برای ایجاد حداکثر تنوع در جمعیت جدید بایستی تلاقی بین این دو والد انجام شود. با توجه به نتایج تجزیه واریانس خوشه‌ها می‌توان چنین بیان کرد که عامل جدایی جمعیت‌های اردبیل و اراک هم‌چنین جمعیت‌های ملایر و نجف‌آباد که به‌ترتیب در گروه‌های سوم و اول قرار گرفته‌اند، شاخص‌های عدم تقارن درون کروموزومی و بین کروموزومی و صفات مربوط به طول ژنوم است. بر اساس محاسبات بدست آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد جمعیت‌های ملایر، نهاوند ۱ و اردبیل دارای کاریوتیپ‌های نامتقارن‌تر و جعیت‌های نیشابور، اراک، مرکزی، مبارکه، نجف‌آباد و همدان دارای کاریوتیپ‌های متقارن‌تر می‌باشند. جمعیت‌های گروه ۲ با گرایش به کاریوتیپ‌های متقارن حدواسط بین گروه‌ها شدند.

نتایج تجزیه واریانس در باریجه نشان داد جمعیت‌های باریجه از نظر درصد نسبی طول کروموزوم‌ها و نسبت بازوها به لحاظ آماری مشابه بودند اما از نظر طول بازوها و طول مطلق کروموزوم‌ها و نیز شاخص سانترومری تفاوت معنی‌داری را نشان دادند که این نوع تنوع درون گونه‌ای می‌تواند ناشی از تفاوت در مرحله تقسیم سلولی باشد. طول نسبی کروموزوم در کروموزوم شماره ۱ در جمعیت فریدون‌شهر ۱۱/۷ میکرومتر، در جمعیت اصفهان برابر ۱۱/۸۵ میکرومتر، در جمعیت دماوند مساوی ۱۲/۰۲ میکرومتر و در جمعیت تفرش مساوی ۱۲/۰٤ میکرومتر بود. مطالعات بر روی کرفس زراعی (*Apium graveolens*) نشان داده است که کروموزوم‌های این جنس از نوع متاسانتریک، ساب متاسانتریک، ساب تلوسانتریک و تلوسانتریک می‌باشند و بر اساس موقعیت سانترومر به‌صورت ۹ کروموزوم ساب متاسنتریک، یک کروموزوم متاسانتریک و یک کروموزوم تلوسنتریک طبقه‌بندی می‌گردند (Orton and Murata 1984).

نتایج دسته‌بندی کاریوتیپ‌ها به روش استبینز در کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) نشان دادند که کروموزم‌ها بیش‌تر متاسنتریک و ساب‌متاسنتریک هستند و کاریوتیپ جمعیت‌ها بیش‌تر متقارن مشاهده شده‌است (Obeid L; Mehrabi AL; Omidi M; Oladzad A 2012). هم‌چنین جمعیت‌ها در کلاس 2A و 2B قرار گرفتند (Lovene et al. 2008).

کاریوتیپ و رفتار کروموزومی چندگونه از خانواده چتریان را مورد بررسی قرار دادند (Data and Rita 2003). نتایج آن‌ها حاکی از این بود که حضور کروموزوم‌های متاسنتریک در جنس (*Foeniculum vulgare Miller*) متداول است. هم‌چنین طول کل کروماتین هاپلوییدی، نسبت بازوهای کوتاه در طول کل کروماتین و نسبت کوتاه‌ترین کروموزوم به بلندترین کروموزوم را برای این گیاه به‌ترتیب برابر با ۲/۷±۲۹/۱۲ میکرون، ۳۹/۹٦ درصد و ٦٥/٥۹ درصد برآورد کردند. در تحقیقی که صفایی و همکاران بر روی پنج جمعیت رازیانه انجام دادند، کروموزوم‌های ژنوم پنج جمعیت، از نوع متاسانتریک، ساب متاسانتریک و ساب تلوسانتریک بودند. شکل کلی کاریوتیپ‌ها حاکی از تقارن نسبی هر پنج توده است. بررسی طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم نشان داد که دو جمعیت لرستان و فزوه نجف‌آباد با مقادیر به‌ترتیب برابر با ۷۵ درصد و ۷۲/۷۲ درصد متقارن‌تر از سایر جمعیت‌ها و جمعیت اصفهان با ۳۳/۳۳ درصد نسبت به سایرین از تقارن کمتری برخوردار است. بنابراین می‌توان با استفاده از نتایج به

دست‌آمده از تحقیق، جمعیت‌های مناسب را انتخاب و از طریق برنامه‌های به‌نژادی مانند تلاقی پلی کراس، اقدام به تولید ارقام با خصوصیات زراعی مطلوب کرد. هم‌چنین از نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای می‌توان جهت تعیین جایگاه رده‌بندی جمعیت‌ها و انتخاب جمعیت‌های مناسب برای تلاقی استفاده کرد.

منابع

Agayev YM (1996) Advanced squash methods for investigation of plant chromosomes, Fourth Iranian congress in crop production and breeding sciences, Key-note paper, Esfahan university of technology, Isfahan Iran.

Anuradha H (1977) Study of the structure and behavior of chromosomes of the different varieties of *Apium graveolens* (celery), Cytologia 1:21-28.

Baijal SK, Kaul BK (1973) Karyomorphological studies in *Coriandrum sativum* and Cuminum cyminum. Cytologia 38:211-217.

Das A, Mallick R (1989) Variation in 4C DNA content and chromosome characteristics in different varieties of Coriandrum sativum L. Cytologia 54:609-616.

Deng RN, Liu BB, Cai ML, Hao D, Li RF, Liu Y (2006) Cytological study on the medical plant *Foeniculum vulgare* Miller. Journal of Huazhong Agricultural University 25:595-597.

Elgayyar M, Draughon FA, Golden DA, Mount JR. (2001) Antimicrobial activity of Essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. Journal of Food Protection 64:1019-1024.

Ghanbary KH, Shojaiyan A, Fahim S (2012) Evaluation of genetic diversity in some *Coriandrum sativum* L. Species from Iran by using marker of SRAP Third National Conference of Agricultural Biotechnology.(In Farsi)

Guenther E (1952) The essential oils. D. van Nostrand Co., New York 602-615.

Hesamzadeh Hejazi SM, Ziyai Nasab M (2007) Cytogenetic studies of some species of *Hedysarum* in Natural Resources Gene Bank of Iran. Iranian Journal of Genetics Research 15:85-94.(In Farsi)

Hore A (1977) Study of the structure and behaviour of chromosomes of different agricultural strains of *Coriandrum sativum* (Coriander). Caryologia 30:445-459.

Jaberollansar Z (2005) Study of Genetic Variation among Kelussia Odorat Issima Mozaff. Accessions on Chromsomes and Germination Traits. Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. (In Farsi)

Johnson DE (1998) Applied multivariate methods for data analysis. Dunbury Press, New York, USA.

Levan A, Fedga K, Sandberg A (1964) Nomenclature for centrometric position on chromosome. Hereditas 52:201-220.

Maude M, Pamela F (1939) The merton catalogue. A list of the chromosome numerals of species of British flowering plants. New Phytologist 38:1-31.

Obeid L, Mehrabi AL, Omidi M, Oladzad A (2012) Karyotype analysis and meiotic behaviors of Ducrosiaanethifolia: The first case study. African Journal of Agricultural Research 7:4589-4595.

Parsa GhM Mb (2010) Study of Cytogenetic of *Ferula gummosa;* Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. (In Farsi)

Poggio L, Naranjo CA, Vega Nora, Frayssinet A (1994) The Chromosomes of Coriandrum sativum L. The Japan Mendel Society 59:17-23.

Purseglove JW, Brown EG, Green CL, Robbins SRJ (1981) Spices, vol. 2. Longman, New York, pp 736–788.

Romero Zarco C (1986) A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 35:526-530.

Safaei L, Zeinali H, Afiuni D (2007) Study of genetic variation of agronomic characteristics in *Foeniculum vulgare* Mill. Genotypes. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 19:167-180.(In Farsi)

Shanmugavelu KG, Kumar N, Peter K. V (2002) Production technology of spices and plantation crops. Agrobios (India), chapter 11:131-136.

Sheidai M, Kalhor-Home N, Poorneydanei A (2007) Cytogenetic study of some populations of Foeniculumvulgare (Umbelliferae) in Iran. Caryologia 3:257-261.(In Farsi)

Simon JE (1990) Essential oils and culinary herbs. In: Janick J, Simon JE (eds), Advances in new crops. Proceedings of the First National Symposium. New crops: research, development, economics. Timber Press, Portland, Oregon 472-483.

Stebbins GL (1971) Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London, UK.

Subrumanian D (1986) Cytotaxonomical Studies in South Indian Apiaceae. Cytologia 51:479 - 488.

Wangensteen H, Samuelsen AB, Malterud KE (2004) Antioxidant activity in extracts from coriander. Food Chemistry 88: 293.

Zohary D, Heywood VH (1997) An enumeration of the wild genetic resources of native European plants are grown in the Europe for food, forage, ornament, timber and other purposes. Herbarium editerreneum Panormitanum.

Modern Genetics Journal
Vol 11, Number 2, Summer 2016, Quaternary

Cytogenetic diversity in the populations of *Coriandrum sativum L.* of Iran

Esmaeili N[*1], Zeinali H[2], Sadrearhami A[1], Sarrami M[1]

1. Msc Student, Assistant Professor, Payame Noor University, Isfahan, Iran
2. Assistant Professor, Research Center of Agriculture and Natural Resources, Isfahan, Iran
* Corresponding Author, Email: esmaeili.nas@gmail.com

A B S T R A C T

To study the cytogenetic diversity of 12 populations of Coriandrum sativum L. of Iran, squash technique and hematoxylin staining were used. In order to analyze the obtained Karyotype features, variance analysis in a completely randomized design with 3 replicates, the mean characteristics comparison using Duncan's test (at possibility level 1%), factor analysis with principal components analysis, cluster analysis in Ward method with standard Z-scores and analysis of variance comparing the characteristics mean between groups of cluster analysis, was performed. The results of Karyological study of tip root samples showed that basic chromosome number in all populations studied were x=11 and the number of chromosome were 2n = 2x = 22. In terms of Ploidy level, all populations were diploid. Among all total chromosome length (TL), long arm (LA), short arm (SA), difference between the relative length (DRL), relative length of the shortest chromosomes (S%) and the Asymmetry index between chromosomes (A2), there was a significant difference 1%. About percentage of the general shape of karyotype (TF%) and the relative length percentage of long arm (L%) there was a significant difference in the level of 5%, which confirms the chromosomal diversity in studied populations. Cluster analysis of populations based on the characteristics of the karyotype were classified them into 3 groups. The greatest similarity was found between the two populations of Nishapur and Hamedan and the least similarity was found between the two populations of Ardebil, and Arak. The results of variance analysis of clusters showed that all traits except SA showed significant differences between the groups. Populations of Nishapur, Arak, Markazi, Mobarakeh, Najaf Abad and Hamedan in the first group in terms of CI, r-value, % TF and % S had the highest values that confirmed symmetrical karyotypes of this group. The populations Isfahan, Qazvin and Nahavand 2 in the second group in terms of characters were placed between the first and third levels. Populations of Malayer, Nahavand 1 and Ardebil in the third group in terms of the traits of chromosome length (TL, LA, SA, AR, DRL,% L) and indicators of asymmetry (A1, A2, AI) had the maximum values which shows the asymmetry karyotypes of this group.

Key Words

Cluster analysis, Coriandrum sativum L., Karyotype, Variance analysis