

بررسی تنوع کاریوتیپی در کلکسیون گونه *Aegilops triuncialis* L. در ایران

Karyotype diversity in Iranian collection of *Aegilops triuncialis*

مریم ساکی انتظامی^{۱*}، محمد جعفرآقایی^۲، محمد علی ابراهیمی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، واحد تهران شرق

۲- دانشیار، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی

۳- دانشیار، دانشگاه پیام نور، تهران

Saki Entezami M^{*1}, Jafar Aghaei M², Ali Ebrahimi M³

1- MSc Student, Department of agricultural biotechnology, Payam-e-Noor university, Eastern Tehran branch

2- Associate Professor, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

3- Associate Professor, Payam-e-Noor University, Tehran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: maryam.saki.entezami@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۳۱)

چکیده

به منظور بررسی صفات کاریوتیپی و اندازه ژنوم گونه *Ae. triuncialis* جمع آوری شده از ایران، ۲۰۹ جمعیت از کلکسیون موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران مورد مطالعه فلوسیتومتری و سیتوژنتیکی قرار گرفتند. جمعیت‌ها به روش فلوسیتومتری با استفاده از DAPI بررسی شدند. پیک فلوسیتومتری برای نمونه‌ها از ۴۲ تا ۹۵ با میانگین ۶۳/۷۴ و انحراف معیار ۱۱/۸۳ مشاهده شد. میانگین پیک نمونه شاهد گندم ۱۲۰/۶۷ با انحراف معیار ۵/۴۰ بود. نسبت محتوای DNA در نمونه‌های مورد بررسی به نمونه شاهد هگزاپلوئید بین ۰/۴۴ تا ۰/۵۷ با میانگین ۰/۵۳ بود. مطالعه کاریوتیپ نمونه‌ها، نشان داد که تمام نمونه‌های مورد بررسی تتراپلوئید و عدد پایه آن‌ها $x=7$ بود. کروموزوم‌های گونه *Ae. triuncialis* شامل پنج تا ۱۰ جفت کروموزوم ساب متاسانتریک (sm) و چهار تا نه جفت کروموزوم متاسانتریک (m) بود. دو جفت ساتلایت در انتهای بازوهای کوتاه کروموزوم ۸ و ۱۲ مشاهده شد. میانگین طول بلندترین کروموزوم ۱۴/۸۷ و میانگین طول کوتاهترین کروموزوم ۱۲/۱۲ میکرومتر بود. نسبت طول بازوی بلند به کوتاه (AR) از ۱/۶۶ تا ۲/۰۳ و شاخص سانترومری (CI) از ۰/۳۵ تا ۰/۳۹ مشاهده شد. بنابراین این گونه در کلاس ۲A جدول استینز قرار گرفت. حداکثر شاخص درصد شکل کلی، ۳۸/۲۶ و حداقل آن، ۳۴/۶۳ درصد مشاهده شد. در مجموع این خصوصیات بیانگر تقارن نسبی کروموزوم‌ها بوده و به نظر می‌رسد که این گونه در مرحله اولیه تکامل خود قرار دارد.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی

شاخص‌های سیتوژنتیکی

فلوسیتومتری

Aegilops triuncialis

مقدمه

گندم گسترده‌ترین محصول زراعی در جهان هم از نظر سطح زیر کشت و هم از نظر مصرف است. این گیاه غذای اصلی حدود ۲۵ درصد جمعیت دنیا را تشکیل می‌دهد (Rajaram 2000). متخصصین پیش‌بینی می‌کنند که تا سال ۲۰۲۰ میزان تقاضا برای گندم ۴۰ درصد افزایش پیدا کند. لذا افزایش سریع تولید گندم ضروری می‌باشد. افزایش تولید مستلزم استفاده از تنوع جدید و وسیع خویشاوندان وحشی گندم به‌ویژه در زمینه‌هایی که ارقام تجاری از تنوع زیادی برخوردار نیستند، می‌باشد. هم‌چنین مشخص شده‌است که گندم هگزاپلوئید نسبت به والد دیپلوئید وحشی خود از تنوع ناچیزی برای بسیاری از صفات مهم زراعی برخوردار است (Murphy et al. 1997). به همین دلیل توجهات به استفاده از خویشاوندان وحشی گندم نان برای افزایش دامنه تنوع ژنتیکی در گندم نان و توسعه پایه ژنتیکی این گونه جلب شده‌است. گونه *Aegilops triuncialis*. L با نام رایج Barb goatgrass یک علف هرز یکساله زمستانه، متعلق به خانواده Poaceae است. این گونه یک آلوتراپلوئید ($2n=4x=28$) با فرمول ژنومی UCC است که از تلاقی بین گونه‌های *Ae.umbellulata* (با فرمول ژنومی UU) و *caudata* *Ae.* (با فرمول ژنومی CC) به‌وجود آمده است (Wang et al. 1997). این ژنوم‌ها با ژنوم‌های گندم نان *Triticum eastivum* (AABBDD) همیولوگ بوده و قابلیت تلاقی با آن را دارا می‌باشند. در میان گونه‌های جنس *Aegilops* گونه *Ae.triuncialis* فراوان‌ترین گونه آزیلوپس ایران است که تقریباً در همه نواحی ایران یافت می‌شود (Tootiaei and Jaffaraghaei 2007). این گونه پلی‌پلوئید داری سازگاری به دامنه وسیعی از شرایط محیطی است (Van Slageren 1994). از این گونه ژن‌های مقاومت به آفت سیست غلات (Romero et al. 1998) و مگس گندم (Martín-Sánchez 2003)، ژن مقاومت به بیماری زنگ برگ (Aghaee-Sarbarzeh et al. 2007) و هم‌چنین ژن‌های مقاومت به تنش‌های محیطی شامل تنش شوری (Farooq et al. 1989; Farooq et al. 1993; Xu et al. 1993; Gorham, 1990)، تنش سرما (Barashkova 1981; Limin and Fowler 1981; Barashkova 1991) و تنش خشکی (Damania et al. 1992; and Vavilov. 1991)

(Waines et al. 1993; Rekika et al. 1998) به گندم نان منتقل شده‌است. استفاده از روش‌های فلوسیتومتری به‌همراه مطالعه تکمیلی شمارش کروموزومی یک شیوه سریع و کارآمد برای تعیین وضعیت پلوئیدی و تغییرات کروموزومی در میان گونه‌های وحشی است (Bakhshi et al. 2008; Jaffaraghaei et al. 2012; Hoseini et al. 2013; Naghavi et al. 2013). با توجه به گسترش وسیع جغرافیایی و تنوع زیاد این گونه در ایران این مطالعه به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی برای صفات سیتوژنتیکی در میان جمعیت‌های *Ae. triuncialis* شمال غرب ایران انجام شده‌است.

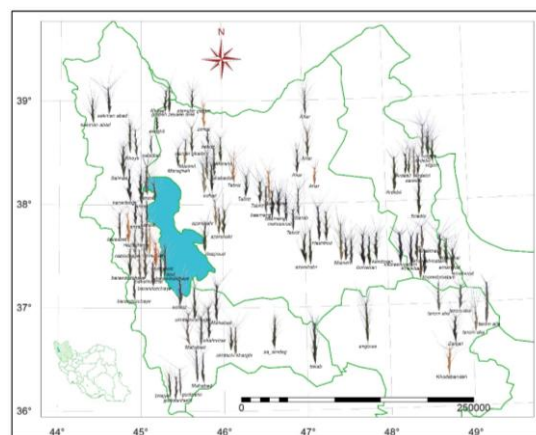
مواد و روش‌ها

به‌منظور تعیین سطوح پلوئیدی کلکسیون *Ae. triuncialis* موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران که از مناطق جغرافیایی مختلف در شمال غرب ایران جمع‌آوری شده بودند (شکل ۱) و (جدول ۱)، با استفاده از دستگاه فلوسیتومتری، نسبت محتوای DNA ۲۰۹ جمعیت از گونه *Ae. triuncialis* به‌همراه گیاه شاهد گندم زراعی هگزاپلوئید (*Triticum aestivum*) رقم پیشگام مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد دو برگ جوان از نمونه و گندم شاهد به اندازه دو سانتی‌متر را بریده و مقدار ۱۵۰۰ میکرولیتر از بافر DAPI بر روی برگ‌ها ریخته شد و با استفاده از تیغ کاملاً خرد شدند. سوسپانسیون حاصله، از فیلتر مخصوص دستگاه عبور داده شد و به‌وسیله دستگاه فلوسیتومتری مدل PARTEC PA تجزیه شدند. اندازه‌گیری محتوای DNA نمونه‌های مورد آزمایش با $Gain=400$ انجام شد (Bagwell et al. 1989). اندازه‌های مربوط به پیک هر نمونه در فایل اکسل وارد و برای مقایسه در هر مورد نسبت پیک نمونه آزیلوپس به پیک شاهد محاسبه و به‌عنوان مبنای مقایسه برای برآورد سطح پلوئیدی نمونه آزیلوپس به‌کار برده شد. از میان نمونه‌های مورد بررسی شش جمعیت که براساس شاخص فلوسیتومتری، دارای بیش‌ترین و کم‌ترین پیک محتوای DNA بودند، از لحاظ ویژگی‌های کاربوتیپ میتوزی مورد بررسی قرار گرفتند. برای این منظور تعداد ده عدد بذر از هر جمعیت بعد از جدا کردن پوشینه‌ها و استریل، کشت و جوانه دار شدند.

ریشه‌ها در پنج میلی‌لیتر استیک اسید ۴۵ درصد حرارت داده شده و سپس بر روی لام اسکواش شدند (Mujeeb-Kazi and Miranda 1985). اسلایدها در زیر میکروسکوپ بررسی شدند. از هر جمعیت حداقل دو اسلاید و از هر اسلاید حداقل سه سلول متافازی مختلف تهیه و با استفاده از میکروسکوپ دوربین دار ZEISS با بزرگنمایی ۱۰۰۰ عکس تهیه شد. در تمام جمعیت‌های مورد مطالعه ابتدا تعداد کروموزوم در هسته سلول شمارش شد و پارامترهای کاربوتیپی نظیر طول کل کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA)، نسبت بازوها (AR) و شاخص سانترومیری (CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است، توسط نرم‌افزار Micro measure 3.3 برحسب میکرون اندازه‌گیری شدند و جفت کروموزوم‌های مشابه با توجه به صفات طول کروموزوم‌ها و نسبت بازوهای کروموزومی مشخص شدند و سپس از میانگین آن‌ها برای تجزیه‌ها و محاسبه شاخص‌ها استفاده شد. به منظور شناسایی تنوع در تقارن درون کروموزومی، پارامترهای شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A_1)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A_2)، اختلاف طول نسبی بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین کروموزوم (DRL)، مقدار نسبی کروماتین (VRC)، درصد شکل کلی (%TF)، شاخص پراکنش کروموزومی (DI) محاسبه شدند (جدول ۲) و ایدیوگرام نمونه‌ها بر مبنای میانگین طول بازوی بلند و میانگین طول بازوی کوتاه مربوط به هر گونه با نرم‌افزار Excel رسم شد. برای تعیین نوع کروموزوم‌ها نیز از روش Levan et al. (1964) و برای تعیین وضعیت تکاملی و مطالعه تقارن کاربوتیپی جمعیت‌ها از جدول دو طرفه استبینز استفاده شد (Stebbins 1971).

نتایج و بحث

پیک فلوستومتری نمونه‌های آزیلوپس مورد بررسی بین ۴۲ تا ۹۵ با میانگین ۶۳/۷۴ و انحراف معیار ۱۱/۸۳ بود. میانگین پیک فلوستومتری برای شاهد گندم هگزابلوئید ۱۲۰/۶۷ با انحراف معیار ۵/۴۰ به دست آمد. نسبت محتوای DNA در نمونه‌های آزیلوپس مورد بررسی به نمونه شاهد هگزابلوئید بین ۰/۴۴ تا ۰/۵۷ با میانگین ۰/۵۳ بود (شکل ۲).



شکل ۱- نقشه پراکنش نمونه‌های گونه *Ae. triuncialis* مورد بررسی در شمال و شمال غرب ایران

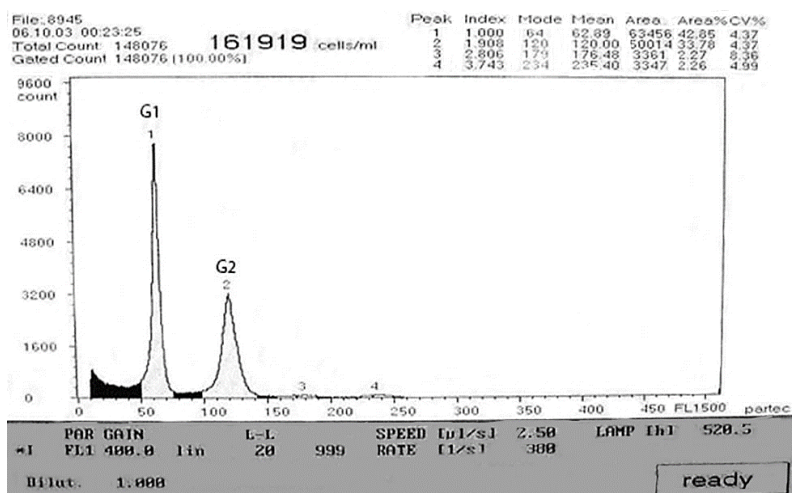
جدول ۱- لیست محل جمع‌آوری و تعداد نمونه مورد بررسی از گونه *Ae. triuncialis* ایران

ردیف	محل جمع‌آوری		تعداد نمونه
	استان	شهر	
۱	اردبیل	اردبیل	۱۱
		خلخال	۱۰
۲	آذربایجان غربی	مهاباد	۱۶
		میاندوآب	۱۰
		ارومیه	۴۰
		سردشت	۸
		ناشناس	۶
		خوی - سلماس	۱۴
۳	آذربایجان شرقی	اهر	۸
		مراغه	۶
		مرند	۱۰
		میانه	۱۱
		تبریز	۲۴
		سراب - هشترود	۵
۴	زنجان	زنجان	۳۰

زمانی که ریشه‌های بذر به حدود ۰/۵ تا ۱/۵ سانتی‌متر رسیدند، از بذرهای جدا شده و به مدت سه ساعت در محلول ۸- هیدروکسی کینولین پیش تیمار شدند. در مرحله تثبیت ریشه‌ها در محلول استوارسین ۰/۲ درصد به مدت یک هفته و در مرحله رنگ‌آمیزی در محلول استوارسین ۲ درصد به مدت یک شب در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور هیدرولیز،

جدول ۲- پارامترهای محاسبه شده برای کاریوتیپ‌های مورد مطالعه

پارامتر	علامت	فرمول	نحوه اندازه‌گیری
طول کل کروموزوم ^۱	TL	$TL=LA_i+SA_i$	مجموع طول بازوی بلند و کوتاه
نسبت بازوها ^۲	AR	$AR=LA_i/SA_i$	نسبت بازوی بلند به کوتاه
شاخص سانترومیری ^۳	CI	$CI=SA_i/TL_i$	نسبت طول بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم
درصد شکل کلی ^۴	%TF	$\%TF = \sum_{i=1}^n SA_i / \sum_{i=1}^n TL_i \times 100$	نسبت مجموع طول کل بازوهای کوچک به مجموع طول کل کروموزومها ضرب در صد (Huziwara 1962).
اختلاف دامنه طول نسبی ^۵	DRL	$DRL = \%RL_{Max} - \%RL_{Min}$	اختلاف بیشترین درصد طول نسبی کروموزوم از کمترین درصد طول نسبی کروموزوم (Soloki 2007).
شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی ^۶	A ₁	$A_1 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n \frac{S_i}{L_i}}{n}$	n تعداد جفت کروموزومهای همولوگ، S _i طول بازوهای کوتاه در هر جفت کروموزومی همولوگ و L _i طول بازوهای بلند در هر جفت کروموزومی همولوگ (Romero-Zarco 1986).
شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی ^۷	A ₂	$A_2 = \frac{Sd}{\bar{x}}$	Sd انحراف استاندارد طول کروموزومها برای هر گونه به میانگین طول کروموزومها (Romero-Zarco 1986).
شاخص پراکنش کروموزومی	DI	$DI = CV \times CG$	ضریب تنوع CV ضریبگرادیانت سانترومیری CG
مقدار نسبی کروماتین ^۸	VRC	$VRC = \sum_{i=1}^n TL_i / n$	میانگین طول کل کروموزومهای یک کاریوتیپ (Soloki 2007).



شکل ۲- منحنی پیک فلوسیتومتری یکی از نمونه‌های گونه *Ae. triuncialis* ۱- پیک G₁ نمونه *Ae. triuncialis* مورد بررسی، ۲- پیک G₂ نمونه شاهد گندم هگزاپلوئید *Triticum aestivum*. محور افقی: محتوای DNA در هر سلول. محور عمودی: تعداد سلول شمارش شده

¹ Total length

² ioArm rat

³ Centromer index

⁴ Total form percentage

⁵ Difference of range relative length

⁶ Intrachromosomal asymmetry index

⁷ Interchromosomal asymmetry index

⁸ Value of relative Chromatine

جدول ۳- حداقل، حداکثر و میانگین شاخص محتوای DNA در گونه *Ae. triuncialis*

محل جمع‌آوری	تعداد نمونه	دامنه پیک	حداقل پیک	میانگین پیک	حداکثر پیک	انحراف معیار	حداقل نسبت*	میانگین نسبت*	حداکثر نسبت*
اردبیل	۲۱	۲۹	۴۷	۶۱/۵۲	۷۶	۷/۹۲	۰/۵۱	۰/۵۳	۰/۵۶
آذربایجان غربی	۹۴	۴۵	۴۴	۶۳/۱۸	۸۹	۱۱/۲۲	۰/۴۶	۰/۵۳	۰/۵۷
آذربایجان شرقی	۶۴	۵۲	۴۳	۶۵/۰۲	۹۵	۱۳/۳۳	۰/۴۴	۰/۵۳	۰/۵۵
زنجان	۳۰	۵۱	۴۲	۶۴/۳۳	۹۳	۱۲/۷۱	۰/۵۱	۰/۵۳	۰/۵۵
کل	۲۰۹	۵۳	۴۲	۶۳/۷۴	۹۵	۱۱/۸۳	۰/۴۴	۰/۵۳	۰/۵۷

* نسبت پیک نمونه آزیلوپس به پیک شاهد گندم هگزابلونید

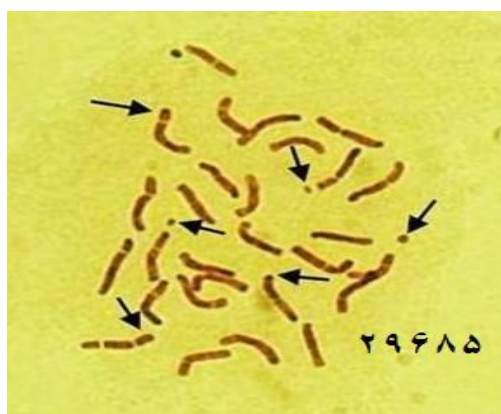
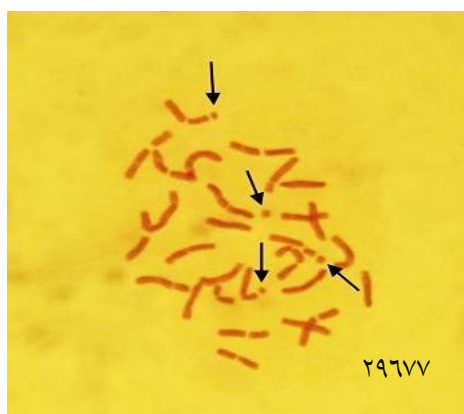
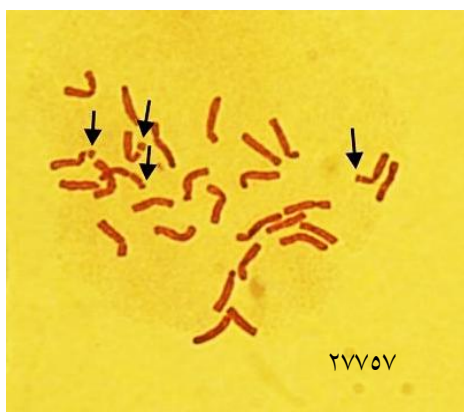
جدول ۴ - مشخصات کاربوتیپی برای جمعیت‌های مورد بررسی از گونه *Ae. triuncialis*

محل جمع‌آوری	شماره کلکسیون	سطح پلوئیدی و تعداد کروموزوم	تعداد ساتلیت	فرمول کاربوتیپی (Levan et al. 1964)	دسته بندی استبینز (Stebbins 1971)
اردبیل (خلخال)	KC۲۹۶۷۷	$2n=4x=28$	۲	$9m+5sm$	۲A
آذربایجان غربی (ارومیه)	KC۲۷۷۵۷	$2n=4x=28$	۲	$6m+8sm$	۲A
آذربایجان غربی (مهاباد)	KC ۲۷۹۶۴	$2n=4x=28$	۲	$5m+9sm$	۳A
آذربایجان شرقی (تبریز)	KC ۲۸۰۸۱	$2n=4x=28$	۲	$7m+7 sm$	۲A
زنجان (زنجان)	KC۲۹۶۸۵	$2n=4x=28$	۳	$9m+5sm$	۲A
زنجان (زنجان)	KC۲۷۸۹۶	$2n=4x=28$	۳	$8m+10sm$	۲A

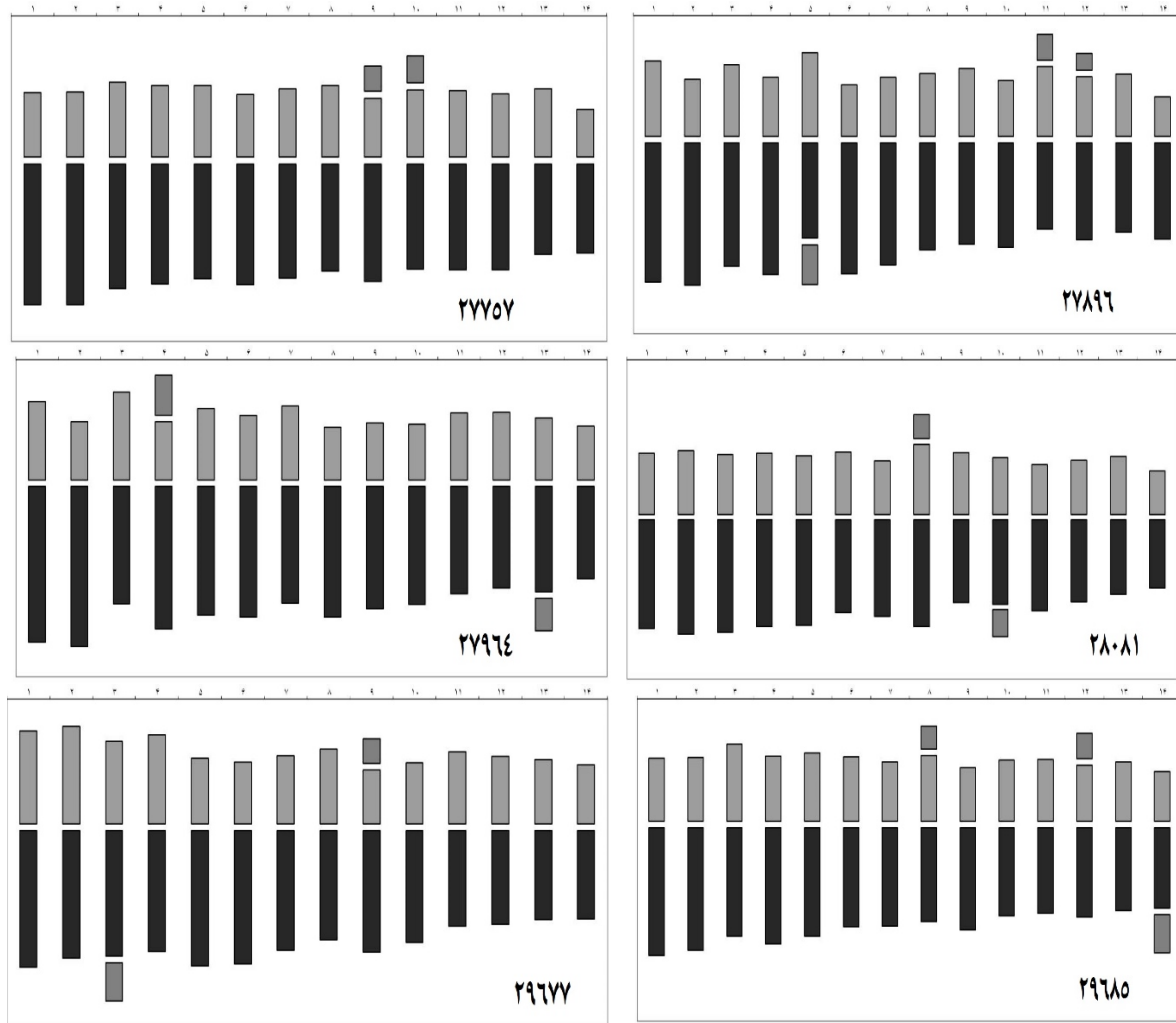
و در هر اسلاید حداقل سه سلول با صفحه متافازی مناسب بررسی شد. همه جمعیت‌ها دارای تعداد کروموزوم $2n=28$ بودند. تعداد ساتلیت‌ها از ۲ تا ۳ جفت و طول ساتلیت‌ها از ۱/۷۰ تا ۳/۱۵ میکرون متفاوت بود. کروموزوم‌های گونه *Ae. triuncialis* براساس تقسیم‌بندی (Levan et al. 1964) شامل ۵ تا ۱۰ جفت کروموزوم ساب متاسانتریک (sm) و ۴ تا ۹ جفت کروموزوم متاسانتریک (m) بود. تعداد ۶ جمعیت در کلاس ۲A و ۱ جمعیت در کلاس ۳A قرار گرفتند (جدول ۴). تنوع کروموزومی در جمعیت‌های مختلف یک گونه می‌تواند در نتیجه تغییرات ساختاری از قبیل حذف و وارونگی ایجاد شود (vijayavalli and Al-Mashhadani et al. 1980). در یک مطالعه (Mathew 1990) در گونه *Ae. triuncialis* دو جفت کروموزوم ساتلیت‌دار، چهار جفت متاسانتریک، سه جفت ساب متاسانتریک و پنج جفت ساب تلوسانتریک مشاهده کردند. در یک مطالعه دیگر در بررسی شش نمونه از این گونه، بین ۴ تا ۱۳ جفت کروموزوم متاسانتریک و ۱ تا ۱۰ جفت کروموزوم ساب متاسانتریک مشاهده و نمونه‌های مطالعه شده در کلاس‌های ۱A تا ۱B استبینز گروه‌بندی شدند (Karimzadeh et al. 2010).

به این ترتیب سطح پلوئیدی نمونه‌های آزیلوپس مورد بررسی تتراپلوئید برآورد شد. در یک مطالعه دیگر بر روی سی و شش نمونه از این گونه، پیک فلوسیتومتری بین دامنه‌های ۸۵ تا ۱۳۶ با میانگین ۱۰۳ مشاهده شد، که آن‌ها نیز نمونه‌های مورد بررسی را تتراپلوئید برآورد کرده بودند (Jaffaraghaei et al. 2013). نتایج فلوسیتومتری نمونه‌های مورد بررسی نشان داد که کم‌ترین دامنه پیک نمونه‌ها مربوط به استان اردبیل برابر با ۲۹ و بیش‌ترین دامنه مربوط به استان آذربایجان شرقی برابر با ۵۲ بود. بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین پیک نمونه به ترتیب مربوط به استان‌های آذربایجان شرقی با ۶۵/۰۲ و استان اردبیل ۶۱/۵۲ و هم‌چنین بیش‌ترین و کم‌ترین انحراف معیار به ترتیب مربوط به استان‌های آذربایجان شرقی ۱۳/۳۳ و استان اردبیل ۷/۹۲ بود. میانگین پیک نمونه‌های آزیلوپس به نمونه شاهد در همه جمعیت‌ها ۰/۵۳ بود (جدول ۳).

به‌منظور بررسی دقیق‌تر و تأیید نتایج فلوسیتومتری با توجه به حدود پیک فلوسیتومتری شش جمعیت که دارای حداکثر و حداقل محتوای DNA بودند (بیش‌ترین دامنه اختلاف) جهت مطالعه کاربوتیپی انتخاب شدند. از هر جمعیت حداقل دو اسلاید



شکل ۳- سلول متافازی جمعیت‌های مختلف گونه *Ae. triuncialis* محل ساتلیت‌ها با فلش مشخص شده‌است.



شکل ۴ - آیدیوگرام جمعیت‌های مختلف گونه *Ae. triuncialis*

جدول ۵- میانگین ویژگی‌های مورفولوژیکی کروموزوم‌ها در نمونه‌های بررسی شده از گونه *Ae. triuncialis*

شماره	نوع کروموزوم	TL	L	S	AR	CI
۱	sm	۱۶/۹۳	۱۰/۹۹	۵/۹۵	۱/۹۹	۰/۳۵
۲	sm	۱۶/۱۶	۱۰/۷۷	۵/۳۹	۲/۱۵	۰/۳۴
۳	sm	۱۵/۵۴	۹/۶۱	۵/۹۴	۱/۷۵	۰/۳۸
۴	sm	۱۵/۲۷	۹/۸۱	۵/۴۶	۱/۹۶	۰/۳۶
۵	sm	۱۴/۷۵	۹/۱۲	۵/۶۳	۱/۸۳	۰/۳۸
۶	sm	۱۴/۲۸	۹/۲۵	۵/۰۳	۱/۹۵	۰/۳۵
۷	sm	۱۳/۹۶	۸/۸۱	۵/۱۵	۱/۷۹	۰/۳۷
۸	sm	۱۳/۶۹	۸/۸۰	۴/۸۹	۱/۹۳	۰/۳۶
۹	sm	۱۳/۲۹	۸/۶۸	۴/۶۱	۲/۰۳	۰/۳۵
۱۰	sm	۱۲/۹۱	۸/۱۵	۴/۷۷	۱/۸۰	۰/۳۷
۱۱	m	۱۲/۷۶	۷/۵۴	۵/۲۲	۱/۵۹	۰/۴۱
۱۲	m	۱۲/۴۴	۷/۵۳	۴/۹۱	۱/۶۲	۰/۳۹
۱۳	m	۱۲	۷/۰۸	۴/۹۳	۱/۴۸	۰/۴۱
۱۴	sm	۱۰/۷۹	۶/۸۰	۳/۹۹	۱/۸۰	۰/۳۷

CI: شاخص سانترومری، AR: نسبت طول بازوها، S: طول بازوی کوتاه،

L: طول بازوی بلند، TL: طول کل کروموزوم

جدول ۶ - میانگین شاخص‌های کاربوتیپی برای هر کدام از جمعیت‌های مورد بررسی از گونه *Ae. triuncialis*

شماره کلکسیون	DRL	VRC	L	S	AR	TL	CI	TF%	CV	DI	A ₁	A ₂
KC29677	۴۳/۷۹	۱/۰۲	۸/۷۲	۵/۵۲	۱/۷۱	۱۴/۲۴	۰/۳۹	۳۸/۷۶	۱۵	۲۳/۷۰	۰/۳۶	۰/۱۵
KC27757	۳۸/۶۴	۰/۸۷	۷/۶۹	۴/۴۲	۱/۸۲	۱۲/۱۲	۰/۳۸	۳۷/۵۱	۱۳/۶۵	۲۳/۷۳	۰/۴۲	۰/۱۴
KC27964	۴۶/۷۱	۱/۰۶	۹/۷۲	۵/۱۵	۲/۰۳	۱۴/۸۷	۰/۳۵	۳۴/۶۳	۱۴/۷۸	۲۷/۸۹	۰/۴۶	۰/۱۵
KC28081	۴۳/۲۶	۱/۰۳	۸/۹۱	۵/۴۷	۱/۷۵	۱۴/۳۹	۰/۳۸	۳۸/۰۵	۱۹/۸۱	۳۲/۲۴	۰/۳۸	۰/۲۰
KC29685	۳۷/۳۸	۰/۹۰	۷/۷۵	۴/۸۳	۱/۶۶	۱۲/۵۹	۰/۳۹	۳۸/۳۹	۱۵/۵۲	۲۴/۹۰	۰/۳۷	۰/۱۶
KC27896	۴۵/۳۳	۰/۹۸	۸/۷۸	۴/۹۵	۱/۹۳	۱۳/۷۲	۰/۳۶	۳۷/۰۸	۲۳/۵۰	۴۱/۶۲	۰/۴۲	۰/۲۳

DRL = اختلاف طول نسبی کروموزوم، VRC = مقدار نسبی کروماتین، CG = گرادینت سانترومری، Long arm = طول بازوی بلند، Short arm = طول بازوی کوتاه، Arm Ratio (L/S) = نسبت بازوها، Cent. Index (S/(L+S)) = شاخص سانترومری، Length each = طول کل کروموزوم، TF% = درصد شکل کلی، CV = ضریب تغییرات طولی کروموزوم، DI = شاخص پراکنش کروموزومی، A₁ = شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی، A₂ = شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی

۶/۸۰ میکرومتر، و میانگین حداکثر و حداقل شاخص سانترومری ۰/۴۱ و ۰/۳۴ میکرومتر می‌باشد (جدول ۵).

از بین جمعیت‌های مورد مطالعه، در نمونه شماره ۲۷۹۶۴ بیش‌ترین اختلاف طول نسبی کروموزوم (DRL)، بیش‌ترین مقدار نسبی کروماتین (VRC)، حداکثر طول بازوی بلند (L)، حداکثر نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه (AR)، بلندترین کروموزوم، حداقل شاخص سانترومری (CI) و حداکثر شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A₁) مشاهده شد. در نمونه شماره ۲۷۷۵۷ کم‌ترین مقدار نسبی کروماتین (VRC)، حداقل طول بازوی بلند (L) و حداقل طول بازوی کوتاه (S)، کوتاه‌ترین کروموزوم، حداقل شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A₂) مشاهده شد. در نمونه شماره ۲۹۶۸۵ حداقل اختلاف طول نسبی کروموزوم (DRL)، حداقل نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه (AR) و حداکثر شاخص سانترومری (CI) مشاهده شد. در نمونه شماره ۲۷۸۹۶ حداکثر شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A₂) مشاهده شد. همچنین حداکثر طول بازوی کوتاه (S)، حداقل شاخص بودن نامتقارن درون کروموزومی (A₁) و حداکثر شاخص سانترومری (CI) در نمونه شماره ۲۹۶۷۷ نیز دیده شد. حداکثر درصد شکل کلی (TF%)، در جمعیت شماره ۲۹۶۷۷، برابر ۳۸/۷۶ و حداقل آن در جمعیت شماره ۲۷۹۶۴، برابر با ۳۴/۶۳ مشاهده شد و این نشان می‌دهد که کروموزوم‌های جمعیت ۲۹۶۷۷ سانترومر میانی یا نسبت میانی بیشتری از سایر جمعیت‌ها دارد. به عبارت دیگر کاربوتیپی این جمعیت تقارن بیش‌تری داشته و یک گونه ابتدایی و تکامل نیافته از نظر کاربوتیپی شناخته می‌شود. بیش‌ترین ضریب تغییرات (CV) در جمعیت شماره

در مطالعه‌ای بر روی ۱۵ جمعیت از آجیلوپس‌های مناطق غرب ایران، جمعیت‌های گونه‌های *Ae. triuncialis* و *Ae. cylindrica* براساس روش دسته‌بندی دو جفت ساتلیت در انتهای بازوهای کوتاه کروموزوم شماره ۸ (۲/۰۹ میکرون) و کروموزوم شماره ۱۲ (۱/۷۰ میکرون) مشاهده شد. کاربوتیپی و ایدیوگرام کروموزوم‌های سلول‌های سوماتیکی نوک ریشه جمعیت‌های مختلف گونه *Ae. triuncialis* در (شکل‌های ۳ و ۴) آورده شده‌است. (Jaffaraghaei et al. (2013) با مطالعه بر روی ۳۶ جمعیت از گونه *Ae. triuncialis*، سیزده جفت کروموزوم ساب متاساتریک و یک جفت کروموزوم ساب تلوساتریک مشاهده کردند. شاخص سانترومری برای این گونه ۰/۰۶ و ضریب تغییرات طول کروموزوم‌ها ۰/۱۳ برآورد شد. دو جفت ساتلیت بر روی بازوهای کوتاه کروموزوم‌های ۱۳ و ۱۴ مشاهده شد. شاخص پراکنش کروموزومی برای این گونه به میزان ۰/۴۶ برای تقارن کروموزومی در جایگاه ۲A جدول استیبنز قرار گرفت که بیانگر نامتقارن بودن کروموزوم است. ضریب تنوع برابر ۰/۵۴، گرادینت سانترومری برابر ۰/۷۸ و شاخص پراکنش کروموزومی برابر با ۰/۴۲ مشاهده شد که نشان دهنده نامتقارن بودن کاربوتیپی بود.

بررسی کاربوتیپی‌ها نشان داد میانگین حداکثر و حداقل طول کل کروموزوم در این گونه به ترتیب ۱۶/۹۳ و ۱۰/۷۹ میکرومتر، میانگین حداکثر و حداقل نسبت بازوها به ترتیب برابر با ۲/۱۵ و ۱/۴۸، میانگین حداکثر و حداقل طول بازوی کوتاه ۵/۹۵ و ۳/۹۹ میکرومتر، میانگین حداکثر و حداقل طول بازوی بلند ۱۰/۹۹ و

(m) و دو تا سه جفت ساتالایت است. بررسی‌های کاریوتیپی، نتایج حاصل از مطالعه فلوسیتومتری را تأیید کرد. تنوع قابل توجهی برای خصوصیات فلوسیتومتری و خصوصیات سیتوژنتیکی در میان نمونه‌های مورد بررسی وجود داشت. از لحاظ خصوصیات فلوسیتومتری نمونه‌های استان آذربایجان شرقی از تنوع بیش‌تر و نمونه‌های استان اردبیل از تنوع کمتری برخوردار بودند. بیش‌ترین دامنه، میانگین و انحراف معیار پیک فلوسیتومتری در نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان آذربایجان شرقی و کم‌ترین آن در نمونه‌های استان اردبیل مشاهده شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان آذربایجان غربی بیش‌ترین تنوع را برای خصوصیات کاریوتیپی نشان می‌دادند. بطوریکه بیش‌ترین و کم‌ترین تنوع از لحاظ طول کل کروموزوم‌ها و همچنین شاخص‌های مربوط به کاریوتایپ نمونه‌های مورد بررسی در میان نمونه‌های این استان و به‌ترتیب در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مهاباد و ارومیه مشاهده شد. با توجه به اینکه جمعیت‌های مورد مطالعه از لحاظ خصوصیات کاریوتیپی براساس روش دسته‌بندی استبیز عموماً در کلاس‌های 3A (نمونه‌های آذربایجان غربی) و 2A (سایر نمونه‌های مورد بررسی) قرار می‌گرفتند که بیانگر تقارن بالا در کاریوتایپ این گونه است، به‌نظر می‌رسد گونه *Ae. triuncialis* یک گونه جدید با سابقه تکامل کم است.

سپاسگزاری

نگارندگان وظیفه خود می‌دانند از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و بانک ژن گیاهی ملی ایران که امکانات اجرایی جهت انجام این مطالعه را فراهم نمودند سپاسگزاری نمایند.

۲۷۸۹۶ مشاهده شد (۲۳/۵۰ درصد) که نشان‌دهنده تغییرات بیش‌تر در کروموزوم‌های این جمعیت می‌باشد و کم‌ترین ضریب تنوع (CV) در جمعیت شماره ۲۷۷۵۷ مشاهده شد (۱۳/۶۵ درصد) که نشان‌دهنده یکنواختی بیش‌تر طول کروموزوم‌های این جمعیت است. حداکثر شاخص پراکنش کروموزومی (DI) در جمعیت شماره ۲۷۸۹۶، ۴۱/۶۲ بود که نشان‌دهنده تقارن کاریوتیپی بیش‌تر در این جمعیت است. همچنین حداقل (DI) در جمعیت شماره ۲۹۶۷۷، ۲۳/۷۰ مشاهده شد که بیانگر تقارن کاریوتیپی کمتر در این جمعیت می‌باشد. این شاخص تقارن از سایر شاخص‌ها معتبرتر است زیرا در محاسبه آن هر سه معیار مهم کاریوتیپی یعنی تغییرات طولی کروموزوم‌ها، موقعیت سانترومر و اندازه نسبی کروموزوم‌ها منظور می‌شود (جدول ۶). در مطالعه‌ای بر روی ۱۳ جمعیت از گونه *Ae. triuncialis* حداکثر درصد شکل کلی (TF%) برای جمعیت ۴۰، ۳۳/۷۷ درصد و حداقل آن در جمعیت شماره ۴۲، ۲۵/۳۷ درصد مشاهده شد. همین‌طور بیش‌ترین ضریب تغییرات (CV) در جمعیت ۱۱۰ (۱۷/۱۸ درصد) و کم‌ترین ارزش (CV) مربوط به جمعیت شماره ۴۰ (۷/۰۷ درصد) مشاهده شد. همچنین شاخص پراکندگی (DI) در جمعیت شماره ۴۰ حداکثر (۴/۷۶) و حداقل مقدار (DI) مربوط به جمعیت شماره ۱۱۰، (۱/۶۹) بود (Ahmadabadi et al. 2005).

نتیجه‌گیری کلی

گونه *Aegilops triuncialis*. L یک گونه تتراپلوئید با ۲۸ کروموزوم است ($2n=4x=28$). کروموزوم‌های این گونه براساس تقسیم‌بندی (Levan et al. 1964) شامل ۵ تا ۱۰ جفت کروموزوم ساب متاساتریک (sm) و ۴ تا ۹ جفت کروموزوم متاساتریک

منابع

Aghaee-Sarbarzeh M, Ferrahi M, Singh S Singh H, Friebe B, Gill BS, Dhaliwal HS (2007) Phi-induced transfer of leaf and stripe rust-resistance genes from *Aegilops triuncialis* and *Ae. geniculata* to bread wheat. *Euphytica* 127: 377-382.

Ahmadabadi M, Ahmadian Tehrani P, Omidi M, and Davodi D (2005) Study of intra-specific Karyotype variation in *Aegilops triuncialis* at North West of Iran. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 36:969-977.

Al-Mashhadani AN, Al-Shehbaz IA & Soliman AS (1980) Karyotype analysis for five tetraploid *Aegilops* species native to Iraq. *Caryologia* 33: 495-502.

Bagwell CB, Baker D, Whetstone S, Munson M, Hitchcox S, Ault K A and Lovett E J (1989) A simple and rapid method for determining the linearity of a flow cytometer amplification system, *Cytometry* 10: 689-694.

Bakhshi B, Jaffaraghaei M, Bihamta MR, Darvish F, Zarifi E (2008) Ploidy evaluation in some accessions of *Aegilops*

- cylindrical by Flow Cytometry method. *New Genetics J. Special issue for 10th Iranian Genetics congress.* (In farssi) Barashkova EA (1981) Role of the D genome in increasing the frost resistance of winter wheat. *Referativnyi Zhurnal* 2: 65-124.
- Barashkova EA and Vavilov N (1991) Physiological-genetic aspects of frost resistance in winter wheat. Relationship of frost hardiness with genome composition in wheat. In: *Proc. International Symposium: Wheat Breeding - Prospects and Future Approaches.* Institute for Wheat and Sunflower. Albena, Bulgaria pp. 379-384.
- Damania AB, Altunji H. and Dhaliwal HS (1992) Evaluation of *Aegilops* spp. for drought and frost tolerance. *Genetic Resources Unit Annual Report.* ICARDA pp. 45-46.
- Farooq S. (1994) Wild species germplasm: A vital source for creation of genetic variability. *IPGRI WANA Newsletter* 4: 1-2.
- Farooq S, Niazi MLK, Iqbal N and Shah TM (1989) Salt tolerance potential of wild resources of the tribe Triticeae. II. Screening of species of genus *Aegilops*. *Plant and Soil* 119: 255-260.
- Gorham J (1990) Salt tolerance in the Triticeae: K/Na discrimination in *Aegilops* species. *Journal of Experimental Botany* 41: 615-621.
- Hosseini F, Jaffaraghaei M, Khosro shahli M, Vaezi S, Mohamady B (2013) Evaluation of DNA content in some accessions of *Aegilops umbellulata*. *New Genetics Journal Special issue for 10th Iranian Genetics congress.* (In farssi)
- Huziwaru Y (1962). Karyotype analysis in some genera of compositae, VIII Further studies on the chromosome of *Aster*. *American Journal of Botany* 49: 116-119.
- Jaffaraghaei M, Jaffaraghaei M, Zolali J, Bokaei AS (2012) Evaluation of DNA content and karotipic traits of Iranian *Triticum monococcum* morphotypes. *New Genetics Journal* 7: 288-294. (In Farsi).
- Jaffaraghaei M, Vaezi S, Ebrahimi MA, Tavakoli M (2013) Evaluation of karyotypic traits in some species form Iranian *Aegilops* Collection. *Iranian Crop science Journal* 44: 441-453. (In Farsi).
- Karimzadeh GH, Ashkani S, Ahmadi Tehrani P, Davodi D, Myrzaqadry GH. (2010) Cytogenetical study some wild wheat species Iran *Aegilops* and banding OR. *Journal of Plants* 41: 313-305. (In Farsi).
- Levan A, Fredka K & Sandberg A (1964) Nomenclature for centromic Position on chromosomes. *Hereditas* 52:201-220.
- Limin AE and Fowler DB (1981) Cold hardiness of some wild relatives of hexaploid wheat. *Canadian Journal of Botany* 59: 572-573.
- Martín-Sánchez JA, Gómez-Colmenarejo M, Del Moral J, Sin E, Montes MJ, González-Belinchón C, López-Braña I, Delibes A (2003) A new Hessian fly resistance gene (H30) transferred from the wild grass *Aegilops triuncialis* to hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 106:1248-55.
- Mujeeb-kazi A and Miranda JL (1985). Enhanced resolution of somatic chromosome constriction as an aid to identifying intergeneric hybrids among some Triticeae. *Cytologia* 50:701-709.
- Murphy jp, Griffey CA, Finney PL, Leath S (1997) Agronomic and grain quality evaluation of *Triticum aestivum*, *Aegilops tauschii* backcross. *Populations. Crop science* 37: 1960-1965.
- Naghavi MR, Ranjbar M., Hassani MH and Jaffaraghaei M., Bamneshin M (2013) Characterization of Iranian Accessions of *Aegilops crassa* Boiss. Using Flow Cytometry and Protein Analysis. *Journal of Agricultural Science and Technology* 15: 811-818.
- Rajaram s (2000). *International wheat breeding: past and present achievements and future directions.* Oregon State Univ. Extension Service. Special. Report 1017.
- Rekika D, Zaharieva M, Stankova P, Xu X, Souyris I and Monneveux P (1998) Abiotic stress tolerance in *Aegilops* species. In: Nachit MM, Baum M, Porceddu E, Monneveux P and Picard E (Eds). *Durum Wheat Sewana Workshop.* ICARDA, Aleppo, Syria. pp. 113-128.
- Romero MD, Montes MJ, Sin E, Lopez-Branoa I, Duce A, A. Marti'n-Sanchez J, Andre's MF, Delibes A (1998) A cereal cyst nematode (*Heterodera avenae* Woll.) resistance gene transferred from *Aegilops triuncialis* to hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 1135-1140.
- Romero Zarco C (1986) A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 35:526-530.
- Sheidai M, Arman M, Mphammadi S, Zehzad B (2000) Notes on cytology and seed protein characteristics of *Aegilops* species in Iran. *The Nucleus* 43:118-128.
- Soloki M, Emanjomeh A, Taheri N, Tahrnzhad Z, Sahebi M (2007) Cytogenetic diversity of masses of Iranian *Aegilops*. *Modern genetics journal* 2:51-439. (In Farsi).
- Stebbins GL (1971) *Chromosomal evolution in higher plants.* London: Edward Arnold Publisher Ltd, London.
- Tootiaei AS, and Jafaraghaei M (2007) Collection and identification *Aegilops* of species in Iran, *Iranian Journal of Agricultural Science* 38: 99-109.
- Van Slageren MW (1994) *Wild Wheats; a Monograph of Aegilops L. and Amblyopyrum (Jaub. & Spach) Eig (Poaceae).* Agricultural University Wageningen: the Netherlands; ICARDA: Aleppo, Syria. pp 512.
- Vijayavalli B & Mathew PM (1990) Karyomorphology of four morphotypes of *Gloriosa superba* L., from south India. *Cytologia* 55: 531-533.
- Waines JG, Rafi MM and Ehdaie B (1993) Yield components and transpiration efficiency in wild wheats. In: Damania AB (Ed.) *Biodiversity and Wheat Improvement.* John Wiley and Sons, Chichester, UK pp. 173-186.
- Wang G, Miyashita NT, and Tsunewaki K, (1997) Plasmon analysyses of *Triticum* (wheat) and *Aegilops*: PCR-single-strand conformational polymorphism (PCR-SSCR) analyses of organellar DNAs. *Proceeding of National Academy Sciences of the USA* 94:570-577.
- Xu X, Monneveux P, Damania AB and Zaharieva M (1993) Evaluation for salt tolerance in genetic resources of *Triticum* and *Aegilops*. *Plant Genetic Resources Newsletter* 96: 11-16.