

مطالعه محتوای DNA ژنومی و بررسی کاریولوژیک مورفوتیپ‌های گندم *Triticum monococcum* ایران

مرتضی جعفرآقایی^۱، محمد جعفرآقایی^۲، جعفر ذوالعلی^۳، علی سجاد بکائی^۴

۱- کارشناس ارشد و استادیار بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۲- استادیار و کارشناس ارشد موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: behrooz.aghaii@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۳۰)

چکیده

در این مطالعه، محتوای DNA ژنومی بخشی از گلکسیون گندم دیپلوبتید وحشی بانک ژن ملی گیاهی ایران با استفاده از فلوسیتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. مجموعه‌ای مورد بررسی شامل ۲۱ مورفوتیپ از گونه *Triticum boeoticum* subsp. *Boeoticum* و ۵۳ مورفوتیپ از گونه *T. urartu* بود. اگرچه از نظر محتوای DNA تفاوت‌های شدید بین نمونه‌ها مشاهده نشد و هیچ نمونه‌ای به شاهدهای تترابلوبتید و هگزاپلوبتید نزدیک نگردید، اما شاخص فلوسیتومتری بسیار متنوع بود. نمونه‌هایی که شخص محتوای DNA حداکثر و حداقل را نشان دادند، مورد بررسی کاریوتایپی قرار گرفتند. بررسی کاریوتایپ میتوژی نشان داد که مورفوتیپ‌های مورد آزمایش از سطح کروموزومی $2n = 2x$ برخوردار بوده و تنوع محتوای DNA مشاهده شده در آنها ناشی از تغییر در تعداد کروموزوم‌ها (آنیوبلوبتیدی) نمی‌باشد. بنابراین، این احتمال وجود دارد که تنوع مشاهده شده از لحاظ میزان DNA ژنومی در بین نمونه‌های مختلف گندم وحشی دیپلوبتید ژنوم A در ایران، ناشی از تغییرات گسترده ساختمان کروموزومی در آنها باشد. آزمون‌های آماری، تفاوت معنی دار در طول کروموزوم‌ها و طول بازوها کروموزومی را ثابت نمود. بررسی دقیق‌تر ماهیت تنوع مشاهده شده، مستلزم بررسی دقیق ساختمان کروموزوم‌ها با استفاده از تکنیک‌های "کروموزوم باندینگ" است. این نتایج نشانگر تنوع گسترده در جمعیت گندم دیپلوبتید وحشی ایران است که از پتانسیل استفاده در پروژه‌های بهنژادی گندم با اهداف مختلف برخوردار می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

فلوسیتومتری،
کاریوتایپ،
گندم دیپلوبتید،
DNA محتوای
T. monococcum

مقدمه

پلوفیلیدی استفاده می شود (Kawara et al. 1999). Bakhshi et al. 2008 (al.) کلکسیون *Aegilops cylindrica* ایران را با استفاده از فلوسیتوتمتری مورد ارزیابی قرار داده و موفق به یافتن یک نمونه با سطح پلوفیلیدی $2n=6x=42$ شدند. مطالعه تقارن کاریوتایپ از طریق محاسبه درصد شکل کلی^۱ TF و شاخص پراکنش کروموزومی^۲ DI امکان پذیر می باشد. شاخص پراکنش کروموزومی پارامتری است که بر اساس طول بازوی کوتاه و طول کل کروموزوم میانه، نا متقارنی را بیان می کند. درصد شکل کلی، تقارن کاریوتایپ را بر اساس نسبت طول کل بازوهای کوتاه به طول کل کروموزوم ها می سنجد. در این تحقیق، محتوای DNA ایران با هدف ارزیابی تنوع ژنومی موجود در این کلکسیون، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

تعداد ۹۳ مورفو تایپ مختلف گندم *Triticum monococcum* از کلکسیون بانک ژن ملی گیاهی ایران مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه های آزمایش شده که از نقاط مختلف ایران جمع آوری شده ۵۳ *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* بود شامل ۲۱ مورفو تایپ *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* و ۱۹ مورفو تایپ *T. boeoticum* subsp. *urartu* بوده و تعداد ۶ نمونه نیز شامل سه نمونه *T. urartu*, یک *thaoudar* و دو نمونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* نمونه ای از کشورهای اردن، ترکیه، لبنان، سوریه و عراق مورد آزمایش قرار گرفت. جهت انجام آزمایش های فلوسیتوتمتری دو واریته زراعی گندم هگزاپلولئید الوند و نیک نژاد ($2n=6x=42$) و همچنین گندم دوروم تترابلولئید یاوارس و سیمره ($2n=4x=28$) به عنوان شاهد جهت ارزیابی سطح DNA مورد استفاده قرار گرفتند. محتوای DNA ژنومی نمونه های مورد آزمایش با استفاده از دستگاه فلوسیتوتمتر (Poloidy analyzer)، بر اساس پیک و نسبت مد نمونه های استاندارد و نمونه های هدف، برآورد گردید. نمونه هایی که بر اساس شاخص فلوسیتوتمتری،

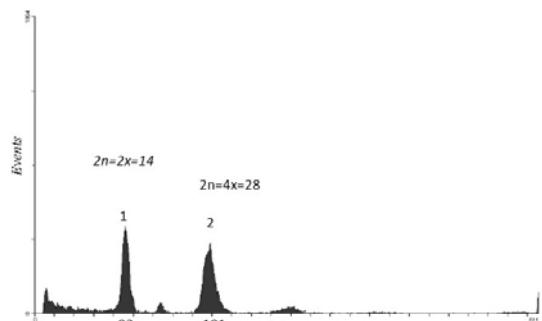
تنوع ژنتیکی بسیاری از محصولات زراعی نظیر گندم در طول دهه های گذشته کاهش یافته است (Ciaffi et al. 1993). کاهش تنوع ژنتیکی، علاوه بر کاهش بازدهی برنامه های اصلاحی باعث ایجاد یکنواختی ژنتیکی در مزارع و آسیب پذیری شدید محصولات کشاورزی در برابر آفات، بیماری ها و تنش های محیطی می گردد (Abde Mishani et al. 1998). گونه های گندم دیپلولئید و حشی حامل ژنوم A در منابع مختلف به اشکال متفاوتی طبقه بندی شده اند. گندم دیپلولئید و حشی *T. monococcum* با فرمول $2n=2x=14$ خود شامل گونه *T. urartu* و گونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* با دو زیر گونه *boeoticum* subsp. *thaoudar* دیپلولئید و حشی و حامل ژنوم A شناخته می شوند (Kimber et al. 1987; Mackey 1988; Feldman et al. 1995) و از لحاظ صفات زراعی مثل مقاومت به زنگ، مقاومت به سرما و مقاومت به علف کش ها، دارای آینده تحقیقاتی خوبی جهت بهبود و اصلاح گندم نان می باشد (Gonzalez et al. 1993). ایران به عنوان یکی از مراکز اصلی تنوع این گونه گیاهی در جهان شناخته شده است. اهمیت فراوان ژرم پلاسم گندم *T. monococcum* در اصلاح و بهبود کیفیت و مقاومت به تنش ها در گندم های تجاری، استفاده از مطالعات سیتوژنتیکی برای دستیابی به سرخ هایی در زمینه مکانیزم های بروز تنوع ژنتیکی در سطح ژنوم این گونه و حشی را توجیه پذیر می نماید. مطالعات سیتوژنتیکی به همراه بررسی های ژنتیکی و مورفو لوژیکی می تواند شاخص قابل اعتمادی برای ارزیابی رابطه خویشاوندی گونه های یک جنس باشد. از خصوصیات مورفو لوژیک کروموزوم می توان به شباهت گونه ها پی برد و در برنامه های اصلاحی از ترکیب ژنهای گونه های نزدیک به هم سود جست (Lewis 1980). در سال های اخیر تکنیک فلوسیتوتمتری به علت آسان بودن و سرعت بالای آن برای تشخیص محتوای DNA ژنومی گونه ها به تکنیک های دیگر ترجیح داده می شود (Rayburn et al. 1989; Heslop Harison 1995). چون یک جمعیت بزرگ از سلول ها را می توان در مدت زمان کوتاهی با این روش آنالیز کرد، از فلوسیتوتمتری با وسعت زیادی برای یافتن آنیپلولئیدی و پلی

¹ Total Form Percentage² Dispersion index

سطح تترابلولئید نزدیک نشد. تجزیه واریانس بر اساس شاخص محتوای DNA نشان داد که تفاوت میان گونه‌ها معنی دار است (جدول ۲). مقایسه میانگین بین گونه‌های مختلف نشان داد که *T. boeoticum* گونه DNA *T. urartu* از زیر گونه‌های *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* است. اختلاف محتوای DNA زیر گونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* با زیر گونه *Thaoudar* دار نبود (شکل ۲). اگر چه از لحاظ محتوای DNA هیچکدام از مورفوتیپ‌های آزمایش شده به سطح تترابلولئید نزدیک نشدن، اما

جدول ۱- حداقل، حداکثر و میانگین شاخص محتوای DNA در سه گونه گندم دیپلولئید و حشی حامل ژنوم A ایران.

			حداکثر	حداقل	گونه	میانگین
۹۴/۱	۱۰۷	۸۳			<i>T. urartu</i>	
۹۹/۶	۱۱۱	۹۰			<i>T. boeoticum</i> subsp. <i>boeoticum</i>	
۹۷/۵	۱۱۱	۸۸			<i>T. boeoticum</i> subsp. <i>thaoudar</i>	



شکل ۱- نمودار پیک رسم شده توسط دستگاه پلولئیدی آنالیزor، ۱: نمونه گندم دیپلولئید *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* (۵۵۰۲۳) و ۲: گندم تترابلولئید یاورس (۲n=۲۸) (۲n=۴x=۲۸) بعنوان شاهد.

جدول ۲- تجزیه واریانس انجام شده بر اساس شاخص محتوای DNA بین گونه‌های مختلف *T. monococcum* ایران.

F	واریانس	df	مجموع مریعات	منابع تغییرات
۰/۹۵	۱۸۰/۳۳۱	۲	۲۶۰/۶۶۲	بین گروهها
۳۵/۳۹۶		۹۰	۳۱۸۵/۵۹۶	داخل گروهها
		۹۲	۳۵۴۶/۲۵۸	کل

** اختلاف معنی دار در سطح یک درصد

سطوح بالاتر یا پائین‌تر DNA را نشان دادند، از لحاظ ویژگی‌های کاریوتایپ میتوژی مورد بررسی قرار گرفتند. تهیه کاریوتایپ با استفاده از روش مجیب قاضی (Mujeeb Kazi et al. 1985) انجام شد. برای هر مورفوتیپ منتخب به تصادف از سه بذر مورد کشت کاریوتایپ تهیه گردید و عکس‌های مربوطه با نرم افزار Micro Measure آنالیز و در نهایت میانگین پارامترهای کاریوتایپی برای هر نمونه محاسبه شده و ایدیوگرام مربوط به هر مورفوتیپ با نرم افزار Excel رسم شد. نوع هر کروموزوم با روش لوان و همکاران (Leavan et al. 1964) معین گردید خصوصیات کاریوتایپی مورد مطالعه شامل: طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، نسبت بازوها، شاخص سانترومی و میانگین طول کروموزومها بود. دوشاخص درصد شکل کلی TF و شاخص پراکنش کروموزومی DI به منظور بررسی تقارن کاریوتایپ‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

TS: مجموع طول بازوها کوتاه و T: طول کل کروموزومها

$$TF\% = \frac{TS}{T} \times 100$$

$$DI = CV \times CG$$

CG: گرادیانت سانترومی، S: میانگین طول بازوی کوتاه و

$$CG = \frac{L}{S}$$

CV: ضریب تنوع، σ: انحراف معیار و m: میانگین طول

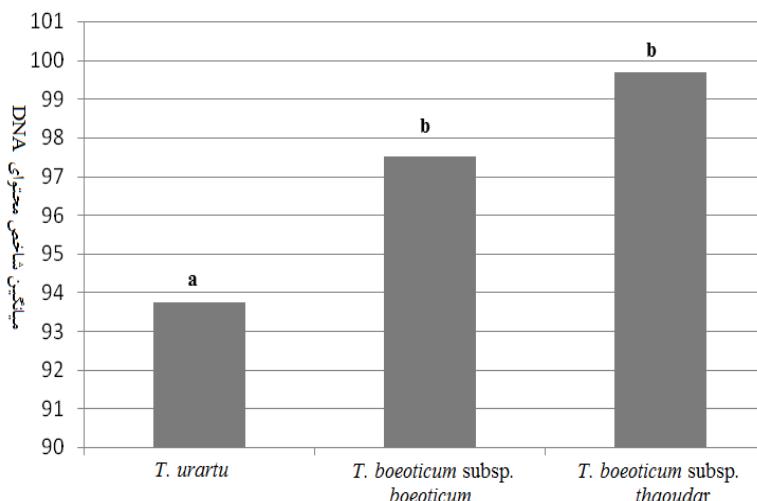
$$CV = \frac{\sigma}{m} \times 100$$

پس از محاسبه شاخص‌های مورد نظر، تجزیه واریانس داده‌ها به روش آشینه‌ای و آزمون‌های مقایسه میانگین برای شاخص‌های کاریوتایپی با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت.

نتایج و بحث

بررسی محتوای DNA ژنومی

در آزمایشات متعدد، مد شاخص محتوای DNA برای گندم‌های شاهد هگزاپلولئید ۲۸۲ و در گندم‌های شاهد تترابلولئید ۱۸۰ تعیین گردید (شکل ۱). حداقل، حداکثر و میانگین محتوای DNA برای مورفوتیپ‌های مورد آزمایش به تفکیک گونه در جدول ۱ آورده شده است. محتوای DNA مورفوتیپ‌های مورد آزمایش در هیچ-یک از نمونه‌های گندم دیپلولئید *T. boeoticum* subsp. *thaoudar*



شکل ۲- دیاگرام تفاوت محتوای DNA بر اساس شاخص فلوسیتوتمتری با استفاده از آزمون دانکن.

ادامه مطالعات جهت یافتن ناهنجاری‌های احتمالی ژنومی (آنیپلولئیدی) و یا تغییرات قطعه‌ای کروموزومی، به سمت بررسی کاریوتایپ میتوزی سوق داده شد. بدین منظور، به ازای هر گونه مورد بررسی، دو مورفوتایپ با حداقل و دو مورفوتایپ با حداقل شاخص محتوای DNA جهت مطالعات کاریوتایپی انتخاب شدند (جدول ۳).

تفاوت بین پائین ترین و بالاترین محتوای DNA مشاهده شده در هر گونه فاحش است. همانطور که در جدول ۳ آمده است تفاوت بین حداقل و حداقل شاخص محتوای DNA مشاهده شده در *T. urartu* و *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* به ترتیب ۲۴ و ۲۱ و ۲۳ می باشد. بدلیل تنوع شاخص فلوسیتوتمتری بین مورفوتایپ‌ها در هر گونه،

جدول ۳- لیست مورفوتایپ‌های منتخب با محتوای DNA بالا و پائین جهت مطالعه کاریوتایپ میتوزی

شماره	گونه مورد آزمایش	محتوای DNA	نمونه‌های با محتوای DNA بالا		شماره	گونه مورد آزمایش	محتوای DNA	شماره	نمونه‌های با محتوای DNA پائین
			شماره	گونه مورد آزمایش					
۰۲۲۳	<i>T. urartu</i>	۱۰۵	۵۵۰۵۲	<i>T. urartu</i>	۸۳				
۰۱۶۵	<i>T. urartu</i>	۱۰۷	۵۵۰۵۳	<i>T. urartu</i>	۸۵				
۰۲۹۱	<i>T. subsp. boeoticum</i>	۱۰۶	۵۵۰۱۸	<i>T. subsp. boeoticum</i>	۹۰				
۰۲۹۳	<i>T. subsp. boeoticum</i>	۱۰۵	۵۵۰۱۵	<i>T. subsp. boeoticum</i>	۹۱				
۰۴۸۸	<i>T. subsp. thaoudar</i>	۱۰۵	۵۵۰۳۴	<i>T. subsp. thaoudar</i>	۸۸				
۰۲۷۶	<i>T. subsp. thaoudar</i>	۱۱۱	۵۵۰۱۰	<i>T. subsp. thaoudar</i>	۸۹				

کاریوتایپی مورد بررسی (طول کروموزوم‌ها، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه) تفاوت بسیار معنی‌داری بین مورفوتایپ‌ها در این گونه وجود داشت (جدول ۴).

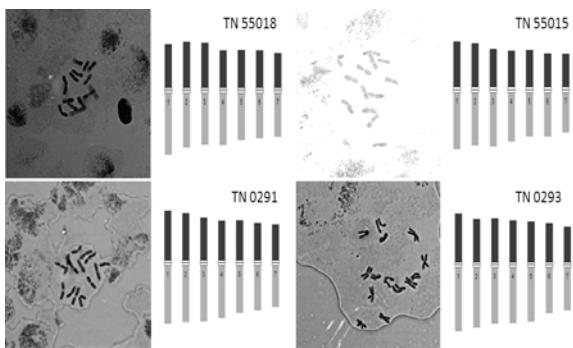
بررسی خصوصیات کاریوتایپی نمونه‌های مورد بررسی از گونه *T. urartu* همگی دیپلولئید و بر اساس روش نامگذاری (Leaven et al. 1964) همه کروموزوم‌ها در گونه *T. urartu* متسانتریک بودند (شکل ۳). از لحاظ صفات

جدول ۴- تجزیه واریانس انجام شده بر اساس خصوصیات کاریوتایپ‌های منتخب از گونه *T. urartu* مورد آزمایش

F	واریانس	df	مجموع معیّات	متغیر وابسته	مورفوتیپ
۳۰/۵۳۷**	۸/۶۱	۳	۲۴/۱۸۳	طول کروموزوم	مورفوتیپ
۷/۹۱۵**	۲/۱۴۰	۳	۶/۴۲۰	طول بازوی بلند	
۹/۹۹۱**	۱/۹۰۱	۳	۵/۷۰۲	طول بازوی کوتاه	
۱۸/۵۶۹**	۴/۹۰۲	۲۴	۱۱۷/۶۴۰	طول کروموزوم	مورفوتیپ × کروموزوم
۵/۳۷۲**	۱/۴۵۲	۲۴	۳۴/۸۵۷	طول بازوی بلند	
۶/۳۹۶**	۱/۲۱۷	۲۴	۲۹/۲۰۵	طول بازوی کوتاه	
	۰/۲۶۴	۱۴۰	۳۶/۹۵۶	طول کروموزوم	اشتباه
	۰/۲۷۰	۱۴۰	۳۷/۸۵۲	طول بازوی بلند	
	۰/۱۹۰	۱۴۰	۲۶/۶۵۳	طول بازوی کوتاه	

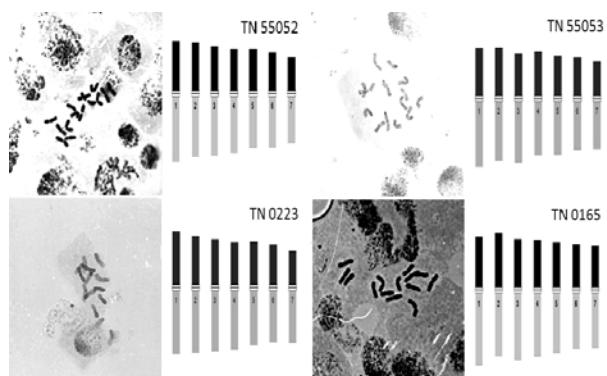
** اختلاف معنی دار در سطح یک درصد

مورفوتیپ‌های زیرگونه *T. boeoticum* Subsp. *boeoticum* همه دیبلوئید بوده و تمام کروموزوم‌ها از نوع متاسانتریک بودند (شکل ۴) و از لحاظ صفات کاریوتایپی تفاوت بسیار معنی داری بین مورفوتیپ‌ها در این زیرگونه وجود داشت (جدول ۵). مورفوتیپ‌های ۵۵۰۱۸ و ۵۵۰۱۵ که دارای پائین‌ترین محتوای DNA بودند از لحاظ طول کروموزوم به ترتیب در گروه یک و دو قرار گرفتند. مورفوتیپ‌های ۰۲۹۳ و ۰۲۹۱ که دارای بالاترین محتوای DNA بودند با بیشترین طول کروموزوم به ترتیب در گروه سه و چهار قرار گرفتند. در این زیرگونه نیز از لحاظ شاخص‌های DI و TF تفاوت معنی داری بین مورفوتیپ‌های آزمایش شده وجود نداشت و کاریوتایپ‌ها بر اساس شاخص TF متقارن بودند.



شکل ۴- تصویر کروموزوم‌ها در مرحله متافاز و ایدیوگرام مورفوتیپ‌های انتخاب شده جهت مطالعه کاریولوژیکی در زیرگونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum*

آزمون دانکن از لحاظ میانگین طول کروموزوم مورفوتیپ‌ها را به سه گروه تقسیم نمود. بر این اساس دو مورفوتیپ ۵۵۰۱۳ و ۵۵۰۱۲ که در آزمایشات فلوسیتوometri پائین‌ترین محتوای DNA را نشان داده بودند، با کمترین طول کروموزوم در گروه یک، و مورفوتیپ‌های ۰۱۶۵ و ۰۲۲۳ با بیشترین طول کروموزوم به ترتیب در گروه دو و سه قرار گرفتند. تجزیه واریانس انتخاب شده از لحاظ شاخص پراکنش کروموزومی DI و درصد شکل کلی TF بین مورفوتیپ‌های آزمایش شده در گندم *T. urartu* تفاوت معنی داری وجود ندارد. همچنین با توجه به اینکه شاخص TF در این گونه بیشتر از ۴۳ درصد بود، طبق نظر Stebbins (1971) متقارن بودن کاریوتایپ‌ها ثابت می‌شود.



شکل ۵- تصویر کروموزوم‌ها در مرحله متافاز و ایدیوگرام مورفوتیپ‌های انتخاب شده جهت مطالعه کاریولوژیکی در گونه *T. urartu*

جدول ۵- تجزیه واریانس انجام شده بر اساس خصوصیات کاریوتایپی مورد آزمایش، بین مورفوتیپ‌های منتخب از زیر گونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum*

F	واریانس	df	متغیر وابسته	مجموع مربعات	مورفوتیپ
۲۴/۹۳۱**		۳/۷۱۳	طول کروموزوم	۱۱/۱۲۸	
۱۰/۲۹۰**		۱/۳۶۶	طول بازوی بلند	۴۰/۹۸	
۵/۲۳۲**		۰/۷۲۳	طول بازوی کوتاه	۲/۱۷۰	
۳۹/۴۸۱**		۵/۸۷۹	طول کروموزوم	۱۴۱/۱۰۵	مورفوتیپ
۱۶/۴۲۶**		۲/۱۸۱	طول بازوی بلند	۵۲/۳۳۸	×
۷/۷۶۴**		۱/۰۷۳	کروموزوم		
		۰/۱۴۹	اشتباه	۲۰/۸۴۸	طول کروموزوم
		۰/۱۳۳	طول بازوی بلند	۱۸/۵۸۶	طول بازوی کوتاه
		۰/۱۳۸	طول بازوی کوتاه	۱۹/۳۵۲	طول بازوی کوتاه

* اختلاف معنی دار در سطح یک درصد

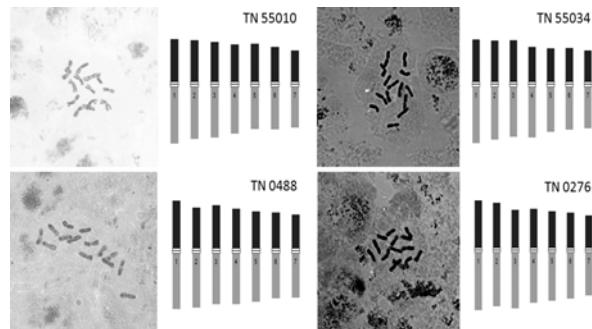
جدول ۶- تجزیه واریانس انجام شده بر اساس خصوصیات کاریوتایپی مورد آزمایش، بین مورفوتیپ‌های منتخب از گونه *T. boeoticum* subsp. *thaoudar*

F	واریانس	df	مجموع مربعات	متغیر وابسته
۲۹/۴۶۱**		۴/۴۱۰	۱۲/۲۳۰	طول کروموزوم
۶/۷۹۱**		۱/۳۹۶	۴/۱۸۹	طول بازوی بلند
۵/۲۶۴**		۱/۰۰۸	۳/۰۲۳	طول بازوی کوتاه
۳۴/۳۹۸**		۵/۱۴۹	۱۲۳/۵۷۴	طول کروموزوم
۷/۷۳۴**		۱/۵۹۰	۳۸/۱۶۵	طول بازوی بلند
۶/۱۹**		۱/۱۸۵	۲۸/۴۳۶	کروموزوم
		۰/۱۵۰	۲۰/۹۵۶	اشتباه
		۰/۲۰۶	۲۸/۷۷۸	طول بازوی بلند
		۰/۱۹۱	۲۶/۷۶۹	طول بازوی کوتاه

* اختلاف معنی دار در سطح یک درصد

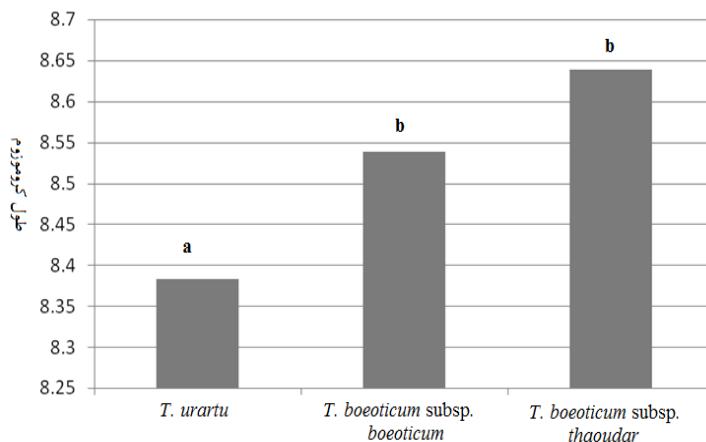
کلیه مورفوتیپ‌های گندم دیپلولئید مورد مطالعه از هر سه گونه مورد بررسی در این تحقیق، از لحاظ شاخص فلوسیتوتری محتوای DNA به سطوح پلولئیدی بالاتر نزدیک نشدند. با توجه به اختلاف فاحش سطوح بالا و پائین شاخص فلوسیتوتری، احتمال تغییرات تعدادی و قطعه‌ای کروموزومی در مورفوتیپ‌های مورد بررسی وجود داشت. نتیجه بررسی‌های کاریوتایپی نشان داد که

تمام مورفوتیپ‌های آزمایش شده در زیر گونه *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* دیپلولئید بوده و کروموزوم‌های آنها از نوع متاسانتریک بودند (شکل ۵) و از لحاظ صفات کاریوتایپی تفاوت بسیار معنی داری بین مورفوتیپ‌ها در این زیر گونه وجود داشت (جدول ۶). مورفوتیپ‌های ۵۵۰۳۴ و ۵۵۰۱۰ که در آزمایشات فلوسیتوتری محتوای DNA پائین داشتند از لحاظ طول کروموزوم نیز در گروه یک قرار گرفتند و همچنین مورفوتیپ های ۰۰۲۷۶ و ۰۰۴۸۸ که دارای محتوای DNA بالا بودند از لحاظ طول کروموزوم نیز در گروه دو قرار گرفتند. بین مورفوتیپ‌های آزمایش شده در این زیر گونه نیز از لحاظ شاخص‌های DI و TF تفاوت معنی داری وجود نداشت و همچنین کاریوتایپ‌ها از لحاظ شاخص TF متقارن بودند.



شکل ۵- تصویر کروموزوم‌ها در مرحله متابازاژ و ایدیوگرام مورفوتیپ‌های انتخاب شده جهت مطالعه کاریولوژیکی در زیر گونه *T. boeoticum* subsp. *thaoudar*

گونه‌های مورد بررسی و کروموزوم‌ها در هر گونه به روش دسته بندی یک طرفه برای اندازه کروموزوم‌ها، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه، مورد مقایسه قرار گرفتند. بین گونه‌های مورد بررسی به لحاظ طول کروموزوم‌ها و طول بازوی بلند تفاوت بسیار معنی داری مشاهده گردید. آزمون دانکن در سطح ۵ درصد در رابطه با میانگین طول کروموزوم گونه‌ها را به دو گروه تقسیم بندی نمود. بر همین اساس گونه *T. urartu* با کمترین میانگین طول کروموزوم در گروه یک و گونه‌های *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* با بیشترین میانگین طول کروموزوم در گروه دو قرار گرفتند (شکل ۶).



شکل ۶- دیاگرام تفاوت میانگین طول کروموزوم‌ها بین گونه‌ها، با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد.

شاخص پراکنش کروموزومی (DI) پارامتری برای تعیین میزان عدم تقارن کاریوتایپ است شاخص درصد شکل کلی (TF) نیز برای بررسی میزان تقارن کاریوتایپ مورد استفاده قرار می‌گیرد. این شاخص از شاخص DI، قابل اعتمادتر است، زیرا در برگیرنده تمام کروموزوم‌ها می‌باشد (Stebbins 1971). با بررسی هر دو شاخص تفاوت معنی‌داری بین مورفوتایپ‌ها در هر سه گونه مورد آزمایش دیده نشد. استبیز عنوان نمود که کاریوتایپ‌های نامتقارن از لحاظ تکاملی پیشرفته‌تر از کاریوتایپ‌های متقاضی می‌باشند و تغییرات در تقارن معمولاً با از دست رفتن کرماتین همراه است (Davoodi et al. 2008) پس از مطالعه سیتولوژیک ارقام نیشکر عنوان نمودند که تکامل کاریوتایپ الزاماً با عدم تقارن کاریوتایپ توأم نیست. هرچند هنوز به طور قطعی مشخص نیست که تقارن و یا عدم تقارن شاخصه تکامل می‌باشد، ولی می‌توان علت عدم تفاوت بین مورفوتایپ‌ها را از لحاظ شاخص‌های تقارن در واقع استقرار این نمونه‌ها در مراکز تنوع دانست. بر اساس میانگین طول کروموزوم گندم‌های دیپلوئید وحشی به دو گروه تقسیم شدند، *T. urartu* با پائین ترین میانگین در گروه اول و دو گونه *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* و *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* با میانگین طول بیشتر در گروه دوم قرار گرفتند. نتایج اخیر، نتایج حاصل از فلوزیتوتمتری را تائید نمود. محتوای DNA، اندازه کروموزوم‌ها و در اکثر مواقع

هیچ گونه انحرافی از سطح دیپلوئید $2n = 2x = 14$ در مورفوتایپ-های *T. monococcum* آزمایش شده وجود ندارد. اگرچه از لحاظ نوع کروموزوم، شاخص سانترومی و نسبت بازوها تفاوت معنی داری بین مورفوتایپ‌ها مشاهده نگردید اما تجزیه واریانس میانگین صفات کاریوتایپی، تفاوت معنی دار شاخص‌های طول کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه را در بین مورفوتایپ‌ها در هر گونه نشان داد و تا حدود زیادی نتایج مشاهده شده از لحاظ محتوای DNA ژنومی در نمونه‌های مختلف گندم دیپلوئید وحشی حامل ژنوم A ایران، ناشی از تغییرات گسترده ساختمان کروموزومی در این ژرم پلاسم وحشی باشد. یکی از مکانیسم‌های مهم ایجاد تفاوت بین اندازه کروموزوم‌ها و مقدار DNA در بین گونه‌های نزدیک به هم، وقوع پدیده جابجایی نابجا و مضاعف شدن است (Sheidaei 2002). بدین ترتیب می‌توان انتظار داشت که تفاوت محتوای DNA مشاهده شده بین مورفوتایپ‌ها در هر گونه بعلت پدیده‌هایی مثل مضاعف شدگی باشد. نتایج آزمایشات فلوزیتوتمتری و مشاهده کاریوتایپ میتوزی، وجود ناهنجاری را در بین نمونه‌های مورد آزمایش نشان داد، این نتایج نوید بخش یافتن تنوع ساختمانی کروموزومی بین و درون گونه‌های آزمایش شده و همچنین ردیابی این تنوع با استفاده از تکنیک باندینگ می‌باشد.

urartu از درجه اختصاصی شدن بیشتری برخوردار بوده و از لحاظ تکاملی پیشرفتی تر باشد. در این مطالعه نزدیک بودن دو زیر *T. boeoticum* subsp. *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* و *T. boeoticum* از لحاظ محتوای DNA و از لحاظ صفات کاریوتایپی کاملاً محرز شد.

منابع

- Abde Mishani S, Shahnejat Boshehri A (1998) Advance plant breeding. Tehran university Press. (In Farsi).
- Bakhshi A, Jaffar Aghaei M, Bihamta MR, Darvish Kajvari M, Zarifi A (2008) Diversity for DNA index in tetraploid *Aegilops Cylindrica* Accessions and relation sheep with average length of chromosomes. Cytotechnology congress. Ferdosi mashhad university. (In Farsi).
- Ciaffi M, Lanfiandra D, Poreceddu E, Benedettelli S(1993) Storage-Protein variation in wild emmer (*Triticum turgidum* ssp. *Dicoccoides*) from Jordan and Turkey.2. Patterns of allele distribution. Theoretical and Applied Genetic 86: 518-5250.
- Davoodi D, Ahmadian Tehrani P, Omidi M, Aghayov Y, Bihamta M (2008) Karyological evalution of five hybrid cultivar of sugarcane (*saccharum officinarum* L.). seed and plant journal 23 (4): 616-631. (In Farsi).
- Feldman M, Lupton FGH, Miller TE (1995) Wheats In: Evolution of crop Plants. Eds. J.smatt and N. W. Simmonds. Longman Group Ltd, London. pp: 184-1920.
- Gonzalez JM, Bernard S, Bernard M (1993) Metaphase-I analysis of a *Triticum aestivum*×*T. monococcum* hybrid by the C-banding technique, Euphytica 68: 187-192.
- Heslop-Harrison JS (1995) Flow cytometry and genome analysis, Probe 5:14-17.
- Kawara S, Takata M, Takehara, K(1999) High frequency of DNA aneuploidy detected by DNA flow cytometry in Bowen's disease, Journal of Dermatological Science 21: 23-26.
- Kimber G, Sears ER (1987) Evolution in the Genus *Triticum* and the origin of cultivated Wheat. In: wheat and Wheat Improvement. Ed. E. G. Heyne. Ameircan Society of Agronomy Inc, Madison, USA, pp: 154-164.
- Leaven A, Fredga K, Sandberg A (1964) Nomenclature for centromic Position on chromosomes, Hereditas 52(2):201-220.
- Lewis HL (1980) Polyploidy in species. In: W.H. Lewis (Ed). Polyploidy. Basic Life Science pp: 344-356.
- MacKey J (1988) a plant breeder's perspective on taxonomy of cultivated plants, Biologisches Zentralblatt 107: 369-379.
- Mujeeb-Kazi A, Miranda JL (1985) Enhanced resolution of somatic chromosome constriction as an aid to identifying intergeneric hybrids among some Triticeae. Cytologia 50: 701-709.
- Rayburn AL, Auger, JA, Benzinger EA, Hepburn AG(1989) Detection of intraspecific DNA content variation in Zeamays L. by flow cytometry, Jornal of Experimental Botany 40:1179–1183.
- Sheidaei M (2002) Cytogenetic. Adna Press, Tehran, Iran. (In Farsi).
- Stebbins GL (1971) Chromosomal Evaluation in Higher Plants. London: Eward Arnold Publisher pp: 216.