ژنتیک نوین
دوره هفتم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۱
صفحه ۳۰۰- ۲۹۳

Downloaded from mg.genetics.ir at 13:03 +0330 on Wednesday September 22nd 2021

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

مرتضی جعفرآقایی[۱]، محمد جعفرآقایی[۲]، جعفر ذوالعلی[۳]، علی‌سجاد بکائی[٤]

۱و۳-کارشناس ارشد و استادیار بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۲و۴- 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 کلکسیون گندم دیپلوئید 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*، ۵۳ مورفوتیپ از گونه *T. boeoticum* subsp. *Thaoudar* و ۱۹ مورفوتیپ از گونه *T. urartu* بود. اگرچه از نظر محتوای DNA، تفاوت‌های شدید بین نمونه‌ها مشاهده نشد و هیچ نمونه‌ای به شاهدهای تتراپلوئید و هگزاپلوئید نزدیک نگردید، اما شاخص فلوسیتومتری بسیار متنوع بود. نمونه‌هایی که شاخص محتوای DNA حداکثر و حداقل را نشان دادند، مورد بررسی کاریوتایپی قرار گرفتند. بررسی کاریوتایپ میتوزی نشان داد که مورفوتیپ‌های مورد آزمایش از سطح کروموزومی ۱۴ = ۲x = ۲n برخوردار بوده و تنوع محتوای DNA مشاهده شده در آنها ناشی از تغییر در تعداد کروموزوم‌ها (آنیوپلوئیدی) نمی‌باشد. بنابراین، این احتمال وجود دارد که تنوع مشاهده شده از لحاظ میزان DNA ژنومی در بین نمونه‌های مختلف گندم وحشی دیپلوئید ژنوم A در ایران، ناشی از تغییرات گسترده ساختمان کروموزومی در آنها باشد. آزمون‌های آماری، تفاوت معنی دار در طول کروموزوم‌ها و طول بازوهای 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 دیپلوئید وحشی ایران است که از پتانسیل استفاده در پروژه‌های به‌نژادی گندم با اهداف مختلف برخوردار می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

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

Downloaded from mg.genetics.ir at 13:03 +0330 on Wednesday September 22nd 2021

مقدمه

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 برنامه‌های اصلاحی باعث ایجاد یکنواختی ژنتیکی در مزارع و آسیب پذیری شدید محصولات کشاورزی در برابر آفات، بیماری‌ها و تنش‌های محیطی می‌گردد (Abde Mishani et al. 1998). گونه‌های گندم دیپلوئید وحشی حامل ژنوم A در منابع مختلف به اشکال متفاوتی طبقه بندی شده‌اند. گندم دیپلوئید وحشی T. monococcum با فرمول کروموزومی ۲n=۲x=۱۴ خود شامل گونه T. urartu و گونه T. boeticum با دو زیرگونه T. boeoticum subsp. boeoticum و T. boeoticum subsp. thaoudar می‌باشد که به عنوان گونه‌های دیپلوئید وحشی و حامل ژنوم A شناخته می‌شوند (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 علف‌کش‌ها، *T. monococcum* دارای آینده تحقیقاتی خوبی جهت بهبود و اصلاح گندم نان می‌باشد (Gonzalez et al. 1993). ایران به عنوان یکی از مراکز اصلی تنوع این گونه گیاهی در جهان شناخته شده است. اهمیت فراوان ژرم‌پلاسم گندم *T. monococcum* در اصلاح و بهبود کیفیت و مقاومت به تنش‌ها در گندم‌های تجاری، استفاده از مطالعات سیتوژنتیکی برای دستیابی به سرنخ هایی در زمینه مکانیزم‌های بروز تنوع ژنتیکی در سطح ژنوم این گونه وحشی را توجیه‌پذیر می‌نماید. مطالعات سیتولوژیکی به همراه بررسی‌های ژنتیکی و مورفولوژیکی می-تواند شاخص قابل اعتمادی برای ارزیابی رابطه خویشاوندی گونه‌های یک جنس باشد. از خصوصیات مورفولوژیک کروموزوم می توان به شباهت گونه‌ها پی برد و در برنامه‌های اصلاحی از ترکیب ژنهای گونه های نزدیک به هم سود جست (Lewis 1980) . در سال‌های اخیر تکنیک فلوسیتومتری به علت آسان بودن و سرعت بالای آن برای تشخیص محتوای DNA ژنومی گونه‌ها به تکنیک‌های دیگر ترجیح داده می‌شود (Rayburn et al. 1989; Heslop Harison 1995). چون یک جمعیت بزرگ از سلول‌ها را می‌توان در مدت زمان کوتاهی با این روش آنالیز کرد، از فلوسیتومتری با وسعت زیادی برای یافتن آنیوپلوئیدی و پلی پلوئیدی استفاده می شود (Kawara et al. 1999). (Bakhshi et al. 2008) کلکسیون *Aegilops cylindrica* ایران را با استفاده از فلوسیتومتری مورد ارزیابی قرار داده و موفق به یافتن یک نمونه با سطح پلوئیدی ۲n=۶x=۴۲ شدند. مطالعه تقارن کاریوتایپ از طریق محاسبه درصد شکل کلی[1] TF و شاخص پراکنش کروموزومی[2] DI امکان‌پذیر می باشد. شاخص پراکنش کروموزومی پارامتری است که بر اساس طول بازوی کوتاه و طول کل کروموزوم میانه، نا متقارنی را بیان می‌کند. درصد شکل کلی، تقارن کاریوتایپ را بر اساس نسبت طول کل بازوهای کوتاه به طول کل کروموزوم‌ها می‌سنجد. در این تحقیق، محتوای DNA ژنومی و صفات کاریوتایپی در تعدادی از مورفوتیپ‌های گندم انتخاب شده از کلکسیون گندم وحشی دیپلوئید حامل ژنوم A ایران با هدف ارزیابی تنوع ژنومی موجود در این کلکسیون، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تعداد ۹۳ مورفوتیپ مختلف گندم *Triticum monococcum* از کلکسیون بانک ژن ملی گیاهی ایران مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه‌های آزمایش شده که از نقاط مختلف ایران جمع آوری شده بود شامل ۲۱ مورفوتیپ *T. boeoticum* subsp. *boeoticum*، ۵۳ مورفوتیپ *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* و ۱۹ مورفوتیپ *T. urartu* بوده و تعداد ۶ نمونه نیز شامل سه نمونه *T. urartu*، یک نمونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و دو نمونه *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* از کشورهای اردن، ترکیه، لبنان، سوریه و عراق مورد آزمایش قرار گرفت. جهت انجام آزمایش‌های فلوسیتومتری دو واریته زراعی گندم هگزاپلوئید الوند و نیک نژاد (۲n=۶x=۴۲) و همچنین گندم دوروم تتراپلوئید یاوارس و سیمره (۲n=۴x=۲۸) به عنوان شاهد جهت ارزیابی سطح DNA مورد استفاده قرار گرفتند. محتوای DNA ژنومی نمونه‌های مورد آزمایش با استفاده از دستگاه فلوسیتومتر (Poloidy analyzer)، بر اساس پیک و نسبت مد نمونه‌های استاندارد و نمونه‌های هدف، برآورد گردید. نمونه‌هایی که بر اساس شاخص فلوسیتومتری،

[1] Total Form Percentage
[2] Dispersion index

Downloaded from mg.genetics.ir at 13:03 +0330 on Wednesday September 22nd 2021

سطوح بالاتر یا پائین‌تر DNA را نشان دادند، از لحاظ ویژگیهای کاریوتایپ میتوزی 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 سانترومری 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 بازوهای کوتاه و T: طول کل کروموزوم‌ها

$$TF\% = \frac{Ts}{T} \times ۱۰۰$$

$$DI = CV \times CG$$

CG: گرادیانت سانترومری، S: میانگین طول بازوی کوتاه و L: میانگین طول بازوی بلند

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

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

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

پس از محاسبه شاخص‌های مورد نظر، تجزیه واریانس داده ها به روش آشیانه‌ای و آزمون‌های مقایسه میانگین برای شاخص‌های کاریوتایپی با استفاده از نرم افزارSPSS انجام گرفت.

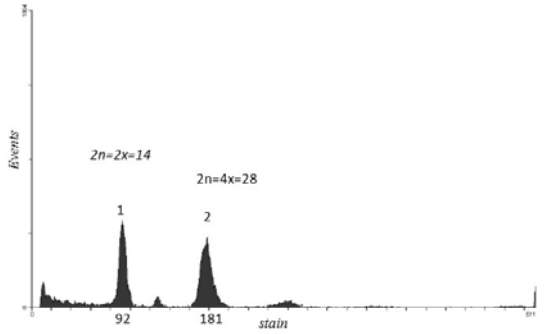
نتایج و بحث

بررسی محتوای DNA ژنومی

در آزمایشات متعدد، مد شاخص محتوای DNA برای گندم‌های شاهد هگزاپلوئید ۲۸۲ و در گندم‌های شاهد تتراپلوئید 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 دیپلوئید *T. boeoticum* subsp. *boeoticum*، *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* و *T. urart* ، به سطح تتراپلوئید نزدیک نشد. تجزیه واریانس بر اساس شاخص محتوای DNA نشان داد که تفاوت میان گونه‌ها معنی دار است (جدول۲). مقایسه میانگین بین گونه‌های مختلف نشان داد که محتوای DNA گونه *T. urartu* از زیر گونه‌های *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* و *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* پائین‌تر است. اختلاف محتوای DNA زیر گونه *T. boeoticum* subsp. *Thaoudar* با زیر گونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* معنی دار نبود (شکل ۲). اگر چه از لحاظ محتوای DNA هیچکدام از مورفوتیپ‌های آزمایش شده به سطح تتراپلوئید نزدیک نشدند، اما

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

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



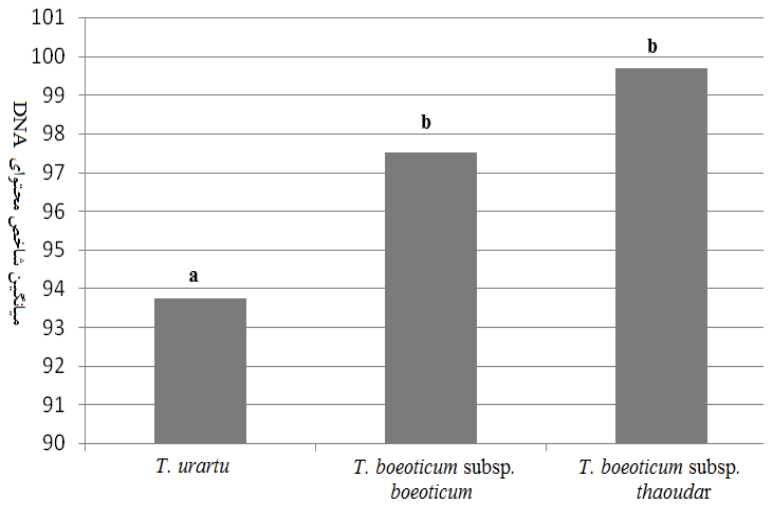
شکل ۱- نمودار پیک رسم شده توسط دستگاه پلوئیدی آنالیزر، ۱: نمونه گندم دیپلوئید *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* (۵۵۰۲۳) و ۲: گندم تتراپلوئید یاوارس (۲n=۴x=۲۸) بعنوان شاهد.

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

منابع تغییرات	مجموع مربعات	df	واریانس	F
بین گروه‌ها	۳۶۰/۶۶۲	۲	۱۸۰/۳۳۱	۵/۰۹۵ **
داخل گروه‌ها	۳۱۸۵/۵۹۶	۹۰	۳۵/۳۹۶	
کل	۳۵۴۶/۲۵۸	۹۲		

** اختلاف معنی دار در سطح یک درصد

Downloaded from mg.genetics.ir at 13:03 +0330 on Wednesday September 22nd 2021



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

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 حداکثر شاخص محتوای DNA مشاهده شده در گونه *T. urartu*، *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* به ترتیب ۲۴، ۲۱و ۲۳ می باشد. بدلیل تنوع شاخص فلوسیتومتری بین مورفوتیپ‌ها در هر گونه، ادامه مطالعات جهت یافتن ناهنجاری‌های احتمالی ژنومی (آنیوپلوئیدی) و یا تغییرات قطعه‌ای کروموزومی، به سمت بررسی کاریوتایپ میتوزی سوق داده شد. بدین منظور، به ازای هر گونه مورد بررسی، دو مورفوتیپ با حداکثر و دو مورفوتیپ با حداقل شاخص محتوای DNA جهت مطالعات کاریوتایپی انتخاب شدند (جدول ۳).

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

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

بررسی خصوصیات کاریوتایپی

نمونه‌های مورد بررسی از گونه *T. urartu* همگی دیپلوئید و بر اساس روش نامگذاری(Leaven etal. 1964) همه کروموزوم‌ها در گونه *T. urartu* متاسانتریک بودند (شکل۳). از لحاظ صفات کاریوتایپی مورد بررسی (طول کروموزوم‌ها، طول بازوی بلند و طول بازوی‌کوتاه) تفاوت بسیار معنی‌داری بین مورفوتیپ‌ها دراین گونه وجود داشت (جدول ۴).

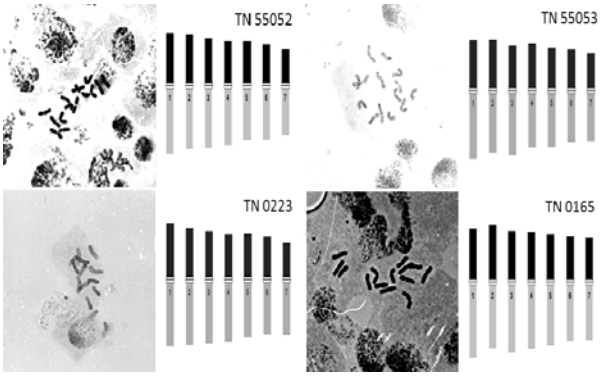
Downloaded from mg.genetics.ir at 13:03 +0330 on Wednesday September 22nd 2021

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

	متغیر وابسته	مجموع مربعات	df	واریانس	F
مورفوتیپ	طول کروموزوم	۲۴/۱۸۳	۳	۸/۰۶۱	۳۰/۵۳۷**
	طول بازوی بلند	۶/۴۲۰	۳	۲/۱۴۰	۷/۹۱۵**
	طول بازوی کوتاه	۵/۷۰۲	۳	۱/۹۰۱	۹/۹۹۱**
مورفوتیپ × کروموزوم	طول کروموزوم	۱۱۷/۶۴۰	۲۴	۴/۹۰۲	۱۸/۵۶۹**
	طول بازوی بلند	۳۴/۸۵۷	۲۴	۱/۴۵۲	۵/۳۷۲**
	طول بازوی کوتاه	۲۹/۲۰۵	۲۴	۱/۲۱۷	۶/۳۹۶**
اشتباه	طول کروموزوم	۳۶/۹۵۶	۱۴۰	۰/۲۶۴	
	طول بازوی بلند	۳۷/۸۵۲	۱۴۰	۰/۲۷۰	
	طول بازوی کوتاه	۲۶/۶۵۳	۱۴۰	۰/۱۹۰	

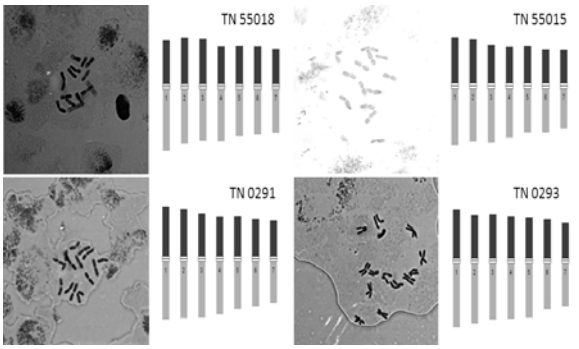
** اختلاف معنی دار در سطح یک درصد

آزمون دانکن از لحاظ میانگین طول کروموزوم مورفوتیپ‌ها را به سه گروه تقسیم نمود. بر این اساس دو مورفوتیپ ۵۵۰۵۳ و ۵۵۰۵۲ که در آزمایشات فلوسیتومتری پائین ترین 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 نشان داد که 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 می شود.



شکل ۳- تصویر کروموزوم‌ها در مرحله متافاز و ایدیوگرام مورفوتیپ‌های انتخاب شده جهت مطالعه کاریولوژیکی در گونه *T. urartu*.

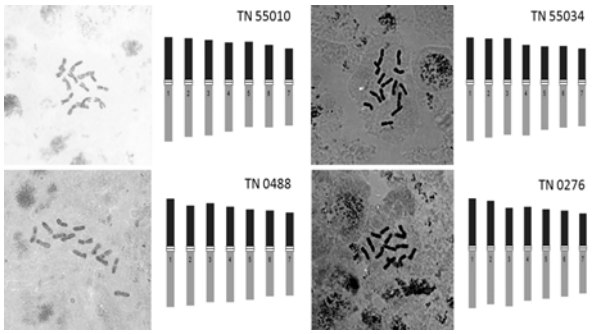
مورفوتیپ‌های زیرگونه *T. boeoticum* Subsp. *boeoticum* همه دیپلوئید بوده و تمام کروموزوم‌ها از نوع متاسانتریک بودند (شکل ۴) و از لحاظ صفات کاریوتایپی تفاوت بسیار معنی داری بین مورفوتیپ‌ها در این زیرگونه وجود داشت (جدول ۵). مورفوتیپ‌های ۵۵۰۱۸ و ۵۵۰۱۵ که دارای پائین‌ترین محتوای DNA بودند از لحاظ طول کروموزوم 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 وTF تفاوت معنی‌داری بین مورفوتیپ های آزمایش شده وجود نداشت و کاریوتایپ‌ها بر اساس شاخص TF متقارن بودند.



شکل۴-تصویر کروموزوم‌ها در مرحله متافاز و ایدیوگرام مورفوتیپ‌های انتخاب شده جهت مطالعه کاریولوژیکی در زیرگونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum*.

Downloaded from mg.genetics.ir at 13:03 +0330 on Wednesday September 22nd 2021

تمام مورفوتیپ‌های آزمایش شده در زیر گونه *T. boeoticum* subsp. *thaoudar* دیپلوئید 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 فلوسیتومتری محتوای DNA پائین داشتند از لحاظ طول کروموزوم نیز در گروه یک قرار گرفتند و همچنین مورفوتیپ های ۰۲۷۶ و ۰۴۸۸ که دارای محتوای DNA بالا بودند از لحاظ طول کروموزوم نیز در گروه دو قرار گرفتند. بین مورفوتیپ های 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 متافاز و ایدیوگرام مورفوتیپ‌های انتخاب شده جهت مطالعه کاریولوژیکی در زیرگونه *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 معنی‌داری 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. *thaoudar* و *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* با بیشترین میانگین طول کروموزوم در گروه دو قرار گرفتند (شکل ۶).

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

	متغیر وابسته	مجموع مربعات	df	واریانس	F
مورفوتیپ	طول کروموزوم	۱۱/۱۳۸	۳	۳/۷۱۳	۲۴/۹۳۱**
	طول بازوی بلند	۴/۰۹۸	۳	۱/۳۶۶	۱۰/۲۹۰**
	طول بازوی کوتاه	۲/۱۷۰	۳	۰/۷۲۳	۵/۲۳۲**
مورفوتیپ × کروموزوم	طول کروموزوم	۱۴۱/۱۰۵	۲۴	۵/۸۷۹	۳۹/۴۸۱**
	طول بازوی بلند	۵۲/۳۳۸	۲۴	۲/۱۸۱	۱۶/۴۲۶**
	طول بازوی کوتاه	۲۵/۷۵۸	۲۴	۱/۰۷۳	۷/۷۶۴**
اشتباه	طول کروموزوم	۲۰/۸۴۸	۱۴۰	۰/۱۴۹	
	طول بازوی بلند	۱۸/۵۸۶	۱۴۰	۰/۱۳۳	
	طول بازوی کوتاه	۱۹/۳۵۲	۱۴۰	۰/۱۳۸	

** اختلاف معنی دار درسطح یک درصد

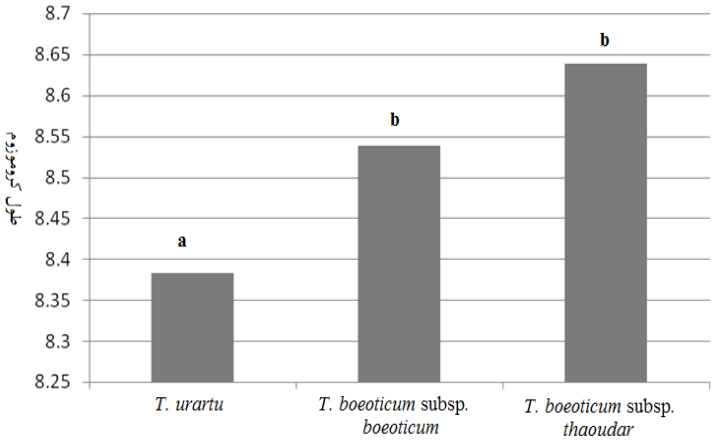
جدول ۶- تجزیه واریانس انجام شده بر اساس خصوصیات کاریوتایپی مورد آزمایش، بین مورفوتیپ‌های منتخب از گونه *T. boeoticum* subsp. *thaoudar*.

	متغیر وابسته	مجموع مربعات	df	واریانس	F
مورفوتیپ	طول کروموزوم	۱۳/۲۳۰	۳	۴/۴۱۰	۲۹/۴۶۱**
	طول بازوی بلند	۴/۱۸۹	۳	۱/۳۹۶	۶/۷۹۱**
	طول بازوی کوتاه	۳/۰۲۳	۳	۱/۰۰۸	۵/۲۶۴**
مورفوتیپ × کروموزوم	طول کروموزوم	۱۲۳/۵۷۴	۲۴	۵/۱۴۹	۳۴/۳۹۸**
	طول بازوی بلند	۳۸/۱۶۵	۲۴	۱/۵۹۰	۷/۷۳۴**
	طول بازوی کوتاه	۲۸/۴۳۶	۲۴	۱/۱۸۵	۶/۱۹**
اشتباه	طول کروموزوم	۲۰/۹۵۶	۱۴۰	۰/۱۵۰	
	طول بازوی بلند	۲۸/۷۸۷	۱۴۰	۰/۲۰۶	
	طول بازوی کوتاه	۲۶/۷۶۹	۱۴۰	۰/۱۹۱	

** اختلاف معنی دار در سطح یک درصد

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

Downloaded from mg.genetics.ir at 13:03 +0330 on Wednesday September 22nd 2021



شکل۶- دیاگرام تفاوت میانگین طول کروموزوم‌ها بین گونه‌ها، با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد.

هیچ‌گونه انحرافی از سطح دیپلوئید ۲n = ۲x = ۱۴ در مورفوتیپ-های *T. monococcum* آزمایش شده وجود ندارد. اگرچه از لحاظ نوع کروموزوم، شاخص سانترومری و نسبت بازوها تفاوت معنی داری بین مورفوتیپ‌ها مشاهده نگردید اما تجزیه واریانس میانگین صفات کاریوتایپی، تفاوت معنی دار شاخص‌های طول کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه را در بین مورفوتیپ‌ها در هر گونه نشان داد و تا حدود زیادی نتایج فلوسیتومتری را تائید نمود. بنابراین به نظر می‌رسد که تنوع 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 کروموزم‌ها و مقدار DNA در بین گونه‌های نزدیک به هم، وقوع پدیده جابجایی‌نابجا و مضاعف شدن است (Sheidaei 2002). بدین ترتیب می‌توان انتظار داشت که تفاوت محتوای DNA مشاهده شده بین مورفوتیپ‌ها در هر گونه بعلت پدیده‌هایی مثل مضاعف شدگی باشد. نتایج آزمایشات فلوسیتومتری 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.

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 دربرگیرنده تمام کروموزوم‌ها می‌باشد (Stebbins 1971). با بررسی هر دو شاخص تفاوت معنی‌داری بین مورفوتیپ‌ها در هر سه گونه مورد آزمایش دیده نشد. استبینز عنوان نمود که کاریوتیپ‌های نا متقارن از لحاظ تکاملی پیشرفته‌تر از کاریوتایپ‌های متقارن می‌باشند و تغییرات در تقارن معمولا با از دست رفتن کروماتین همراه است.(Davoodi et al. 2008) پس از مطالعه سیتولوژیکی ارقام نیشکر عنوان نمودند که تکامل کاریوتایپ الزاما با عدم تقارن کاریوتایپ توام نیست. هرچند هنوز به طور قطعی مشخص نیست که تقارن و یا عدم تقارن شاخصه تکامل می‌باشد، ولی می-توان علت عدم تفاوت بین مورفوتیپ‌ها 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 فلوسیتومتری را تائید نمود. محتوای DNA، اندازه کروموزوم ها و در اکثر مواقع

تعداد کروموزم‌ها با درجه اختصاصی شدن گونه‌ها ارتباط دارد. تک لپه ای‌ها معمولاً در مقایسه با دو لپه ای‌ها کروموزم‌های بزرگ‌تری دارند. در هر دو گروه نیز معمولاً گونه‌های ابتدایی تر کروموزم‌های بزرگ تری نسبت به گونه‌های پیشرفته تر دارند (Sheidaei 2002). بدین ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که گونه *T. urartu* از درجه اختصاصی شدن بیشتری برخوردار بوده و از لحاظ تکاملی پیشرفته تر باشد. در این مطالعه نزدیک بودن دو زیر گونه *T. boeoticum subsp. thaoudar* و *T. boeoticum subsp. boeoticum* از لحاظ محتوای DNA و از لحاظ صفات کاریوتایپی کاملا 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.smartt 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.

Downloaded from mg.genetics.ir at 13:03 +0330 on Wednesday September 22nd 2021