

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.aghahi@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. *Thaouadar* 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 کاربوتایی قرار گرفتند. بررسی کاربوتایی میتوزی نشان داد که مورفوتیپ‌های مورد آزمایش از سطح کروموزومی $2n = 2x = 2n$ 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،
کاربوتایی،
گندم دیپلوئید،
محتوای DNA،
T. monococcum

مقدمه

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 $2n=6x=42$ شدند. مطالعه تقارن کاریوتایپ از طریق محاسبه درصد شکل کلی¹ TF و شاخص پراکنش کروموزومی² 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 می سنجد. در این تحقیق، محتوای DNA ژنومی و صفات کاریوتایی در تعدادی از مورفوتیپ های 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 روش ها

تعداد ۹۳ مورفوتیپ 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 بود شامل ۲۱ مورفوتیپ *T. boeoticum* subsp. *boeoticum*، ۵۳ مورفوتیپ *T. boeoticum* subsp. *thaouadar* 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. *thaouadar* از کشورهای اردن، ترکیه، لبنان، سوریه و عراق مورد آزمایش قرار گرفت. جهت انجام آزمایش های فلوسیتومتری دو واریته زراعی گندم هگزاپلوئید الوند و نیک نژاد ($2n=6x=42$) و همچنین گندم دوروم تتراپلوئید یوآرس 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 فلوسیتومتر (Poloidy analyzer)، بر اساس پیک و نسبت مد نمونه های استاندارد و نمونه های هدف، برآورد گردید. نمونه هایی که بر اساس شاخص فلوسیتومتری،

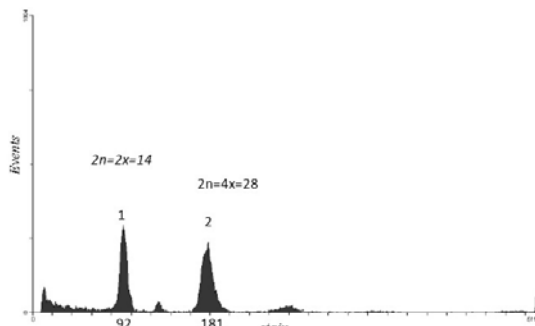
تنوع ژنتیکی بسیاری از محصولات زراعی نظیر گندم در طول دهه های گذشته کاهش یافته است (Ciaffi et al. 1993). کاهش تنوع ژنتیکی، علاوه بر کاهش بازدهی برنامه های اصلاحی باعث ایجاد یکنواختی ژنتیکی در مزارع و آسیب پذیری شدید محصولات کشاورزی در برابر آفات، بیماری ها و تنش های محیطی می گردد (Abde Mishani et al. 1998). گونه های گندم دیپلوئید وحشی حامل ژنوم A در منابع مختلف به اشکال متفاوتی طبقه بندی شده اند. گندم دیپلوئید وحشی *T. monococcum* با فرمول کروموزومی $2n=2x=14$ خود شامل گونه *T. urartu* و گونه *T. boeoticum* با دو زیرگونه *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* و *T. boeoticum* subsp. *thaouadar* می باشد که به عنوان گونه های دیپلوئید وحشی و حامل ژنوم A شناخته می شوند (Kimber et al. 1995; Mackey 1988; Feldman et al. 1987) و از لحاظ صفات زراعی مثل مقاومت به زنگ، مقاومت به سرما و مقاومت به علف کش ها، *T. monococcum* 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 پلاسما گندم *T. monococcum* در اصلاح و بهبود کیفیت و مقاومت به تنش ها در گندم های تجاری، استفاده از مطالعات سیتوژنتیکی برای دستیابی به سرنخ هایی در زمینه مکانیزم های بروز تنوع ژنتیکی در سطح ژنوم این گونه وحشی را توجیه پذیر می نماید. مطالعات سیتولوژیکی به همراه بررسی های ژنتیکی و مورفولوژیکی می تواند شاخص قابل اعتمادی برای ارزیابی رابطه خویشاوندی گونه های یک جنس باشد. از خصوصیات مورفولوژیک 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 فلوسیتومتری 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 فلوسیتومتری با وسعت زیادی برای یافتن آنیوپلوئیدی و پلی

¹ Total Form Percentage² Dispersion index

سطوح بالاتر یا پائین تر DNA را نشان دادند، از لحاظ ویژگیهای کاربوتایپ میتوزی مورد بررسی قرار گرفتند. تهیه کاربوتایپ با استفاده از روش مجیب قاضی (Mujeeb Kazi et al. 1985) انجام شد. برای هر مورفوتیپ منتخب به تصادف از سه بذر مورد کشت کاربوتایپ تهیه گردید و عکس‌های مربوطه با نرم افزار Micro Measure آنالیز و در نهایت میانگین پارامترهای کاربوتایپی 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 کاربوتایپی 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 کاربوتایپها با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید.

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

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



شکل ۱- نمودار پیک رسم شده توسط دستگاه پلوتیدی آنالیز، ۱: نمونه گندم دیپلوئید *T. boeoticum* subsp. *thaouadar* (۵۵۰۲۳) و ۲: گندم تتراپلوئید یوارس (۲۸=۴X=۲n) بعنوان شاهد.

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

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

$$DI = CV \times CG$$

CG: گرادینت سانترومری، S: میانگین طول بازوی کوتاه و

$$L: \text{میانگین طول بازوی بلند} \quad CG = \frac{L}{S}$$

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

$$CV = \frac{\sigma}{m} \times 100 \quad \text{کروموزومها}$$

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

نتایج و بحث

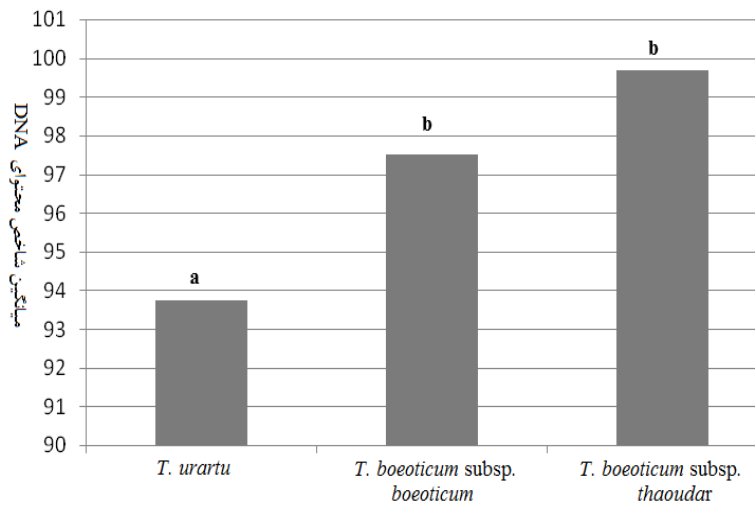
بررسی محتوای DNA ژنومی

در آزمایشات متعدد، مد شاخص محتوای DNA برای گندمهای شاهد هگزپلوئید 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.

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



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

ادامه مطالعات جهت یافتن ناهنجاری‌های احتمالی ژنومی (آنپلوئیدی) و یا تغییرات قطعه‌ای کروموزومی، به سمت بررسی کاربیلوژیک 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 کاربیلوژیک 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 حداکثر شاخص محتوای DNA مشاهده شده در گونه *T. urartu*، *T. boeoticum subsp. boeoticum* و *T. boeoticum subsp. thaouadar* به ترتیب ۲۴، ۲۱ و ۲۳ می باشد. بدلیل تنوع شاخص فلوسیتومتری بین مورفوتیپ‌ها در هر گونه،

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

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

کاربیلوژیک مورفوتیپ (طول کروموزوم‌ها، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه) تفاوت بسیار معنی‌داری بین مورفوتیپ‌ها در این گونه وجود داشت (جدول ۴).

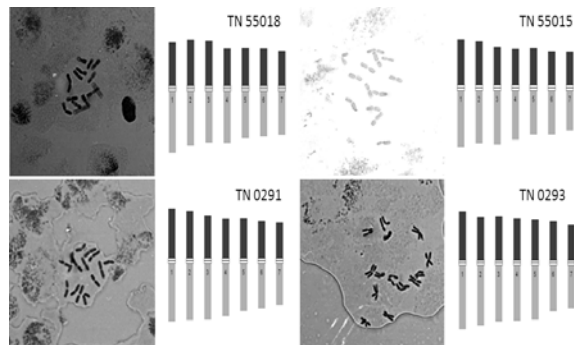
بررسی خصوصیات کاربیلوژیک نمونه‌های مورد بررسی از گونه *T. urartu* همگی دیپلوئید و بر اساس روش نامگذاری (Leaven et al. 1964) همه کروموزوم‌ها در گونه *T. urartu* متاسانتریک بودند (شکل ۳). از لحاظ صفات

جدول ۴- تجزیه واریانس انجام شده بر اساس خصوصیات کاربوتاییبی 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	

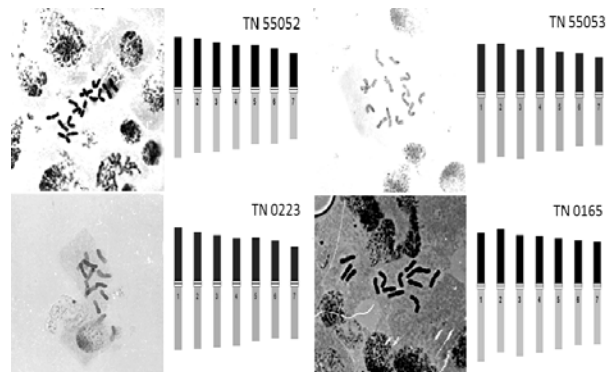
** اختلاف معنی دار در سطح یک درصد

مورفوتیپ‌های زیرگونه *T. boeoticum* Subsp. *boeoticum* همه دیپلوئید بوده و تمام کروموزوم‌ها از نوع متاساتریک بودند (شکل ۴) و از لحاظ صفات کاربوتاییبی تفاوت بسیار معنی داری بین مورفوتیپ‌ها در این زیرگونه وجود داشت (جدول ۵). مورفوتیپ‌های ۵۵۰۱۵ و ۵۵۰۱۸ 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 معنی‌داری بین مورفوتیپ‌های آزمایش شده وجود نداشت و کاربوتایپ‌ها بر اساس شاخص TF مقارن بودند.



شکل ۴- تصویر کروموزوم‌ها در مرحله متافاز و ایدیوگرام مورفوتیپ‌های انتخاب شده جهت مطالعه کاربولوژیکی 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 ۵۵۰۵۳ و ۵۵۰۵۲ که در آزمایشات فلوسیتومتری 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 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 کاربوتایپ‌ها ثابت می‌شود.



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

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

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

** اختلاف معنی دار در سطح یک درصد

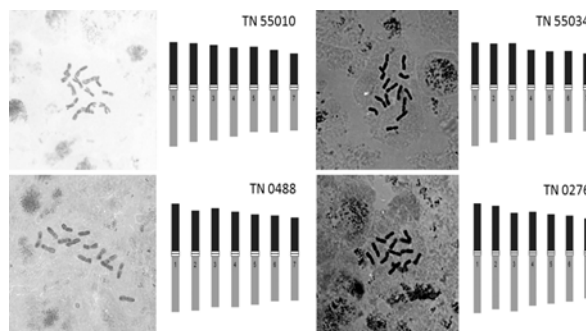
جدول ۶- تجزیه واریانس انجام شده بر اساس خصوصیات کاربیلوژیایی مورد آزمایش، بین مورفوتیپ‌های منتخب از گونه *T. boeoticum* subsp. *thaouadar*

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

** اختلاف معنی دار در سطح یک درصد

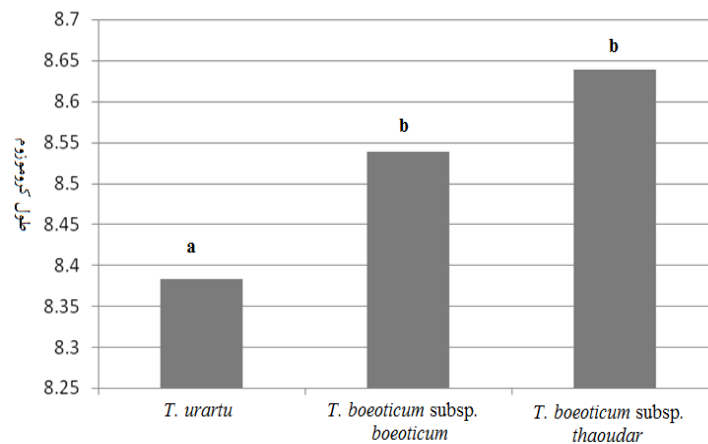
کلیه مورفوتیپ‌های گندم دیپلوئید مورد مطالعه از هر سه گونه مورد بررسی در این تحقیق، از لحاظ شاخص فلوسیتومتری محتوای DNA به سطوح پلوئیدی بالاتر نزدیک نشدند. با توجه به اختلاف فاحش سطوح بالا و پائین شاخص فلوسیتومتری، احتمال تغییرات تعدادی و قطعه‌ای کروموزومی در مورفوتیپ‌های مورد بررسی وجود داشت. نتیجه بررسی‌های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

تمام مورفوتیپ‌های آزمایش شده در زیر گونه *T. boeoticum* subsp. *thaouadar* دیپلوئید بوده و کروموزوم‌های آنها از نوع متاسانتریک بودند (شکل ۵) و از لحاظ صفات کاربیلوژیایی 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 مورفوتیپ‌های ۰۲۷۶ و ۰۴۸۸ 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 کاربیلوژیایی‌ها از لحاظ شاخص TF متقارن بودند.



شکل ۵- تصویر کروموزوم‌ها در مرحله متافاز و ایدیوگرام مورفوتیپ‌های انتخاب شده جهت مطالعه کاربیلوژیکی در زیرگونه *T. boeoticum* subsp. *thaouadar*

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. *thaouadar* و *T. boeoticum* subsp. *boeoticum* با بیشترین میانگین طول کروموزوم در گروه دو قرار گرفتند (شکل ۶).



شکل ۶- دیگرام 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 دربرگیرنده تمام کروموزومها می‌باشد (Stebbins 1971). با بررسی هر دو شاخص تفاوت معنی‌داری بین مورفوتیپها در هر سه گونه مورد آزمایش دیده نشد. استبیز عنوان نمود که کاریوتیپهای نامتقارن از لحاظ تکاملی پیشرفته‌تر از کاریوتایپهای متقارن می‌باشند و تغییرات در تقارن معمولاً با از دست رفتن کروماتین همراه است (Davoodi et al. 2008). پس از مطالعه سیتولوژیکی 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 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 پائین‌ترین میانگین در گروه اول و دو گونه *T. boeoticum subsp. thaouadar* و *T. boeoticum subsp. boeoticum* با میانگین طول بیشتر در گروه دوم قرار گرفتند. نتایج اخیر، نتایج حاصل از فلوسیتومتری را تأیید نمود. محتوای DNA، اندازه کروموزومها و در اکثر مواقع

هیچ‌گونه انحرافی از سطح دیپلوئید $2n = 2x = 14$ در مورفوتیپهای *T. monococcum* آزمایش شده وجود ندارد. اگرچه از لحاظ نوع کروموزوم، شاخص سانترومری و نسبت بازوها تفاوت معنی‌داری بین مورفوتیپها مشاهده نگردید اما تجزیه واریانس میانگین صفات کاریوتاییبی، تفاوت معنی‌دار 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 تأیید 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 پلاسما 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 مورفوتیپها در هر گونه بعلاوه 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.

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 بزرگ‌تری 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. thaouadar* و *T. boeoticum subsp.* کاملاً محرز شد.

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 بزرگ‌تری نسبت به گونه‌های پیشرفته تر دارند (Sheidaei 2002). بدین ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که گونه *T.*

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. Dicocoides*) 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 evaluation 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. American 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.