مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۱، شماره ۲، ۱۳۸۹ (۳۱۳-۳۰۵)

مطالعه سیتوژنتیکی برخی از گونه‌های گندم وحشی آجیلوپس ایران و نواربندی OR

قاسم کریم‌زاده[۱]*، صادق اشکانی[۲]، پریچهره احمدیان تهرانی[۳]، داریوش داودی[۴] و قادر میرزاقادری[۵]
۱، دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
۲، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد
۳، استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۴، استادیار پژوهش پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج
۵، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان
(تاریخ دریافت: ۸۷/۱/۲۹ - تاریخ تصویب: ۸۸/۷/۸)

چکیده

به منظور بررسی تنوع سیتوژنتیکی موجود در گونه‌های آجیلوپس، کاریوتیپ ۱۵ جمعیت آجیلوپس بومی مناطق مختلف ایران شامل ۳ جمعیت دیپلوئید و ۱۲ جمعیت تتراپلوئید مورد مطالعه قرار گرفت و پارامترهای کروموزومی در هر جمعیت بررسی شدند. نتایج بررسی‌های کاریوتیپی نشان داد که جمعیت‌ها دارای تعداد متفاوتی از کروموزوم‌های ماهواره‌دار بودند. بزرگترین طول کل کروماتین مربوط به جمعیت ۱۱ (۱۵۲/۲ میکرومتر) و کمترین آن مربوط به جمعیت ۲ (۷۰/۵ میکرومتر) بود. تعداد پنج جمعیت فقط دارای کروموزوم‌های از نوع متاسنتریک (m) و ده جمعیت نیز دارای هردو نوع متاسانتریک و ساب متاسنتریک (sm) بودند. همچنین تقارن کاریوتیپی به روش استبینز، ده جمعیت را در کلاس 1A و پنج جمعیت در کلاس 1B قرار داد. تجزیه واریانس پارامترهای کاریوتیپی نشان داد که بین جمعیت‌های دیپلوئید از لحاظ پارامترهای طول بازوهای بلند و کوتاه، طول کروموزوم و نسبت طول بازوی کوتاه به بلند و در بین جمعیت‌های تتراپلوئید برای اغلب پارامترها اختلاف معنی‌دار وجود داشت. روش نواربندی OR در فواصل مختلف زمانی ۲۴ ساعت تا یک هفته بعد از رنگ‌آمیزی با استو اورسئین ۱ درصد، بر روی ۳ جمعیت از گونه *Ae. tauschii* (۲n=۲x=۱۴) انجام شد. مناسب‌ترین زمان رنگ‌آمیزی برای نواربندی، یک هفته تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: **سیتوژنتیک، کاریوتیپ، کروموزوم، گندم وحشی Aegilops،نواربندی OR.**

مقدمه

آجیلوپس‌ها از جمله اجداد وحشی گندم بوده و عمدتاً در جنوب نواحی مدیترانه تا خاور نزدیک و آسیای مرکزی پراکنده‌اند (Karimi, 1992; Yazdanseta et al., 2004) و در ایران ۱۲ گونه یکساله شناسایی شده است که اغلب به صورت علف هرز دیده می‌شوند (Mozafarian, 1996; Masumi & Khosravi, 1994).

گونه‌های آجیلوپس به عنوان منابع ژنی ارزشمند و بی‌نظیر در تکامل و اصلاح گندم به شمار می‌آیند. با توجه به نقش و اهمیت آنها مطالعات سیتوژنتیکی زیادی در آنها صورت گرفته است (Ahmadabadi, 2001; Badeva, 2002; Davoodi & Ahmadian, 1995; Gupta, 1991; Levan et al., 1964; Schneider et al., 2008). تجزیه کاریوتیپ و مطالعات سیتوژنتیک ملکولی نشان داده است که همه گندم‌ها، گراس‌ها و خویشاوندان

* نویسنده مسئول: قاسم کریم‌زاده تلفن: ۰۹۱۲-۳۹۰۵۴۷۳ E-mail: karim_gh@modares.ac.ir

وحشی آنها دارای سطوح پلوئیدی از دیپلوئید تا هگزاپلوئید هستند (Badeva et al., 1991; Badeva, 2002; Mirzaie-Nadushan & Zebarjadi, 2000). خصوصیات سیتوژنتیکی پنج گونه آجیلوپس شمال غربی ایران توسط فهیمی (Fahimi, 1991) نشان داده است که این گونه‌ها از لحاظ تعداد کروموزوم و مورفولوژی آنها، اندازه مطلق کروموزوم و مقدار کروماتین نسبی متفاوت هستند. نواربندی کروموزوم‌ها به عنوان روش جدیدی برای شناسائی کروموزوم‌های منفرد و روش مناسبی برای شناسائی کروموزوم‌ها از هم بوجود آورده است (Badeva et al., 2008; Sharma & Sharma, 2001). از روش نواربندی شناسایی لاین‌های دارای کروموزوم‌های اضافه یا جایگزین شده و بعضی از تغییرات ساختمانی کروموزوم‌ها و جابجائی‌های کروموزومی استفاده شده و همچنین به ما اجازه می‌دهد که رابطه‌ای بین نقشه‌های ژنتیکی و نقشه‌های فیزیکی ایجاد کنیم (Fedak & Kim, 2008).

شناسائی مناطق هتروکروماتینی و یوکروماتینی کروموزوم‌ها و شناسائی کروموزوم‌های هومولوگ نیز از دیگر کاربردهای روش‌های نواربندی است (Arzani, 1996). گرچه اغلب در غلات از روش‌های نواربندی C و N استفاده شده است (Badeva et al., 2002; Fedak & Kim, 2008; Gupta, 1997) ولی نواربندی OR نیز مورد مطالعه قرار گرفته است (Davoodi & Ahmadian, 1995). هدف از تحقیق حاضر پی بردن به تشابهات و تفاوت‌های موجود در بین جمعیت‌های آجیلوپس از لحاظ سطح پلوئیدی و مورفولوژی کروموزوم‌ها با استفاده از پارامترهای کروموزومی و نواربندی OR می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۵ جمعیت آجیلوپس بومی مناطق مختلف ایران شامل: ۳ جمعیت از گونه *Aegilops tauschii* (۲n=۲x=۱۴)، ۶ جمعیت از گونه *Ae. triuncialis* (۲n=۴x=۲۸) و ۶ جمعیت از گونه *Ae. cylindrica* (۲n=۴x=۲۸) استفاده گردید (جدول۱). به منظور بررسی‌های کاریوتیپی بذور هر کدام از ژنوتیپ‌ها در هر پتری‌دیش بعد از جدا کردن پوشینه‌ها روی کاغذ صافی در ۲۰ درجه سلسیوس کشت شدند. به منظور متوقف کردن سلول‌های مریستمی در مرحله متافاز، بذور دارای ریشه‌های فعال از نظر تقسیم سلولی به طول ۱-۰/۵ سانتی‌متر به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس داده شدند سپس ریشه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول ۳ به ۱ الکل اتیلیک خالص و اسید استیک گلاسیال تثبیت شدند. هیدرولیز نمونه‌ها با اسید کلریدریک ۱ نرمال به مدت ۱۳ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سلسیوس انجام گرفت و رنگ‌آمیزی با استفاده از استواورسئین انجام شد (Ahmadabadi, 2001).

جدول ۱- مشخصات ۱۵ جمعیت گونه های گندم وحشی آجیلوپس مورد بررسی

گونه	سطح پلوئیدی	شماره کلکسیون	محل جمع آوری	شماره جمعیت
Ae. tauschii	۲n=۲x=۱۴	TN-۰۱-۶۱۲	خراسان	۱
Ae .tauschii	۲n=۲x=۱۴	TN-۰۱-۸۷۳	آذربایجان شرقی	۲
Ae. tauschii	۲n=۲x=۱۴	-	کرج	۳
Ae. triuncialis	۲n=۴x=۲۸	TN-۰۱-۵۸۶	خراسان	۴
Ae. triuncialis	۲n=۴x=۲۸	TN-۰۱-۶۲۸	آذربایجان شرقی	۵
Ae. triuncialis	۲n=۴x=۲۸	-	چهار محال بختیاری	۶
Ae. triuncialis	۲n=۴x=۲۸	۱۷	کرمانشاه	۷
Ae. triuncialis	۲n=۴x=۲۸	۳۸	خرم آباد	۸
Ae. triuncialis	۲n=۴x=۲۸	۹۱	مازندران	۹
Ae. cylindrica	۲n=۴x=۲۸	TN-۰۱-۶۲۲	خراسان	۱۰
Ae. cylindrica	۲n=۴x=۲۸	TN-۰۱-۶۲۹	آذربایجان شرقی	۱۱
Ae. cylindrica	۲n=۴x=۲۸	-	مرودشت فارس	۱۲
Ae. cylindrica	۲n=۴x=۲۸	-	اقلیدفارس	۱۳
Ae. cylindrica	۲n=۴x=۲۸	-	ارومیه	۱۴
Ae. cylindrica	۲n=۴x=۲۸	۴۷	کردستان	۱۵

مطالعات کاریولوژیکی جمعیت‌های مختلف به صورت دو آزمایش فاکتوریل جداگانه در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در پنج تکرار با دو فاکتور جمعیت و کروموزوم (به ترتیب دارای ۳ و ۷ سطح در آزمایش گونه‌های دیپلوئید و ۱۲ و ۱۴ سطح در آزمایش گونه‌های تتراپلوئید) صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن انجام گردید. خصوصیات کاریوتیپی از قبیل طول بازوی بلند (L)، طول بازوی کوتاه (S)، طول کل کروموزوم (TL=S+L)، نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه (AR=L/S)، نسبت طول بازوی کوتاه به بلند (r-value=S/L)، طول نسبی کروموزوم RL%=(TL/∑TL)×100 و درصد شکل کروموزوم F%=(S/∑TL)×100 (Davoodi & Ahmadian, 1995).

برای نامگذاری کروموزوم‌ها از روش Levan et al. (1964) برای تعیین کلاس‌بندی تکاملی کاریوتیپ از روش Stebbins (1971) استفاده گردید. همچنین روش نواربندی روی جمعیت‌های ۱ تا ۳ آجیلوپس گونه *Ae. tauschii* بومی ایران انجام گردید. برای نواربندی، از رنگ‌آمیزی نمونه‌ها با استواورسئین ۱ درصد (w/v) به مدت ۲ تا ۷ روز استفاده شد (Ahmadabadi, 2001) و در فواصل مختلف زمانی ۲۴ ساعت از نمونه‌ها اسلایدهای کروموزومی تهیه و عکس‌برداری از نمونه‌های متافازی مناسب با استفاده از میکروسکوپ نوری زایس (Zeiss Standard 25) انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (ارائه نشده) نشان داد که جمعیت‌های آجیلوپس دیپلوئید از نظر چهار پارامتر کرموزومی طول بازوی بلند، بازوی کوتاه، طول کروموزوم و نسبت طول بازوی کوتاه به بلند تفاوت معنی‌داری دارند ولی از لحاظ نسبت بازدها، طول نسبی کروموزوم و درصد شکل کروموزوم بین جمعیت‌ها تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید. کاریوتیپ وایدیوگرام‌های کروموزوم‌های سلول‌های سوماتیکی نوک ریشه جمعیت‌های مختلف دیپلوئید و تتراپلوئید در شکل‌های ۱ و ۲ آورده شده است. از طرف دیگر، تجزیه واریانس جمعیت‌های آجیلوپس تتراپلوئید (ارائه نشده) نیز نشان داد که بین این جمعیت‌ها به جزء طول نسبی کروموزوم، بین سایر پارامترها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد. بین کروموزوم‌های مختلف جمعیت‌های تتراپلوئید ازلحاظ طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، طول کل کروموزوم، درصد شکل کروموزوم و طول نسبی کروموزوم‌ها تفاوت بسیار معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده گردید ولی از لحاظ نسبت طول بازوی کوتاه به بلند و نسبت بازوها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده نشد. نتایج مقایسه میانگین‌ها، جمعیت‌های آجیلوپس مورد مطالعه را از لحاظ پارامترهای کروموزومی و همچنین کروموزوم‌ها در گروه‌های مختلف قرار داد (جدول‌های ۵-۲). نتایج نشان داد که از نظر چهار ویژگی کروموزومی، سه جمعیت دیپلوئید در دو گروه مختلف قرار گرفتند (جدول۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین (±Se) ویژگی‌های کروموزومی در جمعیت‌های دیپلوئید آجیلوپس مورد بررسی

جمعیت	L	S	TL	r-value
۱	۳/۱۱۳ ±۰/۰۹۲^{a}	۲/۴۱۸ ±۰/۰۶۸^{a}	۵/۵۳۱ ±۰/۱۵۳^{a}	۰/۷۶۷ ±۰/۰۱۶^{a}
۲	۲/۸۵۴ ±۰/۱۱۱^{b}	۲/۱۸۳ ±۰/۰۸۳^{b}	۵/۰۳۷ ±۰/۱۸۳^{b}	۰/۶۶۳ ±۰/۰۳۲^{b}
۳	۳/۰۸۷ ±۰/۰۷۲^{a}	۲/۴۴۴ ±۰/۰۷۸^{a}	۵/۵۳۱ ±۰/۱۳۹^{a}	۰/۷۷۲ ±۰/۰۱۹^{a}

جدول ۳- مقایسه میانگین (±Se) ویژگی‌های کروموزومی در جمعیت‌های تتراپلوئید آجیلوپس مورد بررسی

جمعیت	L	S	TL	AR	r-value	F%
۴	۲/۵۹۱ ±۰/۰۸۰ ^{fg}	۱/۵۱۲ ±۰/۰۵۶ ^{f}	۴/۱۰۳ ±۰/۱۱۷ ^{de}	۱/۸۱۰ ± ۰/۰۷۱ ^{c}	۰/۶۰۲ ±۰/۰۱۹ ^{bc}	۲/۶۳۳ ± ۰/۰۷۹ ^{d}
۵	۲/۵۱۸ ±۰/۰۶۷ ^{gh}	۱/۴۹۳ ± ۰/۰۴۴ ^{f}	۴/۰۱۱ ± ۰/۰۹۰ ^{e}	۱/۷۷۶ ±۰/۰۶۴ ^{bc}	۰/۶۱۱ ±۰/۰۲۰ ^{bc}	۲/۶۵۴ ±۰/۰۷۳ ^{cd}
۶	۲/۳۵۶ ±۰/۰۵۹ ^{h}	۱/۳۹۱ ±۰/۰۵۶ ^{f}	۳/۷۴۷۴ ±۰/۰۸۶ ^{e}	۱/۷۳۴ ±۰/۰۹۶ ^{bc}	۰/۶۰۹ ± ۰/۰۲۴ ^{bc}	۲/۶۵۵ ±۰/۱۰۱ ^{cd}
۷	۲/۲۶۰ ±۰/۰۶۸ ^{efg}	۱/۷۶۴ ±۰/۰۵۵ ^{de}	۴/۳۷۴ ± ۰/۱۱۴ ^{cd}	۱/۵۵۲ ± ۰/۰۵۱ ^{abc}	۰/۶۸۰ ±۰/۰۱۷ ^{abc}	۲/۸۷۶ ±۰/۰۸۱ ^{abc}
۸	۲/۸۴۱ ±۰/۰۷۳ ^{cde}	۲/۰۲۳ ±۰/۰۶۲ ^{b}	۴/۸۶۳ ± ۰/۱۲۰ ^{b}	۱/۴۵۵ ± ۰/۰۴۴ ^{a}	۰/۷۲۲ ±۰/۰۱۸ ^{a}	۲/۹۶۶ ±۰/۰۷۴ ^{ab}
۹	۲/۹۷۹ ±۰/۰۸۴ ^{abc}	۲/۰۰۰ ± ۰/۰۶۰ ^{bc}	۴/۹۷۹ ±۰/۱۳۲ ^{b}	۱/۵۲۶ ±۰/۰۴۰ ^{abc}	۰/۶۸۲ ±۰/۰۱۵ ^{abc}	۲/۸۶۶ ±۰/۰۷۲ ^{abc}
۱۰	۲/۶۷۱± ۰/۰۷۵^{efg}	۱/۷۶۹ ±۰/۰۶۵^{de}	۴/۴۴۰ ±۰/۱۲۵ ^{c}	۱/۶۲۰±۰/۰۷۴^{abc}	۰/۶۶۹±۰/۰۱۸^{abc}	۲/۸۳۶±۰/۰۹۴^{abcd}
۱۱	۳/۱۶۳ ±۰/۰۷۵ ^{a}	۲/۲۷۱ ± ۰/۰۶۳^{a}	۵/۴۳۶ ±۰/۱۲۷ ^{a}	۱/۴۲۴ ± ۰/۰۳۲ ^{a}	۰/۷۲۴ ±۰/۰۱۵ ^{a}	۲/۹۸۲ ±۰/۰۶۹ ^{a}
۱۲	۲/۷۳۳ ± ۰/۰۹۱^{defg}	۱/۸۳۶ ± ۰/۰۸۲ ^{cde}	۴/۵۷۰ ± ۰/۱۵۹ ^{c}	۱/۶۰۹ ±۰/۰۶۹ ^{abc}	۰/۶۷۸ ±۰/۰۲۰ ^{abc}	۲/۸۵۱ ±۰/۰۹۹^{abcd}
۱۳	۲/۹۱۵ ±۰/۰۷۰ ^{bcd}	۱/۹۳۹ ± ۰/۰۵۴ ^{bcd}	۴/۸۵۴ ± ۰/۱۰۴ ^{b}	۱/۵۶۵ ± ۰/۰۵۳ ^{ab}	۰/۶۸۱ ±۰/۰۱۹ ^{ab}	۲/۵۴۹±۰/۰۷۶ ^{abcd}
۱۴	۲/۷۹۸ ±۰/۰۹۴ ^{cdef}	۱/۶۰۵ ± ۰/۰۹۷ ^{e}	۴/۴۰۳ ±۰/۱۷۲ ^{c}	۱/۶۸۱ ±۰/۱۰۴ ^{bc}	۰/۵۷۲ ± ۰/۰۲۷ ^{bc}	۲/۵۵۹ ±۰/۱۲۶ ^{bcd}
۱۵	۳/۱۱۳ ±۰/۰۷۵ ^{ab}	۲/۲۴۰ ± ۰/۰۶۴ ^{a}	۵/۳۵۳ ± ۰/۱۲۹ ^{a}	۱/۴۲۴ ±۰/۰۳۱ ^{a}	۰/۷۲۳ ± ۰/۰۱۴ ^{a}	۲/۹۸۷ ± ۰/۰۷۵ ^{a}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین (±Se) پارامترهای کروموزومی در جمعیت‌های دیپلوئید آجیلوپس مورد تحقیق به تفکیک کروموزوم

کروموزوم	L	S	TL	RL%	F%
۱	۳/۵۴۶±۰/۰۹۵ a	۲/۹۳۳ ±۰/۱۰۶ a	۶/۴۸۰±۰/۱۸۶ a	۱۷/۲۹۹ ±۰/۲۰۲ a	۷/۸۱۸ ±۰/۱۵۷ a
۲	۳/۴۲۰ ±۰/۱۲۷ ab	۲/۵۹۰ ±۰/۰۸۳ b	۶/۰۱۰ ±۰/۱۹۷ ab	۱۶/۰۰۱ ± ۰/۱۲۶ b	۶/۹۰۸ ±۰/۱۰۹ b
۳	۳/۱۴۰ ±۰/۱۳۱ abc	۲/۵۱۶ ±۰/۰۶۵ b	۵/۶۵۶ ±۰/۱۸۴ bc	۱۵/۰۶۱±۰/۰۷۹ c	۶/۷۳۴ ±۰/۱۱۵ b
۴	۳/۰۳۳ ±۰/۱۱۷ bcd	۲/۲۷۰± ۰/۰۷۶ bc	۵/۳۰۳ ±۰/۱۶۹ cd	۱۴/۱۲۶ ± ۰/۰۸۵ d	۶/۰۶۲ ±۰/۱۳۵ c
۵	۲/۸۳۳ ±۰/۱۰۴ cde	۲/۱۶۳ ± ۰/۰۷۹ cd	۴/۹۹۶ ±۰/۱۵۹ cde	۱۳/۳۰۷ ±۰/۰۷۰ e	۵/۷۶۷ ±۰/۱۲۸ c
۶	۰/۶۴۳ ±۰/۰۹۴ de	۲/۱۰۰ ±۰/۰۸۴ cd	۴/۷۴۳ ±۰/۱۶۸ de	۱۲/۶۱۶ ± ۰/۱۲۱ f	۵/۵۷۸ ±۰/۰۸۱ c
۷	۲/۵۱۰ ±۰/۱۱۹ e	۱/۸۶۶ ± ۰/۱۰۱ d	۴/۳۷۶ ±۰/۱۸۸ e	۱۱/۵۸۹ ±۰/۱۹۵ g	۴/۹۹۳ ±۰/۱۹۷ d

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

جدول ۵- مقایسه میانگین (±Se) پارامترهای کروموزومی در جمعیت‌های تتراپلوئید آجیلوپس مورد تحقیق به تفکیک کروموزوم

کروموزوم	L	S	TL	RL%	F%
۱	۳/۶۱۷±۰/۰۷۸ a	۲/۵۱۷±۰/۰۹۳ a	۶/۱۳۴±۰/۱۵۳ a	۹/۵۹۱ ±۰/۰۸۹ a	۳/۸۹۹ ±۰/۰۹۱ a
۲	۳/۳۷۰ ±۰/۰۸۲ ab	۲/۲۲۷ ±۰/۰۷۷ b	۵/۵۹۷ ±۰/۱۴۲ b	۸/۷۳۶ ±۰/۰۵۶ b	۳/۴۵۵ ±۰/۰۶۲ b
۳	۳/۲۶۶ ± ۰/۰۷۵ bc	۲/۰۴۴ ±۰/۰۶۸ bc	۵/۳۱۰ ±۰/۱۲۷ bc	۸/۳۰۱ ±۰/۰۴۵ c	۳/۱۷۲ ±۰/۰۶۲ c
۴	۳/۰۹۹ ± ۰/۰۷۱ cd	۲/۰۰۷ ± ۰/۰۷۵ bc	۵/۱۰۷ ±۰/۱۲۲ cd	۷/۹۸۱ ±۰/۰۳۵ d	۳/۰۹۴ ±۰/۰۸۳ c
۵	۲/۹۳۹ ±۰/۰۶۷ de	۱/۹۶۶ ±۰/۰۶۸ cd	۴/۹۰۵ ±۰/۱۱۵ de	۷/۶۶۹ ±۰/۰۲۷ e	۳/۰۴۸ ±۰/۰۶۲ c
۶	۲/۸۷۳ ±۰/۰۶۲ def	۱/۸۵۴ ±۰/۰۶۴ cde	۴/۷۲۷ ±۰/۱۰۹ ef	۷/۳۹۶ ±۰/۰۲۴ f	۲/۸۷۵ ±۰/۰۵۹ d
۷	۲/۷۶۴ ± ۰/۰۶۲ efg	۱/۸۴۱ ±۰/۰۶۱ cde	۴/۶۰۵ ±۰/۱۰۵ efg	۷/۲۰۷ ±۰/۰۲۶ g	۲/۸۶۲ ±۰/۰۵۸ d
۸	۲/۶۶۹ ±۰/۰۶۵ fgh	۱/۷۹۱ ±۰/۰۵۸ de	۴/۴۶۰ ±۰/۱۰۱ fgh	۶/۹۸۱ ±۰/۰۲۷ h	۲/۷۸۵ ±۰/۰۵۱ d
۹	۲/۶۳۹ ±۰/۰۶۵ gh	۱/۶۸۳ ±۰/۰۵۸ ef	۴/۳۲۲ ±۰/۰۹۶ ghi	۶/۷۷۰ ±۰/۰۲۷ i	۲/۲۶۱ ±۰/۰۶۰ de
۱۰	۲/۵۴۵ ±۰/۰۶۰ gh	۱/۶۶۰ ±۰/۰۵۵ ef	۴/۲۰۵ ±۰/۰۹۶ hi	۶/۵۸۱ ±۰/۰۲۸ j	۲/۵۸۶ ±۰/۰۵۲ ef
۱۱	۲/۵۲۳ ±۰/۰۶۶ hi	۱/۵۰۰ ±۰/۰۵۶ fg	۴/۰۲۳ ±۰/۰۹۳ ij	۶/۲۹۴ ±۰/۰۲۸ k	۲/۳۳۲ ±۰/۰۶۶ f
۱۲	۲/۲۹۹ ±۰/۰۵۷ ij	۱/۵۱۷ ±۰/۰۵۲ fg	۳/۸۱۷ ±۰/۰۸۹ jk	۵/۹۷۶ ±۰/۰۴۱ l	۲/۳۶۵ ±۰/۰۵۳ fg
۱۳	۲/۱۸۶ ±۰/۰۶۱ j	۱/۳۸۷ ±۰/۰۵۲ gh	۳/۵۷۴ ±۰/۰۸۷ k	۵/۵۹۸ ±۰/۰۵۷ m	۲/۱۷۷ ±۰/۰۶۵ g
۱۴	۱/۹۶۶ ±۰/۰۵۴ k	۱/۱۹۰ ±۰/۰۶۳ h	۳/۱۴۴ ±۰/۰۸۹ l	۴/۹۱۷ ±۰/۰۷۸ n	۱/۸۲۳ ±۰/۰۸۲ h

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

جمعیت‌های ۱ و ۳ در یک گروه و جمعیت ۲ در گروه دیگر واقع شدند. از نظر شش پارامتر کروموزومی، دوازده جمعیت تتراپلوئید در گروه‌های مختلفی قرار گرفتند (جدول۳) که در بین گروه‌ها همپوشانی دیده می‌شود. به همین ترتیب بر اساس پنج ویژگی، کروموزوم‌های مختلف جمعیت‌های دیپلوئید و تتراپلوئید (جدول‌های ۴ و ۵) در گروه‌های متفاوت ولی دارای همپوشانی قرار گرفتند. چنین همپوشانی‌هایی می‌تواند بیانگر قرابت ژنتیکی جمعیت‌ها باشد.

خلاصه اطلاعات کاریوتیپی جمعیت‌های آجیلوپس مورد بررسی در جدول ۶ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که سه جمعیت گونه *Ae. tauschii* دیپلوئید و ۱۲ گونه جمعیت‌های *Ae. cylindrica* و *Ae. triuncialis* تتراپلوئید با تعداد کروموزوم‌های پایه x = ۷ تشخیص داده شدند که با نتایج به دست آمده روی جمعیت‌های گونه‌های آجیلوپس در مناطق غرب و شمال غربی ایران مطابقت دارد (Ahmadabadi, 2001; Fahimi, 1991).

در تحقیق حاضر، از بین سه جمعیت دیپلوئید بلندترین کروموزوم‌ها مربوط به جمعیت‌های ۱ و ۳ (۵/۵۳ میکرومتر؛ جدول ۲) و کوتاهترین آنها مربوط به جمعیت ۲ (۵/۰۴ میکرومتر) بودند. از بین جمعیت‌های تتراپلوئید، بلندترین کروموزوم‌ها مربوط به جمعیت ۱۱ (۵/۴۳ میکرومتر؛ جدول ۳) و کوتاهترین آنها مربوط به جمعیت ۶ (۳/۷۵ میکرومتر) بودند. در این جمعیت‌های تتراپلوئید، بزرگترین طول کل کروماتین مربوط به جمعیت ۱۱ (۱۵۲/۱۸ میکرومتر) و کمترین آن مربوط به جمعیت ۲ (۷۰/۵۲میکرومتر) بود. مقایسه میانگین‌ها در جمعیت‌های دیپلوئید و تتراپلوئید (جدول‌های ۲ و ۳) بیانگر تفاوت معنی‌دار میان کروموزوم‌ها از لحاظ پارامترهای کروموزومی می‌باشد. همچنین در تحقیق حاضر، بر اساس روش دسته بندی استبینز، تعداد ده جمعیت در کلاس 1A و ۵ جمعیت در کلاس 1B قرار گرفتند (جدول ۶). از لحاظ تکاملی، از میان ده جمعیت دارای کلاس 1A، هر سه جمعیت دیپلوئید و دو جمعیت

تتراپلوئید ۱۱ و ۱۵ به لحاظ داشتن تمام کروموزوم‌های یکنواخت "m" در کاریوتیپ آنها متقارن‌ترین یا ابتدایی‌ترین جمعیت‌ها به شمار می‌روند. بقیه جمعیت‌های تتراپلوئید دارای درجات متفاوتی از نامتقارنی در کاریوتیپ خود هستند بطوریکه جمعیت ۱۴ با داشتن بیشترین تعداد کروموزوم‌های متفاوت یا "sm" نامتقارن‌ترین یا پیشرفته‌ترین جمعیت بوده است. این نتایج نشان می‌دهد که جمعیت‌های تتراپلوئید در طی اتوپلی‌پلوئیدی طبیعی دچار تغییراتی در نوع کروموزوم‌های شده‌اند (Badeva, 2002; Badeva et al., 2002). به عبارتی، هر چه نوع کروموزوم‌ها از متاسنتریک به سمت ساب متاسنتریک و در نهایت به تلوسنتریک در کاریوتیپی تمایل داشته باشد، نشان‌دهنده ایجاد تغییر تکاملی در آن گونه است (Stebbins, 1971). در تحقیق حاضر، این تغییر کلاس از 1A به 1B در دسته‌بندی استبینز که در پنج جمعیت تتراپلوئید تشخیص داده شده است (جدول ۶) ناشی از تغییر در شاخص اول استبینز، نسبت کروموزوم‌های دارای نسبت بازوهای (بازوی بلند به بازوی کوتاه) بزرگتر از ۲ به کل کروموزوم‌ها نمی‌باشد بلکه ناشی از تفاوت در شاخص دوم آن، نسبت بزرگترین کروموزوم به کوچکترین کروموزوم کاریوتیپ، بوده است. به بیان دیگر، کاهش طول تعدادی از کروموزوم‌های ۵ جمعیت تتراپلوئید مورد نظر به گونه‌ای در هردو بازوی بلند و کوتاه بطور یکنواخت صورت گرفته است که شاخص دوم کلاسه‌بندی استبینز است و این باعث تغییر کلاس استبینز از 1A به 1B در آنها گردیده است. نتایج مشابهی روی پانزده جمعیت گندم آجیلوپس مناطق شمال غربی ایران بدست آمده است که از میان آنها جمعیت‌های گونه *Ae. triuncialis* در کلاس 3A و جمعیت‌های گونه *Ae. cylindrica* در کلاس 2A قرار داشت (Ahmadabadi, 2001). همچنین مطالعه‌ای دیگر حاکی از آن است که جمعیت‌های آجیلوپس در کلاس‌های مختلف 2A، 4A، 3B و 4B قرار دارند (Sheidai et al., 2000).

بر اساس روش Levan et al. (1964) نوع کروموزوم‌ها در کاریوتیپ جمعیت‌های آجیلوپس مورد بررسی از نوع "sm"و "m" بودند که در توافق با نتایج به دست آمده بر اساس دسته‌بندی استبینز، در تحقیق اخیر بود. نتایج بدست آمده از روش استبینز در این تحقیق حاضر و مطالعات گزارش شده قبلی نیز نشان می‌دهد که موقعیت تکاملی این جمعیت‌ها غالباً ابتدایی می‌باشند. پس از تعیین نوع کروموزوم‌ها، فرمول کروموزومی آنها تعیین شد (جدول۶).

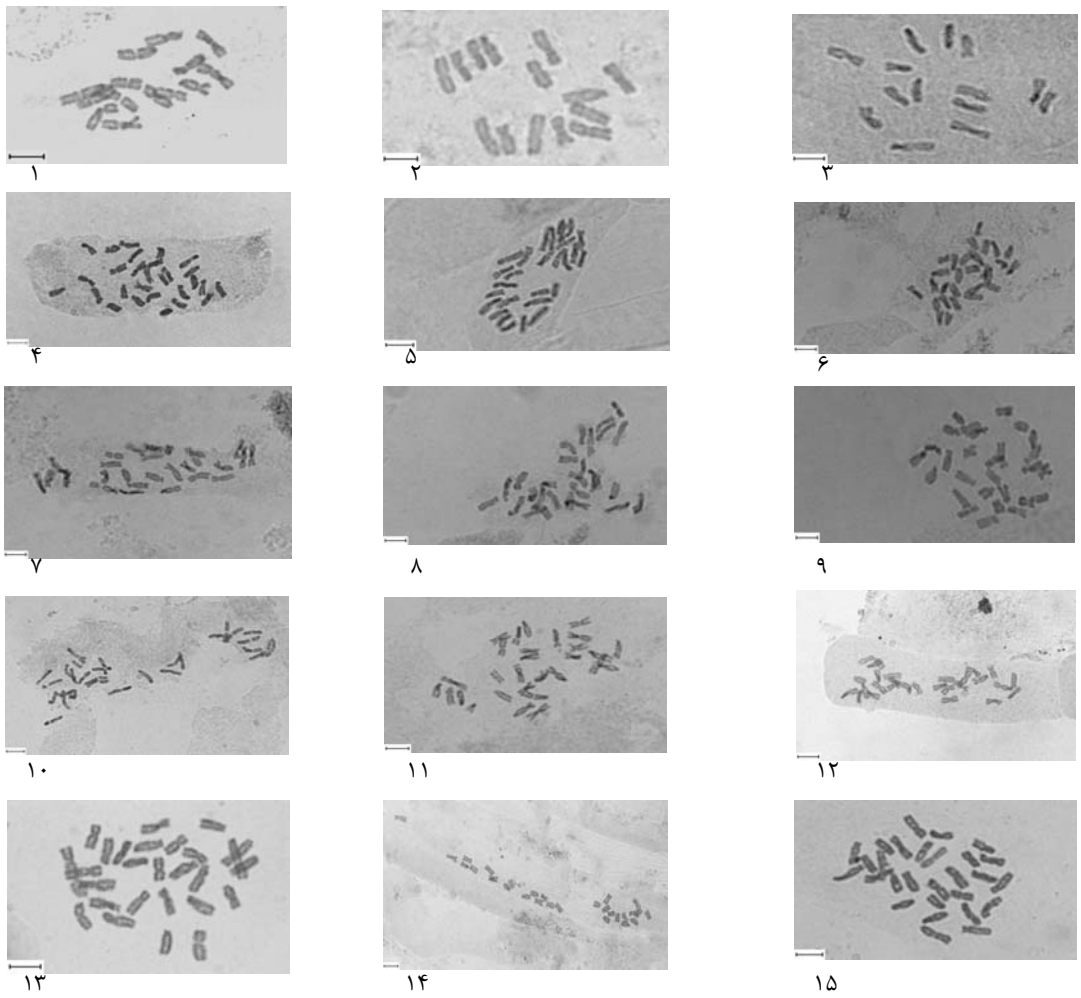
جدول ۶- فرمول و تقارن کاریوتیپی جمعیت‌های آجیلوپس مورد مطالعه

جمعیت	سطح پلوئیدی	فرمول کاریوتیپی (KF)[1] (Levan et al., 1964)	دسته‌بندی استبینز (ST)[2] (Stebbins, 1971)
۱	۲n=۲x=۱۴	14m	1A
۲	۲n=۲x=۱۴	14m	1A
۳	۲n=۲x=۱۴	14m	1A
۴	۲n=۴x=۲۸	8m+20sm	1A
۵	۲n=۴x=۲۸	10m+18sm	1A
۶	۲n=۴x=۲۸	14m+14sm	1A
۷	۲n=۴x=۲۸	24m+4sm	1B
۸	۲n=۴x=۲۸	26m+2sm	1A
۹	۲n=۴x=۲۸	26m+2sm	1B
۱۰	۲n=۴x=۲۸	22m+6sm	1B
۱۱	۲n=۴x=۲۸	28m	1A
۱۲	۲n=۴x=۲۸	18m+10sm	1B
۱۳	۲n=۴x=۲۸	22m+6sm	1A
۱۴	۲n=۴x=۲۸	16m+12sm	1B
۱۵	۲n=۴x=۲۸	28m	1A

۱. ده کلاس بر اساس فرمول کاریوتیپی [دیپلوئید ها (۱، ۲، ۳) 14m؛ تتراپلوئید ها، ۲ جمعیت (۱۱، ۱۲) 28m، ۲ جمعیت (۹، ۸) 26m+2sm، یک جمعیت (۷) 24m+4sm، ۲ جمعیت (۱۳، ۱۰) 22m+6sm، یک جمعیت (۱۲) 18m+10sm، یک جمعیت (۱۴) 16m+12sm یک جمعیت (۶) 14m+14sm، یک جمعیت (۵) 10m+18sm، یک جمعیت (۴) 8m+20sm]

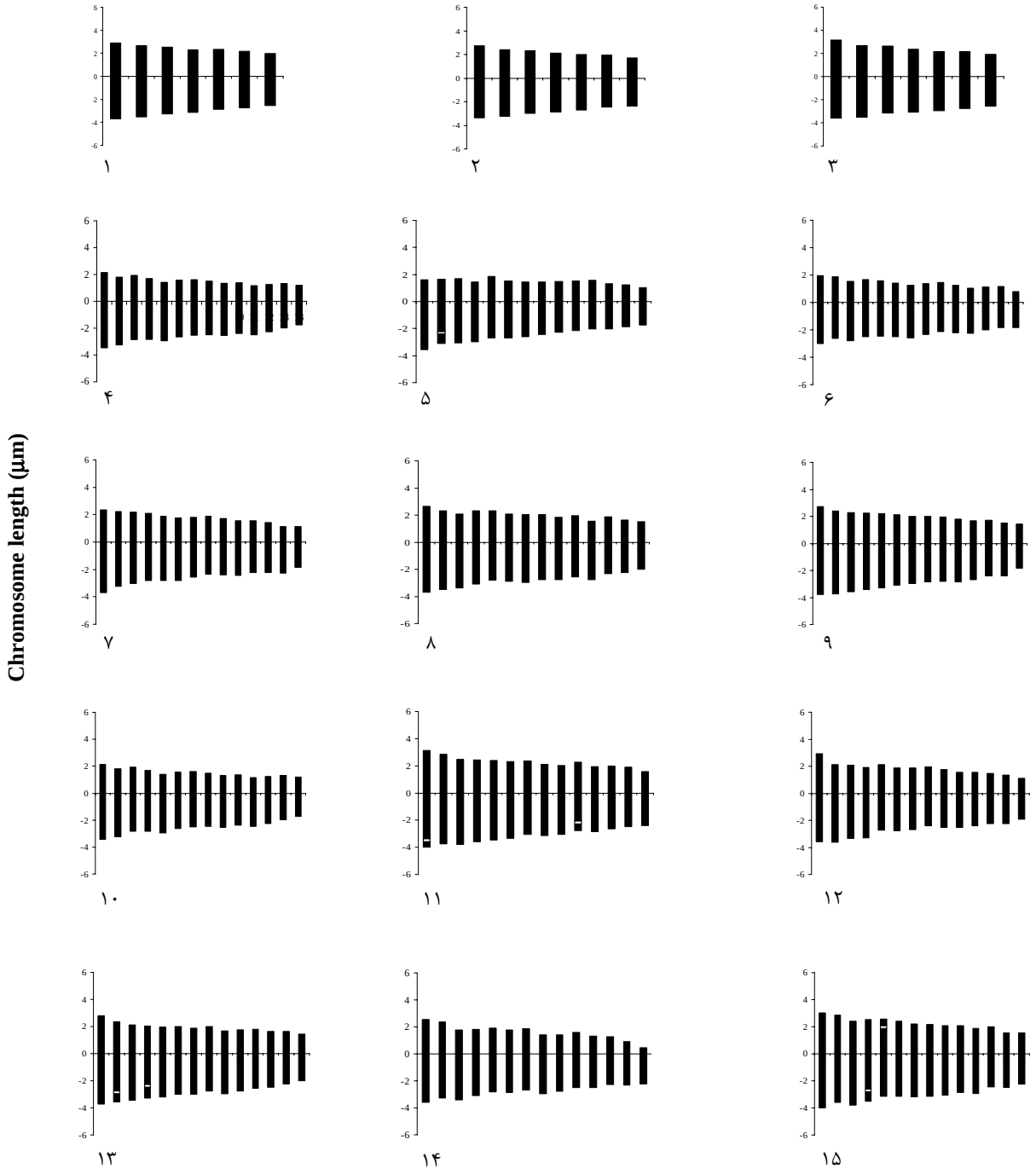
۲. دو کلاس تقارنی استبینز (۱۰ جمعیت 1A، ۵ جمعیت 2B)

نتایج حاصل، جمعیت‌های آجیلوپس مورد مطالعه را در ده کلاس متفاوت از لحاظ فرمول کروموزومی قرار داد که به ترتیب از متقارن‌ترین تا نامتقارن‌ترین کلاس شامل: 14m (۳ جمعیت دیپلوئید ۱، ۲ و ۳)، 28m (۲ جمعیت تتراپلوئید ۱۱ و ۱۲)، 26m+2sm (۲ جمعیت تتراپلوئید ۸ و ۹)، 24m+4sm (جمعیت تتراپلوئید ۷)، 22m+6sm (۲ جمعیت تتراپلوئید ۱۰ و ۱۳)، 18m+10sm (جمعیت تتراپلوئید ۱۲)، 16m+12sm (جمعیت تتراپلوئید ۱۴)، 14m+14sm (جمعیت تتراپلوئید ۶)، 10m+18sm (جمعیت تتراپلوئید ۵)، 8m+20sm (جمعیت تتراپلوئید ۴) بودند. البته در بعضی مطالعات، وجود دو نوع کروموزوم"m" و "sm" در ترکیب کاریوتیپ جمعیت آجیلوپس تتراپلوئید *Ae. triuncialis* گزارش شده و فرمول کاریوتیپی 4m+24sm برای آن به دست آمده است (Fahimi, 1991). این مطالعات کروموزومی نیز نتایج بدست آمده از روش کلاسه بندی استبینز را مبنی بر موقعیت تکاملی ابتدایی غالب جمعیت‌های آجیلوپس مورد مطالعه را تأیید می کند. از طرفی دیگر، با توجه به شکل‌های ۱ و ۲ در جمعیت‌های آجیلوپس مورد بررسی تعداد متفاوتی از کروموزوم‌های ماهواره دار مشاهده گردید که تعداد ماهواره‌ها از صفر تا دو جفت متغیر بود و طول آنها از ۰/۶ الی ۱ میکرومتر متفاوت بود. در جمعیت‌های گونه *Ae. triuncialis* نیز ماهواره مشاهده گردید که نتایج مشابهی با مطالعات احمد آبادی (Ahmadabadi, 2001) داشت.



Scale bar = 5 µm

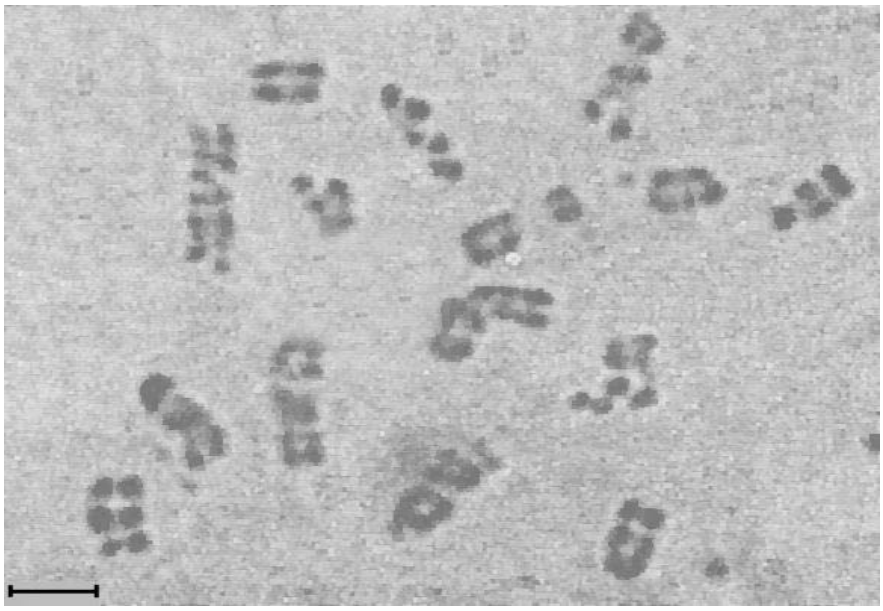
شکل ۱- گستره کروموزوم‌های متافازی در ۱۵ جمعیت آجیلوپس مورد بررسی
(مشخصات جمعیت‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.)



شکل ۲- ایدیوگرام کروموزوم‌های متافازی میتوزی در ۱۵ جمعیت آجیلوپس
(مشخصات جمعیت‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.)

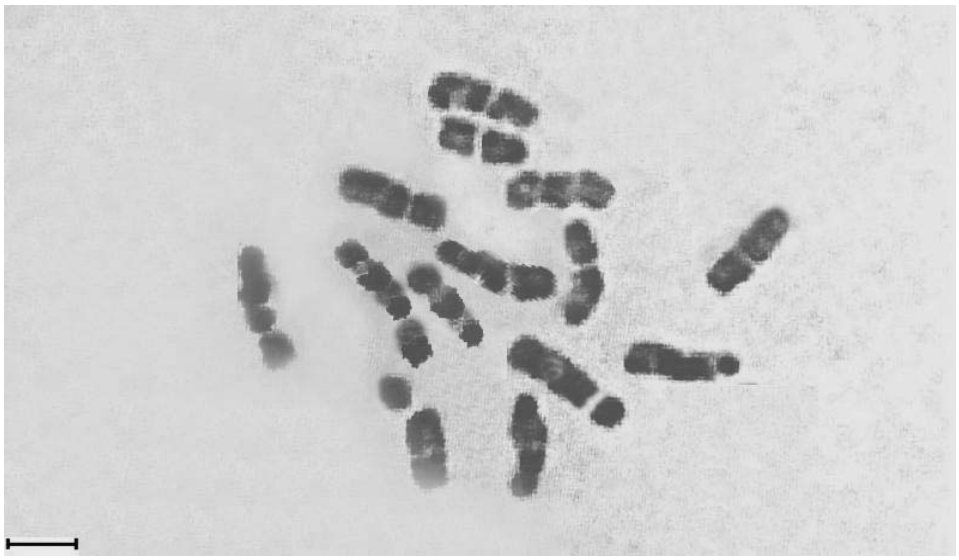
نواربندی‌های کروموزومی در فواصل زمانی۲۴ ساعت تا یک هفته رنگ‌آمیزی با استواورسئین مشاهده گردید. تعداد نوارها از مرحله پروفاز تا مرحله متافاز میتوزی کاهش نشان داد. مناسب‌ترین زمان مطالعه نواربندی اواسط مرحله متافاز پس از یک هفته رنگ‌آمیزی تشخیص داده شد، چون کروموزوم‌ها در این مرحله جدا از هم و قابل تشخیص هستند. با توجه به شکل‌های ۳ و ۴، تصاویر کروموزوم‌های نواربندی شده در مرحله متافاز نشان داد که نواربندی OR روش مناسبی برای شناسائی کروموزوم‌ها، شناسائی همولوگ‌ها و بررسی تغییرات

ساختمانی آنها می‌باشد. این تکنیک سریع و آسان که در تأیید مطالعات محققین (Ahmadabadi, 2001) می‌باشد، می‌تواند در مطالعات سیتوژنتیکی برای سایر جمعیت‌های آجیلوپس نیز مورد استفاده قرار گیرد.



Scale bar = 5 µm

شکل ۳- گستره کروموزوم‌های نواربندی شده متافازی میتوزی در آجیلوپس جمعیت شماره ۱ (۲n=۲x=۱۴) بعد از یک هفته رنگ‌آمیزی با استو اورسئین ۱٪ (w/v)



Scale bar = 5 µm

شکل ۴- گستره کروموزوم‌های نواربندی شده متافازی میتوزی در آجیلوپس جمعیت شماره ۲ (۲n=۲x=۱۴) بعد از یک هفته رنگ آمیزی

REFERENCES

1. Ahmadabadi, M. (2001). *Cytogenetic studies of wild wheat relatives (Aegilops) of the North-West of Iran*. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Iran. (In Farsi).
2. Arzani, A. (1996). *Guide to genetic and cytogenetic laboratories*. Arkan Publisher, Isfahan, Iran. (In Farsi).

3. Badaeva E. D. (2002). Evaluation of phylogenetic relationships between five polyploid *Aegilops* L. species of the U–genome cluster by means of chromosome analysis. *Russian Journal of Genetics*, 38, 664-675.
4. Badaeva E. D., Amosova, A. V., Muravenko, O. V., Samatadze, T. E., Chikida, N. N., Zelenin, A. V., Friebe, B. & Gill, B. S. (2002). Genome differentiation in *Aegilops*: Evolution of the D-genome cluster. *Plant Systematics and Evolution*, 231, 163-190.
5. Badaeva, E. D., Friebe, B., Zoshchuk, S. A., Zelenin, A. V. & Gill, B. S. (1991). Molecular cytogenetic analysis of tetraploid and hexaploid *Aegilops* grasses. *Chromosome Research*, 6, 629-637.
6. Badaeva, E. D., Dedkova, O. S., Koenig, J., Bernard, S. & Bernard, M. (2008). Analysis of introgression of *Aegilops ventricosa* Tausch. Genetic material in a common wheat background using C-banding. *Theoretical and Applied Genetics*, 117, 803-811.
7. Davoodi, D. & Ahmadian, P. (1995). A new pattern of chromosome banding in plants (OR-banding). *Chromosome Research*, 3, 99.
8. Fahimi, H. R. (1991). *Preparing of aegilops species collection from West and North-West regions of Iran and study on their taxonomic and cytogenetic characteristics*. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Iran. (In Farsi).
9. Fedak, G. & Kim, N. S. (2008). Tools and methodologies for cytogenetic studies of plant chromosomes. *Cytology and Genetics*, 42, 189-203.
10. Gupta, P. K. (1991). *Cytogenetics of wheat and its close wild relatives Triticum and Aegilops*. In: Gupta, P. K. & Tsuchiya, T. (eds.) Chromosome Engineering in Plants: Genetics, Breeding and Evolution, pp. 243-262.
11. Gupta, P. K. (1997). *Cytogenetics*. 1st edn. Rastogi and Company. Meerut University, Meerut, India.
12. Karimi, H. (1992). *Wheat*. 1st edn. Markaz Nashr Daneshgahi, Tehran, Iran. (In Farsi).
13. Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas*, 52, 201-220.
14. Masoumi, A. A. & Khosravi, A. R. (1994). *Chromosomal evolution of higher plants, modern biology and taxonomic basics*. Research Institute of Forests and Rangelands (RIFR) Press, Tehran, Iran. (In Farsi).
15. Mirzaie-Nadoushan, H., Zebarjadi, A. R. & Karimzadeh, G. (2000). Karyotypic investigation of some *Bromus tomentellus* populations and their karyotype correlations. *Iranian Journal of Botany*, 8, 287-298.
16. Mozafarian, V. (1996). *Dictionary of Latin, English and Farsi names of Iranian plants*. Farhang Moaser Institute. (In Farsi).
17. Schneider A., Molnár, I. & Molnár-Láng, M. (2008). Utilisation of *Aegilops* (goat grass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. *Euphytica*, 163 (1), 1-19.
18. Sharma, A. K. & Sharma, A. (2001). *Chromosome painting: principles, strategies and scope*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
19. Sheidai, M., Arman, M., Mohamadi, S. & Zehzad, B. (2000). Notes on cytology and seed protein characteristics of *Aegilops* species in Iran. *The Nucleus*, 43 (3), 118-128.
20. Stebbins, G. L. (1971). *Chromosome evaluation in higher plants*. London: Edward Arnold Publisher, UK.
21. Yazdanseta, S., Karimzadeh, G. & Sarvestani, Z. T. (2004). Karyotypic studies in some hull-less barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 35 (4), 827-837. (In Farsi).