Crop Biotech.
Autumn (2014) 7: 25-34.

مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال چهارم، شماره هفتم، پاییز ۱۳۹۳ (۳۴-۲۵)

بررسی سیتوژنتیکی اکوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی کاسنی (*Cichorium intybus* L.)

صادق ایمانی[1*]، راهله رهباریان[2]، علی معصومی[3]، سعید خاوری خراسانی[4]
۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ۲. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، تهران،
۳. استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ٤. استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان رضوی، مشهد
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/٤ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۰/۲)

Cytogenetical study of different ecotypes of *Cichorium intybus* L.

S. IMANI[1*], R. RAHBARIAN[2], A. MASOUMI[3], S. KHAVARI KHORASANI[4]
1. M.Sc. student of Plant Breeding, Payame Noor University, Tehran, Iran, 2. Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran, 3. Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran, 4. Assistant Professor, Agriculture Research Center of Khorasan Razavi, Mashhad, Iran.
(Received: Sep. 26, 2014 - Accepted: Dec. 23, 2014)

Abstract

Cytogenetical studies and karyotypes can be used for many purposes such as, to study chromosomal characteristics, identifying diploid and polyploidy species and hybridization process, to study of genetic diversity and finding taxonomic relationships, and to gather information about past evolutionary events. In this study, 8 ecotypes of *Cichorium intybus* L. Included Karaj, Taft, Khomein, Talesh, Semirom, Mollasani and Baft investigated based on cytogenetic characteristics. Results showed that all the studied ecotypes are diploid (2n=2x=18). But the length of the chromosomes is very diverse (from 0.97 to 5.56 µm for the short arm and from 1.02 to 7.14 µm for the long arm). There was no satellite in all chromosomes. In classifying based on cluster analysis method, Baft and Talesh ecotypes were in a same cluster and Tafresh and khomein ecotypes were in another cluster. Also Taft, Semirom and Mollasani ecotypes were in the third cluster. Because of the differences and diversity of traits, is expected that different clusters show more heterosis in crosses and it can be used in breeding programs. According to stebbins table, Tafresh and khomain ecotypes were in 1A class and other ecotypes were in 2B class.

Keywords: Asteraceae, polyploidy level, karyotype, medicinal plant.

چکیده

مطالعات سیتوژنتیکی یکی از روش‌های تاکسونومی مدرن می‌باشد که ما را جهت تهیه کاریوتیپ گونه‌ها، شناسایی گونه‌های دیپلوئید، پلی‌پلوئید، پدیده‌های هیبریداسیون، شناسایی خصوصیات کروموزومی چون اندازه و شکل کروموزومی، تنوع ژنتیکی، یافتن قرابت خویشاوندی و پیوستگی بین گونه‌ها، جنس‌ها و خانواده‌ها یاری می‌رساند. در این مطالعه ۸ توده مختلف کاسنی که عبارت بودند از توده کرج، تفت، تفرش، خمین، تالش، سمیرم، ملاثانی و بافت، با استفاده از ویژگی‌های سیتوژنتیکی مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از بررسی‌های کروموزومی مشاهده گردید که تمامی توده‌های مذکور دارای عدد پایه کروموزومی x=۹ و سطح پلوئیدی دیپلوئید (2n=2x=18)، ولی از لحاظ اندازه‌های کروموزومی بسیار متنوع (از ۰/۹۷ میکرومتر تا ۵/۵٦ برای بازوی کوتاه و ۱/۰۲ میکرومتر تا ۷/۱٤ برای بازوی بلند) می‌باشند و در تمامی کروموزوم‌های موجود هیچ گونه ماهواره ای مشاهده نگردید. در دسته‌بندی توده‌ها به روش تجزیه کلاستر نیز توده‌های بافت و تالش در یک خوشه، توده‌های تفرش و خمین در خوشه‌ای دیگر و توده‌های تفت، سمیرم و ملاثانی در یک خوشه قرار گرفتند. چون تفاوت و تنوع به لحاظ صفات مورد بررسی دیده شد لذا در برنامه‌های اصلاحی انتظار می‌رود لاین‌های مربوط به کلاس‌ها یا خوشه‌های مختلف هتروزیس بیشتری در تلاقی نشان دهند. همچنین بر اساس جدول دوطرفه استبینز توده‌های تفرش و خمین در کلاس کاریوتیپی 1A و بقیه توده‌ها در کلاس 2B قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: تیره آستراسه، سطح پلوئیدی، کاریوتیپ، گیاه دارویی.

* نویسنده مسئول: صادق ایمانی
E-mail: sadeghimani@yahoo.com

مقدمه

کاسنی گیاهی علفی و چندساله با نام علمی *Cichorium intybus* L. یکی از مهم‌ترین گیاهان خانواده Asteraceae می‌باشد که خواص دارویی متعددی دارد و از آن‌جمله می‌توان به رفع بیماری‌های کبدی اشاره کرد (Fatma Jafri, 2011). تیره Asteraceae بزرگترین تیره گیاهان آوندی است که دارای جنس‌ها و گونه‌های متعددی است و بدلیل داشتن تعداد بسیار زیاد گونه‌های دارویی و صنعتی مهم، توسط پژوهشگران بسیاری مورد بررسی‌های کاریولوژیکی و سیتوژنتیکی قرار گرفته است (Bernardes *et al.,* 2013)، (Deryckere, 2013). به طور کلی اختلاف در شکل و اندازه کروموزوم‌ها (تغییرات کروموزوم) در طی تقسیم میتوز، وجود تنوع ژنتیکی و موانع ژنتیکی در بین گونه‌ها که طی جریان ژنی پدید آمده با مطالعات کاریولوژیکی نشان داده می شود (Masoodian Khuzani *et al.,* 2011).

مطالعات کاریولوژیکی و سیتوژنتیکی زیادی بر روی این خانواده انجام شده است (Farsi *et al*., 2001، Kuhi *et al*., 2010، Masoodian Khuzani *et al.,* 2011، Yoosefzadeh, 2010). با وجود شمارش کروموزومی کاسنی تاکنون در سراسر دنیا تنها دو گزارش مبنی بر اندازه‌گیری مشخصات کروموزومی برروی این گونه ارائه گردیده است. در این دو گزارش، Bernardes و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی چندشکلی کروموزومی درون و بین‌کروموزومی در گونه‌های کاسنی کشت شده پرداختند و به این نتیجه رسیدند که سطح پلوئیدی در گونه‌های مختلف جنس کاسنی دیپلوئید بوده و دارای 2n=18 کروموزوم می‌باشند. اندازه و ریخت‌شناسی کروموزوم‌ها در ترکیب با نشانگرهای سیتوژنتیکی امکان تشخیص هرچه راحت‌تر جفت کروموزوم‌ها در تمامی کروموزوم‌های گونه‌های مورد بررسی را داد. ضمائم کروموزومی میانگینی از ۲/۸۴ میکرومتر برای هر کروموزوم در *C. endivia* (گستره بین ۱/۶۷ تا ۴/۰۱ میکرومتر) و ۳/۲۰ میکرومتر در *C. intybus* (گستره بین ۲/۳۰ تا ۴/۲۹ میکرومتر) نشان داد. میانگین اندازه کل ضمائم دیپلوئید برای *C. endivia* ۵۱/۱۳ میکرومتر و برای *C. intybus* برابر با ۵۷/۵۸ میکرومتر بود. همچنین Deryckere (۲۰۱۳) پژوهشی در قالب تز دکترا بر روی کاسنی صنعتی در جهت توسعه فن‌آوری پیوندزنی کالبدی غیرمتقارن انجام داد و در قسمت تحلیل کاریوتیپ نشان داد که کاریوتیپ گونه *C. intybus* var. *sativum* 'VL52' دارای ۵ کروموزوم متاسانتریک و ۴ کروموزوم ساب‌متاسانتریک می‌باشد و کوتاه‌ترین و بلندترین کروموزوم به طور متوسط برای این گونه به ترتیب ۱۲/۸ و ۲۲/۳ میکرومتر می‌باشد. وی همچنین اندازه‌های کروموزومی را در گونه‌های مورد مطالعه محاسبه کرد. بر این اساس اندازه کروموزوم در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از ۱۰ تا ۲۲ میکرومتر متفاوت بود. این اندازه‌های کروموزومی بدست آمده در مقایسه با دیگر گونه‌های خانواده Asteraceae بزرگتر بودند. با توجه به خواص دارویی فراوان این گیاه این تعداد پژوهش آن هم منحصر به منطقه‌ای خاص بسیار کم می‌باشد. بنابراین تحقیق پیش رو که در آن به بررسی ویژگی‌های سیتوژنتیکی توده‌های مختلف اقلیمی ایران می‌پردازد می‌تواند تا حدی خلأ کمبود اطلاعات سیتوژنتیکی و مشخصات کروموزومی در مورد این گونه را پر کند و اطلاعات حاصل از آن در اختیار افرادی که جهت مباحث تکمیلی نیازمند اطلاعات سیتوژنتیکی و کروموزومی می‌باشند قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه هشت توده مختلف از گونه *Cichorium intybus* که تمامی آنها از بانک ژن مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه گردید، در سال ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ در دانشگاه پیام‌نور خراسان

رضوی مرکز مشهد مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات اقلیمی و کد مربوط به بذرهای دریافتی از آن مؤسسه در جدول ۱ درج شده است.

جدول۱- کد بذرهای مورد مطالعه و اطلاعات اقلیمی آن‌ها

ردیف	کد	وزن هزار دانه (gr)	طول و عرض جغرافیایی	ارتفاع	شهرستان	استان
1	2398	2.1	-	-	کرج	البرز
2	22118	1.11	54° 00′ 39” 31° 35′ 65”	2495	تفت	یزد
3	22257	1.35	50° 03′ 04” 34° 40′ 12”	-	تفرش	مرکزی
4	22377	1	49° 53′ 35” 33° 53′ 05”	1943	خمین	مرکزی
5	27003	0.97	48° 53′ 57” 37° 42′ 55”	148	تالش	گیلان
6	28303	1.01	51° 41′ 18” 31° 01′ 82”	2200	سمیرم	اصفهان
7	31337	1.45	48° 53′ 05” 31° 36′ 80”	21	ملاثانی	خوزستان
8	36546	1.5	56° 27′ 48” 28° 56′ 03”	2230	بافت	کرمان

به منظور تهیه کاریوتایپ از مریستم انتهای ریشه استفاده گردید (Aksu *et al.*, 2013). به طور معمول نیازی به ضد عفونی کردن بذرها برای ریشه‌زایی نبوده و غالباً بدون هیچ مشکلی می‌توان ریشه‌هایی به طول ۱ تا ۲ سانتی‌متر را از طریق کاشت بذر بر روی کاغذ جوانه‌زنی در پتری‌دیش بدست آورد (Afshari *et al.*, 2013). فقط بذرهای قدیمی که پس از کاشت در پتری‌دیش آلودگی‌های قارچی خواهند داشت، لازم است ابتدا ضدعفونی شوند. برای این منظور تعداد ۱۰ بذر در محلول ۱۰ درصد حجمی هیپوکلریت سدیم (وایتکس) + چند قطره توین۲۰[1] به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از ضدعفونی بذرها، در داخل انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳-۴ روز قرار داده شدند. وقتی طول ریشه‌ها به ۱ تا ۲ سانتی‌متر رسیدند، آنها را بریده و طبق روش Hessamzadeh Hejazi (۲۰۰۹) جهت مطالعات کروموزومی آماده گردیدند.

پس از برش دادن ریشه‌ها جهت پیش‌تیمار، آن‌ها در محلول نیم درصد آلفابرومونفتالین به مدت ۵-۷ ساعت در داخل یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و سپس جهت اعمال مرحله فیکساتیو از محلول لویتسکی[2] [شامل دو محلول A (کرومیوم تری‌اکسید[3] ۱٪) و B (فرمالدئید ۳۶ یا ۴۰٪)] در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۶ تا ۲۴ ساعت قرار داده شدند. از محلول لویتسکی به عنوان تثبیت‌کننده و جلوگیری از کوتاه شدن بیش از حد کروموزوم‌ها استفاده می‌شود (Zeinali *et al.*, 2008). سپس جهت انجام هیدرولیز از NaOH یک نرمال در داخل حمام آب با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ تا ۱۰ دقیقه استفاده شد. جهت انجام رنگ‌آمیزی ریشه‌ها در داخل محلول استواورسئین به مدت ۱۶ تا ۴۲ ساعت در داخل یخچال قرار داده شدند (Hessamzadeh Hejazi and Ziaee Nasab, 2009). سپس لام از نمونه‌ها تهیه گردید و پس از اندازه‌گیری‌های کروموزومی با نرم‌افزار

1. Tween20

2. Lewitski
3. Chromium Three Oxide

NucType اطلاعات کروموزومی جهت تجزیه و تحلیل آماری به محیط MiniTab 16.1 انتقال داده شدند.

پس از مشاهده سلول‌های متافازی مناسب، از هر توده ۳ سلول با حداکثر وضوح انتخاب و از آن‌ها عکس‌برداری به عمل آمد. پس از شمارش تعداد کروموزوم‌های هر توده به محاسبه شاخص‌های سیتوژنتیکی ذیل پرداخته شد و نوع کاریوتیپ بر اساس دسته‌بندی Stebbins (۱۹۷۱) با استفاده از نرم‌افزار NucType محاسبه و کروموزوم‌های همولوگ مشخص گردید (Levan *et al.*, 1964، Stebbins, 1971). سپس کاریوتیپ توده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Adobe Photoshop ترسیم، تجزیه خوشه‌ای با استفاده از نرم افزار مینی‌تب نسخه ۱۶/۱ به روش وارد انجام شد و آیدیوگرام آن‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار اکسل رسم گردید (Yoosefzadeh, 2010).

در این پژوهش شاخص‌های سیتوژنتیکی محاسبه شده عبارت بودند از شاخص عدم تقارن کاریوتیپی، درصد شکل کلی، شاخص تقارن کاریوتیپی، شاخص تشابه اندازه کروموزومی، شاخص عدم تقارن بین کروموزومی، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی، درجه عدم تقارن کاریوتیپی، شاخص پراکندگی و شاخص عدم تقارن که به‌عنوان نمونه فرمول محاسباتی تعدادی از آن‌ها در ادامه آورده شده است:

$$TF\% = \frac{\text{مجموع طول کل بازوهای کوتاه}}{\text{مجموع طول کل کروموزوم‌ها}} \times ۱۰۰$$

$$A2 = \frac{\text{میانگین SD در طول کل کروموزوم‌ها}}{\text{میانگین X}} \times ۱۰۰$$

$$A1 = \left(۱ - \frac{\sum \left(\frac{SA}{LA}\right)}{\text{n (تعداد کروموزوم‌ها)}}\right) \times ۱۰۰$$

همچنین در این پژوهش شاخص‌های کروموزومی از قبیل درصد بازوی کوتاه، درصد بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، طول بازوی بلند، طول کل و نسبت‌های مربوطه اندازه‌گیری شدند که در اینجا نیز فرمول محاسباتی آن‌ها به طور نمونه آورده شده است:

$$\text{درصد بازوی کوتاه} = \frac{\text{مجموع طول بازوهای کوتاه}}{\text{طول کل کروموزوم}} \times ۱۰۰$$

$$SA\% = \frac{\text{طول بازوی کوتاه}}{\text{طول کل کروموزوم}} \times ۱۰۰$$

$$LA\% = \frac{\text{طول بازوی بلند}}{\text{طول کل کروموزوم}} \times ۱۰۰$$

نتایج و بحث

اطلاعات کاریولوژیکی توده‌های مورد بررسی در جدول ۲، اطلاعات کروموزومی تمامی توده‌های مورد بررسی در جدول ۳ و کاریوتایپ و آیدیوگرام آن‌ها در شکل‌های ۱ تا ۸ نشان داده شده است. بر اساس اطلاعات موجود در جدول‌های ۲ و ۳، از لحاظ سطح پلوئیدی و تعداد کروموزوم تمامی توده‌ها 2n (دیپلوئید) و دارای ۱۸ کروموزوم می‌باشند که با نتایج بدست آمده توسط Deryckere (۲۰۱۳) و Bernardes *et al.* (۲۰۱۳) مطابقت داشت. از نظر اندازه کروموزوم در بین ۸ توده کار شده کوچکترین اندازه مربوط به توده کرج با ۰/۹۷۱۴۲۸۶ میکرومتر و بزرگترین آن مربوط به توده بافت (کرمان) با ۷/۱۴۴۹۱۴ میکرومتر بود و با توجه به اینکه طول بازوی بلند اولاً همبستگی زیادی با طول کل دارد و ثانیاً طول بازوی کوتاه نیز همبستگی شدیدی با طول بازوی بلند دارد بنابراین از نظر طول کل نیز توده کرج کمترین طول کل و توده بافت (کرمان) بیشترین طول کل را به خود اختصاص می‌دهند که این شاخص با نتایج بدست آمده توسط Deryckere (۲۰۱۳) و نیز Bernardes *et al.* (۲۰۱۳) مطابقت نداشت.

جدول ۲- اطلاعات کاریولوژیکی توده‌های مختلف *Cichorium intybus* L.

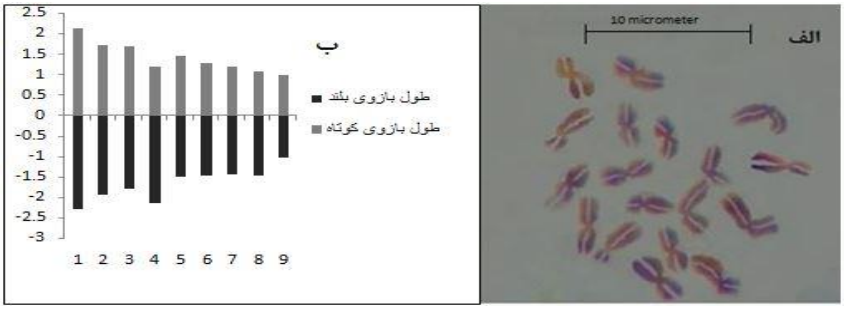
توده	n	L_{est}/S_{est}	K%	TF%	Syi%	Rec%	A_1	A_2	A	DI	AI	S.C	K.F
2398	9	2.2260	55.84	44.16	79.08	64.30	0.19	0.21	0.11	8.99	9.25	2B	16m+2sm
22118	9	2.2261	57.58	42.42	73.66	67.59	0.25	0.25	0.14	10.93	10.90	2B	16m+2sm
22257	9	1.8495	56.35	43.65	77.48	78.45	0.21	0.17	0.12	7.57	7.27	1A	2M+16m
22377	9	1.7984	55.54	44.46	80.07	76.94	0.20	0.18	0.11	7.12	7.88	1A	18m
27003	9	2.3114	60.60	39.40	65.01	64.24	0.33	0.26	0.21	9.85	10.24	2B	10m+8sm
28303	9	2.3200	59.70	40.30	67.50	71.38	0.32	0.21	0.20	8.65	8.41	2B	12m+6sm
31337	9	2.4059	57.71	42.29	73.27	72.06	0.26	0.22	0.15	9.04	9.36	2B	16m+2sm
36546	9	2.6725	61.20	38.80	63.39	64.81	0.37	0.29	0.24	12.42	11.30	2B	10m+6sm+2st

n = عدد کروموزومی پایه L/S = طول بازوی بلند بر کوتاه K = شاخص عدم تقارن کاریوتیپی TF = درصد شکل کلی Syi = شاخص تقارن کاریوتیپی Rec = شاخص تشابه اندازه کروموزومی A_1= شاخص عدم تقارن بین کروموزومی A_2 = شاخص عدم تقارن درون کروموزومی A = درجه عدم تقارن کاریوتیپی DI = شاخص پراکندگی AI = شاخص عدم تقارن S.C = کلاس تقارن استبینز K.F = فرمول کاریوتیپی

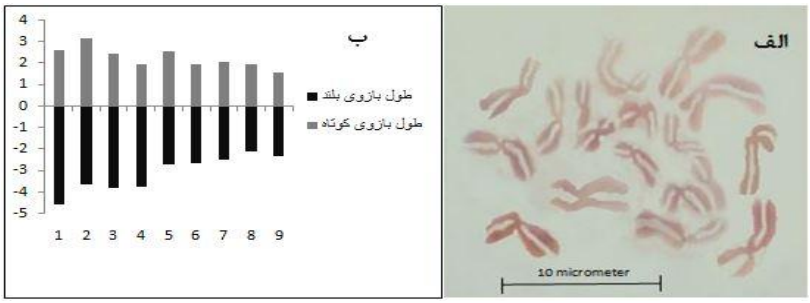
جدول ۳- اطلاعات کروموزومی توده‌های مختلف *Cichorium intybus* L.

توده	سطح پلوئیدی	طول کل	طول بازوی کوتاه	طول بازوی بلند	درصد بازوی کوتاه	درصد بازوی بلند	L+S%	L/S
2398	2n	2.85	1.26	1.59	2.45	3.10	5.56	1.29
22118	2n	4.86	2.06	2.80	2.36	3.20	5.56	1.38
22257	2n	4.55	1.99	2.56	2.42	3.13	5.56	1.30
22377	2n	4.98	2.21	2.76	2.47	3.09	5.56	1.28
27003	2n	4.91	1.93	2.97	2.19	3.37	5.56	1.59
28303	2n	4.89	1.97	2.92	2.24	3.32	5.56	1.58
31337	2n	4.49	1.90	2.59	2.35	3.21	5.55	1.38
36546	2n	7.72	3.00	4.73	2.16	3.40	5.56	1.78

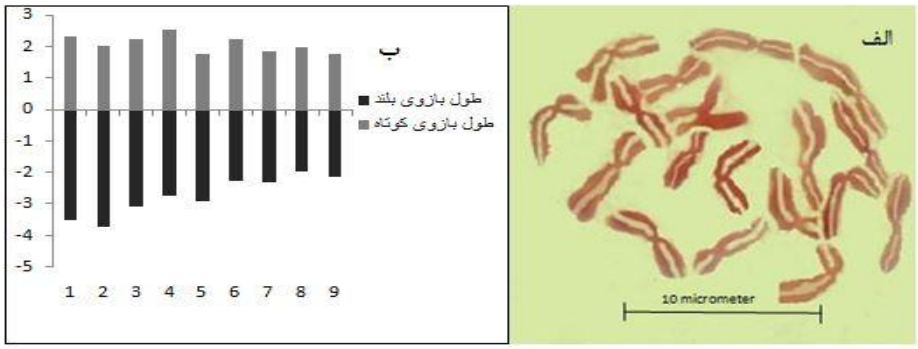
L+S% = درصد بازوی بلند و کوتاه L/S = نسبت طول بازوی بلند بر کوتاه n = عدد پایه کروموزومی.



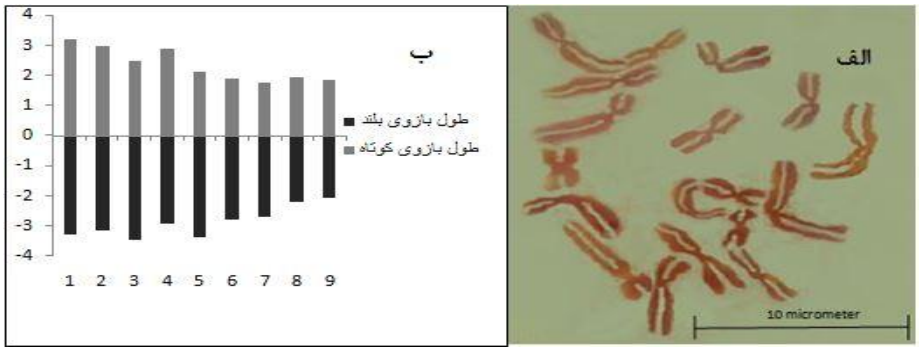
شکل۱- کاریوتیپ (الف) و آیدیوگرام (ب) توده کرج *Cichorium intybus* L.



شکل۲- کاریوتیپ (الف) و آیدیوگرام (ب) توده تفت (یزد) *Cichorium intybus* L.

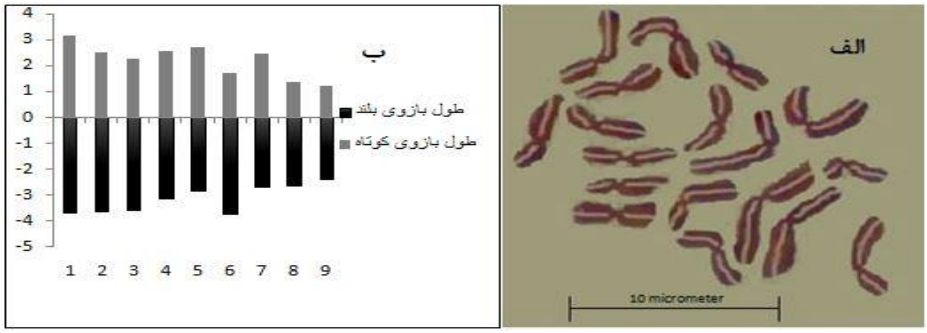


شکل ۳- کاریوتیپ (الف) و آیدیوگرام (ب) توده تفرش (مرکزی) *Cichorium intybus* L.



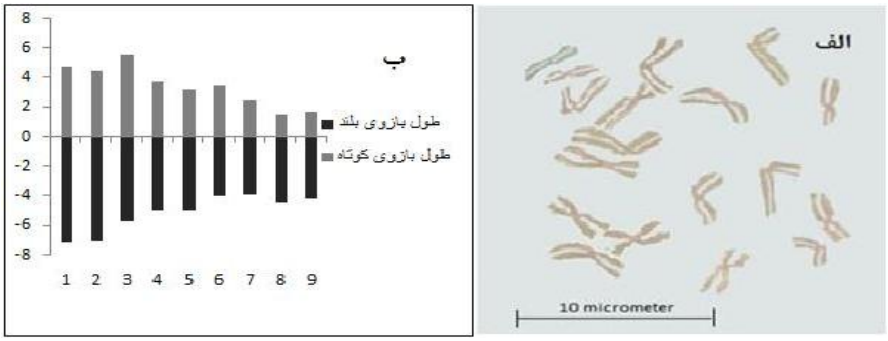
شکل ۴- کاریوتیپ (الف) و آیدیوگرام (ب) توده خمین (مرکزی) *Cichorium intybus* L.

شکل ۵- کاریوتیپ (الف) و آیدیوگرام (ب) توده تالش (گیلان) *Cichorium intybus* L.



شکل ۶- کاریوتیپ (الف) و آیدیوگرام (ب) توده سمیرم (اصفهان) *Cichorium intybus* L.

شکل ۷- کاریوتیپ (الف) و آیدیوگرام (ب) توده ملاثانی (خوزستان) *Cichorium intybus* L.



شکل ۸- کاریوتیپ (الف) و آیدیوگرام (ب) توده بافت (کرمان) *Cichorium intybus* L.

از لحاظ تکامل کاریوتیپی، بر اساس کلاس تقارن Stebbins توده‌های تفرش و خمین در کلاس 1A و بقیه توده‌ها در کلاس 2B قرار گرفتند. با توجه به اینکه توده‌های تفرش و خمین در کلاس 1A قرار گرفته‌اند می‌توان نتیجه گرفت که این امر بیانگر تقارن کاریوتیپی و وضعیت تکاملی ابتدایی در این توده‌ها است. اما دو پارامتر A_1 و TF% به‌عنوان شاخص‌های عدم تقارن بین کروموزومی و درصد شکل کلی و پارامترهای A_2 و A به‌عنوان شاخص عدم تقارن درون کروموزومی و درجه عدم تقارن کاریوتیپی تا حدودی توده‌های مختلف مورد بررسی را از لحاظ تقارن و تکامل کاریوتیپ متمایز ساختند. بر این اساس از لحاظ عدم تقارن بین کروموزومی توده کرج با داشتن کمترین میزان A_1 (۰/۱۹) و دومین میزان TF% (۴۴/۱۶) از متقارن‌ترین و در عین حال ابتدایی‌ترین کاریوتیپ برخوردار بوده در حالی‌که توده بافت (کرمان) با دارا بودن بالاترین مقدار A_1 (۰/۳۷) و پائین‌ترین مقدار TF% (۳۸/۸۰) از نامتقارن‌ترین کاریوتیپ برخوردار است و از لحاظ تکاملی نیز در بالاترین سطح قرار دارد. از لحاظ شاخص عدم تقارن درون کروموزومی نیز در توده بافت با بیشترین میزان A_2 (۰/۲۹) کاریوتیپ نامتقارن و توده تکامل یافته است.

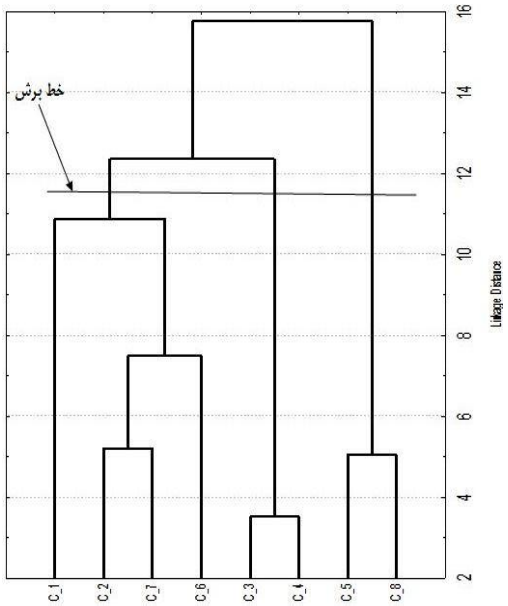
از لحاظ تیپ کروموزومی توده‌های کرج، تفت (یزد) و ملاثانی (خوزستان) دارای ۱۶ کروموزوم متاسنتریک[1] و ۲ کروموزوم ساب‌متاسنتریک[2]، توده تفرش (مرکزی) دارای ۲ کروموزوم متا و ۱۶ کروموزوم متاسنتریک، توده خمین (مرکزی) دارای ۱۸ کروموزوم متاسنتریک، توده تالش (گیلان) دارای ۱۰ کروموزوم متاسنتریک و ۸ کروموزوم متاسنتریک، توده سمیرم (اصفهان) دارای ۱۲ کروموزوم متاسنتریک و ۶ کروموزوم ساب‌متاسنتریک و توده بافت (کرمان) دارای ۱۰ کروموزوم متاسنتریک و ۶

1. Metacenteric
2. Sub-metacenteric

کروموزوم ساب متاسنتریک و ۲ ساب‌تلوسانتریک[1] بود که در بین این توده‌ها توده تالش از لحاظ تیپ کروموزومی با نتایج Deryckere (۲۰۱۳) مطابقت داشت ولی بقیه توده‌ها متفاوت بودند.

تجزیه کلاستر

در این مطالعه گروه‌بندی توده‌های مورد مطالعه بر اساس کلیه صفات کاریوتیپی، با استفاده از تجزیه کلاستر انجام شد. در تجزیه کلاستر به روش پیوستگی منفرد[2] بر اساس ۱۶ صفت کاریوتیپی، توده‌های مختلف در ۳ گروه متمایز قرار گرفتند.



شکل ۹- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر بر اساس ۱۶ صفت کاریوتیپی جدول‌های ۲ و ۳

طبق تجزیه خوشه‌ای به روش Ward توده کرج در یک خوشه، توده‌های تفت و ملاثانی در یک خوشه، توده سمیرم در یک خوشه، توده‌های تفرش و خمین در یک خوشه و توده‌های تالش و بافت نیز در خوشه‌ای جداگانه قرار گرفتند (Darvish Kajoori, 2009). با توجه به نتایج تجزیه و تحلیل خوشه‌ای و در نظر گرفتن خوشه‌های موجود می‌توان به این نتیجه رسید که چون توده‌های تفت و ملاثانی در یک خوشه قرار گرفته‌اند احتمالاً منشأ یکسانی داشته‌اند اما دلایل دیگری نیز جهت توجیه خوشه موجود وجود دارد؛ اول اینکه می‌توان گفت اقلیم محل جمع‌آوری بذرهای توده تفت با اقلیم توده ملاثانی یکسان بوده است، دلیل احتمالی دوم می‌تواند این باشد که فردی از تفت با جمع‌آوری بذرهای استان خوزستان (ملاثانی) و انتقال آن به تفت، آن را در سطح وسیعی کشت کرده است و بدین طریق منبع عظیمی از خزانه ژنی استان خوزستان را به تفت منتقل کرده است که با توجه به سختی انجام چنین کاری و زمان‌بر بودن این فرایند دلیل اولی محتمل‌تر می‌نماید. بنابراین با توجه به این احتمالات در مورد خوشه‌های دیگر نیز که از استان‌های مختلف بوده ولی در یک خوشه قرار گرفته‌اند می‌توان قرارگیری توده‌ها را به یکی از دو دلیل فوق‌الذکر نسبت داد. ولی قرارگیری توده‌ها در یک خوشه نیز با توجه به مقدار شباهت آن‌ها نیز جای تأمل دارد بگونه‌ای که شباهت خوشه شامل توده‌های تفرش و خمین به دلیل اینکه از یک استان می‌باشند از دیگر خوشه‌ها بیشتر بوده ولی درصد شباهت در خوشه‌های دیگر کمتر می‌گردد به طوری‌که خوشه شامل توده‌های تالش و سمیرم از لحاظ میزان شباهت در رتبه بعدی قرار می‌گیرد و در سایر خوشه‌ها نیز این شباهت به تدریج کاهش می‌یابد و با پیشرفت خوشه‌ها هم خوشه‌ها از هم جدا گردیده و هم درصد شباهتشان رفته رفته کمتر می‌گردد به طوریکه در وهله اول توده‌ها به ۵ خوشه دسته‌بندی می‌شوند پس از در نظر گرفتن یک سری شاخص‌های مشابه دیگر، توده‌های تفت، سمیرم و ملاثانی در یک خوشه قرار می‌گیرند ولی با درنظرگرفتن این توده‌ها به عنوان یک خوشه، درجه شباهت آن‌ها همچنان‌که انتظار می‌رود کاهش می‌یابد. بنابراین تعداد خوشه‌ها یک عدد کاهش یافته و به ۴ خوشه می‌رسد. همچنین

1. Sub-telocenteric
2. Single Linkage

پس از طی این مرحله و با در نظرگرفتن یک سری شاخص‌های شباهتی دیگر توده کرج را نیز می‌توان جزء این خوشه در نظر گرفت و بدین طریق از تعداد خوشه‌ها یک عدد کاست. بدین طریق پس از تقسیم‌بندی خوشه‌ها بر اساس شباهت آن‌ها و دستیابی به تعداد مطلوب خوشه‌ها مشاهده می‌گردد که توده‌های تالش و بافت در یک خوشه، توده‌های تفرش و خمین در یک خوشه و توده‌های کرج، تفت، سمیرم و ملاثانی در خوشه‌ای دیگر قرار می‌گیرند.

کروموزوموها حامل ژن‌ها هستند و اطلاعات قابل توارث مربوط به فنوتیپ گیاه را حمل می‌کنند. دانشمندان سیستماتیک گیاهی عقیده دارند که بررسی‌های کروموزومی همراه با پژوهش‌های ژنتیکی و مورفولوژیکی جهت تشخیص و ارزیابی قابل اطمینان روابط خویشاوندی می‌تواند بسیار مفید باشد (Farsi *et al.*, 2001). شمارش تعداد کروموزوم‌ها و اندازه‌گیری ابعاد آن‌ها و تعیین اختلاف‌های احتمالی بین کروموزوم‌ها می‌تواند به عنوان ابزاری در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقی‌های بین گونه‌ای به کار گرفته شود (Ghanavati *et al.*, 2011). دانش درمورد تعداد کروموزوم (سطح پلوئیدی) و نیز تغییرات درون و بین-کروموزومی جهت درک پویای تکاملی گونه‌ها از بعد انتخاب طبیعی، تلاقی و کاربرد آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی ضروری می‌باشد (Ebrahim *et al.*, 2012). در این پژوهش توده‌های مختلف *Cichorium intybus* L.، از لحاظ خصوصیات کروموزومی و کاریوتیپی مورد مطالعه قرار گرفتند. بر اساس نتایج حاصل شده، عدد پایه کروموزومی ۹ و تمامی توده‌ها دیپلوئید بودند. همچنین در تمامی توده‌های مورد بررسی ماهوارک[1] مشاهده نگردید.

بر اساس اطلاعات بدست آمده تمامی توده‌های مورد مطالعه از لحاظ عدد پایه کروموزومی و سطح پلوئیدی با نتایج بدست آمده توسط Bernardes *et al.* (۲۰۱۳) و Deryckere (۲۰۱۳) یکسان و برابر با 2n=2x=18 می‌باشند ولی اندازه‌های کروموزومی بدست آمده با نتایج بدست آمده توسط پژوهشگران فوق‌الذکر متفاوت بود. با توجه به تنوع اندازه‌های کروموزومی در توده‌های مورد مطالعه و نیز تفاوت چشمگیر در مقایسه با توده‌های دیگری که بر روی آن‌ها کار شده است پیشنهاد می‌گردد که مطالعات بیشتری برروی توده‌های دیگر این گونه انجام پذیرد. همچنین با توجه به همین موضوع می‌توان استنتاج کرد که چون کروموزوم‌ها در اندازه‌های مختلفی می‌باشند بنابراین می‌توان برروی ژن‌های موجود در آن‌ها و بیان ژن آن‌ها نیز کار کرد.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر صیاد ایرانی هریس بابت مساعدت‌های حمایتی در انجام این پروژه کمال تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید. همچنین از کمک‌های بی‌دریغ خانم دکتر الهام عزیزی، سرکار خانم مهندس مریم بهروزیان در دانشگاه پیام نور مرکز مشهد و همچنین خانم مهندس آزاده کاوندی در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تشکر و قدردانی می‌گردد.

1. Sattelite

REFERENCES

Afshari F, Ebrahimi M, Akbari M, Farajpour M (2013) Cytological investigations and new chromosome number reports in yarrow (*Achillea millefolium* Linnaeus, 1753) accessions from Iran. Comparative Cytogenetics 7(4): 271–277. doi: 10.3897/CompCytogen.v7i4.6075.

Aksu N, Inceer H, Hiyirlioglu Ayaz S, (2013) Karyotype analysis of six *Achillea* L. (Asteraceae, Anthemideae) taxa from Turkey, Caryologia:

International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetic, DOI: 10.1080/00087114.2013.787205.

Bernardes E, Benko-Iseppon A M, Vasconcelos S, Carvalho R, Brasileiro-Vidal A C (2013) Intra- and interspecific chromosome polymorphisms in cultivated *Cichorium* L. species (Asteraceae), Genet. and Mol. Biol., 36: 357-363.

Darvish Kajoori F (2009) Introduction to Applied Multivariate Statistical Methods, In: Azad University, Science and Research.

Deryckere D (2013) Development of asymmetric somatic hybridization technology in industrial chicory (*Cichorium intybus* L.). Dissertation, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Belgium.

Ebrahim F, Pakniyat H, Arzani A, Rahimmalek M (2012) Karyotype analysis and new chromosome number reports in *Achillea* species, Biology Section Botany DOI: 10.2478/s11756-012-0011-3.

Farsi M, Ghoreishi Al-Hoseini J, Jafari A (2001) Cytogenetic Study of some *Achillea* Species In Iran, In: Danesh Keshavarzi Mag. 11(4): 17-37.

Fatma Jafri I (2011) EMS induced karyomorphological variations in *Cichorium intybus* L., Electronic Journal of Plant Breeding, 2(4): 578-582.

Ghanavati F, Eskandari H, Bakhshi Khaniki G (2011) Karyological Survey of some *Onobrychis* Species, In: Crop Biotech. 1: 85-95.

Hessamzadeh Hejazi S M, Ziaee Nasab M (2009) Color Chromosome Atlas of Legumes Collected In the Natural Resources Gene Bank of Iran, pp 6-28.

Kuhi L, Asghari Zakaria L, Zare N, Sheikh Zadeh Mosaddegh P (2012) Cytogenetic study in three varieties of German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.), 12th Genetic Congress of Iran.

Levan A, Fredga K, Sandberg A (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201–220.

Masoodian Khoozani SH, Zeinali H, Yoosefi M (2011) Karyotipic characteristics of several species of *Matricaria* L. and *Tripleurosperum* L. genera, In: Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 19(2) 251-262.

Mozaffarian V (2012) Recognition of Medicinal and Aromatic Plants of Iran, Tehran, pp: 225-228.

Stebbins GL (1971) Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edward Arnold, London.

Yoosefzadeh K, Hooshmand S, Zeinali H (2010) Karyological study of four *Anthemis* species from Iran, In: Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 18(1): 55-62.

Zeinali H, Arzani A, Razmjoo KH, Rezaei M B (2008) Study of cytogenetic in *Mentha spicata* and *M. longifolia*, In: Pajouhesh & Sazandegi 78: 34-40.