دو فصلنامه
بیوتکنولوژی و میکروبیولوژی کاربردی
سال پنجم، شماره ۱ و ۲، بهار و تابستان ۱۳۹۵

مطالعات کروموزومی سه از گونه از جنس *Anabasis* (Amaranthaceae) در ایران

سید محمد مهدی حمدی[۱]، آرزو دست پاک[۱]، مصطفی اسدی[۲]، فاطمه فاجانی[۳]

[۱] دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی
[۲] موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
[۳] دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار

چکیده

جنس *Anabasis* با ۱۰ گونه در ایران متعلق به زیر تیره Salsoloideae (Amaranthaceae) می‌باشد. ۲۸ گونه از این جنس در مناطق مختلف جهان انتشار دارند. مطالعات سیتوژنتیک به منظور اصلاح گیاهان از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در این پژوهش با استفاده از مریستم نوک ریشه ها از سه گونه *A aphylla* , *A. haussknechtii* و *A. setifera* بعد از مراحل تثبیت، هیدرولیز و رنگ آمیزی، نمونه میکروسکوپی تهیه و مورفولوژی کروموزوم ها مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر سه گونه دیپلوئید هستند (2n = 2x =18) بوده و براساس جدول استیبنز در کلاس A قرار می-گیرند. بررسی‌های دقیق کاریوتیپ نشان داد که تمامی گونه ها کاریوتیپ مشابهی دارند. *A aphylla* دارای بلندترین کروموزوم و *A. Setifera* دارای کوتاهترین کروموزوم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کاریوتیپ، ایران، سیتوژنتیک، Amaranthaceae ، *Anabasis*

مقدمه

جنس *Anabasis* یکی از جنس‌های تیره تاج خروس (Amaranthaceae) است که دارای سیستم فتوسنتزی C4 می باشد(APG III, 2009; Lal et al., 2007). تعداد ۲۸ گونه از این جنس درشمال آفریقا ، مناطق خشک اوراسیا شامل بیابان‌های آسیای مرکزی و جنوب غرب آسیا انتشار دارند (Bokhar &Wendelbo, 1978; Hedge, 1997; Sukhorukov, 2008). این جنس در ایران دارای ۱۰ گونه و دو واریته است که شامل یک گونه علفی یکساله و ۹ گونه علفی چند ساله می باشد و به طورگسترده در مناطق معتدل و نیمه گرمسیری توزیع شده‌اند (Asadi, 2001; Rad et al., 2008). دانشمندان معتقدند که کروموزوم‌ها از جمله صفات با ارزشی هستند که می‌توان بر اساس آن نحوه روند تکامل را دریافت و بنابراین سیتوتاکسونومی می‌تواند علاوه بر طبقه‌بندی, ارتباط بین گیاهان را نیز نشان دهد، همچنین از طریق مطالعه صفات سیتولوژی امکان

* **مسئول مکاتبات:** mm_hamdi@asia.com

مقایسه جمعیت‌ها نیز فراهم می‌شود. براساس مطالعات محدود کروموزومی پیشین این جنس دیپلوئید بوده و ۲n =۱۸ گزارش شده است که از جمله می‌توان به گونه *A. setifera* و *A. salsa* اشاره نمود (Turner, 1994; Al-Turki, 2000). در این پژوهش با استفاده از مریستم نوک ریشه، ویژگی‌های کروموزومی در سه گونه *A. haussknechtii*، *A. aphylla* و *A. setifera* مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

بذر سه گونه *A. aphylla* , *A. haussknechtii* و *A. setifera* از نمونه های هرباریومی تهیه گردید. بذور توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۱۵٪ به مدت ۵ دقیقه استریل شده، پس از شستشو با آب مقطرداخل پتری‌دیش و روی کاغذ صافی کشت داده شدند. بذرها به طور متوسط بعد از دو روز قرارگیری در دمای معمولی اتاق جوانه‌دار شدند. ریشه‌ها با طول ۱/۵– ۱ cm جدا گردید. سپس به مدت ۳ ساعت در محلول آلفا برمونفتالین۰/۰۰۲٪ منتقل شدند (Paszko, 2006). در مرحله بعد ریشه ها به مدت ۲٤ ساعت در محلول کارنوی قرارگرفتند(Sarela et al., 2007). هیدرولیز ریشه ها در اسید کلریدریک ۱ نرمال و حمام آب گرم ٦٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. برای رنگ‌آمیزی از هماتوکسیلین به مدت ۲ ساعت استفاده شد. در نهایت نوک ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده بر روی لام درون یک قطره اسید استیک ٤٥٪ قرارداده شد و پس از آن یک لامل روی نمونه قرارگرفت. برای گسترده شدن بیشتر سلول‌ها و قابل شمارش شدن کروموزوم‌ها لام و لامل را بین یک ورق کاغذ صافی گذاشته و با انگشت فشار داده تا از نفوذ هوا بین لام و لامل جلوگیری شود و با له شدن سلول‌ها کروموزوم‌ها با عدسی ۱۰۰ میکروسکوپ نوری بررسی شدند. جدول اختصاصات کاریوتیپ تهیه و میزان تقارن آن با استفاده از جدول دوطرفه استیبنز تعیین شد(Stebbins, 1971).

نتایج

مشخصات کاریوتیپی گونه‌ها در جدول(۳ , ٤, ٥) وآیدیوگرام مربوط به آن‌ها نیز در شکل‌های (۱۲ , ۱۳ , ١٤) نشان داده شده است.

هر سه گونه مورد مطالعه دیپلوئید و با عددپایه کروموزومی ۹= n بودند که با مطالعات پیشین مطابقت دارد (Turner, 1994). در مورد گونه *A. setifera* با فرمول 9sm، مجموع طول کروماتین ۲۲/۹٦ میکرومتر و متعلق به کلاس 2A و متقارن بود.

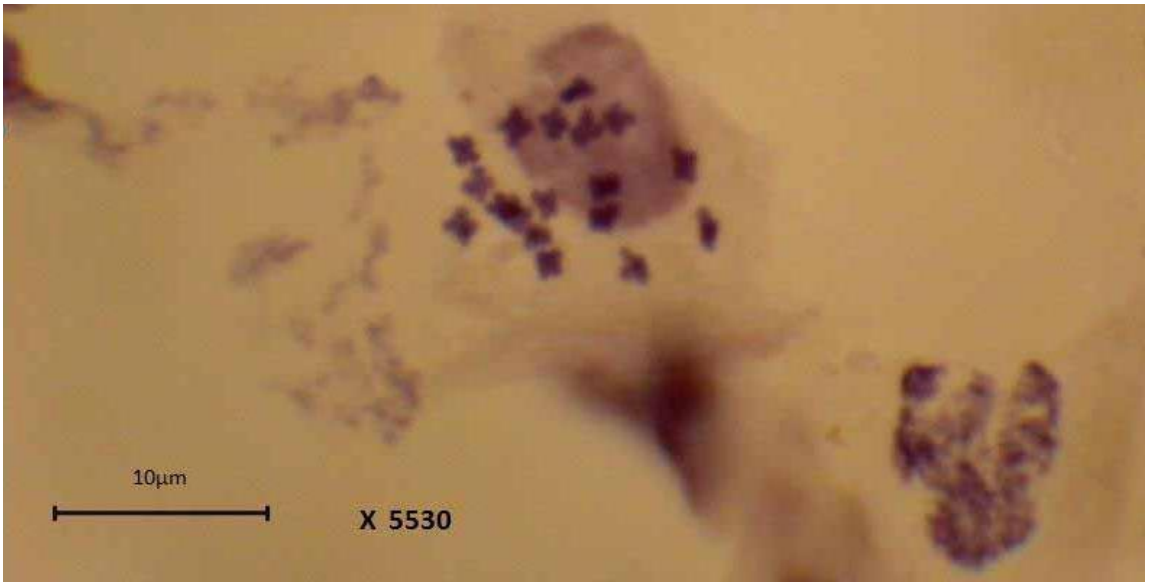
گونه *A.aphylla* دیپلوئید با فرمول کاریوتیپی 9sm، مجموع طول کروماتین ۳۰/۰۵ میکرومتر، متعلق به کلاس 2A و نا متقار تر از دوگونه دیگر بود.

گونه *A.haussknechtii* دیپلوئید با فرمول کاریوتیپی 9sm، مجموع طول کروماتین ۲۷/۸۲ میکرومتر و متعلق به کلاس 2A و متقارن بود.

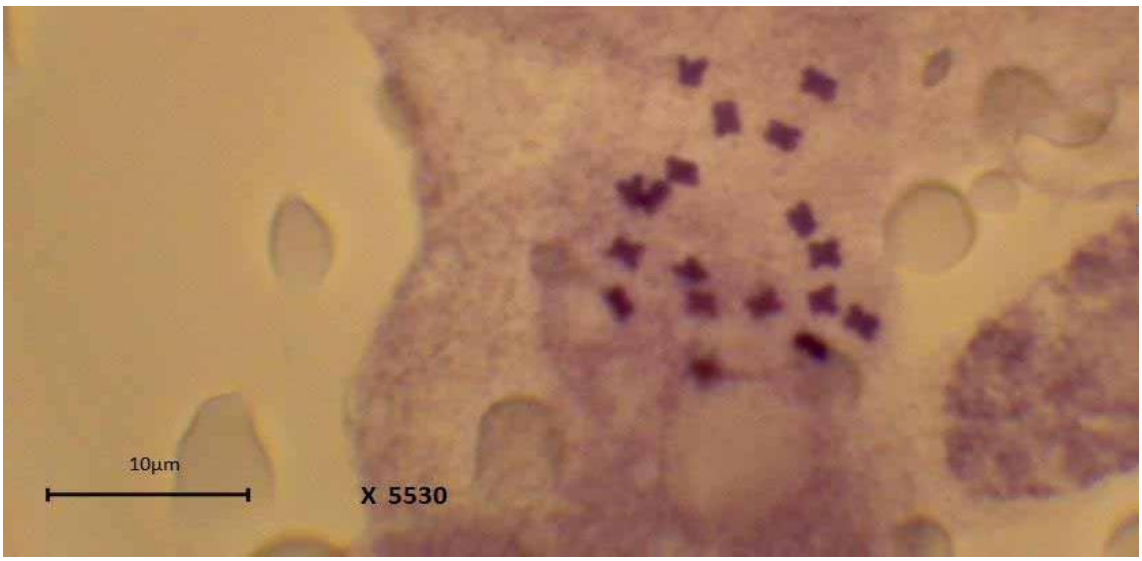
بزرگترین کروموزوم مربوط به گونه *A. aphylla* (با طول ۳/۹۷میکرومتر) و کوچکترین آن مربوط به گونه *A. setifera* (با طول ۲/۱۷میکرومتر) بود. اندازه کروموزوم‌های گونه سوم.*A. haussknechtii* ، حدود ۳/٦٤ میکرومتر تعیین گردید

جدول ۱ – محل جمع‌آوری گیاهان تازه و نمونه‌های هرباریومی مورد استفاده در مطالعات کروموزومی در گونه‌های جنس *Anabasis*

ردیف	نام گونه	محل جمع آوری	جمع‌آوری کننده	ارتفاع (متر)	شماره هرباریومی
۱	*A. setifera* Moq	تهران، ایوانکی – رود شور	فاجانی	۷۸۰	۵۸۹۹
۲	*A. aphylla* L.	تهران ،۳۱ کیلومتری جنوب فیروز کوه، پیرده	فاجانی	۲۲۰۰	۵۹۰۰
۳	*A. haussknechtii* Bge.	سمنان، حدود ۱۰ کیلومتری جنوب شرق سمنان، نزدیک ده اعلاء	فاجانی	۱۰۵۰	۵۹۰۱

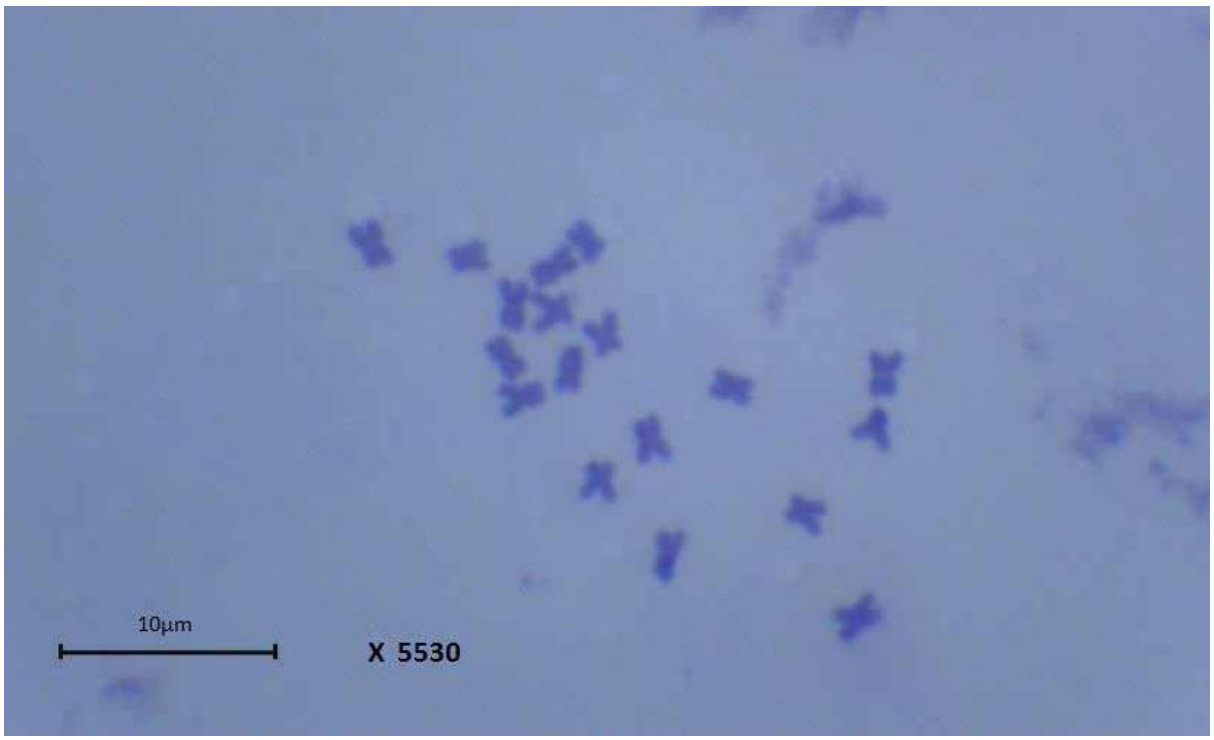


شکل ۱ – تصویر میکروسکوپی کروموزوم‌ها در گونه *A. setifera* در مرحله متافاز میتوزی ۲n= ۲x=18



شکل ۲ – تصویرمیکروسکوپی کروموزوم‌ها در گونه *A. setifera* در مرحله متافاز میتوزی ۲n= ۲x=18

شکل ۳- تصویر میکروسکوپی کروموزوم‌ها در گونه ***A. aphylla*** در مرحله متافاز میتوزی **۲n= ۲x=18**

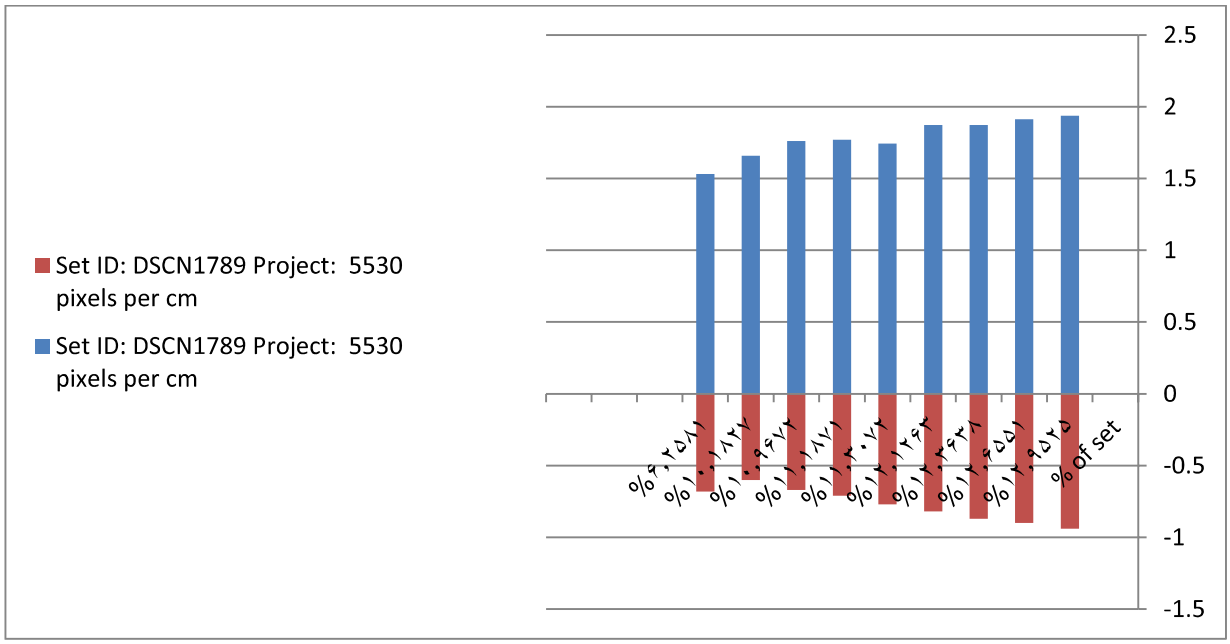


شکل ٤- تصویرمیکروسکوپی کروموزوم‌ها در گونه ***A. haussknechtii*** در مرحله متافاز میتوزی **۲n= ۲x=18**

مشخصات کاریوتیپی سه گونه مورد مطالعه در جداول و شکل‌های زیر آمده است (جدول ۳، ٤، ٥)(شکل ٥، ٦، ٧).

جدول ۳ – پارامتر های سیتوژنتیکی محاسبه شده درگونه *A. setifera*

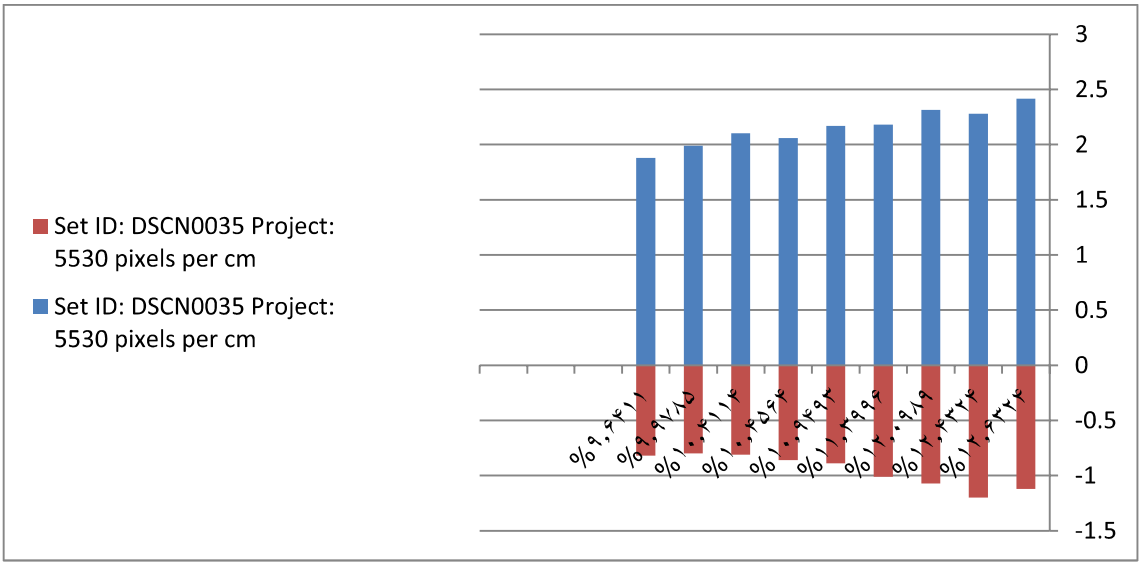
شماره کروموزوم	TL	SA	LA	r-value	AR	CI	%S	٪L	٪RL	TYPE
۱	۲,۸٦	۰,۹۷	۱,۸۹	۱,۹٤	۰,۵۱	۰,۳۳	٤,۲۲	۸,۲۳	۱۲,٤۵	sm
۲	۲,۸۳	۰,۸۹	۱,۹٤	۲,۱۷	۰,٤۵	۰,۳۱	۳,۸۷	۸,٤٤	۱۲,۳۲	sm
۳	۲,۷٦	۰,۹	۱,۸٦	۲,۰٦	۰,٤۸	۰,۳۲	۳,۹۱	۸,۱۰	۱۲,۰۲	sm
٤	۲,٦۳	۰,۷۹	۱,۸٤	۲,۳۲	۰,٤۲	۰,۳۰	۳,٤٤	۸,۰۱	۱۱,٤۵	sm
۵	۲,۵۳	۰,۷۸	۱,۷۵	۲,۲٤	۰,٤٤	۰,۳۰	۳,۳۹	۷,٦۲	۱۱,۰۱	sm
٦	۲,٤۷	۰,٦۹	۱,۷۸	۲,۵۷	۰,۳۸	۰,۲۷	۳	۷,۷۵	۱۰,۷۵	sm
۷	۲,٤٤	۰,۷۱	۱,۷۳	۲,٤۳	۰,٤۱	۰,۲۹	۳,۰۹	۷,۵۳	۱۰,٦۲	sm
۸	۲,۲۷	۰,٦۳	۱,٦٤	۲,٦۰	۰,۳۸	۰,۲۷	۲,۷٤	۷,۱٤	۹,۸۸	sm
۹	۲,۱۷	۰,٦۵	۱,۵۲	۲,۳۳	۰,٤۲	۰,۲۹	۲,۸۳	٦,٦۲	۹,٤۵	sm



شکل ۱۲ – آیدیوگرام حاصل از کاریوتیپ *A. setifera*

جدول ٤- پارامتر های سیتوژنتیکی محاسبه شده درگونه ***A. aphylla***

شماره کروموزوم	TL	SA	LA	r-value	AR	CI	٪S	٪L	٪RL	TYPE
١	٣,٩٧	١,٢٧	٢,٧٠	٢,١٢	٠,٤٧	٠,٣١	٤,٢٢	٨,٩٨	١٣,٢١	sm
٢	٣,٨٧	١,٣٦	٢,٥١	١,٨٤	٠,٥٤	٠,٣٥	٤,٥٢	٨,٣٥	١٢,٨٧	sm
٣	٣,٥٨	١,١٥	٢,٤٣	٢,١١	٠,٤٧	٠,٣٢	٣,٨٢	٨,٠٨	١١,٩١	sm
٤	٣,٤٧	١,٠٥	٢,٤٢	٢,٣٠	٠,٤٣	٠,٣٠	٣,٤٩	٨,٠٥	١١,٥٤	sm
٥	٣,٤١	٠,٩٦	٢,٤٥	٢,٥٥	٠,٣٩	٠,٢٨	٣,١٩	٨,١٥	١١,٣٤	sm
٦	٣,١	٠,٩٣	٢,١٧	٢,٣٣	٠,٤٢	٠,٣	٣,٠٩	٧,٢٢	١٠,٣١	sm
٧	٢,٩٤	٠,٧٨	٢,١٦	٢,٧٦	٠,٣٦	٠,٢٦	٢,٥٩	٧,١٨	٩,٧٨	sm
٨	٢,٨٨	٠,٧٥	٢,١٣	٢,٨٤	٠,٣٥	٠,٢٦	٢,٤٩	٧,٠٨	٩,٥٨	sm
٩	٢,٨٣	٠,٧٤	٢,٠٩	٢,٨٢	٠,٣٥	٠,٢٦	٢,٤٦	٦,٩٥	٩,٤١	sm

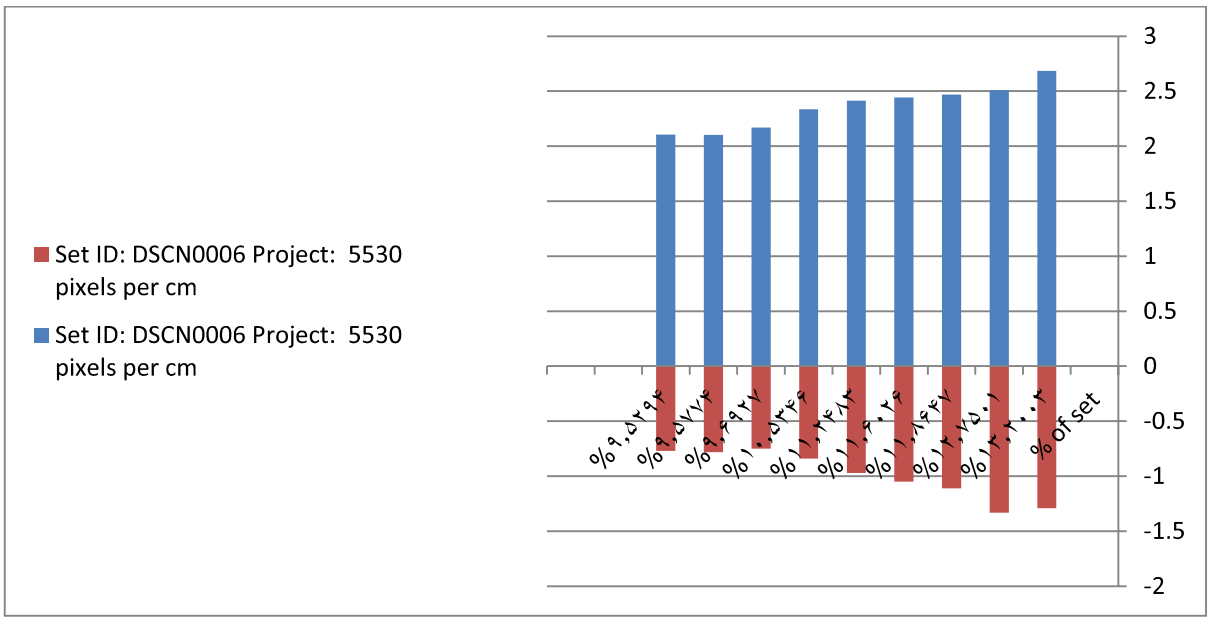


شکل ١٣ – آیدیوگرام حاصل از کاریوتیپ ***A. aphylla***

جدول ٥ – پارامترهای سیتوژنتیکی محاسبه شده درگونه ***A. haussknechtii***

شماره کروموزوم	TL	SA	LA	r-value	AR	CI	٪S	٪L	٪RL	TYPE
١	٣,٦٤	١,٢٣	٢,٤١	١,٩٥	٠,٥١	٠,٣٣	٤,٤٢	٨,٦٦	١٣,٠٨	sm
٢	٣,٤٤	١,١٢	٢,٣٢	٢,٠٧	٠,٤٨	٠,٣٢	٤,٠٢	٨,٣٣	١٢,٣٦	sm
٣	٣,٣٦	١,١	٢,٢٦	٢,٠٥	٠,٤٨	٠,٣٢	٣,٩٥	٨,١٢	١٢,٠٧	sm
٤	٣,٢٥	١	٢,٢٥	٢,٢٥	٠,٤٤	٠,٣٠	٣,٥٩	٨,٠٨	١١,٦٨	sm

شماره کروموزوم	TL	SA	LA	r-value	AR	CI	٪S	٪L	٪RL	TYPE
۵	۳	۰,۸٦	۲,۱٤	۲,٤۸	۰,٤۰	۰,۲۸	۳,۰۹	۷,٦۹	۱۰,۷۸	sm
٦	۲,۹۲	۰,۸۲	۲,۱	۲,۲٦	۰,۳۹	۰,۲۸	۲,۹٤	۷,۵٤	۱۰,٤۹	sm
۷	۲,۸٤	۰,۷۷	۲,۰۷	۲,٦۸	۰,۳۷	۰,۳۷	۲,۷٦	۷,٤٤	۱۰,۲۰	sm
۸	۲,۷٦	۰,۸۱	۱,۹۵	۲,٤۰	۰,٤۱	۰,۲۹	۲,۹۱	۷	۹,۹۲	sm
۹	۲,٦۱	۰,۷۸	۱,۸۳	۲,۳٤	۰,٤۲	۰,۲۹	۲,۸۰	٦,۵۷	۹,۳۸	sm



شکل ١٤ – آیدیوگرام حاصل از کاریوتیپ A. haussknechtii

بحث و نتیجه‌گیری

عدد کروموزومی یکی از باثبات‌ترین ویژگی‌های موجودات زنده است و بنابراین به عنوان یک صفت تاکسونومیکی حائز اهمیت می‌باشد. این ثبات نسبی موجب شده که درتاکسونومی, عدد کروموزومی به عنوان صفتی مهم و کاربردی معرفی شود و از این رو تنها داده سیستماتیک زیستی است که پیوسته در فلورها و منابع همسان گزارش می شود. تمام افراد متعلق به یک گونه (گرچه استثنائاتی وجود دارد) معمولا دارای عدد کروموزومی مشابه هستند. درسطح گونه معمولا یک عدد پایه اصلی و نسبتا مشخص وجود دارد. از این عدد پایه، عدد های پایه گوناگون مشتق می شوند که آنیوپلوئیدها و پلی‌پلوئیدها را به وجود می‌آورند.

بررسی‌ها نشان می‌دهد تفاوت موجود در تعداد کروموزوم‌ها در گونه‌های خویشاوند غالبا ناشی از پدیده پلی‌پلوئیدی است که در گیاهان رایج بوده و نقش عمده‌ای در تکامل گیاهان دارد. در مطالعه حاضر کاریوتیپ گونه‌های *A.aphyiia* و *A.haussknechtii* برای نخستین بارگزارش می‌شود

که هردوگونه درکلاس 2A قرارگرفت.

مقایسه TF٪ گونه‌هایی که در بالا ذکر شد نشان می‌دهد که بیشترین TF% با ۳۰,۵۳ مربوط به گونه *A. setifera* و کمترین TF٪ با 29.91 مربوط به گونه *A. Aphylla* است. از آنجا که هر جه TF٪ بیشتر باشد گونه مورد مطالعه دارای کاریوتیپ متقارن‌تری است بنابراین کاریوتیپ متقارن‌تری را می‌توان در گونه *A. setifera* مشاهده نمود.

با نامتقارن‌تر شدن کاریوتیپ, گونه ها در مراحل بالاتری از نظر تکامل قرار می‌گیرند. گونه *A.setifera* متقارن‌تر از دو گونه دیگر است بنابراین در پائین ترین درجه تکامل و *A.aphylla* در بالا ترین درجه تکامل در میان این سه گونه قرار می‌گیرد.

عدد کروموزومی همه گونه ها 2n=18 و دیپلوئید بوده و فرمول کاریوتیپی گونه ها 9sm می‌باشد.

منابع

1- Asadi, M. (2001). Flora ofIran: Chenopodiaceae, Vols. 38, Research Institute of range and forest management, Tehran, Iran.

2- Al-Turki, T.A., Filfilan, S.A., Mehmood, S.F., (2000): A cytological study of flowering plants from Saudi Arabia. Willdenowia. 30: 339-358.

3- APG III: An update of the Angiosperm PhylogenyGroup classification for the orders and families of flowering plants. (2009). Botanical Journal of the Linnean Society, 161: 105–121.

4- Bokhari, M.H., Wendelbo, P. 1978. On anatomy, adaptations to xeromorphysm and taxonomy of Anabasis inclusive Esfandiaria (Chenopodiaceae). Botaniska Notiser: 131, 279-292.

5- Hedge, I.C. (1997). Gen. Anabasis, Haloxylon. In 'Flora Iranica, 172'. (Ed. KH Rechinger). pp. 315–326. Akademische Druck- und Verlagsanstalt: Graz, Austria.

6- Rad, Mohammad, Tabatabaei, H., Hatami Zadeh, A., Dehqani, M., Salem, F., Sahafi, J., Razzaqiyan S., Izad Far H., Maddah M., Zare Zadeh, H. 2008. Collection, Identification, Evaluation and Preservation Of Yazd Province Grassland Seeds For The Purpose Of Plant Genbank Invigoration.

7- Sukhorukov A. P. 2008. Fruit anatomy of the genus Anabasis (Salsoloideae, Chenopodiaceae).

8- Paszko, B. (2006). A critical review and new proposal of karyotype asymmetry indices. Pl. Syst 258: 39-48.

9- Sarela, J. M., Peterson, P.M., Keane, R.M., Cayouette, J. and Graham, S.W. (2007). Molecular phylogenetics of Bromus based on chloroplast and nuclear DNA sequence data. Aliso, 23: 379- 396.

10- Stebbins, G.L. (1971) Chromosomal evolution in higher plants. Edvard Arnold publisher Ltd. London. 216 pp.

11- Turner, B.L.(1994). Chromosom Numbers and their Phyletic Interpretation. In the book: H. D. Behnke, T.J. Mabry edit. Caryophyllales Evolution and systematics. SpringerVerlag:.40-41.

12- Lal R., Suleimenov M., Stewart B.A., Hansen D.O., Doraiswamy P. (2007). Climate Change and Terrestrial Carbon Sequestration in Central Asia .Taylor and Francis Group, London, UK.