بررسی تنوع کاریوتیپی چند گونه از زنبق‌های بومی ایران

وحید رحیمی (۱)، مصطفی عرب (۲)، عیسی ظریفی (۳)، شیرین دیانتی دیلمی (۲)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح گیاهان باغی، دانشگاه تهران، پردیس ابوریحان، ۲- عضو هیئت علمی گروه تولیدات گیاهی پردیس ابوریحان. دانشگاه تهران، ۳- عضو هیئت علمی بانک ژن، موسسه اصلاح نهال و بذر، کرج

به منظور بررسی تنوع کاریوتیپی زنبق‌های بومی ایران، ۵ گونه از زنبق‌های بومی کشورمان از نقاط مختلف جمع‌آوری و پس از تهیه سلول‌های متافازی مناسب اقدام به بررسی تنوع کاریوتیپی آنها نمودیم. هر گونه فرمول کاریوتیپی مختلفی را نشان داد.گونه *Meda* دارای ۲ کروموزوم ساب متا سانتریک+۱٤ کروموزوم ساب تلو سانتریک و ٤ کروموزوم تلو سانتریک می‌باشد. گونه *Caspica* دارای ۸ کروموزوم متا سانتریک+ ۱٦ کروموزوم ساب متا سانتریک+ ۲۰ کروموزوم ساب تلو سانتریک می‌باشد که یک جفت کروموزوم ماهواره دار مشاهده می‌شود. گونه *Spuria* دارای فرمول کروموزومی ۲٦ کروموزوم متا سانتریک+۱۸ کروموزوم ساب متا سانتریک می‌باشد. گونه *Pseudacorous* نیز دارای فرمول کروموزومی ۱٤ کروموزوم متاسانتریک+۱۲ کروموزوم ساب متا سانتریک+۸ کروموزوم ساب تلوسانتریک می‌باشد. گونه *Germanica* نیز دارای ۸ کروموزوم متا سانتریک+ ۲۰ کروموزوم ساب متا سانتریک+۲۰ کروموزوم ساب تلو سانتریک می‌باشد. این اولین گزارش کاریوتیپی در گونه های *I.caspica*, *I.spuria* و *I.meda* در ایران می‌باشد نتایج شواهد ژنتیکی کافی برای تشخیص هر گونه فراهم می‌کند و اطلاعات مفیدی برای روشن کردن روابط بین گونه‌ای در بین گونه‌های زنبق بومی ایران به ما می‌دهد.

مقدمه

گل زنبق (*Iris spp*)گیاهی است از خانواده *Iridaceae* که منشاء این گیاه مبهم است و به درستی نمی‌توان گفت که آیا آنچه هم‌اکنون در اروپا و خاور میانه دیده می‌شود گونه‌ئی پرورش یافته است که خود را با محیط طبیعی سازش داده یا یک نمونه وحشی واقعی است که هیچ گاه در طبیعت بازیافت نشده است(قنادی، ۱۳۷۰). مطالعات سیتوژنتیکی در زنبق وآنالیز کاریوتیپی آن در سال ۱۹۳۰ بوسیله simonet در کشور آمریکا آغاز شد و در سال ۱۹۳٤بوسیله Randolph ادامه یافته و پس از آن نیز با بهبود روشهای تعیین کاریوتیپ توسط Mitra ادامه یافته است (Randolph&Mitra,1961). در ایران نیز عزیزیان و همکاران در سال ۱۳۷۲ به بررسی سیتولوژیکی ۳ گونه زنبق های ایرانی بنام های *I.germanica*, *I.barnumae* و *I.pseudocorus* پرداختند(عزیزیان و همکارن،۱۳۷۲).

مواد وروشها

پس از جمع آوری ۵ گونه زنبق شامل: *Iris caspica, Iris spuria, Iris pseudacorus, Iris germanica* و *I meda* اقدام به جمع آوری و تقسیم ریزوم آنها نموده و ریزوم ها را به منظور ریشه دهی بهینه در گلدانی که مخلوطی از پیت وپرلیت (نسبت۱:۱) بود قرار دادیم. پس از ریشه دهی، ریشه ها را در پیش تیمار ۸ هیدروکسی کینولیئن سولفات به مدت ۳ ساعت منتقل نمودیم و بعد از آن ریشه ها به محلول تثبیت کننده لویتسکی به مدت ۲٤ ساعت انتقال یافت. بعد از قرار گیری ریشه ها در محلول تثبیت کننده ریشه ها به منظور نگه داری بلند مدت به الکل ۷۰ ٪ انتقال یافت. برای هیدرولیز ریشه ها از

NaoH ۱ نرمال به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٦۰ درجه سانتیگراد استفاده شد وسپس ریشه ها بـه منظـور رنـگ آمیـزی در محلـول هماتوکسیلین به مدت ۱۷ ساعت قرار گرفتند.بعد از رنگ آمیزی به منظور حل شدن دیواره سلولی ریشه ها به مـدت ۱ سـاعت در آنزیم سیتاز قرار گرفتند. سپس با ریختن ۱ قطره اسـید اسـتیک ٤٥ درصـد روی لام و انتقـال نـوک مریـستم روی لامـل اقـدام بـه اسکواش ومشاهده سلول های متافازی نمودیم.پس از مـشاهده سـلول هـای متافـازی مناسـب بـا اسـتفاده از نـرم افـزار Micro Measure اقدام به آنالیز کروموزوم ها نمودیم.

نتایج

پس از مشاهده سلول‌های متافازی مناسب شمارش کروموزومی این گونه‌ها بدین شرح بود

I. meda 2n=20 و *I.caspica* 2n=44 *I.spuria* 2n=44, *I.pseudacorus* 2n=34, *I.germanica* 2n=48

فرمول کاریوتیپی گونه‌های مورد بررسی عبارت بود از

I.meda=2Sm+14St+4T
I.caspica=8M+16Sm+20 St
I.spuria= 26M+18Sm
I.pseudacorous=14M+ 12Sm+8St
I.germanica=8M+20Sm+20Acr

تجزیه واریانس بین گونه ها حاکی از اختلاف معنی دار بین تمام صفات کاریوتیپی در گونه‌هـای مختلـف مـی‌باشـد. بـه منظـور بدست آوردن تقارن کاریوتیپی گونه‌ها، تقارن کاریوتیپی کروموزوم‌ها محاسبه گردید. نتایج بدست آمده حاکی از این است که گونه *I.spuria* با ۳۹/۱۸ درصد متقارن ترین گونه و گونه *I.meda* با ١٦/٨٥ درصدنامتقارن ترین گونه می‌باشد. مقایسه میـانگین گونـه ها بر اساس طول کل کروموزوم‌ها نیز انجام گرفت که بر این اساس گونه‌های *I.germanica* و *I.pseudacorus* در یک گـروه و گونه‌های *I.caspica* و *I.meda* در یک گروه و گونه *I.spuria* به تنهائی در یک گروه قرار گرفت. نتـایج حاصـل از تجزیـه به عامل ها نشان داد که عامل اول و دوم مجموعا ۹۷/۷٦٪ از واریانس بین صفات سیتوژنتیکی مورد مطالعه را توجیه می کننـد کـه عامل اول، میانگین شاخص سانترومر نام گرفت که ۵۵/۳۷٪ از تغییرات را توجیه کرد و عامل دوم، میانگین طول کل کروموزوم نام گذاری گردید که ٤۲/۳۸٪ از تغییرات را توجیه کرد. با توجه به دو عامل اصلی در بر گیرنده تغییرات سیتوژنتیک در بـین گونـه هـا از قسمت تجزیه به عاملها، اقدام به رسم نمودار خوشه ایی به روش وارد[1] گردید که گونه های زنبق از لحاظ سیتوژنتیکی به چهـار گروه تقسیم شدند. بدین ترتیب که گونه *I. germanica*، *I.pseudacorus* در یک گروه و گونه‌های *I.spuria*، *I.caspica* و *I.meda* به تنهائی در گروه‌های جداگانه قرار گرفتند

منابع

۱- ظریفی، ع. آقایوف، ی. قنواتی، ف. امینی زاده، ز. ۱۳۸۵. سیتوژنتیک وتکامل کاریوتیپ درمنه معمولی. نهال وبذر. جلد ۲۲.شماره ۱. صفحات ۱۱-۱

۲-عزیزیان، د. شیدایی، م. جهانمیری، ز. ۱۳۷۲. آناتومی و سیتولوژی سه گونه زنبق ایران. پژوهش ۲وسازندگی.شماره۲۹.صفحات٤۹-٤٤

[1] Ward

۳-قنادی، ف. پرورش گل زنبق. ترجمه. ۱۳۷۰. انتشارات گلها. چاپ اول. صفحات ۱۳-۱۱

4-Randolph, L, F and Mitra, J. 1961. Karyotypes of iris species indigenous to the ussr .American journal of botany. 48:862-870

Assessment of Karyological Variation among of five Iranian native *Iris* species

V.Rahimi[1], M.Arab[1], E.Zarifi[2], S.dianati daylami[1]

Abstract

Karyotypes were investigated in five Iranian native species of the genus Iris. Each species showed different karyotypic formula such as *I.meda* 2n = 2Sm+ 14St+4T. in *I.caspica*, 2n = 8m + 16Sm + 20st with one pairs of terminal satellite chromosomes. in *I.spuria* 2n = 26m + 18Sm. in *I.pseudacorous* 2n= 14m+12sm+8St with one pairs of terminal satellite chromosomes. In *I.germanica* 2n=8m+20sm+20St. This is the first karyotypic report in *I.caspica* , *I.spuria* and *I.meda* species in Iran and the results seemed to provide enough genetic evidence to identify each species and useful data to clarify the interspecific relationships among Iranian native Iris species.