

## مطالعه تنوع سیتوژنتیکی کلون‌های انتخابی چای (*Camellia sinensis*) در ایران

ذبیح اله عاشوری (۱)، عبدالله محمدی (۲)، محمدرضا نقوی (۳)، کوروش فلک‌رو (۱)

۱- بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر مرکز تحقیقات چای کشور، ۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و

۳- گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم زراعی و دامی دانشگاه تهران

به منظور مطالعه تنوع سیتوژنتیکی کلون‌های انتخابی چای (*Camellia sinensis*) در ایران، مطالعات کروموزومی روی هفت کلون به روش اسکواش انجام شد. از آلفابروموناتالین به عنوان پیش تیمار و از محلول تثبیت کننده (فارمر) جهت تثبیت ریشه‌ها و عمل هیدرولیز به وسیله اسیدکلریدریک ۱ نرمال و رنگ آمیزی به وسیله استو آبیرون همتاکسلین صورت گرفت. طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، نسبت بازوی بلند به کوتاه و شاخص سانترومیری و همچنین تعداد کروموزوم‌ها اندازه‌گیری شدند. در همه ژنوتیپ‌ها تعداد کروموزوم‌ها  $2n=30$  بود. تجزیه واریانس بر اساس آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور ژنوتیپ با هفت سطح و کروموزوم با ۱۵ سطح در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها و کروموزوم‌ها از نظر ویژگی‌های کروموزومی شامل طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد. دسته‌بندی میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال ۵٪ ژنوتیپ‌ها را از نظر ویژگی طول کل کروموزوم و طول بازوی کوتاه در سه دسته و از نظر طول بازوی بلند در چهار دسته قرار داد. بر طبق نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها در سه دسته قرار گرفتند.

### مقدمه

مطالعات سیتوژنتیکی و تعیین ژنوم و فرمول ژنومی گونه‌ها، اساسی‌ترین مرحله برای مطالعات ژنتیکی و اصلاحی روی گیاه می‌باشد (۵). با توجه به این که روی کلون‌های انتخابی چای (*Camellia sinensis*) موجود در ایران که به عنوان دستمایه‌های ژنتیکی برای برنامه‌های اصلاحی چای هستند، تاکنون مطالعات سیتوژنتیکی جهت شناسایی آن‌ها صورت نگرفته است بنابراین ضرورت دارد که از لحاظ سیتوژنتیکی برای تعیین تعداد کروموزوم‌ها، سطح پلوئیدی، تفاوت‌های ساختاری کروموزوم‌ها، تنوع سیتوژنتیکی مورد بررسی قرار گیرند. اولین بررسی کروموزومی در چای توسط Morinaga و همکاران در سال ۱۹۲۹ انجام شد و تعداد کروموزوم‌های این گیاه  $2n=2x=30$  گزارش شد (برداشت از منبع ۳). تکامل کروموزومی در چای نشان داده است که در حالت کلی، کروموزوم‌ها از لحاظ طول نسبی و موقعیت کیتوکور متقارن هستند (۴ و ۶).

### مواد و روش‌ها

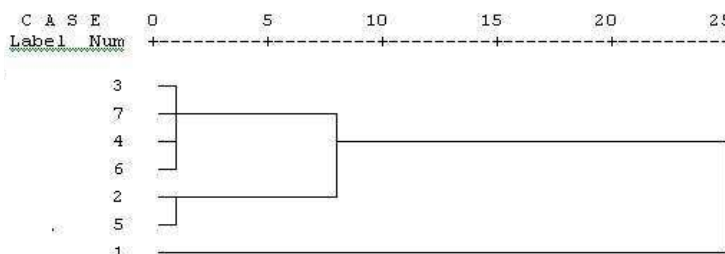
در این تحقیق از هفت کلون انتخابی چای (به شرح جدول) جهت انجام مطالعات سیتوژنتیکی استفاده شد. مریستم‌های انتهایی از جوان‌ترین ریشه‌ها جدا شدند و در محلول آلفا بروموناتالین به مدت هشت ساعت و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. مریستم‌ها، در محلول کارنوی به مدت ۲۴ ساعت در یخچال تثبیت و بعد از آن در الکل اتیلیک ۷۰ درصد در یخچال نگهداری شدند. در زمان تهیه نمونه، به منظور نرم کردن بافت نمونه‌ها، از اسید کلریدریک ۱ نرمال در دمای  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. برای رنگ آمیزی ریشه‌چه‌ها، از محلول رنگی استوآبیرون همتاکسلیلین در دمای  $35-30^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۶ ساعت استفاده شد.

(۱ و ۲). پس از تهیه نمونه، از بهترین سلول‌های متافازی عکس برداری شد و صفات مورفولوژیکی کروموزوم‌های هر کلون شامل طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه و شاخص ساتنرومتری توسط نرم افزار Micromasure اندازه‌گیری و هم‌چنین شمارش کروموزومی انجام شد. تجزیه واریانس بر اساس آزمایش‌های فاکتوریل با دو فاکتور ژنوتیپ و کروموزوم در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار به کمک نرم افزار SAS انجام و به منظور گروه بندی کلون‌ها از نرم افزار SPSS استفاده گردید.

### نتایج و بحث

با توجه به تجزیه واریانس، بین ژنوتیپ‌ها و کروموزوم‌ها از نظر سه صفت طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی داری وجود داشت که بیانگر تنوع ژنتیکی و فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها و تغییرات مقدار DNA موجود در هسته سلولی در بین کروموزوم‌ها است. نتایج دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها از نظر پنج صفت کروموزومی به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد که پارامترهای طول کل کروموزوم و بازوی کوتاه کروموزوم بیشترین نقش را در گروه بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه دارند. بر اساس دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای، کلون‌ها در سه دسته قرار گرفتند. بیشترین فاصله ژنتیکی بین کلون ۶۳پ۸۵ و کلون ۱۳ ملاحظه گردید. اصلاحگر از این مزیت می‌تواند در انتخاب ژنوتیپ‌ها جهت تولید ارقام هیبرید و صرفه جویی در زمان بهره‌مند شود.

شماره کلون	نام کلون
۱	کلون انتخابی ۱۳
۲	کلون انتخابی ۱۲۰
۳	کلون انتخابی ۸۵پ۶۳
۴	کلون انتخابی ۴۵۶
۵	کلون انتخابی ۲۲۲
۶	کلون امید بخش ۱۰۰
۷	کلون انتخابی ۲۸۰



دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوریتم UPGMA و جدول مشخصات کلون‌های مختلف

### فهرست منابع

- 1-Agayev, Y. M. 1998. Advanced squash methods for investigation of plant breeding science. Isfahan, Iran, 1-20.
- 2-Agayev, Y. M. 2002. New features in karyotype structure and origin of saffron. *Crocus sativus* L. Cytologia, 67: 245-25239
- 3-Chaudhuri, T. C. 2001. Chromosomal complex in tea, aneuploids and polyploids. In: Tea culture processing and markeing, Chapter 3: 16-20.
- 4-Shiyan, C. and Y. Dapeng. 1989. Cytology studies on the polyploidy tea. Study of Tea, 9: 119-126.

- 5-Stebbins , G.L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold Publisher, London, 216 pp.
- 6-Wachira, F. N. 1997. Advances in Tea genetics. Tea, 18: 101-115.

### **Study of cytogenetical variation on tea (*Camellia sinensis*) selected clones in Iran**

Z.Aashouri<sup>1</sup>, A.Mohammadi<sup>2</sup>, M.R.Naghavi<sup>3</sup> and K.Falakro<sup>1</sup>

1-Seed and Plant Division, Tea Research Institute of Iran, Lahijan, 2-Islamic Azad University, Karaj Branch and 3-Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agronomy & Animal Sciences, University of Tehran

#### **Summary**

In order to study of cytogenetically variation on tea selected clones in Iran, ordinary squash technique was used. The root tip of tea was cut and pretreatment with  $\alpha$ -Bromo-Naphthalene and then fixed by Farmer solution. The roots were stained with Aceto-Iron-Hemataxilin solution after hydrolyzation by HCl (1 N). Some of the chromosomal parameters including the total length (TL), long and short arm lengths (LA and SA), arm ratio (AR), centromer index (CI) and Chromosome numbers was measured. All of the studied genotypes was diploid, with 30 Chromosomes ( $2n=30$ ). The resultant data were tested for normality and then analyzed according to two-factorial experiment based on the completely randomized design (CRD) with three replicates of cells. The first factor was considered to be genotypes with 7 levels and the second was considered to be chromosomes with 15 levels. Analysis of variance showed that there are significant differences between genotypes and Chromosomes in TL, LA and SA characters. Furthermore, the mean comparisons have been carried out on the genotypes using Duncan's method. Consequently, TL and SA chromosome parameters in 3 classes, LA in 4 classes, and CI and AR in 1 class have been categorized. Cluster analysis has been carried out for all chromosome parameters from which the genotypes have been classified in three classes.

**Keywords:** *Camellia sinensis*, Chromosome, Cytogenetic, Squash Technique, Cluster analysis