

تجزیه و تحلیل کروموزومی بلوط دارمازو (*Quercus infectoria* G. Oliver)

فهیمه قاسمی پیربلوطی^۱، آفاق تابنده ساروی^{۲*} و اصغر مصلح آرانی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد

۲- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، جنگل‌داری، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد

پست الکترونیک: tabandeh@yazd.ac.ir

۳- دانشیار، محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۲۵

چکیده

دارمازو (*Quercus infectoria* G. Oliver) یکی از گونه‌های با ارزش و اصلی جنگل‌های زاگرس است و از نظر زیست‌محیطی، اقتصادی، ژنتیکی و دارویی حائز اهمیت است. انجام مطالعات سیتوژنتیکی در گونه‌ها و جمعیت‌های گیاهی به دلیل فراهم کردن اطلاعات کمی روی تاریخچه تکاملی گیاه، تعیین قرابت‌های بین گونه‌ای و مشخصات کارپولوژیکی، اهمیت فوق‌العاده‌ای دارد. این مطالعه با هدف تعیین کاربوتیپ و ساختار کروموزومی گونه دارمازو و تنوع کاربوتیپی میان چهار جمعیت آن در غرب ایران (سردشت، مریوان، شینه‌قلایی و کاکاشرف) با استفاده از مریستم ریشه و سیستم تجزیه تصویری انجام شد. پس از اجرای مراحل پیش‌تیمار، تثبیت، هیدرولیز و رنگ‌آمیزی، نمونه‌های میکروسکوپی تهیه و خصوصیات کاربوتیپی تعیین شدند. نتایج نشان داد که تعداد کروموزوم‌های بیشتر سلول‌های مورد مطالعه $2n = 2x = 24$ بود اما $2n = 2x = 25$ و $2n = 2x = 26$ و تریپلوئیدی نیز در برخی از سلول‌ها مشاهده شد. تجزیه و تحلیل واریانس و مقایسه میانگین بر روی سه تا ده سلول 24 کروموزومی از سه تا هفت پایه مختلف در هر جمعیت انجام شد. تفاوت معنی‌دار بین جمعیت‌های مورد بررسی از نظر صفات طول کروموزوم، طول بازوی بلند و کوتاه مشاهده شد. شاخص‌های تقارن، تقارن نسبی کاربوتیپ را در جمعیت‌های مورد بررسی نشان دادند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که طول کروموزوم، طول بازوی بلند و کوتاه بیشترین نقش را در ایجاد واریانس داشتند. تجزیه خوشه‌ای نیز جمعیت‌های مورد مطالعه را در دو خوشه مجزا طبقه‌بندی کرد. به طوری که دو جمعیت کاکاشرف و شینه‌قلایی در یک خوشه و دو جمعیت سردشت و مریوان در خوشه دیگر قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: بلوط دارمازو، تنوع ژنتیکی، سیتوژنتیک، شاخص تقارن کاربوتیپ، کروموزوم.

مقدمه

لحاظ تعداد گونه، پراکنش، اهمیت اکولوژیکی، جایگاه زیست‌محیطی و اقتصادی یکی از مهمترین جنس‌های این خانواده است. این جنس با حدود ۶۰۰ گونه یکی از گسترده ترین جنس‌های خانواده مذکور است (Mabberley, 1993).

بلوط دارمازو (*Quercus infectoria* Oliv) از خانواده راشیان (Fagaceae) و از گونه‌های معرف منطقه رویشی زاگرس است (Sabeti, 2002). جنس بلوط (*Quercus*) از

در حال حاضر مباحث سیستماتیک و تکاملی جنس بلوط کمتر مورد توجه قرار گرفته، اما نظر قطعی در زمینه تعداد گونه‌های جنس بلوط در کشور وجود ندارد. به طوری که Rechinger (۱۹۹۷) در فلور ایرانیکا تعداد گونه‌های جنس بلوط در ایران را هفت گونه، سه زیرگونه و سه واریته اعلام کرد که برای گونه *Q. infectoria* یک واریته ادعا کرد. این تقسیم‌بندی عمدتاً بر مبنای شکل برگ و سایر صفات مورفولوژیک می‌باشد. تعداد گونه‌ها و واریته‌های جنس بلوط در ایران توسط Djavanchir-Khoie (۱۹۶۷)، ۲۸ گونه، هفت زیرگونه و هفت واریته گزارش شد که از این تعداد دو واریته مربوط به گونه *Q. infectoria* است و اساس شناسایی، صفات مورفولوژیک برگ، جوانه، میوه، پپاله میوه، فلس پپاله و در بعضی موارد مورفولوژی گل‌های ماده و گل‌های نر بوده است. در گزارشی دیگر، Sabeti (۲۰۰۲) تعداد گونه‌های جنس بلوط در ایران را ۱۶ گونه، پنج زیرگونه و دو واریته و برای گونه *Q. infectoria* سه زیرگونه اعلام کرد. پایه و اساس شناسایی را مورفولوژی برگ، شکل پپاله میوه، شکل فلس‌های پپاله و پاره‌ای صفات مورفولوژیک معرفی کرد. همچنین Mozafarian (۲۰۰۴) تعداد گونه‌های جنس بلوط در ایران را هشت گونه، سه زیرگونه و سه واریته اعلام کرد که از گونه *Q. infectoria* یک زیرگونه معرفی شد. وی اساس شناسایی را به طور عمده صفات مرتبط با مورفولوژی برگ، اندام جنسی و میوه قرار داد. از طرفی گستره بعضی از بررسی‌های عرصه‌ای کامل نبوده و سطح محدودی از کشور را پوشش می‌دهد. از این رو با توجه به نبود نظر قطعی در سیستماتیک کلاسیک، استفاده از سیستماتیک مولکولی در کنار سیستماتیک کلاسیک باعث شفاف‌سازی وضعیت گونه‌های بلوط ایران خواهد شد (Naderi Shahab, 2013).

گونه‌های جنس بلوط به طور کلی دیپلوئید ($2n=2x=24$) و دارای ۲۴ کروموزوم هستند (Zoldos et al., 1999; Aykut et al., 2011; Stairs, 1964; Kurokawa & Yonezawa, 2004). طول کروموزوم‌ها در گونه‌های جنس بلوط تا حدودی متفاوت و در *Quercus*

در نیمکره شمالی حدود ۵۰۰ گونه از جنس بلوط به صورت درختی و درختچه‌ای رویش دارند (Nixon, 1993) که از گونه‌های بسیار مهم اکوسیستم‌های جنگلی نیمکره شمالی هستند و در مناطق نزدیک به استوا تا اقلیم‌های معتدل، خشک و نسبتاً سرد رشد می‌کنند. در کشور ما دامنه پراکنش گونه‌های جنس بلوط (*Quercus*) از شمالی‌ترین قسمت آذربایجان شرقی در حاشیه جنوبی رود ارس تا جنوب رشته‌کوه‌های زاگرس و مناطق شمالی رشته‌کوه البرز، گسترش دارد. رویش گونه‌های جنس بلوط در ایران تحت تأثیر عرض جغرافیایی، سازندهای زمین‌شناسی، میزان بارندگی، شرایط دمایی و سایر عوامل محیطی است. با توجه به پراکنندگی گونه‌های جنس بلوط در سطح وسیعی از کشور و حضور آنها در اقلیم‌ها و شرایط آب و هوایی مختلف، گونه‌های این جنس از اهمیت خاصی برخوردار هستند (Naderi Shahab, 2013).

از میان گونه‌های بلوط بومی کشور، گونه دارمازو یکی از گونه‌های با ارزش و اصلی جنگل‌های زاگرس است که در استان‌های آذربایجان غربی، کردستان، کرمانشاه و لرستان رشد می‌کند. این گونه در استان لرستان از گونه‌های کمیاب و نادری محسوب می‌شود که از نظر زیست‌محیطی، اقتصادی، ژنتیکی و دارویی حائز اهمیت است. متأسفانه جنگل‌های زاگرس به دلیل وجود چرای مفرط دام، تخریب عرصه، خشکی اقلیم، از بین رفتن خاک و بهره‌برداری بیش از حد با تهدید جدی و مشکلات عمده‌ای مواجه‌اند (Heydari et al., 2011).

دارمازو گونه‌ای نورپسند است و در جبهه‌های مختلف جغرافیایی رشد می‌کند. اسیدپته خاک‌های رویشگاه دارمازو بین ۷/۴ و ۸ نوسان داشته و درصد ماده آلی آنها نسبتاً خوب است. خاک این رویشگاه‌ها کلاً کم عمق تا عمیق و دارای بافت لومی تا رسی هستند. ارتفاع متوسط این گونه کمتر از ۱۰ متر است ولی به حداکثر ۱۸ متر هم می‌رسد، تاج آن پهن و گرد و کشیده، پوست تنه در جوانی صاف و در سنین بالا ترک‌خورده و شیاردار و به رنگ خاکستری است (Jazirehi & Ebrahimi Rostaghi, 2003).

سیتوزنتیکی در گونه‌های گیاهی و همچنین جمعیت‌های متعلق به آنها، به‌ویژه گیاهان وحشی و بومی، به دلیل فراهم کردن اطلاعات کمی روی تاریخچه تکاملی گیاه، تعیین قرابت‌های بین گونه‌ای، تعیین مشخصات کاریولوژیکی و غیره، از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است (Hesamzadeh Hejazi & Ziaei Nasab, 2007).

در این تحقیق سعی شد علاوه بر بررسی سطح پلوئیدی و تعیین کاریوتیپ جمعیت‌های مختلف گونه بلوط دارمازو، با کمی کردن اطلاعات سیتوزنتیکی، تشخیص تنوع و تفکیک برخی از جمعیت‌های این گونه دقیق‌تر انجام شود.

مواد و روش‌ها

برای جمع‌آوری نمونه گیاهی مورد نیاز این تحقیق، چهار رویشگاه از کل دامنه پراکنش دارمازو در جنگل‌های زاگرس (سردشت، مریوان، شینه‌قلایی و کاکاشرف) انتخاب شد (جدول ۱ و شکل ۱).

infectoria بین $2/169-0/91$ گزارش شده است (Barreneche et al., 1998; Aykut et al., 2008).

در تحقیقات به‌نژادی انجام مطالعات سیتوزنتیک از اقدامات اولیه است. زیرا تعداد کروموزوم‌ها در انتخاب روش اصلاحی مهم است (Javadi et al., 2006). همچنین بررسی خصوصیات کروموزومی و مطالعات سیتوزنتیکی علاوه بر شناخت ساختار کاریوتیپی گونه گیاهی، روش مناسبی برای بررسی تنوع بین جمعیت‌های مختلف یک گونه است. از آنجا که ژنوم افراد حاوی اطلاعات ژنتیکی است و نتیجه بیان ژن‌ها بروز صفات ژنتیکی است، بنابراین تغییر در ساختمان و اندازه کروموزوم‌ها که حامل ژن‌ها هستند صفات فنوتیپی متفاوتی را بروز می‌دهد. مطالعات کاریوتیپی در داخل جمعیت‌های یک گونه از این نظر حائز اهمیت است که جمعیت‌های مختلف یک گونه هر یک سازش ژنومی خاص خود را با محیطی که در آن می‌رویند نشان می‌دهند (Sheidai et al., 1996). بنابراین انجام مطالعات

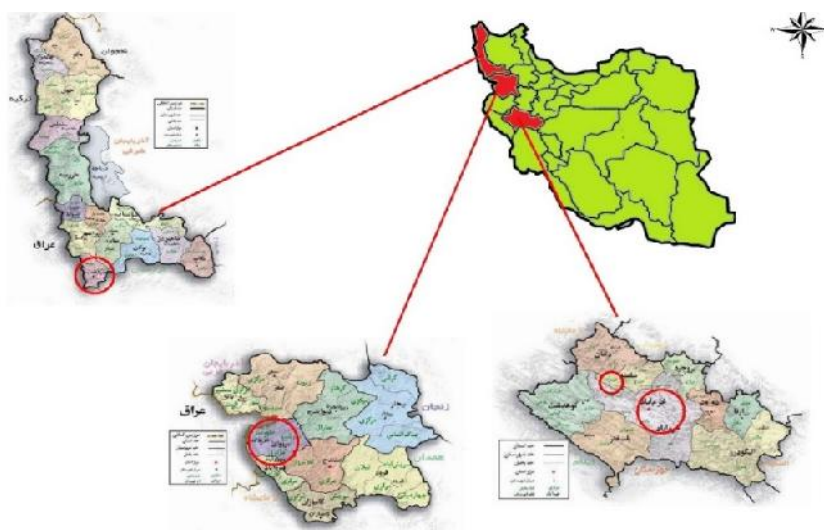
جدول ۱- مشخصات جغرافیایی مبدأهای جمع‌آوری بذر دارمازو

عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	استان	رویشگاه
۳۶°۱۵	۴۵°۱۶	۱۵۵۰	آذربایجان غربی	سردشت
۳۵°۳۲	۴۶°۱۸'	۲۰۱۰	کردستان	مریوان
۳۲°۴۷	۴۷°۵۴	۱۵۵۰	لرستان	شینه‌قلایی
۳۳°۲۱	۴۸°۳۱	۱۴۴۳	لرستان	کاکاشرف

Tabandeh Saravi و همکاران (۲۰۱۲) برای بلوط بلندمازو استفاده شد که به‌صورت آلفابروموفتالین نیم درصد به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌عنوان پیش‌تیمار، محلول فارمر به مدت ۳ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای تثبیت، اسیدکلریدریک به مدت ۶ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم برای هیدرولیز و هماتوکسیلین به مدت ۱ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم برای رنگ‌آمیزی بود.

پس از جمع‌آوری بذرها و انتقال آنها به آزمایشگاه، ابتدا بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب معمولی خیس شدند. سپس به مدت ۳ دقیقه در محلول ضدعفونی‌کننده هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار گرفتند و پس از شستشو در ژرمیناتور کشت داده شدند (Adebola & Morakinyo, 2005; Cardemil & Perry, 2007).

برای آماده‌سازی سلول‌ها و قابل رؤیت‌کردن کروموزوم‌های متافازی از دستورالعمل بهینه‌سازی شده توسط



شکل ۱- موقعیت رویشگاه‌های مورد مطالعه (سردشت، مریوان، شینه‌قلایی و کاکاشرف)

بلند به بازوی کوتاه و شاخص سانترومری (CI) با استفاده از نسبت بازوی کوتاه به مجموع طول بازوها توسط نرم‌افزار Micromasure اندازه‌گیری و ثبت شد.

از هر جمعیت سه تا ده سلول از سلول‌های ۲۴ کروموزومی به‌عنوان تکرارهای تحقیق بررسی شدند. تکرارهای جمعیت‌های سردشت، کاکاشرف و شینه‌قلایی از سه ژنوتیپ مجزا و تکرارهای مربوط به جمعیت مریوان مربوط به هفت پایه مجزا بود. لازم به‌ذکر است که پایه‌های بیشتری از هر جمعیت مورد شمارش کروموزومی قرار گرفت که به‌علت عدد کروموزومی متفاوت از ۲۴ و یا وضوح کم در تشخیص سانترومر، در تجزیه و تحلیل شرکت داده نشدند.

پس از اندازه‌گیری کروموزوم‌ها، ابتدا میانگین طول بازوهای بلند و کوتاه هر کروموزوم در جمعیت محاسبه و توسط نرم‌افزار Excel ایدیوگرام کلیه جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس طول بازوی کوتاه و بلند رسم شد. ترتیب قرار گرفتن کروموزوم‌ها در ایدیوگرام، از چپ به راست و از بزرگترین کروموزوم به کوچکترین کروموزوم در نظر گرفته شد.

به‌منظور بررسی و تشخیص تفاوت بین جمعیت‌ها از نظر صفات مورفولوژی کروموزوم‌ها، طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA)، طول کروموزوم (TL)، نسبت

پس از رنگ‌آمیزی، ریشه را با پنس بر روی لام گذاشته و یک میلی‌متر نوک آن را که قسمت مریستمی انتهایی ریشه است با تیغ جدا کرده و با نوک سنجاق تا جای ممکن خرد شد و در ادامه یک قطره اسید استیک ۴۵ درصد به آن اضافه شد. در ادامه لامل را به‌طوری که حباب هوا در زیر آن تشکیل نشود، به آرامی بر روی نمونه قرار داده و با فشار انگشت شست و وارد کردن ضربات ملایم عمل اسکواش یا له کردن ریشه انجام شد تا سلول‌های مریستمی کاملاً پخش شده و در یک سطح قرار گیرند. در پایان برای جلوگیری از نفوذ هوا به زیر لامل، اطراف آن با لاک بی‌رنگ ناخن پوشانده شد. به این ترتیب نمونه‌ها برای مشاهده در زیر میکروسکوپ آماده شدند (Tabandeh Saravi *et al.*, 2012).

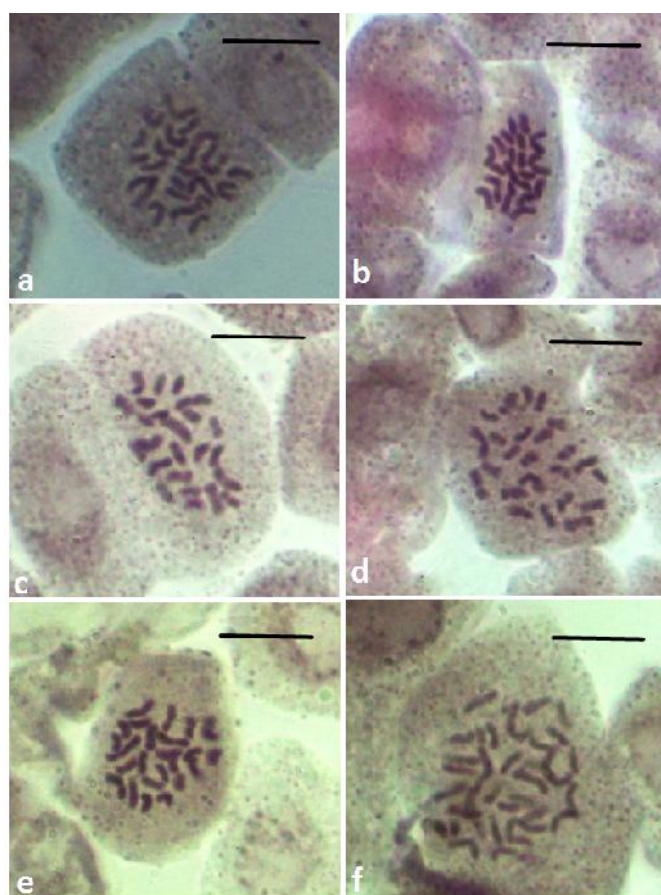
نمونه‌ها توسط میکروسکوپ با بزرگنمایی ۲۷۰۰ بررسی شده و پس از مشاهده سلول‌های متافازی مناسب (سلول-هایی که کروموزوم‌های آن خوب پخش و رنگ‌آمیزی شده و قابل اندازه‌گیری باشند) از آنها به‌صورت دیجیتال عکس‌برداری و با استفاده از نرم‌افزار Photoshop کروموزوم‌ها بر اساس طولشان مرتب شدند. تعداد کروموزوم‌ها، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، طول کل کروموزوم، طول نسبی کروموزوم (نسبت طول کروموزوم به طول کل کروموزوم ضرب در ۱۰۰)، نسبت طول بازوی

کاریوتیپ با روش Stebbins (۱۹۷۱)، شاخص A_1 و A_2 و درصد شکل کلی (TF%) تعیین شد.

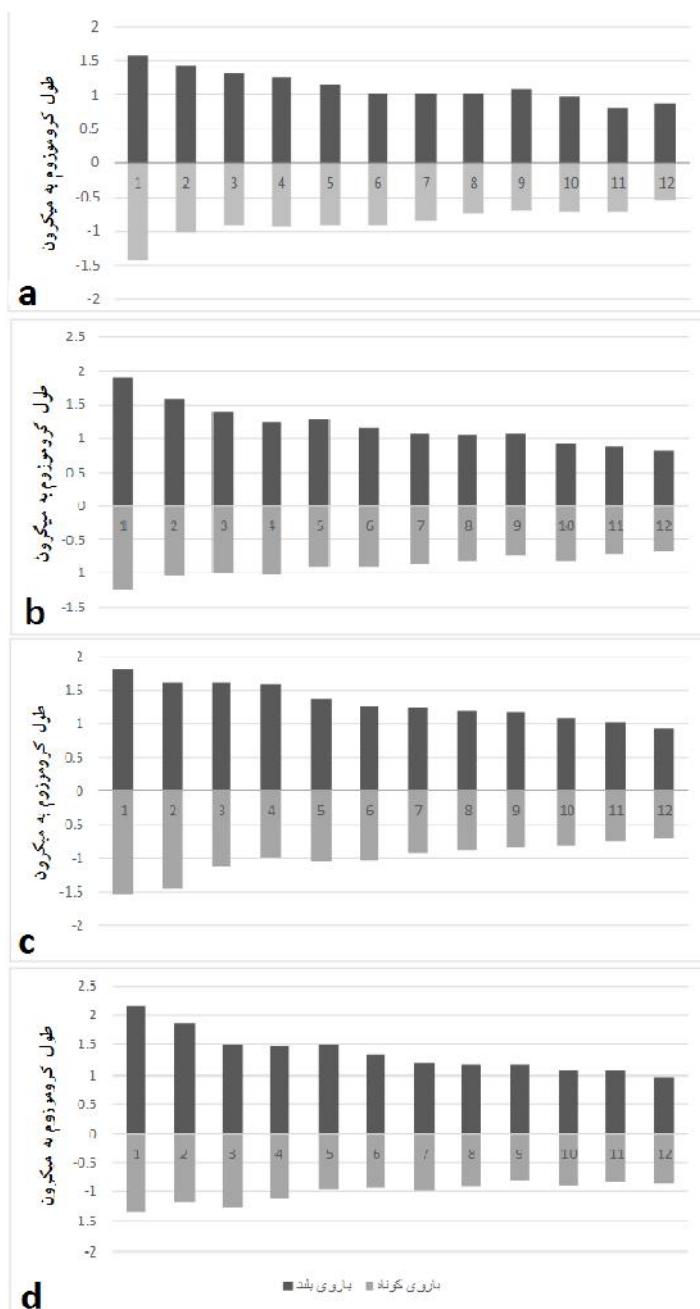
در نهایت برای بررسی تنوع از نظر کلیه پارامترهای مورفولوژیکی و تقارن کاریوتیپ از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. برای تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از نرم‌افزار SAS و برای انجام تجزیه خوشه‌ای از نرم‌افزار PC-ORD استفاده شد.

بازوی بلند به بازوی کوتاه (AR) و شاخص سانترومری (CI) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تا ده تکرار از سلول‌های ۲۴ کروموزومی مورد تجزیه و تحلیل واریانس قرار گرفته و در نهایت دسته‌بندی میانگین‌ها به روش دانکن با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

برای بررسی تقارن کاریوتیپی نیز طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S%)، دامنه طول نسبی کروموزوم (DRL)، فرمول کاریوتیپی Levan و همکاران (۱۹۶۴)، کلاسه‌بندی



شکل ۲- سلول‌های متافازی میتوز مورد مطالعه از چهار جمعیت گیاهی بلوط دارمازو: a- سلول ۲۶ کروموزومی از جمعیت گیاهی سردشت، b- سلول ۲۴ کروموزومی از جمعیت بلوط دارمازو میوان، c و d- سلول‌های ۲۴ و ۲۵ کروموزومی از جمعیت بلوط دارمازو شینه‌قلایی، e و f- سلول‌های ۳۶ و ۲۴ کروموزومی از جمعیت گیاهی بلوط دارمازو کاکاشرف (مقیاس‌های روی شکل برابر با ۵ میکرومتر است).



شکل ۳- ایدیوگرام حاصل از مطالعه سلول‌های متافازی میتوز از چهار جمعیت گیاهی بلوط دارمازو، a- جمعیت گیاهی بلوط دارمازو از سردشت، b- جمعیت گیاهی بلوط دارمازو از مریوان، c- جمعیت گیاهی بلوط دارمازو از شینه‌قلایی، d- جمعیت گیاهی بلوط دارمازو از کاکاشرف.

نتایج

شمارش کروموزوم‌ها و ترسیم ایدیوگرام:

نتایج شمارش کروموزومی نشان داد که عدد کروموزومی بیشتر سلول‌های مورد بررسی از این گونه ۲۴ بود ولی در جمعیت‌های شینه‌قلایی، مریوان و سردشت

سلول‌های ۲۵ کروموزومی نیز مشاهده شد. در جمعیت سردشت سلول ۲۶ کروموزومی نیز دیده شد. همچنین در جمعیت کاکاشرف تری‌پلوئیدی مشاهده شد (شکل ۲). سپس با استفاده از میانگین طول بازوی بلند و کوتاه در هر جمعیت ایدیوگرام کروموزومی مربوط به سلول‌های دیپلوئید

را به خود اختصاص دادند. همچنین جمعیت سردشت با میانگین $0/86$ میکرون کمترین طول بازوی کوتاه و جمعیت شینه‌قلایی و کاکاشرف هر دو با میانگین $1/01$ میکرون بیشترین طول بازوی کوتاه را داشتند (جدول ۲). البته اندازه کروموزوم‌ها و طول بازوها ممکن است تحت تأثیر فشردگی متفاوت کروموزوم‌ها در مرحله پیش‌تیمار قرار گیرد. طبق نتایج تجزیه داده‌ها، جمعیت‌های مورد بررسی از لحاظ شاخص سانترومری و نسبت بازوها تفاوت معنی‌داری نداشتند. ویژگی‌های مورفولوژی تک‌تک کروموزوم‌ها در هر جمعیت در جدول ۳ ارائه شده است.

شاخص‌های تقارن کاریوتیپ و فرمول کاریوتیپی جمعیت-های گیاهی بلوط دارمازو:

در ادامه شاخص‌های تقارن کاریوتیپ شامل طول دامنه نسبی کروموزوم (DRL)، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم ($S\%$)، درصد شکل کروموزوم ($TF\%$)، شاخص‌های A_1 و A_2 ، فرمول کاریوتیپی Levan و کلاس تقارن Stebbins، همچنین طول کل ژنوم در هر جمعیت محاسبه شد (جدول ۴).

با ۲۴ کروموزوم در هر جمعیت رسم شد (شکل ۳). تجزیه و تحلیل واریانس و مقایسات میانگین صفات مورفولوژی کاریوتیپ

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل واریانس داده‌های حاصل از سلول‌های ۲۴ کروموزومی جمعیت‌های مورد بررسی نشان داد که این جمعیت‌ها از نظر صفات طول کروموزوم، طول بازوی بلند و کوتاه در سطح یک درصد تفاوت معنی‌دار داشتند. اما از نظر نسبت بازوها و شاخص سانترومری تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (نتایج تجزیه واریانس ارائه نشده است).

گروه‌بندی میانگین جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر ویژگی‌های مورفولوژی کاریوتیپ توسط آزمون دانکن، نشان داد که جمعیت‌های سردشت و مریوان از نظر طول ژنوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و نسبت طول بازوها میانگین کمتری را نسبت به جمعیت‌های شینه‌قلایی و کاکاشرف به خود اختصاص دادند (جدول ۲). نتایج همچنین نشان داد که جمعیت سردشت با میانگین $1/98$ میکرون و جمعیت کاکاشرف با میانگین $2/39$ میکرون به ترتیب کمترین و بیشترین طول کروموزوم را داشتند. جمعیت سردشت با میانگین $1/11$ میکرون و جمعیت کاکاشرف با میانگین $1/38$ میکرون به ترتیب کمترین و بیشترین طول بازوی بلند

جدول ۲- گروه‌بندی جمعیت‌های گیاهی مورد مطالعه بلوط دارمازو از نظر ویژگی‌های مورفولوژی کروموزوم با روش دانکن

جمعیت‌ها	طول کل کروموزوم (میکرون)	طول بازوی بلند (میکرون)	طول بازوی کوتاه (میکرون)	نسبت بازوی بلند به کوتاه	شاخص سانترومری
سردشت	$1/98$ c	$1/11$ c	$0/86$ b	$1/31$ a	$0/44$ a
مریوان	$2/10$ b	$1/19$ b	$0/90$ b	$1/34$ a	$0/43$ a
شینه‌قلایی	$2/33$ a	$1/33$ a	$1/01$ a	$1/35$ a	$0/43$ a
کاکاشرف	$2/39$ a	$1/38$ a	$1/01$ a	$1/37$ a	$0/42$ a

حروف متفاوت در ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین جمعیت‌های مختلف می‌باشد.

جدول ۳- ویژگی های مورفولوژی کروموزومی جمعیت های گیاهی بلوط دارمازو برای هر کروموزوم

شماره کروموزوم												صفات	جمعیت
۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱		
۱/۴۲	۱/۵۱	۱/۷۰	۱/۷۹	۱/۷۶	۱/۸۵	۱/۹۴	۲/۰۸	۲/۱۸	۲/۲۴	۲/۴۵	۳/۰۱	TL	سردشت
۰/۸۸	۱/۸۰	۰/۹۸	۱/۰۹	۱/۰۱	۱/۰۱	۱/۰۲	۱/۱۵	۱/۲۵	۱/۳۲	۱/۴۴	۱/۵۹	LA	
۰/۵۳	۰/۷۰	۰/۷۱	۰/۶۹	۰/۷۵	۰/۸۴	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۳	۰/۹۲	۱/۰۱	۱/۴۱	SA	
۱/۶۶	۱/۱۵	۱/۳۷	۱/۵۷	۱/۳۴	۱/۲۱	۱/۱۱	۱/۲۵	۱/۳۴	۱/۴۳	۱/۴۳	۱/۱۲	AR	
۰/۳۷	۰/۴۶	۰/۴۲	۰/۳۸	۰/۴۲	۰/۴۵	۰/۴۷	۰/۴۴	۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۷	CI	
۱/۴۹	۱/۶۰	۱/۷۳	۱/۸۰	۱/۸۶	۱/۹۴	۲/۰۸	۲/۱۹	۲/۲۸	۲/۴۱	۲/۶۳	۳/۱۴	TL	مریوان
۰/۸۱	۰/۸۸	۰/۹۱	۱/۰۷	۱/۰۴	۱/۰۷	۱/۱۶	۱/۲۷	۱/۲۵	۱/۳۹	۱/۵۸	۱/۹۰	LA	
۰/۶۷	۰/۷۱	۰/۸۱	۰/۷۳	۰/۸۱	۰/۸۷	۰/۹۲	۰/۹۲	۱/۰۳	۱/۰۱	۱/۰۵	۱/۲۴	SA	
۱/۱۹	۱/۲۲	۱/۱۳	۱/۴۴	۱/۲۷	۱/۲۳	۱/۲۶	۱/۳۸	۱/۲۰	۱/۳۷	۱/۵۰	۱/۵۳	AR	
۰/۴۵	۰/۴۴	۰/۴۶	۰/۴۰	۰/۴۳	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۱	۰/۴۵	۰/۴۲	۰/۳۹	۰/۳۹	CI	
۱/۶۴	۱/۷۸	۱/۹۰	۲/۰۲	۲/۰۸	۲/۱۷	۲/۲۷	۲/۴۱	۲/۵۶	۲/۷۳	۳/۰۵	۳/۳۶	TL	شینه قلابی
۰/۹۴	۱/۰۳	۱/۰۸	۱/۱۸	۱/۱۹	۱/۲۳	۱/۲۵	۱/۳۷	۱/۵۸	۱/۶۱	۱/۶۱	۱/۸۲	LA	
۰/۷۰	۰/۷۵	۰/۸۱	۰/۸۴	۰/۸۸	۰/۹۳	۱/۰۲	۱/۰۳	۰/۹۸	۱/۱۲	۱/۴۴	۱/۵۳	SA	
۱/۳۳	۱/۳۸	۱/۳۲	۱/۴۰	۱/۳۵	۱/۳۲	۱/۲۲	۱/۳۲	۱/۶۰	۱/۴۳	۱/۱۱	۱/۱۹	AR	
۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۴۲	۰/۴۳	۰/۴۵	۰/۴۳	۰/۳۸	۰/۴۱	۰/۴۷	۰/۴۵	CI	
۱/۸۴	۱/۹۰	۱/۹۶	۲/۰۱	۲/۱۱	۲/۱۹	۲/۲۹	۲/۴۴	۲/۵۹	۲/۷۶	۳/۰۵	۳/۵۱	TL	کاکاشرف
۰/۹۹	۱/۰۷	۱/۰۷	۱/۲۰	۱/۲۰	۱/۲۱	۱/۳۵	۱/۴۸	۱/۴۶	۱/۴۹	۱/۸۵	۲/۱۶	LA	
۰/۸۵	۰/۸۳	۰/۸۹	۰/۸۱	۰/۹۱	۰/۹۷	۰/۹۳	۰/۹۶	۱/۱۳	۱/۲۶	۱/۱۹	۱/۳۴	SA	
۱/۱۶	۱/۲۸	۱/۲۰	۱/۴۸	۱/۳۲	۱/۲۴	۱/۴۴	۱/۵۲	۱/۲۹	۱/۱۸	۱/۵۴	۱/۶۰	AR	
۰/۴۶	۰/۴۳	۰/۴۵	۰/۴۰	۰/۴۳	۰/۴۴	۰/۴۰	۰/۳۹	۰/۴۳	۰/۴۵	۰/۳۹	۰/۳۸	CI	

جدول ۴- شاخص های سنجش تقارن کاریوتیپ جمعیت های گیاهی مورد مطالعه از بلوط دارمازو

دسته بندی Stebbins	فرمول Levan	DRL	A ₂	A ₁	TF%	طول ژنوم	SA	جمعیت
۱B و ۲B	۸m+۴sm	۶/۷۵	۰/۲۳	۰/۲۱	۴۳/۸۴	۲۳/۷۳	۶/۰۰	سردشت
	۱۲m							
۱A و ۲B	۱۰m+۲sm	۶/۵۷	۰/۲۳	۰/۲۲	۴۳/۰۵	۲۵/۱۹	۵/۹۲	مریوان
	۱۱m+۱sm							
۱A و ۱B	۱M+۱۰m+۱sm	۶/۱۲	۰/۲۲	۰/۲۳	۴۳/۱۴	۲۸/۰۱	۵/۸۹	شینه قلابی
	۱۰m+۲sm							
	۱۲m							
۱A و ۲B	۱۰m+۲sm	۵/۸۶	۰/۲۱	۰/۲۴	۴۲/۲۴	۲۸/۷۱	۶/۴۱	کاکاشرف
	۱۱m+۱sm							

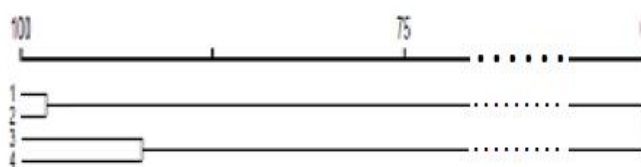
تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، مؤلفه اول به تنهایی ۷۵ درصد از واریانس کل را پوشش داد (جدول ۵). نتایج همین‌طور نشان داد که در تشکیل مؤلفه اول، صفات طول کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه اهمیت بیشتری داشتند.

جدول ۵- ریشه‌های مخفی و واریانس تجمعی در صفات مورد بررسی در چهار مؤلفه اول در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و ویژگی‌های کاربوتیپی چهار جمعیت گیاهی بلوط دارمازو

صفات	مؤلفه اول	مؤلفه دوم	مؤلفه سوم	مؤلفه چهارم
طول کروموزوم	۰/۳۴۴	-۰/۰۰۳	۰/۱۴۸	-۰/۱۴۹
طول بازوی بلند	۰/۳۴۴	۰/۰۴۳	۰/۱۳۵	۰/۹۲۷
طول بازوی کوتاه	۰/۳۴۲	-۰/۰۷۶	۰/۱۶۷	-۰/۱۴۷
نسبت طول بازوها	۰/۲۴۱	۰/۵۰۱	-۰/۰۷۲	-۰/۱۰۲
شاخص سانترومری	-۰/۲۴۱	-۰/۵۰۰	۰/۰۷۷	۰/۱۰۲
طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم	-۰/۲۵۳	-۰/۰۲۰	۰/۸۲۹	-۰/۰۲۵
طول زنوم	-۰/۳۱۳	۰/۲۶۰	-۰/۲۶۶	۰/۱۴۲
دامنه طول نسبی کروموزوم	۰/۳۲۹	-۰/۲۱۳	۰/۱۰۳	-۰/۱۲۷
شاخص A ₁	-۰/۳۲۳	۰/۲۵۲	-۰/۰۵۷	۰/۱۱۶
شاخص A ₂	۰/۲۹۱	۰/۳۶۹	۰/۱۵۸	-۰/۱۴۸
درصد شکل کلی	۰/۲۵۹	-۰/۴۱۹	-۰/۳۵۰	-۰/۰۲۵
واریانس تجمعی	۰/۷۵۲	۰/۹۳۸	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰

مطالعه در دو خوشه مجزا گروه‌بندی شدند (شکل ۴). جمعیت‌های مربوط به سردشت و مریوان در یک خوشه و جمعیت‌های شینه‌قلایی و کاکاشرف در خوشه دیگر قرار گرفتند.

تجزیه خوشه‌ای نتایج تجزیه خوشه‌ای که با استفاده از صفات مورد مطالعه به روش Wards انجام شد، نشان داد که با توجه به تغییرات واریانس تشکیل خوشه‌ها، جمعیت‌های مورد



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای چهار جمعیت گیاهی بلوط دارمازو بر اساس کلیه صفات (اعداد ۱ تا ۴ به ترتیب جمعیت‌های سردشت، مریوان، شینه‌قلایی و کاکاشرف هستند)

بحث

عدد کروموزومی گونه بلوط دارمازو در پایه‌های مختلف جمعیت‌های مورد مطالعه متفاوت بود. این نتایج با نتایج Tabandeh Saravi و همکاران (۲۰۱۲) بر روی شش جمعیت از بلوط بلندمازو که دارای عدد کروموزومی $2n=24$ بودند و همچنین مطالعات انجام شده روی گونه‌های دیگر بلوط که همگی عدد کروموزومی این جنس را ۲۴ گزارش کردند (Demerico et al., 1995 and 2000; Aykut et al., Chokchaichamnankit et al., 2007; 2008)؛ مغایرت داشت که می‌تواند بیانگر روند تکاملی متفاوت این گونه در جنگل‌های زاگرس نسبت به سایر گونه‌های بلوط و نیز همین گونه در اروپا باشد.

در این مطالعه پایه‌های مختلف جمعیت‌های بلوط دارمازو فرمول‌های کاربوتیبی متفاوت داشتند که حکایت از بالا بودن تنوع در داخل جمعیت‌هاست. در حالیکه جمعیت‌های مختلف بلوط بلندمازو در شمال کشور که توسط Tabandeh Saravi و همکاران (۲۰۱۲) مطالعه شد، دارای فرمول کاربوتیبی یکسانی بودند. همچنین مطالعه کاربوتیبی هشت گونه بلوط اروپا نشان داد که تشابه مورفولوژیکی زیادی بین کاربوتیبی این هشت گونه وجود دارد (Demerico et al., 1995). کروموزوم‌های گونه‌های بررسی شده همگی کوچک و میانگین طول‌های کروموزومی دامنه‌ای از $3/75-0/97$ میکرون داشتند. تحلیل‌ها نشان داد که کاربوتیبی گونه‌های بررسی شده مشابه بودند و فقط گونه‌های منفرد مقداری تفاوت در شاخص‌های تقارن بین درون کروموزومی نشان دادند که نتیجه آرایش دوباره در تکامل است. بیشتر گونه‌های بلوط بررسی شده کاربوتیبی‌هایی با برتری کروموزوم‌های متاسانتریک داشتند، به طوری که کلیه کروموزوم‌ها در گونه‌های مختلف متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک بودند و در این بررسی‌ها کروموزوم تلوسانتریک یافت نشد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

طبق یافته‌های این مطالعه پلی‌پلوئیدی در این گونه نادر بود که با نتایج تحقیقات گذشته بر روی جنس بلوط مطابقت

دارد (Demerico et al., 1995; Demerico et al., 2000; Chokchaichamnankit et al., 2007; Aykut et al., 2008; Butorina et al., 1993; Naujoks et al., 1995; Dzialuk et al., 2007).

بررسی کاربوتیبی ۱۸ گونه از سه جنس خانواده Fagaceae از جمله جنس بلوط در شمال تایلند (Chokchaichamnankit et al., 2007) نیز نشان داد که کروموزوم‌های متفاوتی نسبتاً کوچک بودند و همگی متاسانتریک و ساب‌متاسانتریک بودند. نسبت بازوهای اندازه‌گیری شده وجود تفاوت بین گونه‌های مورد بررسی را آشکار کرد. ایشان در پایان اعلام کردند که کاربوتیبی گونه‌های بلوط آزمایش شده به طور کلی از گونه‌های اروپایی متفاوت بودند. به طوری که گونه‌های اروپایی به طور آشکاری تعداد بیشتری کروموزوم ساب‌متاسانتریک داشتند. در نهایت اعلام کردند که این تفاوت بین کاربوتیبی بلوط‌های تروپیکال و معتدله منشأ تکاملی دارد. همین‌طور کاربوتیبی چهار گونه بلوط در ترکیه (*Q. infectoria*, *Q. petraea*, *Q. coccifera*, *Q. libani*) نیز نشان داد که کاربوتیبی همه گونه‌ها فقط شامل جفت کروموزوم‌های متاسانتریک بود. البته طول کروموزوم‌ها در تحقیق مذکور بین $0/81$ تا $2/18$ متغیر بود (Aykut et al., 2008). بر اساس این تحقیقات، بلوط‌های مناطق تروپیکال نسبت به بلوط‌های اروپا متقارن‌تر بوده و بلوط‌های ترکیه متقارن‌تر از هر دو موارد قبلی گزارش شدند که این محققان علت را به روند تکامل مربوط دانستند.

بر اساس نتایج این تحقیق بیشتر سلول‌های بررسی شده در جمعیت‌های مورد مطالعه گونه دارمازو ۲۴ کروموزومی بودند اما اعداد کروموزومی متفاوتی نیز در این جمعیت‌ها مشاهده شد. با توجه به اینکه عدد کروموزومی از تفاوت‌های گونه‌ای محسوب می‌شود و تمام افراد یک گونه دارای عدد کروموزومی ثابت هستند، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که جمعیت‌های مورد مطالعه در این تحقیق شامل گونه‌ها و زیر گونه‌های مختلف بلوط دارمازو هستند که تقسیم‌بندی گیاه‌شناسانی را اثبات می‌کند که تفاوت‌های مورفولوژیکی مشاهده شده که منجر به رده‌بندی‌های مختلفی از بلوط

- Demerico, S., Bianco, P. and Schirone, B., 1995. Karyotype analysis in *Quercus* Spp. *Silvica Genetica*, 44: 66-70.
- Demerico, S., Paciolia, C. and Tommasi, F., 2000. Contribution to the Karyomorphology of some species of the genus *Quercus*. *Silvae Genetica*, 49 (6): 243-245.
- Djavanchir-Khoie, K., 1976. Les chenes de 1 Iran. These. Universite de Montpellier, France.
- Dzialuk, A., Chybichi, I., Welc, M., Sliwinska, E. and Burczyk, J., 2007. Presence of triploids among Oak species. *Annals of Botany*, 99: 956-964.
- Hesamzadeh Hejazi, S.M. and Ziaei Nasab, M., 2007. Cytogenetic study on several species of *Hedysarum* in natural gene bank of Iran. *Iranian Journal of Rangelands and Forest Plant Breeding and Genetic Research*, 15(2):85-94.
- Heydari, A., Mattaji, A., Kia-daliri, H. and Shabanian, N., 2011. Effect of planting depth and time on seeds germination of Manna oak (*Quercus brantii* Lindl.). *Iranian Journal of Forest and Popolar Research*, 19(1):128-140.
- Javadi, H., Razban Haghghi, A. and Hesamzadeh Hejazi, S.M., 2006, Study of karyotype in three *Astragalus* species. *Pajouhesh & Sazandegi*, 73:131-135.
- Jazirehi, M.H. and Ebrahimi Rostaghi, M., 2003. *Silviculture in Zagros*. Tehran University Press, 560 pp.
- Kurokawa, Y. and Yonezawa, Y., 2004. Karyotype analysis of fifteen species of *Quercus* L. (Fagaceae) in Japan. *Chromosome Science*, 8(4): 209.
- Levan, A., Fredga K. and Sandberg, A.A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Mabberley, D.J., 1993. *The plant-book. A Portable Dictionary of Higher Plants*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Mozafarian, V., 2004. *Trees and Shrubs of Iran*. Farhang e Moaser press, 1003 pp.
- Naderi Shahab, M.A., 2013. *Oaks of Iran*, Azad-Peyma Press, Tehran, Iran. 272 pp.
- Naujoks, G., Hertel, H. and Ewald, D., 1995. Characterization and propagation of an adult triploid pedunculata Oak (*Quercus robur* L.). *Silvae Genetica*, 44: 282-286.
- Nixon, K.C., 1993. Intrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names. *Ann. Sci. For. Suppl. 1(Paris)* 50: 25s-34s.
- Rechinger K.H., 1977. *Flora Iranica*. Akademich Druck-und Verlagsanstalt, Graz, Austria.
- Sabeti, H., 2002. *Forests, trees and shrubs of Iran*, Yazd University Press, Yazd, Iran. 806 pp.
- دارمازو و معرفی چندین زیرگونه و واریته توسط گیاهشناسان مختلف شده است، اساس ژنتیکی دارد. تفاوت در عدد کروموزومی گونه بلوط دارمازو طبق نتایج این تحقیق نشان می دهد که این گونه طی تکامل دچار گونه زایی شده و این روند تکاملی احتمالاً در اثر دورگ سازی یا سازگاری با تنش ها و شرایط متفاوت اقلیمی ایجاد شده است. در نهایت پیشنهاد می شود در مطالعات آینده ارتباط بین خصوصیات مورفولوژیکی اندام های مختلف به ویژه میوه و برگ با خصوصیات کاربولوژیکی به خصوص عدد کروموزومی در تعداد نمونه های بیشتر از هر جمعیت بررسی شود تا رده بندی بلوط دارمازو به صورت دقیق تر انجام شود.

منابع مورد استفاده

- Adebola, P.O. and Morakinyo, J.A., 2005. Chromosome numbers of four Nigerian species of Cola Schott and Endlicher (Sterculiaceae). *Silvae Genetica*, 54: 42-44.
- Aykut, Y., Uslu, E. and TekinBabac, M., 2008. Karyological studies of four *Quercuse* L. species in Turkey, *Caryologia*, 61: 397-401.
- Aykut, Y., Uslu, E. and Tekin Babac, M., 2011. Cytogenetic studies on *Quercus* L. (Fagaceae). species belonging to *Ilex* and *Cerris* section in Turkey. *Caryologia*, 64 (3): 297-301.
- Barreneche, T., Bodenes, C., Lexer, C., Trontin, J.F., Fluch, S., Streiff, R., Plomion, C., Roussel, G., Steinkellner, H., Burg, K., Favre, J.M., Glossl, J. and Kremer, A., 1998. A Genetic linkage map of *Quercus robur* L. (pedunculata oak) based on RAPD, SCAR, microsatellite, minisatellite, isozyme and 5S rDNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 97: 1090-1103.
- Butorina, A.K., 1993. Cytogenetic study of diploid and spontaneous triploid oaks, *Quercus robur* L. *Annales Dea Sciences Forestieres*, 50: 144-150.
- Cardemil, J.E. and Perry, C.B., 2007. Comparative analysis of Karyotypes from the strezelecki ranges race of the complex *Eucalyptus globulus* Labill. ssp. *globulus* and a population in Central-Southern Chile. *Silvae Genetica*, 56: 158-162.
- Chokchaichamnankit, P., Chulalakul, W., Phengkklai, C. and Anamthawat-Jonsson, K., 2007. Karyotypes of some species of Castnopsis, *Lithocarpus* and *Quercus*. (Fagaceae) from Khun Mae Kuong forest in Chiang Mai province, northern Thailand, *Thal. For Bul. (Bot.)*, 35: 38-44.

- Karyotypic analysis on *Quercus castaneifolia* of north of Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 20(2):226-239.
- Zoldos, V., Papes, D., Cerbah, M., Panaud, O., Besendorfer, V. and Siljak-Yakovlev S., 1999. Molecular – cytogenetic studies of ribosomal genes and heterochromatin reveal conserved genome organization among 11 *Quercus* species. Theoretical and Applied Genetics, 99: 969-977.
- Sheidai, M., Masoumii, A.R. and Pakravan, M., 1996. Karyological studies of some *Astragalus* taxa. The Nucleus, 39: 111-113.
- Stairs, G.R. 1964. Microsporogenesis and embryogenesis in *Quercus*. Botanical Gazette, 125(2): 115-121.
- Stebbins, G.L., 1971. Chromosome Evolution in Higher Plants. Edward Arnold Publisher. L.T.D.London, pp 216.
- Tabandeh Saravi, A., Tabari, M., Espahbodi, K., Mirzaie Nodoushan, H. and Asadi-corom, F., 2012.

Karyotypic analysis of *Quercus infectoria* G.Oliver

F. Ghasemi Pirbaluti¹ A. Tabandeh Saravi^{2*} and A. Mosleh Arani³

1- M.Sc., College of Natural Resources, Yazd University, Yazd, I.R. Iran

2*- Corresponding author, Assist. Prof., College of Natural Resources, Yazd University, Yazd, I.R. Iran,
Email: tabandeh@yazd.ac.ir

3- Assoc. Prof., College of Natural Resources, Yazd University, Yazd, I.R. Iran

Received: 26.01.2017 Accepted: 15.05.2017

Abstract

Quercus infectoria G. Oliver is one of the valuable and main species of Zagros forests of Iran. The species is important in environmental, economic, genetic and medicinal aspects. Cytogenetic studies on plant species and their populations provide quantitative information on evolution history and determine relationships between the species and karyological characteristics. Our study aimed to determine karyotypic and chromosomal constitution of *Quercus infectoria* and its karyological diversity among four populations of the species in western Iran (Sardasht, Marivan, Shine-Ghalaei and Kakasharaf) using root meristem and visual analyses. After pretreatment, stabilization, hydrolysis and staining, microscopic stages were performed and karyotypic parameters were investigated. Results showed that chromosome number of most the observed cells were $2n = 2x = 24$ but $2n=2x=25$ and $2n=2x=26$ and triploidy were also observed in several cells. Analysis of variance and mean comparisons were performed on 3 to 10 cells of 3 to 7 genotype of each population. Results showed significant differences among the studied populations in properties such as chromosome length, long and short arm length. Symmetric karyotype indices are indicative of the relative asymmetry of chromosomes in the studied populations. Principal components analysis based on karyotypic parameters showed that chromosome length, long arm length and short arm length, played the most important role in the first component. The first component contained more than 75% of total karyotypic variation. Cluster analysis classified the populations into two classes. Shine-Ghalaei and Kakasharaf was assigned to one cluster and Marivan and Sardasht, allocated to the second one.

Keywords: Chromosome, Cytogenetic, Genetic diversity, *Quercus infectoria*, Symmetric karyotype indices.