مطالعات مقدماتی کاریوتیپ جمعیتهایی از گونه *Aloe litoralis*

حسین میرزایی ندوشن(۱)، شهین مهرپور(۲)، محمد باقر رضایی(۱) و سعید رشوند(۳)

چکیده

با توجه به اهمیت روزافزون گونه‌های مختلف صبر زرد و کاربردهای وسیع این گونه‌ها در صنایع مختلف داروئی، بهداشتی و غذایی، مطالعات کاریوتیپی این گونه‌ها در دستور کار مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع قرار گرفت. به همین منظور ابتدا پاجوش این گونه‌ها از مناطق مختلف واقع در استانهای جنوبی کشور که این گونه‌ها در آنجا سازش و گسترش یافته‌اند جمع‌آوری شده و در شرایط گلخانه‌ای کاشت و نگهداری گردیدند. با تهیه مریستم انتهایی ریشه از این پاجوشها مطالعات رایج کاریوتیپی بر روی این گونه‌ها در دست انجام می‌باشد. در این مقاله بخشی از مطالعات که در مورد تعدادی از جمعیتهای گونه *Aloe litoralis* صورت گرفته است ارائه می‌گردد.

با تهیه نمونه‌های میکروسکوپی و مشاهده سلولهای مناسب متافازی حد اقل چهار سلول مناسب متافازی مورد اندازه گیریهای کاریوتیپی قرار گرفتند. صفات اندازه‌گیری شده عبارت بودند از طول بازوهای بلند و کوتاه کروموزومها که بر مبنای آنها طول کل و نسبتهای طول بازوی بلند به بازوی کوتاه و به عکس نیز مورد محاسبه قرار گرفت. جهت مقایسه کاریوتیپ جمعیتهای مورد مطالعه، تعدادی از مؤلفه‌های تقارن کاریوتیپی مورد محاسبه قرار گرفته و ایدیوگرام کاریوتیپی آنها نیز رسم گردید.

---

۱ - مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، صندوق پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵.

۲ - دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، واحد تحصیلات تکمیلی

۳ - مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان بوشهر

کلیه جمعیتهای مورد مطالعه از نظر کاریوتیپی دو شکلی بودند و عدم تقارن شدیدی در این کاریوتیپها مشاهده گردید. تفاوتهای محسوسی از نظر ویژگیهای مورد مطالعه کاریوتیپی میان جمعیتهای مورد نظر مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: صبر زرد، کاریوتیپ، عدم تقارن، سیتوژنتیک و کاریوتیپ دو شکلی

مقدمه

صبر زرد .*Aloe* spp یکی از جنسهای بزرگی است که بومی آفریقا است و دارای قریب ۴۰۰ گونه می‌باشد (Viljoen و همکاران، ۱۹۹۸). از نظر اندازه و مورفولوژی از بوته هایی به بلندی ۳۰ میلیمتر تا درختانی به بلندی بیش از ۱۵ متر متغیر می‌باشد. بیشتر گونه‌های این جنس دیپلوئید (۲n=۱۴) می‌باشند. تعداد کمی از گونه‌های این جنس تتراپلوئید و یک گونه نیز هگزاپلوئید تشخیص داده شده است (Brandham، ۱۹۷۱). بر اساس اظهارات Adams و همکاران (۲۰۰۱) تمامی گونه‌های صبر زرد دارای کاریوتیپی دو شکلی[1] می‌باشند، که در اصل ساختار ژنومی آنها از یک کروموزوم بلند ساب‌متاسانتریک، سه کروموزوم بلند اکروسانتریک و سه کروموزوم کوتاه اکروسانتریک تشکیل شده است. البته در جنسهای نزدیک به این جنس نظیر *Haworthia* نیز کاریوتیپ دو شکلی گزارش شده است. این جنس نیز دارای قریب ۸۰ گونه است (Bayer، ۱۹۸۲) که ژنوم آن دارای چهار کروموزوم بزرگ و سه کروموزوم کوچک است (Riley و Majumdar، ۱۹۶۶). بر خلاف جنس *Aloe* این جنس دارای سطوح پلوئیدی متعددی، از دیپلوئید (۲n=۲x=۱۴) تا نوناپلوئید (۲n=۹x=۶۳) می‌باشد. البته به استثنا هپتاپلوئیدی (۲n=۷x=۴۹) که هنوز در این جنس گزارش نشده

---

[1] 1 - Bimodal

است. بیشترین سطح پلوئیدی در این جنس دیپلوئید است (Majumdar و Riley، ۱۹۷۳، و Vosa و Bayer، ۱۹۸۶). لازم به ذکر است که گزارش سطوح پلوئیدی از جهت تعیین وضعیت تاکسونومیکی گونه مورد نظر دارای اهمیت زیادی است. سطح پلوئیدی را می‌توان در تشخیص روابط تکاملی میان گروههای مختلف گیاهی و روشن کردن دسته‌بندیهای فیلوژنتیکی استفاده نمود (Barkworth و Dewey، ۱۹۸۵). کاریوتیپ دو شکلی خاص گیاهان نبوده و در سایر موجودات نیز گزارش شده است. Gustavo و همکارانش (۲۰۰۲) این پدیده را در نوعی عنکبوت نیز گزارش نموده‌اند.

بیشتر گیاه شناسان معتقدند که *Aloe litoralis* از اقلیم گرم و خشک آفریقا منشاء گرفته است. با این حال به دلیل سازگاری بسیار بالای این گونه با سایر مناطق جغرافیایی، امروزه این گونه در بسیاری از مناطق دیگر جهان نیز گسترش یافته است. این گونه در مناطق جنوبی کشور ما نیز سازگاری مناسبی از خود نشان داده‌اند. در منابع موجود کاربردهای زیادی از این گونه و سایر گونه‌های این جنس اشاره شده است. از جمله این کاربردها استفاده در درمان سوختگی است که کاربرد وسیعی را برای آن متصور می‌نماید. همچنین در ساخت مواد خوراکی نظیر نوشابه و نیز مواد بهداشتی و آرایشی استفاده‌های زیادی از این گونه صورت می‌گیرد. چشم اندازهای وسیعی در استفاده از مشتقات حاصل از این گونه‌ها در درمان سرطان و تعداد دیگری از بیماریهای لاعلاج ارائه شده است. به رغم اهمیتی که این گونه‌ها دارند در کشور ما مطالعات چندانی در زمینه‌های مختلف از جمله سیتوژنتیک آنها صورت نگرفته است. در این تحقیق مطالعات گسترده‌ای در زمینه بررسیهای سیتوژنتیکی *Aloe litoralis* صورت گرفت که مختصری از نتایج حاصل از آن در این مقاله ارائه می‌گردد.

در سطح بین المللی مطالعاتی در خصوص سیتوژنتیک گونه هایی از *Aloe* صورت گرفته است. از جمله مطالعه‌ای که توسط Matos و Molina (۱۹۹۷) در مورد گونه *Aloe vera* صورت گرفت. آنها با استفاده از روش استاندارد رنگ آمیزی اورسئین و اسکواش

معمولی سلولهای پروفاز و متافاز میتوزی را ردگیری کرده و مؤلفه‌هایی نظیر فراوانی فازهای میتوزی، شاخص میتوزی را نیز علاوه بر مؤلفه‌های رایج سیتولوژیکی مورد بررسی قرار دادند. آنها بیشترین فراوانی تقسیم سلولی را در ساعت هفت صبح مشاهده نموده و شاخص میتوزی را ۱۵/۲۴ درصد تخمین زدند. شاخص فاز حاصل از مطالعات نامبردگان به این شرح بود که ۴۸ در صد پروفاز، ۲۷/۵ درصد متافاز، ۸/۹۹ درصد در آنافاز و ۱۵/۵ در صد در تلوفاز بودند. لازم به توضیح است که در گونه مورد مطالعه نامبردگان ۱۴ کروموزوم ساب متاسانتریک، بین ۵/۵۵ تا ۱۷/۷۶ میکرون مشاهده گردید.

کاربرد مطالعات کروموزومی

در سالهای گذشته تنها صفات مورد توجه گیاه شناسان، صفات مورفولوژیکی بوده است. در حال حاضر باگسترش بیوسیستماتیک، تعداد زیادی صفات مورد بررسی قرار می‌گیرند که طبیعت آنها بسیار متنوع است. خصوصیات سلولی از قبیل تعداد و شکل کروموزومها و همچنین ویژگیهای پروتئینی و آنزیمی، از جمله این صفات هستند.

عده‌ای از دانشمندان معتقدند که کروموزومها تنها عوامل مناسبی هستند که می‌توان بر اساس آنها، نحوه روند تکاملی را دریافت. از این رو سیتوتاکسونومی می‌تواند علاوه بر طبقه‌بندی، ارتباط بین گیاهان را نیز نشان دهد. به کمک اطلاعات کروموزومی امکان مقایسه گونه‌ها و جمعیتهای آنها فراهم می‌گردد. جمعیتهای متعلق به یک گونه هر یک سازش ژنومی خاص خود را با محیطی که در آن می‌رویند، نشان می‌دهند. با افزایش اختلافهای سازشی، ممکن است واریته‌های جدید و حتی گونه‌های جدید در جوامع گیاهی به وجود آیند (مقدم و همکاران، ۱۳۷۳).

از طرفی، اختلافهای موجود میان گونه‌های مختلف، انعکاسی مستقیم از محتوای ژنتیکی آنهاست. اختلاف در اندازه کروموزومها، نشان دهنده اختلافهای موجود در

انواع محصولات ژنی یا پروتئینی آنهاست و اختلاف در تعداد کروموزومها، نشان دهنده اختلافهای موجود در آرایش ژن یا مضاعف شدن ژن و یا هر دو می‌باشد. همچنین بسیاری از اختلافهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی بیانگر تفاوت در محصولات عمل ژن است که با اثرات محیطی تغییر می‌کند (معصومی، ۱۳۶۴). با استفاده از مطالعات کروموزومی تفسیر فرایندهایی که موجب تغییرات ژنتیکی تکامل و روابط میان گونه‌ها می‌گردد و نیز جهتهایی که گرایشهای تکاملی گرفته‌اند، میسر می‌گردد. گسترش روزافزون این مطالعات ناشی از شناخت دقیق‌تر طبیعت کروموزومها و روشهایی است که جهت مشاهده بهتر و سریع‌تر بکار می‌رود.

Stace، (۱۹۸۴) و Skula و Misra، (۱۹۹۴) معتقدند، از آنجا که کروموزومها حامل ژنهایی هستند که اطلاعات ژنتیکی مربوط به فنوتیپ گیاه را شامل می‌شوند، مطالعات کاریولوژیکی بسیار با اهمیت هستند. اطلاعات کروموزومی با دو روش مشخص، قابل استفاده در رده‌بندی هستند که شامل اطلاعات کاریوتیپی و رفتار جفت شدن کروموزومهای میوزی می‌باشند.

اصطلاح کاریوتیپ را به صورت مجموعه‌ای از خصوصیات که مشخص کننده یک دسته کروموزوم اصلی است، تعریف می‌کنند، که در آن کروموزومهای پایه هاپلوئیدی یک ارگانیسم بر اساس اندازه‌شان از بزرگ به کوچک و از چپ به راست مرتب می‌گردند. وجود تفاوتها و شباهتهای کاریوتیپ گروههای مختلف را به روابط تکاملی آنها نسبت می‌دهند (Gupta، ۱۹۹۵).

آن دسته از خصوصیات مورفولوژیکی کروموزومها که در بررسی کاریوتیپی در مرحله متافاز میتوز مورد بررسی قرار می‌گیرند، عبارتند از:

۱ ـ تفاوت موجود در اندازه مطلق کروموزومها. ۲ ـ تفاوت در موقعیت سانترومر.

۳ ـ تفاوت در عدد پایه کروموزومی. ۴ ـ تفاوت در تعداد و موقعیت ماهواره‌ها(۱).
۵ ـ تفاوتهای مربوط به مقدار و توزیع مناطق هتروکروماتینی.

تقارن کاریوتیپی

جهت مقایسه کاریوتیپی گونه‌ها و جمعیتهای مختلف گیاهی، علاوه بر تعداد کروموزومها و خصوصیات مورفولوژیکی گونه‌های گیاهی، صفات دیگری مانند تقارن و عدم تقارن کاریوتیپی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد.

ـ کاریوتیپ متقارن: کاریوتیپی است که کروموزومهای آن هم اندازه و دارای سانترومرهای میانی یا به تقریب میانی باشند. چنانچه محل سانترومر از حالت میانی به تقریباً انتهایی یا انتهایی تغییر کند و یا اختلافهای اندازه نسبی کروموزومها افزایش یابد، کاریوتیپی با تقارن کمتر تولید می‌شود.

ـ کاریوتیپ نامتقارن: کاریوتیپی است که کروموزومهای آنها به صورت ساب‌متاسانتریک و یا بیشتر به صورت آکروسانتریک باشند.

ـ کاریوتیپ دو شکلی(۲) : به کاریوتیپ نامتقارنی که دو دسته کروموزوم به اندازه کاملاً متفاوت به دو صورت بزرگ و کوچک دارند گفته می‌شود (Stebbins، ۱۹۷۱).

روشها و مؤلفه‌های اندازه‌گیری تقارن کاریوتیپی

به منظور درک عدم تقارن کاریوتیپ، باید ارتباط میان افزایش عدم تقارن با سایر صفات سلولی مانند صفات مورفولوژیکی، اکولوژیکی و عدد کروموزومی و وجود یا عدم وجود ویژگیهای مشخص مورفولوژیکی را بررسی کرد. چنانچه درجات عدم تقارن

---

1 - Satellites

2 - Bimodal

به وجود آید، مقایسه میان این درجات و عدم تقارن کاریوتیپ با سهولت عملی می‌شود.

در روش Stebbins (۱۹۷۱)، سه درجه مختلف بر اساس نسبت بزرگترین کروموزوم به کوچکترین کروموزوم مجموعه و چهار درجه بر اساس نسبت کروموزومهایی که آکرو یا تلوسانتریک هستند، به منظور مقایسه کاریوتیپها، ارائه شده است (جدول شماره ۱). در این جدول، دوازده گروه موجود می‌باشد که در آن تقارن کاریوتیپی از چپ به راست و همچنین از بالا به پایین کاهش می‌یابد. بدین ترتیب کاریوتیپ گروه ۱A متقارن‌ترین و کاریوتیپ گروه ۴C نامتقارن‌ترین کاریوتیپ خواهد بود. در سلسله گیاهی، کاریوتیپهای متقارن به طور معمول ابتدائی‌تر هستند، تمایل اصلی در تغییر تکاملی کاریوتیپ، تغییر از حالت متقارن به سوی نامتقارن است. گرچه ممکن است عکس این حالت نیز صورت گیرد.

جدول شماره ۱: جدول دسته‌بندی دو طرفه استبینز

۲:۱<نسبت بازوهای کروموزوم				نسبت بلندترین به کوتاه‌ترین کروموزوم
۱/۰	۰/۵۱-۰/۹۹	۰/۰۱-۰/۰۵	۰/۰۰	
۴A	۳A	۲A	۱A	۲:۱>
۴B	۳B	۲B	۱B	۲:۱-۴:۱
۴C	۳C	۲C	۱C	۴:۱<

درصد کلی فرم در روشی که توسط Huziwara، (۱۹۶۲) ارائه گردیده است نیز جهت مقایسه و بررسی تقارن کاریوتیپها، از کمیتی تحت عنوان درصد فرم کلی

(TF%)(۱) به عنوان شاخص دسته‌بندی کاریوتیپ طبق فرمول زیر استفاده شده است.

۱۰۰×(مجموع طول کل کروموزومها/مجموع طول بازوهای کوتاه) = TF%

هر چه میزان TF% به عدد ۵۰ نزدیک‌تر باشد، نشان دهنده حضور بیشتر کروموزومهای متاسانتریک نسبت به سایر حالتهای کروموزومی می‌باشد. چنانچه TF% به عدد صفر نزدیک‌تر شود، نشان دهنده حضور بیشتر کروموزومهای آکرو و تلوسانتریک می‌باشد.

Huziwara، (۱۹۶۲) علاوه بر کمیت درصد فرم کلی (TF%) از F% نیز در تشخیص و تعیین وضعیت تقارنی کاریوتیپ استفاده نمود. هر چه اختلاف موجود میان کروموزومها از نظر F% وسیع‌تر باشد، تقارن کاریوتیپی در آنها کمتر خواهد بود (Tai و Ikonen، ۱۹۸۸).

۱۰۰ × (طول کل کروموزوم/طول بازوی کوتاه کروموزوم)= F%

طول نسبی کروموزوم (RL): این مؤلفه نیز از جمله مؤلفه‌های سنجش تقارن است و با استفاده از فرمول زیر تعیین میشود:

۱۰۰×(طول کل کروموزومها/طول کروموزوم)= طول نسبی کروموزوم

طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S٪): این کمیت نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

۱۰۰× (مجموع طول کل کروموزومها/طول کوتاه‌ترین کروموزوم)= طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم

طول نسبی و طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم نیز از کمیتهایی هستند که جهت تشخیص تقارن کاریوتیپی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Romero-Zarco، ۱۹۶۸ و Gennur و همکاران، ۱۹۸۸a).

---

1 - Total Form Percentage

اختلاف طول نسبی حداقل و حداکثر (DRL): پس از محاسبه طول نسبی کروموزومها که برای هر کدام جداگانه محاسبه گردید، جهت تخمین میزان DRL تفاضل کمترین مقدار طول نسبی و بیشترین مقدار طول نسبی محاسبه می‌گردد. هر چه اختلاف دامنه طول نسبی کروموزومها کمتر باشد، کاریوتیپ متقارن‌تر است (Gennur و همکاران، ۱۹۸۸a و b).

طول نسبی حد اقل − طول نسبی حد اکثر = DRL

نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند (Arm ratio): Mathew و Mathew (۱۹۸۲) با استفاده از نسبت طول بازوهای کوتاه، تغییرات و اختلافهای ریختی کروموزومها را بر اساس تغییر محل سانترومر بررسی نمود.

Arm ratio = (SA / LA) = (طول بازوی بلند / طول بازوی کوتاه)

نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه (r-Value)

بنابر نظر Stebbins (۱۹۷۱) هر چه این نسبت در کاریوتیپ بیشتر باشد، نشان دهنده وجود عدم تقارن بیشتر کروموزومهای کاریوتیپ می‌باشد. این نسبت از فرمول زیر تعیین شد:

(r-Value) = (طول بازوی کوتاه / طول بازوی بلند)

ضریب تغییرات (CV)

این کمیت علاوه بر نشان دادن وضعیت تغییرات اندازه‌های کروموزوم در هر کاریوتیپ، وضعیت تقارن کاریوتیپ را نیز نشان می‌دهد و از طریق فرمول زیر تعیین گردید:

$$CV = (S_X / \overline{X}) \times ۱۰۰$$

در این رابطه، S_x = انحراف معیار طول کروموزومها و $\bar{X}$ = متوسط طول کروموزومها در هر نمونه می‌باشند.

نامگذاری انواع کروموزومها با استفاده از روش Levan

Levan و همکاران، (۱۹۶۴) با استفاده از مؤلفه نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه (r-Value) انواع مختلف کروموزومها را مشخص و نامگذاری کردند (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: نامگذاری کروموزومها بر اساس روش لوان:

نسبت بازوی بلند به کوتاه	محل سانترومر	نوع کروموزوم
۱/۰۰	نقطه میانی	M (متاسانتریک)
۱/۰۱-۱/۶۹	منطقه میانی	m (متا سانتریک)
۱/۷-۳	منطقه نزدیک به میانی	Sm (ساب متاسانتریک)
۳/۰۱-۷	منطقه نزدیک به انتهایی	Sm (ساب تلوسانتریک)
۷/۰۱-۳۹/۰۰	نقطه انتهایی	T (تلوسانتریک)

مواد و روشها

تهیه مریستم انتهایی ریشه: جهت مطالعات کروموزومها در هر گونه گیاهی، سلولهای در حال تقسیم میتوزی که در مرحله متافاز می‌باشند باید تهیه گردد. از این رو به منظور تولید مریستمهای فعال و در حال رشد، تعدادی از پا جوشهای گونه مورد نظر از چند استان محل رویش و استقرار این گونه‌ها جمع آوری گردیده و در ستاد مرکزی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع و در شرایط گلخانه‌ای کاشته شدند. پس از اینکه بوته‌ها به اندازه کافی استقرار یافته و ریشه‌های جدید و فعال تولید نمودند در ساعتهای اولیه صبح مریستم انتهایی این ریشه‌ها قطع شده و به مدت ۲ تا ۲/۵ ساعت و در دمای اتاق در

محلول پیش تیمار قرار گرفتند. توضیح کافی در خصوص محلولهای پیش تیمار مورد استفاده در زیر ارائه می‌گردد. پس از خروج ریشه‌ها از محلول پیش تیمار و شستشوی کامل با آب مقطر، به مدت ۲۴ - ۱۷ ساعت ریشه‌ها در محلول تثبیت کننده ۱ به ۳ اسید استیک گلاسیال و الکل اتانول خالص قرار داده شدند. پس از این مرحله و بعد از شستشوی کامل، نمونه‌ها تا زمان مطالعه میکروسکوپی در محلول الکل ۷۰٪ نگهداری گردیدند. در زمان مطالعه میکروسکوپی، ابتدا نمونه‌ها از الکل خارج شده و به مدت حدود سه تا پنج دقیقه در اسید کلریدریک یک نرمال که به دمای ۶۰ درجه سانتیگراد رسیده بود قرار گرفتند. به منظور رنگ آمیزی نمونه‌ها از رنگ هماتوکسیلین استفاده گردید. پس از رنگ آمیزی مریستم انتهایی را روی لام و در یک قطره اسید استیک ۴۵٪ به عنوان فاز مایع مورد نیاز قرار داده و با گذاشتن لامل بر روی نمونه و با زدن ضربات ملایم بر روی آن نمونه کاملا له گردیده و سلولها در زیر لامل پراکنده گردیدند.

پیش تیمار (Pretreatment): از مسائل مهم در بررسیهای کاریوتیپی، دستیابی به تعداد کافی سلولهای پرو-متافازی یا متافازی می‌باشد. زیرا در این مراحل کروموزومها کوتاه‌ترین طول و بهترین شرایط را برای مطالعه دارند و از آنجا که مراحل مختلف تقسیم سلولی پیوسته و بی وقفه طی می‌گردند لازم است سلولهای متافازی را وادار نمود تا در مراحل مورد نظر ثابت بمانند. این عمل با استفاده از مواد شیمیایی تحت عنوان پیش تیمار صورت می‌گیرد. این مواد با مختل نمودن رشته‌های دوک، از حرکت کروموزومها به قطبین سلول جلوگیری می‌کنند. بدین صورت کروموزومها مراحل تقسیم را تا مرحله متافاز طی نموده و بعد در مرحله متافازی باقی می‌مانند.

محلولهایی نظیر کلشیسین، α-برمونفتالین، ۸- هیدروکسی کینولئین، پارادی کلروبنزن (PDB) و نیز یخ در حال ذوب (صفر درجه سانتیگراد) به عنوان مواد پیش تیمار استفاده می‌شوند. پیش تیمار با مواد شیمیایی را می‌توان در دمای اتاق یا دمای پایین‌تر نیز بکار رود. نگهداری ریشه‌ها در پیش تیمار در صفر درجه سانتیگراد نیز نتایج

مشابهی دارد. گاهی ترکیب دو و حتی سه ماده برای پیش تیمار بکار می‌رود. در بررسیهای انجام شده در مورد گیاهان مختلف معلوم شده است که محلول ۰/۸ - ۰/۰۵ درصد دی کلرواتان[1] نیز می‌تواند خاصیت پیش تیماری خوبی را هم در دمای اتاق و هم در دماهای پایین‌تر داشته باشد. این ماده از نظر تأثیر روی کروموزومها با مواد پیش تیماری فوق‌الذکر رقابت می‌کند.

در پژوهش حاضر از αبرمو نفتالین به مدت ۲ تا ۲/۵ ساعت به عنوان پیش تیمار در دمای ۴ درجه سانتیگراد استفاده شد. مدت زمان مناسب استفاده از این ماده برای گیاهان مختلف ۶-۲ ساعت می‌باشد. لازم به ذکر است که محلول αبرمونفتالین، به علت داشتن ترکیبهای بنزنی (نفتالین) و همچنین برم به شدت سمی بوده و باید از تنفس بخار آن و تماس آن با دست جلوگیری شود.

تهیه آلفا- برمونفتالین: ۱ میلی‌لیتر محلول αبرمونفتالین خالص را در ۱۰۰ ml اتانول خالص حل می‌کنیم. این محلول ذخیره در شیشه‌های تیره و در دمای اتاق نگهداری می‌شود. برای مرحله پیش تیمار، یک ml از محلول ذخیره در ۱۰۰ ml آب مقطر حل می‌شود. محلول حاصل جهت پیش تیمار ریشه‌ها بکار می‌رود. می‌توان ۱ ml از محلول ذخیره را در ۳۰۰ تا ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل کرد. در این صورت باید توجه داشت که زمان پیش تیمار در صورت استفاده از هر یک از محلولهای فوق به علت غلظتهای مختلفشان متفاوت می‌باشد.

تهیه پارادی کلروبنزن (PDB): برای تهیه این محلول کافی است کریستالهای PDB را در بالن ریخته و با اضافه کردن آب مقطر و بهم زدن متوالی آن، به محلول اشباع دست یافت.

تهیه کلشیسین: ۴ mg پودر کلشیسین در ۱۰۰ ml آب مقطر حل می‌شود.

---

[1] Dichloroethane

تهیه کمپلکس ۸- هیدروکسی کینولئین: جهت تهیه محلول ۰/۰۰۲ مولار، ۵۸ میلی گرم از این ماده با مولاریته ۱۴۵/۱۶ گرم در لیتر را در ml ۱۰۰ آب مقطر حل کرده، در حرارت ملایم قرار داده و بهم زده می‌شود. رنگ محلول بدست آمده زرد لیمویی خواهد بود.

پس از اینکه محلول α-برمونفتالین به عنوان بهترین پیش تیمار در این مطالعات تعیین گردید و پس از نگهداری مریستمهای انتهایی ریشه در محلول مذکور و به مدت تعیین شده، نمونه‌ها از محلول پیش تیمار خارج شده و چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. در ادامه، این نمونه‌ها به مدت حدود ۲۴ ساعت در محلول تثبیت کننده قرار داده شدند.

تثبیت(۱): برای بررسی و مطالعه ساختار سلول و بافتها دو روش اصلی وجود دارد که عبارتند از مشاهده سلولها به حالت زنده (با میکروسکوپ فاز کنتراست یا با میکروسکوپ نوری معمولی پس از رنگ آمیزی زیستی) و مطالعه سلولهای تثبیت شده. منظور از سلولهای تثبیت شده، سلولها یا بافتهایی هستند که تحت تأثیر بعضی عوامل خاص، در عین حال که شکل ظاهری و ترکیب شیمیایی خود را حفظ کرده‌اند، بی‌جان شده‌اند. روش دوم بر خلاف روش اول برای تهیه نمونه‌های دائمی از سلولها و بافتهایی که برای برش گیری مستقیم نرم باشند بکار می‌رود.

مراحلی که باید جهت آماده کردن بافت قبل از برش‌گیری انجام شوند عبارتند، از:

الف- تثبیت کردن: به طور کلی تثبیت کردن عبارت است از کشتن ناگهانی و همزمان سلولهای یک بافت به نحوی که حتی‌الامکان شکل و ترکیب آن نسبت به زمان حیات تغییر نکند. در واقع هدف اصلی از تثبیت کردن، عبارت است از منعقد ساختن و یا ته‌نشین کردن مواد پروتوپلاسمی (پروتئینها، لیپیدها، کربوهیدراتها و نمکهای کانی)

---

1 - Fixation

بدون حل کردن و متلاشی کردن و یا تغییر ساختار و اجزاء درونی سلول و شکل بیرونی آن است. این کار باعث سخت شدن و در نتیجه مقاوم گردیدن این اجزاء در برابر تغییرات ناشی از تأثیر عوامل مختلف هنگام آماده سازی برشهای میکروسکوپی می‌شود.

عوامل یا مواد تثبیت کننده، فیزیکی و یا شیمیایی هستند. عوامل فیزیکی مثل خشک کردن یا آبگیری بافتها در گرما و خلا، به دلیل آسیبهایی که به بافتها می‌رسانند کمتر برای تثبیت کردن بافتها و سلولها بکار می‌روند. بنابراین برای این منظور از مواد یا عوامل شیمیایی استفاده می‌شود. این مواد خود به دو دسته، تثبیت کننده‌های آلی و غیرآلی، مورد استفاده قرار می‌گیرند. از مهمترین تثبیت کننده‌های آلی می‌توان اتانول، استون، دی‌اکسان، فرمالین، اسید پیکریک، اسید استیک و تری‌کلرواستیک را نام برد. کلرومرکوریک، بیکرومات پتاسیم، اسید کرومیک و اسید اسمیک از مهمترین تثبیت کننده‌های غیر آلی به شمار می‌آیند. در عمل به طور معمول به جای استفاده از یک تثبیت کننده، ترکیبی از چند تای آنها را بکار می‌برند. دلیل این امر آن است که بعضی عوامل، نظیر اسید استیک، بافتها را بیش از حد نرم و متورم می‌سازند و بر عکس موادی مثل الکل آنها را بیش از اندازه چروکیده و جمع می‌کنند. از این رو ترکیب مواد مختلف را بکار می‌برند تا هر عامل، نقص عامل دیگر را جبران کند. مخلوط این دو محلول (اسید استیک و الکل) که فیکساتیو فارمر نامیده می‌شود، تثبیت کننده خوبی می‌باشد. انتخاب نوع تثبیت کننده به عوامل مختلفی بستگی دارد، مهمترین این عوامل عبارتند از:

۱ـ اندازه و درجه سختی و نفوذپذیری نمونه: نمونه‌های بزرگتر و سخت‌تر (مثل بافتهای گیاهی یا حشرات کیتین‌دار) باید در فیکساتیوهای نفوذ کننده سریع (مثل فرمالین ۱۰٪) تثبیت شوند.

۲ـ ساختار نمونه مورد مطالعه: برای دیدن هر نوع ساختار سلولی باید تثبیت کننده ویژه‌ای بکار برد تا جزء یا اندامک مورد نظر را در فرم ساختاری خود حفظ کند. برای

تثبیت کردن ساختار عمومی به طور معمول از فرمالین ۱۰٪ و برای مشاهده اندازه و شکل اندامکهای سلول نظیر هسته، کروموزوم، میتوکندری، و غیره از تثبیت کننده‌های ویژه‌ای که غالباً دارای چندین عامل تثبیت کننده نظیر اسید اسمیک، اسید پیکریک، کلرور مرکوریک، فرمالین و غیره است استفاده می‌شود. در این موارد از تثبیت کننده‌های حاوی اسید استیک احتراز می‌شود.

۳ـ حفظ چربیها و کربوهیدراتهای سلولی: حفظ چربیها و کربوهیدراتهای سلولی هنگام تثبیت کردن امری الزامی است. کربوهیدراتهای محلول در آب به بهترین وجه در فیکساتیوهای آلی نظیر استون، کلروفرم و الکل تثبیت می‌شوند، در حالی که چربیها در این مواد حل می‌شوند، از این رو برای تثبیت آنها به طور معمول از فیکساتیوهای انتخابی چربیها (فیکساتیوهای آبی) مثل فرمالین ۱۰٪ استفاده می‌شود.

۴ـ روش رنگ آمیزی: نوع فیکساتیو باید با روش رنگ آمیزی که در مراحل بعدی جهت مشاهده بافت تثبیت شده بکار می‌رود متناسب باشد. در بسیاری از موارد، فیکساتیوها به صورت یک دندانه، یعنی ماده پیوند دهنده میان رنگ و جزئی از بافت عمل می‌کنند. به عنوان مثال، مایع زنکر (Zenker)، که دارای نمکهای کرم و جیوه است، نقش دندانه دارد و قابلیت رنگ آمیزی بافتهای تثبیت شده را افزایش می‌دهد. بسیاری از فیکساتیوها نیز که برای بسیاری از تکنیکهای رنگ آمیزی مناسب هستند به عنوان فیکساتیوهای عمومی بکار می‌روند.

ب ـ شستشوی بافت: منظور از شستن بافت، خارج کردن موادی است که ممکن است باعث اختلال در انجام مراحل بعدی شوند. به عنوان مثال، اگر بافت تثبیت شده در فیکساتیو دارای اسید اسمیک را در مرحله بعدی (آبگیری) بدون شستشو وارد الکل کنیم، اسید اسمیک با الکل واکنش نشان می‌دهد و رسوبی سیاه رنگ بر روی تمام بافت ایجاد می‌کند. شستشوی بافت را می‌توان با آب جاری یا با تعویض مایع احاطه کننده نمونه در فواصل منظم زمانی انجام داد. به طور معمول زمان شستشو با آب جاری به

اندازه زمان تثبیت کردن بافت است (حدود ۲۴ ساعت). در صورتی که تمام مواد بکار رفته در فیکساتیو در الکل قابل حل باشند، می‌توان بافت تثبیت شده را به طور مستقیم و بدون شستشو جهت آبگیری به الکل منتقل کرد.

برای تثبیت، پس از خارج کردن ریشه‌ها از پیش تیمار، آنها را کاملاً با آب مقطر شسته و خشک کرده و به مدت ۲۴-۱۲ ساعت در داخل تثبیت کننده در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار می‌دهیم. تثبیت کننده‌های متداول عبارتند از محلول فارمر[1]، کارنوی[2] و لویتسکی[3]. در این بررسی از فیکساتیو فارمر به مدت ۲۰-۵ ساعت استفاده شد.

تهیه محلول فارمر: برای تهیه این محلول از نسبت یک حجم اسید استیک گلاسیال به سه حجم اتانول خالص استفاده می‌گردد.

نگهداری نمونه‌های تثبیت شده: اگر بخواهیم ریشه‌ها را برای مدت طولانی نگهداری کنیم تا در فرصت مناسب مورد مطالعه قرار گیرند، پس از خارج کردن ریشه‌ها از فیکساتیو آنها را با آب مقطر یا الکل ۷۰٪ به خوبی شستشو داده و در الکل ۷۰٪ در یخچال نگهداری می‌کنیم. بدیهی است در صورت عدم نیاز به نگهداری ریشه‌ها، فقط شستشو با آب مقطر یا الکل کافی است. لازم به ذکر است که نگهداری ریشه‌ها در الکل خالص موجب سختی و شکنندگی بافت ریشه می‌شود. جهت تهیه الکل ۷۰٪ مقدار ۷۰ میلی‌لیتر الکل خالص با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده می‌شود.

هیدرولیز: عمل هیدرولیز سه فرایند مهم را سبب می‌شود، نخست باعث حل شدن نمکهای پکتیکی در دیواره میانی سلولها می‌گردد، به طوری که بتوان سلولهای منفرد و پراکنده‌ای از توده سلولی بدست آورد. دوم سبب شفاف شدن سیتوپلاسم می‌گردد، و

---

1 - Farmer

2- Carnoy

3 - Livetsky

سوم موجب هیدرولیز اسیدهای نوکلئیک و آزاد شدن عامل آلدئیدی مربوط به قند شده و عمل رنگ آمیزی بر روی DNA را امکان‌پذیر می‌کند (نصیرزاده، ۱۳۷۶).

محلولهای هیدرولیز عبارت از اسید کلریدریک یک نرمال و سود یک نرمال می‌باشند. در این بررسی از اسید کلریدریک یک نرمال استفاده شد. بدین ترتیب که ریشه‌ها را پس از خارج کردن از الکل ۷۰٪ یا فیکساتیو و شستن و خشک کردن، در مقداری اسید که پیش‌تر دمای آن به ۶۰ درجه سانتیگراد رسیده بود قرار داده شدند. پس از ۵ دقیقه ریشه‌ها از اسید ۶۰ درجه خارج شده و با آب مقطر شستشو شدند. در صورت لزوم نگهداری ریشه‌های هیدرولیز شده، می‌توان آنها را در الکل ۷۰٪ نگهداری کرد. زمان هیدرولیز برای گیاهان مختلف متفاوت بوده و باید مورد آزمون قرار گیرد. نکته قابل توجه در مورد انتخاب ماده هیدرولیز کننده این است که اگر فیکساتیو اسیدی باشد (فارمر) در هیدرولیز از اسید کلریدریک و اگر قلیایی باشد از سود برای هیدرولیز استفاده می‌شود.

همچنین برای هیدرولیز ریشه‌ها می‌توان از روش هیدرولیز سرد (در دمای اتاق) با اسید کلریدریک یک نرمال استفاده کرد.

رنگ‌آمیزی: مطالعه شکل و ساختمان کروموزومها از طریق مشاهده میکروسکوپی و با استفاده از محلولها و روشهای خاص رنگ آمیزی امکان پذیر می‌گردد. مقصود از رنگ آمیزی تیره‌تر کردن بعضی از اعضای سلول یا رنگ گرفتن متناوب آنها نسبت به اعضای دیگر است. به طوری که بتوان هنگام مطالعه با میکروسکوپ بخشهای مختلف نمونه را از هم تمیز داد.

عمل رنگ آمیزی بافتهای تثبیت شده نیز، مانند تهیه این بافتها، از مراحلی چند تشکیل می‌شود که شامل استفاده از دندانه، تمایز دادن، آبگیری و شفاف کردن و بالاخره سوار کردن یا نصب برشهای رنگ آمیزی شده می‌باشد.

رنگها شامل کلیه موادی هستند که قادرند تفاوتهایی در رنگ یا تیرگی اجزاء مختلف

اندامها، بافتها و سلولها ایجاد کنند. ماهیت شیمیایی عوامل رنگ آمیزی ممکن است آلی یا غیر آلی باشد. رنگهای غیرآلی شامل رسوبهای فلزی اکسیدهای فلزی، سولفیتها و سایر نمکهای نامحلول هستند. رنگهای آلی به دو دسته ترکیبهای رنگی طبیعی و مصنوعی تقسیم می‌شوند. رنگهای طبیعی، چنان که از نامشان پیداست، منشأ طبیعی (جانوری یا گیاهی) دارند. مشهورترین رنگهای طبیعی شامل هماتوکسیلین، اورسئین و کارمین می‌باشند. هماتوکسیلین و برازیلین از یک نوع گیاه، کارمین از نوعی حشره و اورسئین از گلسنگها بدست می آید که هر سه تنها در حالت اکسیده خود و کارمین تنها در حضور نمکهای آهن، آلومینیوم و غیره قادر به رنگ آمیزی هستند.

زمان رنگ آمیزی و نوع رنگ بسته به جزء یا اندامک ویژه مورد نظر فرق می‌کند. امروزه، بر طبق عقیده اکثر پژوهشگران، عوامل فیزیکی مثل اسمز و جذب سطحی و غیره و همچنین عوامل شیمیایی، مثل ماهیت اسیدی یا بازی نمونه مورد رنگ آمیزی، و یا PH محیط در انجام واکنشهای رنگی و رنگ آمیزی مؤثرند. به عنوان مثال بعضی از اجزاء سلولی مثل هسته که به علت داشتن اسید نوکلئیک، PH اسیدی دارد با رنگهای بازی نظیر کریستال ویوله و آبی متیلن رنگ می‌شود، بر عکس، سیتوپلاسم سلول که بیشتر خاصیت بازی دارد، با رنگهای اسیدی مثل ائوزین و فوشین اسیدی رنگ گرفته و مشخص می‌شود.

بعضی از محلولهای رنگی تا به حالت مناسب (اکسید یا احیا شده) در نیایند نمی‌توانند با بافتها میل ترکیبی پیدا کنند، به عنوان مثال، هماتوکسیلین که رنگ معمول و مورد استفاده زیاد است باید ابتدا اکسید شده و به صورت هماتئین در آید. این اکسایش یا در اصطلاح رسیده شدن هماتوکسیلین یا به طور طبیعی با اکسیژن هوا در عرض چند هفته یا چند ماه انجام می‌گیرد و یا با افزودن مقادیر ناچیزی از اکسید کننده‌هایی مثل اسید مرکوریک یا پرمنگنات پتاسیم به طور مصنوعی و در زمانی کوتاه انجام می‌پذیرد. گاهی اوقات در محلول هماتوکسیلین به علت اکسیداسیون بیش از حد، رسوب ایجاد

می‌شود که باید آنرا توسط صافی جدا کرد.

در این بررسی از رنگهای مختلفی چون اورسئین، استوکارمن و هماتوکسیلین جهت رنگ‌آمیزی کروموزومها استفاده گردید که بهترین نتیجه از رنگ هماتوکسیلین عاید گردید.

تهیه اورسئین استیک ۲٪ (Aceto-Orcein): ۴۵ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و ۵۵ ml آب مقطر را با هم مخلوط کرده و به درجه جوش رسانده می‌شود، بعد ۲ gr پودر اورسئین به محلول جوشان اضافه می‌شود. حدود ۰/۲ گرم کلرید آهن به محلول افزوده، پس از سرد شدن، رنگ صاف می‌شود.

تهیه استوکارمن (کارمین): ۲ گرم پودر کارمن را در ۱۰۰ ml اسید استیک ۴۵٪ جوشان حل کرده و پس از سرد شدن، رنگ حاصل صاف می‌شود.

تهیه استو آیرون هماتوکسیلین: ۴ گرم پودر هماتوکسیلین را در ۱۰۰cc اسید استیک ۴۵ درصد حل کرده و بعد یک گرم آمونیوم سولفات آهن (III) اضافه می‌شود و پس از حل شدن آن روی همزن الکتریکی، درب ارلن را با پنبه بسته و یک هفته در معرض آفتاب قرار داده و هر روز بهم زده می‌شود. پس از این مدت، رنگ را ۲ تا ۳ بار صاف کرده و در یخچال نگهداری می‌کنند.

تهیه نمونه میکروسکوپی: در این بررسی قبل از تهیه نمونه میکروسکوپی ریشه‌ها به این ترتیب رنگ آمیزی شدند: ریشه‌های هیدرولیز و شسته شده را خشک کرده و داخل رنگ هماتوکسیلین و دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰-۳۰ دقیقه نگهداری می‌کنند. می‌توان برای جلوگیری از پر رنگ شدن زیاد ریشه‌ها پس از زمان ذکر شده، آنها را در داخل همان رنگ در یخچال قرار داد.

پس از رنگ آمیزی، نمونه میکروسکوپی به این ترتیب تهیه شد: ریشه را روی لام گذاشته و یک میلیمتر انتهایی آن که منطقه مریستمی ریشه است قطع شده و برای اینکه سلولهای ریشه پس از له کردن کاملاً پخش شده و در یکجا مجتمع نشوند، ابتدا مریستم

توسط وسیله‌ای با انتهای گرد له شدند. بعد یک قطره اسید استیک ۴۵٪ روی ریشه ریخته می‌شود تا رنگهای اضافی را از میان برده و سیتوپلاسم را نیز کمرنگ‌تر کند. بعد به آهستگی یک لامل روی نمونه قرار می‌گرفت. اسید اضافی زیر لامل را می‌توان به وسیله دستمال کاغذی کشید. بعد گوشه لامل را برای جلوگیری از حرکت آن در هنگام اسکواش نگه داشته و با وسیله‌ای مانند ته خودکار، ضرباتی به آرامی روی لامل وارد می‌شود تا نمونه کاملاً پخش شده و سلولها و کروموزومها در یک سطح قرار بگیرند. اگر زیر لامل حبابهای هوا وجود داشته باشد با ضربات انتهای خودکار باید خارج شوند.

در روش دیگر رنگ آمیزی و تهیه نمونه می‌توان به این ترتیب عمل کرد: انتهای مریستمی ریشه هیدرولیز شده را روی لامل قرار داده و با اضافه کردن یک قطره رنگ، بافت خرد شده و با قرار دادن لامل روی آن بقیه مراحل مانند روش قبل ادامه می‌یابد. در این روش برای رنگ آمیزی بهتر، می‌توان قبل از له کردن (اسکواش) چند بار لام را توسط حرارت چراغ الکلی گرم کرد.

بررسی میکروسکوپی: نمونه تهیه شده ابتدا توسط بزرگنمایی کم میکروسکوپ مورد بررسی قرار می‌گیرد، در صورت وجود سلولهای متافازی یا پرو-متافازی مناسب آنها را می‌توان توسط عدسی با بزرگنمایی ۱۰۰ بازبینی کرد. در صورت مناسب بودن نمونه، توسط میکروسکوپ نوری از آن عکسبرداری کرده و به وسیله میکرومتر چشمی، طول بازوهای کروموزومها اندازه‌گیری و یادداشت می‌شود. در صورت دو سطحی بودن سلولها می‌توان به وسیله ته خودکار مجدداً آنها را اسکواش کرد. اگر نمونه‌ها خیلی کم رنگ یا پر رنگ باشند، می‌توان مقداری رنگ (در صورت کمرنگ بودن) یا مقداری اسید استیک ۴۵٪ (در صورت پررنگ بودن) به آهستگی در کنار لامل ریخت تا به زیر لامل نفوذ کند. اگر نمونه‌ها زود هوا می‌گیرند، می‌توان قبل از بررسی، اطراف لامل را با ماده عایقی مانند پارافین یا لاک پوشاند. در صورت نیاز (برای اندازه‌گیری کروموزومها روی

کاغذ) می‌توان کروموزومها را توسط آینه ترسیم(۱) به دقت روی صفحه کاغذ رسم کرد. در تمام سلولهای مورد مطالعه تعداد کروموزومها شمارش شده و بازوهای بزرگ و کوچک با روشهای مختلف مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. بر مبنای این اندازه‌ها طول کل و نسبتهای طول بازوی بلند به بازوی کوتاه و به عکس نیز مورد محاسبه قرار گرفت.

محاسبات انجام شده: جهت مقایسه کاریوتیپی جمعیتهای مورد مطالعه، تعدادی از مؤلفه‌های تقارن کاریوتیپی که توضیحات لازم در مورد آنها ارائه گردید، مورد محاسبه قرار گرفت. در انتها ضمن تهیه عکس از نمونه‌های میکروسکوپی تهیه شده، ایدیوگرام کاریوتیپی آنها نیز رسم گردید. با استفاده از لوله ترسیمی، میکرومتر چشمی و اندازه‌گیری از روی عکسهای تهیه شده، ابعاد کروموزومی اندازه‌گیری شدند.

تعداد سلولهای مورد مطالعه به عنوان تکرار، تعداد کروموزومها و جمعیتها به عنوان عامل‌های مورد مقایسه قلمداد گردیده و با استفاده از طرح آماری فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی تفاوت جمعیتها از نظر میانگین ابعاد کروموزومها و نیز تفاوتهای کروموزومها از نظر میانگین ابعاد با یکدیگر مورد آزمون قرار گرفتند. پس از تایید آماری وجود تفاوت میان فاکتورهای مورد نظر، جمعیتهای مورد مطالعه از نظر میانگین ابعاد کروموزومی دسته‌بندی گردیدند. در ادامه تعدادی از مؤلفه‌های آماری جهت سنجش تقارن کاریوتیپی مورد محاسبه قرار گرفتند و فرمول کاریوتیپی هر یک از جمعیتهای مورد مطالعه با استفاده از روش لوان (Leavan و Sandberg، ۱۹۶۴) مشخص گردید.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های کاریوتیپی در جدول شماره ۳ ارائه گردیده است. چنانکه ملاحظه می‌شود تفاوت میان سطوح عوامل معنی‌دار شده و به این وسیله

---

1 - Camera lucida

انجام محاسبات تکمیلی توجیه می‌گردد. به عبارت دیگر جمعیتهای مورد مطالعه (عامل A) از نظر میانگین طول کل کروموزوم و میانگین طول بازوهای کوتاه در سطح ۱٪ با یکدیگر اختلاف دارند. همچنین میانگین حاصل از ویژگیهای کروموزومی نیز از نظر کلیه ویژگیهای مورد مطالعه در سطح یک درصد با یکدیگر اختلاف نشان داده‌اند که با توجه به دو شکلی بودن کروموزومهای این جنس و گونه چنین انتظاری از نتایج وجود داشت.

با تایید تفاوت میان عوامل مورد مطالعه (جمعیتها و کروموزومها)، با استفاده از روش دانکن میانگین عمومی ویژگیهای کروموزومی جمعیتها دسته‌بندی شدند (جدول شماره ۴). لازم به ذکر است که این دسته‌بندی بر اساس تک تک ویژگیهای کاریوتیپی صورت گرفته و هر ویژگی کاریوتیپی دسته‌بندی خاصی را به دست داده است. تعدادی از کاریوتیپهای مشاهده شده از جمعیتهای مورد نظر در شکلهای شماره ۱ تا ۴ ارائه گردیده‌اند. دسته‌بندی میانگین کروموزومها و ویژگیهای مربوط نیز در جدول شماره ۵ ارائه شده است.

مؤلفه‌های سنجش تقارن کاریوتیپی در جدول شماره ۶ ارائه شده است. از نظر این مؤلفه‌ها همانطور که انتظار می‌رفت تقارن کاریوتیپی در میان جمعیتها متفاوت بود. به طوری که از نظر TF% حد اکثر این مقدار (۲۶/۲۹) به جمعیت عسلویه و حداقل آن (۲۲/۸۷) به جمعیت بندر پل تعلق داشت.

فرمول کاریوتیپی جمعیتهای مورد مطالعه که بر اساس روش لوان محاسبه شده نیز در جدول شماره ۶ ارائه شده است. بر اساس این دسته‌بندی کروموزومهای بزرگتر به طور عمده از نوع st و کروموزومهای کوچک همگی از نوع sm هستند.

نظر به اینکه این مطالعات برای اولین بار در ایران صورت گرفته و ابعاد کروموزومی حاصل می‌توانند در طرحهای اصلاحی آتی نیز مورد استفاده قرار گیرند، اطلاعات محاسبه شده کاریوتیپ هریک از جمعیتهای مورد مطالعه در جدولهای شماره ۷ تا ۱۱

ارائه گردیده‌اند. لازم به توضیح است.که هر یک از ابعاد ارائه شده در مورد ابعاد کروموزومها میانگین حاصل از اندازه‌گیری حد اقل پنج کروموزوم در سلولهای متافازی مورد مطالعه می‌باشد و خطای معیار (SE) ارائه شده نیز بر همین مبنا محاسبه گردیده است.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به دو شکلی بودن کاریوتیپ این گونه، انتظار می‌رفت که اختلافهای زیادی میان ویژگیهای کاریوتیپی مورد مطالعه مشاهده گردد. ولی این اختلافهای در ویژگیهای مختلف کروموزومی یکسان نبود. کروموزومها از نظر طول کل به هفت گروه مستقل دسته‌بندی شده‌اند. در حالی که کروموزومها بر اساس میانگینهای بازوهای کوتاه به چهار دسته و بر اساس میانگین طول بازوهای بلند به شش دسته مجزا تقسیم شده‌اند. این بدان مفهوم است که طول بازوهای بلند تاثیر زیادی در شکل‌گیری کاریوتیپی به خصوص دو شکلی شدن آن در این جنس و گونه دارد. به طوری که مشاهده می‌شود طول بازوهای کوتاه در جمعیتهای مورد مطالعه بین ۱/۶ تا ۳/۵ میکرون متغیر است. در حالی که طول بازوهای بلند از ۳/۰۱ تا ۱۲/۵۴ میکرون متغیر می‌باشند. به عبارت دیگر اختلاف بین کوچکترین و بزرگترین بازوی کوچک کروموزومها ۱/۸۴ میکرون است، ولی این اختلاف در بازوهای بزرگ ۹/۵۳ میکرون می‌باشد.

مؤلفه TF% رابطه عکس با تقارن کاریوتیپی دارد. به عبارت دیگر در نتیجه این مؤلفه جمعیت عسلویه دارای متقارن‌ترین کاریوتیپ و جمعیت بندر پل دارای نامتقارن‌ترین کاریوتیپ می‌باشد. از نظر مؤلفه DRL مقادیر کمتر نشان دهنده تقارن بیشتر است. بر این اساس بیشترین تقارن مربوط به جمعیت جمع آوری شده از دهنو و کمترین تقارن مربوط به جمعیت جمع آوری شده از بیدخون بوشهر است.

جدول شماره ۳ : میانگین مربعات جدولهای تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در تقسیم میتوز. عامل A جمعیتها، عامل B کروموزومها، L/S نسبت طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه و S/L نسبت طول بازوی کوتاه به طول بازوی بلند می‌باشد.

منابع تغییرات	DF	طول کل	بازوی بلند (L)	بازوی کوتاه (S)	L/S	S/L
عامل A	۴	۸/۶۱**	۰/۳۵ns	۹/۸۶**	۰/۶۸ns	۰/۰۳*
عامل B	۶	۴۶۱/۶۱**	۱۳/۱۳**	۶۳۱/۱۵**	۲۴/۴۰**	۰/۴۲**
A*B	۲۴	۲/۵۱**	۰/۵۷*	۳/۴۶**	۰/۶۲*	۰/۰۱ns
خطا	۱۴۰	۰/۸۲ns	۰/۳۶	۱/۱۰	۰/۶۴	۰/۰۱
کل	۱۷۴					

جدول شماره ۴ : دسته‌بندی میانگینهای جمعیتهای مورد مطالعه از نظر ویژگیهای مختلف اندازه‌گیری شده کروموزومی با روش دانکن. میانگینهایی که دارای حروف مشترکی هستند در یک دسته قرار می‌گیرند.

جمعیت و مبدا	بازوی بلند (L) میکرون	بازوی کوتاه (S) میکرون	طول کل (TL) میکرون	L/S	S/L
بوشهر	۸/۲۶a	۲/۵۸a	۱۰/۸۴a	۳/۰۴a	۰/۳۷۴b
بوشهر (دهنو)	۷/۷۲b	۲/۵۲a	۱۰/۲۳b	۲/۹۳a	۰/۳۸۸b
بوشهر (بیدخون)	۸/۴۲a	۲/۷۴a	۱۱/۱۶a	۲/۸۹a	۰/۳۹۷a
هرمزگان (بندر پل)	۸/۴۰a	۲/۴۸a	۱۰/۸۸a	۳/۲۵a	۰/۳۴۲b
بوشهر (عسلویه)	۷/۲۹c	۲/۵۹a	۹/۸۶b	۳/۰۴a	۰/۴۲۵a

جدول شماره ۵ : دسته‌بندی میانگینهای کروموزومهای جمعیتهای مورد مطالعه از نظر ویژگیهای مختلف اندازه‌گیری شده کروموزومی با روش دانکن. میانگینهایی که دارای حروف مشترکی هستند در یک دسته قرار می‌گیرند.

شماره کروموزوم	بازوی بلند (L) میکرون	بازوی کوتاه (S) میکرون	طول کل (TL) میکرون	L/S	S/L
۱	۱۲/۵۴a	۳/۵۰a	۱۶/۰۴a	۳/۷۶a	۰/۲۷b
۲	۱۱/۸۰b	۳/۱۱b	۱۴/۹۲b	۳/۹۴a	۰/۲۶b
۳	۱۱/۰۹c	۳/۰۱b	۱۴/۱۱c	۳/۸۶a	۰/۲۹b
۴	۱۰/۱۹d	۲/۹۱b	۱۳/۱۲d	۳/۷۲a	۰/۲۹b
۵	۳/۹۸e	۲/۱۱c	۶/۰۵e	۱/۹۹b	۰/۵۲a
۶	۳/۵۰fe	۱/۸۰dc	۵/۲۸f	۲/۰۳b	۰/۴۹a
۷	۳/۰۱f	۱/۶۴d	۴/۶۴g	۱/۹۲b	۰/۵۴a

جدول شماره ۶ : مؤلفه‌های سنجش تقارن کاریوتیپی. TF% = درصد شکل کلی (Total Form Percentage)، DRL = اختلاف بین حداقل و حد اکثر طول نسبی کروموزومها، S% = طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم، TL = طول کل یک دسته کامل کروموزومی، S/L = نسبت کوتاه‌ترین کروموزوم به بلندترین کروموزوم.

ژنوتیپ	TF%	DRL	میانگین کل	S%	TL	S/L	۲n	فرمول کاریوتیپی
بوشهر	۲۳/۸۲	۱۵/۶۳	۱۰/۸۴	۶/۱۱	۱۵۱/۸	۰/۲۸	۱۴	۴st+۳sm
بوشهر (دهنو)	۲۴/۶۲	۱۴/۹۹	۱۰/۲۳	۶/۳۹	۱۴۳/۳	۰/۳۰	۱۴	۴st+۳sm
بوشهر (بیدخون)	۲۴/۶۱	۱۵/۹۹	۱۱/۱۷	۶/۰۹	۱۵۶/۴	۰/۲۸	۱۴	۴st+۳sm
هرمزگان (بندر پل)	۲۲/۸۷	۱۵/۰۶	۱۰/۹۰	۶/۴۹	۱۵۲/۳	۰/۳۰	۱۴	۴st+۳sm
بوشهر (عسلویه)	۲۶/۲۹	۱۵/۳۵	۹/۹۰	۶/۲۰	۱۳۸/۲	۰/۲۹	۱۴	۳st+۴sm

جدول شماره ۷: ابعاد و مشخصات اندازه‌گیری شده کاریوتیپی از جمعیت بوشهر. L = طول بازوی بلند، S = طول بازوی کوتاه، TL= طول کل کروموزوم، LS = نسبت طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه، SL= نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، و SD= انحراف معیار می‌باشد. کلیه اندازه‌ها به میکرون می‌باشد.

کروموزم	L	SD	S	SD	TL	SD	LS	SD	SL	SD	نوع کروموزم
۱	۱۲/۷۶	۰/۸۰	۳/۷۴	۰/۹۵	۱۶/۵۰	۱/۵۳	۳/۵۶	۰/۸۴	۰/۳۰	۰/۰۷	st
۲	۱۱/۸۲	۱/۳۲	۳/۳۰	۰/۶۹	۱۵/۱۴	۱/۶۷	۳/۶۸	۰/۶۸	۰/۲۶	۰/۰۵	st
۳	۱۱/۷۶	۱/۶۲	۲/۸۶	۰/۲۵	۱۴/۶۴	۱/۷۸	۴/۱۰	۰/۵۰	۰/۲۶	۰/۰۵	st
۴	۱۱/۱۸	۱/۵۲	۲/۸۶	۰/۳۹	۱۴/۰۶	۱/۵۹	۳/۹۶	۰/۷۵	۰/۲۶	۰/۰۵	st
۵	۳/۷۶	۰/۴۰	۱/۸۶	۰/۴۱	۵/۶۰	۰/۶۷	۲/۱۰	۰/۴۳	۰/۵۰	۰/۱۴	sm
۶	۳/۵۶	۰/۳۹	۱/۷۸	۰/۲۶	۵/۳۰	۰/۵۶	۲/۰۶	۰/۲۱	۰/۴۸	۰/۰۸	sm
۷	۲/۹۸	۰/۳۴	۱/۶۸	۰/۱۳	۴/۶۶	۰/۳۹	۱/۸۲	۰/۲۲	۰/۵۶	۰/۰۸	sm

جدول شماره ۸: ابعاد و مشخصات اندازه‌گیری شده کاریوتیپی از جمعیت دهنو. L = طول بازوی بلند، S = طول بازوی کوتاه، TL= طول کل کروموزوم، LS = نسبت طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه، SL= نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، و SD= انحراف معیار می‌باشد. کلیه اندازه‌ها به میکرون می‌باشد.

کروموزم	L	SD	S	SD	TL	SD	LS	SD	SL	SD	نوع‌کروموزم
۱	۱۱/۶۲	۰/۸۲	۳/۷۲	۰/۷۲	۱۵/۳۲	۰/۹۸	۳/۳۰	۰/۹۱	۰/۳۰	۰/۰۷	st
۲	۱۱/۳۲	۱/۳۹	۲/۹۸	۰/۲۶	۱۴/۳۰	۱/۲۳	۳/۸۲	۰/۷۲	۰/۲۸	۰/۰۸	st
۳	۱۰/۹۶	۰/۸۴	۲/۸۶	۰/۳۹	۱۳/۸۲	۱/۱۹	۳/۸۶	۰/۳۲	۰/۲۸	۰/۰۴	st
۴	۱۰/۴۰	۰/۸۵	۲/۹۴	۰/۶۱	۱۳/۳۴	۱/۱۲	۳/۶۶	۰/۶۸	۰/۳۰	۰/۰۷	st
۵	۳/۶۴	۰/۳۹	۱/۸۴	۰/۱۳	۵/۴۲	۰/۲۶	۲/۰۲	۰/۳۴	۰/۵۲	۰/۰۸	sm
۶	۳/۱۶	۰/۲۵	۱/۷۰	۰/۱۲	۴/۸۸	۰/۲۷	۱/۹۰	۰/۲۴	۰/۵۲	۰/۰۸	sm
۷	۲/۹۸	۰/۲۶	۱/۶۰	۰/۲۱	۴/۵۸	۰/۳۴	۱/۹۶	۰/۳۵	۰/۵۲	۰/۰۸	sm

جدول شماره ۹: ابعاد و مشخصات اندازه‌گیری شده کاریوتیپی از جمعیت بیدخون.
L = طول بازوی بلند، S = طول بازوی کوتاه، TL= طول کل کروموزوم، LS = نسبت طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه، SL= نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، و SD= انحراف معیار می‌باشد. کلیه اندازه‌ها به میکرون می‌باشد.

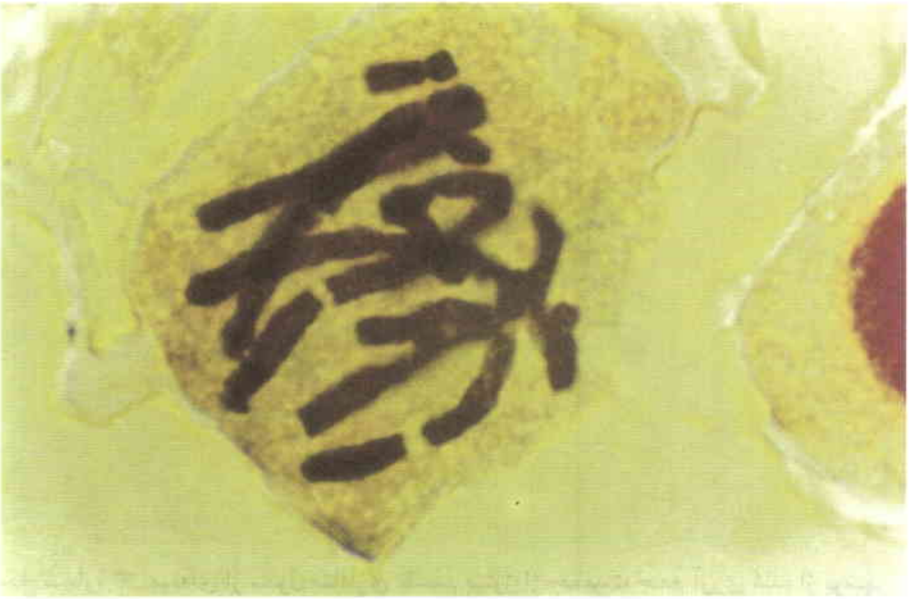
کروموزم	L	SD	S	SD	TL	SD	LS	SD	SL	SD	نوع‌کروموزم
۱	۱۳/۳۲	۰/۵۴	۳/۹۴	۰/۶۳	۱۷/۲۶	۰/۵۳	۳/۴۶	۰/۶۵	۰/۲۸	۰/۰۴	st
۲	۱۲/۳۸	۰/۵۰	۳/۵۶	۰/۷۷	۱۵/۹۶	۰/۷۸	۳/۶۰	۰/۷۶	۰/۲۸	۰/۰۸	st
۳	۱۲/۰۲	۱/۱۴	۳/۱۲	۰/۶۰	۱۵/۱۴	۰/۸۵	۳/۹۸	۰/۹۳	۰/۲۸	۰/۰۸	st
۴	۱۱/۲۲	۰/۷۲	۳/۰۴	۰/۳۲	۱۴/۲۶	۰/۷۸	۳/۷۰	۰/۵۲	۰/۲۸	۰/۰۴	st
۵	۳/۷۸	۰/۲۴	۲/۰۲	۰/۱۶	۵/۷۴	۰/۳۷	۱/۸۸	۰/۱۳	۰/۵۴	۰/۰۵	sm
۶	۳/۲۲	۰/۱۶	۱/۸۴	۰/۱۳	۵/۰۶	۰/۱۳	۱/۸۲	۰/۲۱	۰/۵۶	۰/۰۸	sm
۷	۳/۰۴	۰/۱۳	۱/۷۲	۰/۱۶	۴/۷۶	۰/۲۵	۱/۸۴	۰/۱۵	۰/۵۶	۰/۰۵	sm

جدول شماره ۱۰: ابعاد و مشخصات اندازه‌گیری شده کاریوتیپی از جمعیت بندر پل.
L = طول بازوی بلند، S = طول بازوی کوتاه، TL= طول کل کروموزوم، LS = نسبت طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه، SL= نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، و SD= انحراف معیار می‌باشد. کلیه اندازه‌ها به میکرون می‌باشد.

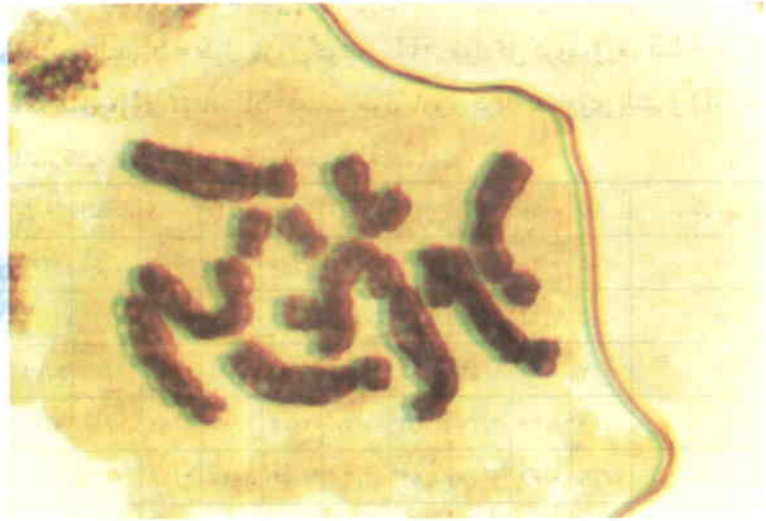
کروموزم	L	SD	S	SD	TL	SD	LS	SD	SL	SD	نوع‌کروموزم
۱	۱۳/۱۴	۱/۱۵	۳/۲۴	۰/۷۳	۱۶/۳۸	۱/۴۱	۴/۱۸	۰/۹۰	۰/۲۴	۰/۰۵	st
۲	۱۲/۵۰	۱/۵۲	۳/۳۶	۰/۶۱	۱۵/۸۸	۱/۳۶	۳/۸۰	۰/۸۰	۰/۲۶	۰/۰۸	st
۳	۱۱/۹۶	۱/۳۰	۲/۷۴	۰/۳۹	۱۴/۷۲	۱/۳۱	۴/۴۴	۰/۹۲	۰/۲۴	۰/۰۵	st
۴	۱۰/۰۴	۱/۳۰	۲/۸۶	۰/۶۵	۱۲/۹۴	۱/۱۰	۳/۷۶	۱/۳۴	۰/۲۸	۰/۰۸	st
۵	۴/۰۸	۰/۴۶	۱/۹۰	۰/۳۶	۵/۹۴	۰/۷۱	۲/۲۲	۰/۳۷	۰/۴۶	۰/۰۸	sm
۶	۳/۷۶	۰/۳۵	۱/۶۶	۰/۱۳	۵/۳۶	۰/۳۲	۲/۳۲	۰/۲۶	۰/۴۲	۰/۰۴	sm
۷	۳/۳۲	۰/۴۵	۱/۶۶	۰/۲۵	۴/۹۴	۰/۶۱	۲/۰۶	۰/۲۶	۰/۵۰	۰/۰۷	sm

جدول شماره ۱۱: ابعاد و مشخصات اندازه گیری شده کاریوتیپی از جمعیت عسلویه. L = طول بازوی بلند، S = طول بازوی کوتاه، TL= طول کل کروموزوم، LS = نسبت طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه، SL= نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، و SD= انحراف معیار می‌باشد. کلیه اندازه‌ها به میکرون می‌باشد.

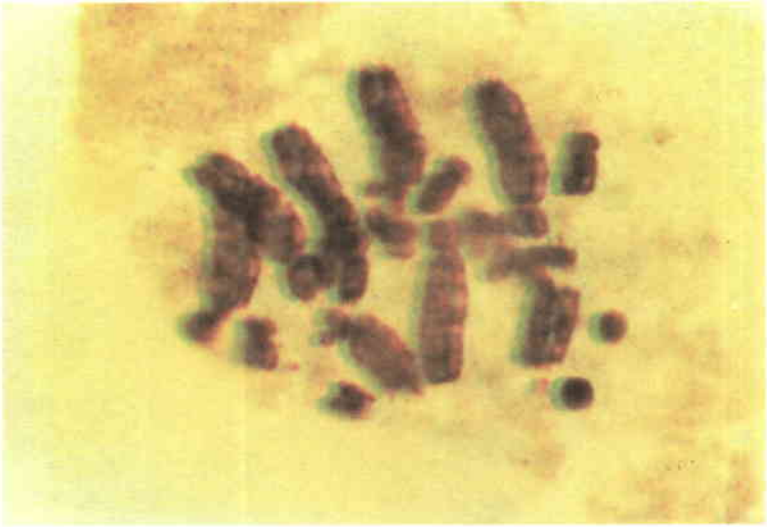
کروموزم	L	SD	S	SD	TL	SD	LS	SD	SL	SD	نوع کروموزم
۱	۱۱/۹۰	۰/۶۰	۲/۸۸	۰/۷۱	۱۴/۷۶	۱/۲۳	۴/۳۴	۱/۰۸	۰/۲۶	۰/۰۵	st
۲	۱۱/۰۲	۰/۷۳	۲/۳۸	۰/۵۰	۱۳/۳۶	۰/۹۵	۴/۸۲	۱/۰۹	۰/۲۴	۰/۰۵	st
۳	۸/۷۸	۱/۴۴	۳/۵۰	۱/۳۵	۱۲/۲۶	۰/۳۲	۲/۹۴	۱/۵۳	۰/۴۲	۰/۲۷	sm
۴	۸/۱۲	۰/۸۸	۲/۸۸	۱/۱۲	۱۱/۰۲	۰/۳۸	۳/۵۲	۲/۳۰	۰/۳۶	۰/۱۸	st
۵	۴/۶۴	۱/۲۳	۲/۹۶	۱/۲۳	۷/۵۶	۲/۳۸	۱/۷۴	۰/۷۱	۰/۶۲	۰/۱۹	sm
۶	۳/۸۲	۰/۸۰	۲/۰۲	۰/۷۸	۵/۸۴	۱/۵۱	۲/۰۶	۰/۴۵	۰/۵۰	۰/۱۴	sm
۷	۲/۷۶	۰/۵۸	۱/۵۴	۰/۳۲	۴/۲۸	۰/۵۰	۱/۹۲	۰/۶۹	۰/۵۸	۰/۲۱	sm



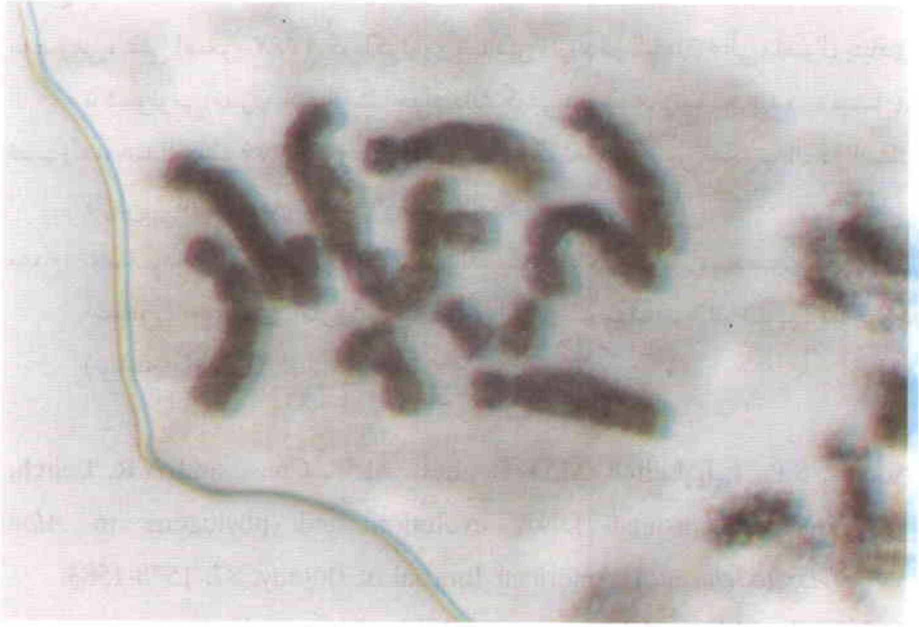
شکل شماره ۱: نمونه‌ای از سلول متافازی تقسیم میتوز از جمعیت جمع آوری شده از بوشهر



شکل شماره ۲: نمونه‌ای از سلول متافازی تقسیم میتوز از جمعیت جمع آوری شده از بوشهر (بید خون) .



شکل شماره ۳: نمونه‌ای از سلول متافازی تقسیم میتوز از جمعیت جمع آوری شده از بوشهر (دهنو) .



شکل شماره ۴: نمونه‌ای از سلول متافازی تقسیم میتوز از جمعیت جمع آوری شده از استان هرمزگان (بندر پل) .

منابع

معصومی، علی اصغر، ۱۳۶۴. گوناگونی و پیدایش انواع در گیاهان عالی، اصول بنیادی تاکسونومی مدرن. انتشارات جهاد دانشگاهی، ترجمه، (نوشته: بیدول، میشل).

نصیرزاده، عبدالرضا، ۱۳۷۶. بررسی سیتوژنتیکی گونه‌های جنس شکرتیغال در استان فارس. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شیراز.

مقدم، محمد، محمدی شوطی، سید ابوالقاسم، آقایی سربرزه، مصطفی، ۱۳۷۳. آشنایی با روشهای آماری چند متغیّره. انتشارات پیشتاز علم تبریز، ترجمه، (نوشته: مانلی، بی.اف.جی).

Adams, S.P., L.J. Leitch, M.D. Bennett, M.W. Chase and A.R. Leitch, 2001. Ribosomal DNA evolution and phylogeny in *Aloe* (*Asphodelaceae*). American Journal of Botany, 87: 1578-1583.

Barkworth, M.E. and D.R. Dewey, 1985. Genomically based genera in the perennial triticeae of North America: Identification and membership. American Journal of Botany, 72: 796-776.

Bayer, M.B. 1982. New *Haworthia* handbook. National Botanical Garden of South Africa, Kirstenbosch.

Brandham, P.E. 1971. The chromosomes of the *Liliaceae*. II. Polyploidy and karyotype variation in the *Aloineae*. Kew Bulletin, 25: 381-399.

Gennur, M.N., S.N. Kadopa, A.F. Habib, J.V. Goud, 1988a. Karyomorphologikal in Asiatic Cotton, I, Karyotypic analysis of species and races of Asiatic Cottons based on chromatin content. Cytologia, 53: 97-106.

Gennur, M.N., S.N. Kadopa, A.F. Habib, J.V. Goud, 1988b. Analysis of species and races of Asiatic Cottons based on nucleolar

chromosome and symmetry of karyotype. Cytologia, 53: 107-114.

Gupta, P.K., 1995. Cytogenetic. Rastogiand Company, Maruat, India, PP: 3-4.

Gustavo, R.G.S., M.L. Maria, P.A. Graciela, and S.C. Luisa, 2002. Cytogenetic heterogeneity in common haplogyne spiders from Argentina (Arachnida, Araneae). The Journal of Arachnology, 30: 47-56.

Hanna, W.W. and E.C. Bashaw, 1987. Apomixis: its identification and use in plant breeding. Crop Science, 27: 1136-1139.

Huziwara, Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of Compositae, VIII. Further studies on the chromosome of the Aster. American Journal of Botany, 49: 116-119.

Leavan, A. K., and A. A. Sandberg, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes, Hereditas, 52: 201-220.

Majumdar, S.K. and H.P. Rily, 1973. Chromosome numbers, pollen fertility and pollen size in *Haworthia* species and hybrids. Canadian Journal of Botany, 51: 1753-1759.

Mathew, A. and P.M. Mathew, 1982. Studies on the South Indian Compositae, III karyomorphology of nine spesies of Blumea. Cytologia, 47: 135-162.

Matos, A., and J. Molina, 1997. Cytogenetic study in root tip cells of *Aloe vera* L., Revista de la facultad de Agronomia, Universidad del Zulia, 14: 173-182.

Riley, H.P. and S.K. Majumdar, 1966. Chromosome studies of diploid and polyploid plants of *Howarthia*. Botanical Gazette, 127: 239-242.

Romero-Zarco, C., 1968. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon, 36: 526-530.

Skula, D. and S. P. Misra., 1994. An introduction to taxonomy of *Angiosperms*. VIKAS Publishing House Put LTD, New Delhi, 256 PP.

Smith, P. 1970. Taxonomy and nomencalture of the brome-grasses (*Bromus*). Notes Royal Botanical Grandes Edinburg, 39: 361-375.

Stace, C. A., 1984. Plant Taxonomy and Biosystematics. Pitman Press, Bath, 382 PP.

Stebbins, G. L., 1971. Chromosomal Evolution In Higher Plants. Edvard Arnold Publisher, Ltd, London.

Tai, W., and H. Ikonen, 1988. Incomplete bivalent pairing in dihaploids of Brassica napus L. Genome, 30: 450-457.

Viljoen, A.M., B.E. van Wyk, and F.R. van Heeden, 1998. Distribution and chemotaxonomic significance of flavonoids in *Aloe* (*Asphodelaceae*). Plant Systematics and Evolution, 211: 31-42.

Vosa, C.G. and M.B. Bayer, 1986. Chromosome studies in the Southern Africa Flora. Caryologia, 39: 325-334.

Primary karyotypic investigation on several populations of *Aloe litoralis.*

Mirzaie-Nodoushan, H.(1), Mehrpur, S.(2) Rezaie, M.B.(1), and S. Rashvand(3)

Abstract

Regarding the increasing importance of *Aloe* species and their utilization in various medicinal, cosmetic and food industries, karyotypic investigation was placed in the work schedule of Research Institute of Forests and Rangelands (RIFR). Young plants were collected from the souther provinces of Iran, where the species has been readily stablished. They were planted in greenhouse conditions at the Institute. Obtaining fresh root tips from the plants, enabled us to carry out normal karyotypic studies on the populations. This article is primary studies on *Aloe litoralis* species

At least four mitotic cells at metaphas stage, were measured for the karyotypic attributes. The karyotypic attributes were long and short arms length of chromosomes, based on which total length of the chromosomes and long arm to short arm length and short arm to long

---

1 - Research Institute of Forests and Rangelands, P.O. Box: 13185-116, Tehran, Iran.

2 - Islamic Azad University, Postgraduate Studies, Tehran, Iran.

3 - Bushehr Provincial Recearch Center of Natural Resources and Domestic Animal Affairs, Bushehr, Iran.

arm length ratios were calculated. Several karyotypic asymmetric parameters were also estimated for comparing the karyotypes. Finally, karyotypes' photographs were prepared, using photomicroscope and idiograms of the karyotypes were also drown.

All of the studied populations were bimodal for their karyotypes and very distinct asymmetry was observed. Significant differences were observed between the populations based on the karyotypic attributes and the studied parameters.

Key words: *Aloe litoralis*, Karyotype, Asymetry, Cytogenetics and Bimodal karyotype.