مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijrfpbgr.2021.354486.138

جلد ۲۹، شماره ۲، صفحه ۲۵۰-۲۳۶ (۱۴۰۰) شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350891.1400.29.2.6.5

تنوع کروموزومی و اندازه ژنوم در گیاه دارویی مرزه (*Satureja* spp.)

ساحل زارع تیموری[1]، قاسم کریم‌زاده[2]* و آناهیتا شریعت[3]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران،

۲*- نویسنده مسئول مکاتبات، استاد، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران،

پست‌الکترونیک: karimzadeh_g@modares.ac.ir

۳- محقق، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۱۹

چکیده

گیاه مرزه (*Satureja* spp.) با داشتن گونه‌های مختلف و ترکیبات با ارزشی همانند تیمول و کارواکرول، دارای اهمیت خاصی در میان گیاهان دارویی است. در این تحقیق، بذر هشت جمعیت از سه گونه مرزه (*S. hortensis* ، *S. mutica* و *S boissieri*) و همچنین بذر دو رقم اصلاح شده آلمانی مرزه (*S. hortensis* cv. Aromag) و (*S. hortensis* cv. Saturn) از نظر سیتوژنتیکی ارزیابی شدند. نتایج کاریوتیپی نشان داد که هشت جمعیت از گونه *S. hortensis* (S1P1-S1P8) دیپلوئید (۲*n*=۲*x*=۴۸) و دو جمعیت از گونه‌های *S.mutica* و *S. boissieri* (S2P1-S3P1) تتراپلوئید (۲*n* = ٤*x* = ٦٠) با تعداد کروموزوم‌های پایه متفاوت به‌ترتیب ۲٤ و ۱۵ بودند. میانگین طول کروموزوم‌ها در تمام جمعیت‌ها ۱/٤٦ µm (دامنه ۱/۷۱ µm-۱/۱۹) بود. برای اندازه‌گیری مقدار ژنوم از دستگاه فلوسایتومتری، از فلوروکروم PI و گیاه استاندارد جعفری (*Petroselinum crispum*, 2C DNA = 4.45 pg) استفاده شد. داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار (طول کروموزوم) و سه تکرار (اندازه ژنوم) تجزیه آماری شدند. نتایج تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد بین جمعیت‌ها برای دو آماره نشان داد. میانگین مقدار 2C DNA برای تمام دیپلوئیدها ۳/۵۲ pg (دامنه ۳/۸ pg-۳/۳) و برای دو جمعیت تتراپلوئید ۲/۳۸ pg (دامنه ۲۵/۵۱ pg-۲/۲) بود. در این مطالعه مقدار اندازه ژنوم برای اولین بار در گونه‌های ذکر شده گزارش گردید که در کنار سایر صفات اندازه‌گیری شده می‌تواند به غنای دانش کاریولوژیک در جنس مرزه *Satureja* کمک کند.

واژه‌های کلیدی: مرزه، *Satureja*، گیاه دارویی، کروموزوم، اندازه ژنوم، فلوسایتومتری

مقدمه

جنس مرزه (*Satureja*) یکی از جنس‌های خانواده نعناع (Lamiaceae) متعلق به زیر خانواده Nepetoideae و قبیله Mentheae می‌باشد. این جنس با پراکنش وسیع خود حدود ۲۳۵ گونه دارد که در ایران ۱٦ گونه از آن گزارش شده است (Jamzad, 2009). مهمترین گونه مرزه که در زمینه‌های مختلف مورد تحقیق و پژوهش بوده است *S. hortensis* می‌باشد. این گونه که به مرزه تابستانی نیز معروف است گونه‌ای یکساله و بومی جنوب اروپا و قسمت شمالی آمریکاست (Hamidpour *et al.*, 2014). از ترکیبات فنلی مهم در اسانس مرزه می‌توان کارواکرول، تیمول و پی-سیمن و گاما- ترپینن را نام برد (Shariat *et al.*, 2018a; Shariat and Sefidkon, 2021) که کارواکرول مهمترین

ترکیب اسانس مرزه بوده و دارای خاصیت ضدعفونی کننده است (Shariat *et al*., 2016, 2017, 2018a). وجود این ترکیبات در مرزه منجر به کاربرد این گیاه در درمان برخی از اختلالات بسیار جدی مانند دیابت، بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان و آلزایمر شده است، همچنین سبب خاصیت آنتی اکسیدانی، ضدمیکروبی، ضد التهابی، ضدتشنجی، ادرارآوری و ضدنفخ این گیاه می‌شود (Jamzad, 2009). با توجه به اینکه خصوصیات گیاهی تا حدود زیادی تحت کنترل مواد ژنتیکی هسته هستند، بنابراین یکی از روش‌های بررسی تنوع در ارقام و گونه‌های مختلف گیاهی، انجام مطالعات سیتوژنتیکی می‌باشد. بدیهی است گونه‌هایی که از لحاظ پارامترهای سیتوژنتیکی و خواص کروموزومی به هم شبیه هستند در بحث روابط بین گونه‌ای قرابت بیشتری داشته و در صورت وجود صفات مطلوب در این گونه‌ها امکان تلاقی بین گونه‌ای برای جمع‌آوری ژن‌های مطلوب در یک گیاه وجود خواهد داشت. یادآوری می‌شود به کمک اطلاعات کروموزومی امکان مقایسه جمعیت‌های آنها نیز فراهم می‌گردد. جمعیت‌های متعلق به یک گونه هریک با محیطی که در آن می‌رویند سازش ژنومی نشان می‌دهند. از آنجا که این تحقیق پایه‌ای بوده و برای انجام هر کار اصلاحی دانستن اطلاعات تعداد کروموزوم، سطح پلوئیدی و اندازه ژنوم از اصول طرح‌های پایه‌ای محسوب می‌شود و برای انجام مطالعات بعدی ازجمله مهندسی ژنتیک و مهندسی متابولیت از اهمیت بالایی برخوردار است. همچنین، با دانستن روابط کاریولوژیک جمعیت‌ها و گونه‌های مختلف مرزه می‌توان از آنها در هیبریداسیون و اصلاح این گیاه دارویی استفاده کرد (Noormand Moaied *et al*., 2021).

بررسی منابع نشان داد که تعداد کروموزوم پایه متفاوتی برای جنس *Satureja* گزارش شده است، به این ترتیب که در گونه *S. multiflora* Bri. تعداد کروموزوم پایه $x = 6$ (Krogulevich, 1978)، گونه *S. acinos* $x = 9$ (Arohonka, 1982)، گونه *S. douglasii* Briq. $x = 10$ (Gill, 1981)، گونه *S. bulgarica* $x = 11$ (Markova and Goranova, 1995)، در گونه *S. coerulea* Janka (Markova, 1989) و پنج گونه (*S. rechingeri, S. sahandica, S. bakhtiarica, S. khuzestanica, S. specigera*) $x = 15$ (Shariat *et al*., 2013) گزارش شده است. در مورد تعداد کروموزوم‌ها در گونه‌های مختلف مرزه بومی ایران گزارش‌های محدودی وجود دارد. در تحقیقی که توسط Shariat و همکاران (۲۰۱۳)، با بررسی چهار گونه دیپلوئید (*S. rechingeri, S. sahandica, S. bakhtiarica, S. khuzestanica*) و یک گونه تراپلوئید با نام *S. specigera* انجام شد، نتایج آنان نشان داد که کروموزوم‌ها از دو نوع "m" و "sm" بودند. گونه‌های دیپلوئید ۳۰ کروموزومی با دو فرمول کاریوتیپی ($2n = 2x = 30$; 30m, 28m+2sm) و گونه تراپلوئید ٦٠ کروموزومی با فرمول کاریوتیپی ($2n = 4x = 60$; 58m+2sm) بودند.

در رابطه با اندازه ژنوم گونه‌های مختلف مرزه گزارش‌های محدودی وجود دارد. برای نمونه، در گزارش Shariat *et al*. (2018b) میانگین اندازه ژنوم چهار گونه دیپلوئید ذکرشده 2C DNA = ۱/٤۲ pg (دامنه ۱/٤۷ pg–۱/۳۰) و گونه تراپلوئید 2C DNA = ۲/۵۵ pg بود. در تحقیقات دیگری که روی مرزه انجام شد، اندازه ژنوم در گونه *S. cuneifolia* برابر با 2C DNA=۵/۵۵ pg (Ceccarelli *et al*., 1998) و در دو گونه *S. cuneifolia* و *S. montana*، 2C DNA = ۲/۲۵ pg گزارش گردید (Siljak-Yakovlev *et al*., 2010). با توجه به اهمیت گونه‌های جنس مرزه و دارا بودن ترکیبات با ارزشی همانند تیمول و کارواکرول، این تحقیق با هدف بررسی تنوع کروموزومی و اندازه ژنوم در جمعیت‌های سه گونه مرزه برای ترسیم راهبرد برنامه‌های اصلاحی این گیاه دارویی و بهره‌برداری تجاری با بازده اقتصادی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مواد ژنتیکی مورد بررسی

در این تحقیق، بذرهای هشت جمعیت متعلق به سه گونه مختلف از جنس مرزه از مرکز ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه گردید که مربوط به مناطق مختلف ایران می

باشد. همچنین، بذرهای دو رقم اصلاح شده مرزه به نام‌های *S. hortensis* cv. Saturn و *S. hortensis* cv. Aromag از شرکت Pharmasaat واقع در کشور آلمان با همکاری دکتر عبادی از گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات مناطق جمع‌آوری جمعیت‌های مرزه (*Satureja* spp.)

Table 1- Locations of the collected *Satureja* population (*Satureja* spp.)

نام گونه Species name	کد جمعیت‌ها Population codes	محل جمع‌آوری Locality	مختصات جغرافیایی Geographical coordinates	ارتفاع از سطح دریا Altitude (m)
S. hortensis	S1P1	Kashan, Iran	51°24'37" E 33°59'21" N	956
S. hortensis	S1P2	Qom, Iran	50°52'15" E 34°38'52" N	943
S. hortensis	S1P3	Khiyaraj village, Buinzahra, Qazvin, Iran	49°43'14" E 35°50'59" N	1292
S. hortensis	S1P4	Abyek, Qazvin, Iran	50°32'47" E 36°02'26" N	1293
S. hortensis	S1P5	Sabzevar, Razavi Khorassan, Iran	57°39'26" E 36°13'04" N	989
S. hortensis	S1P6	Siahkouh village, Maragheh, East Azerbaijan, Iran	46°16'00" E 37°18'11" N	1503
S. hortensis cv. Saturn	S1P7	Artern, Germany	11°17'43" E 51°22'02" N	166
S. hortensis cv. Aromag	S1P8	Artern, Germany	11°17'43" E 51°22'02" N	166
S. mutica	S2P1	Tabriz, East Azerbaijan, Iran	46°16'01" E 38°06'02" N	1371
S. boissieri	S3P1	Garmabdasht toward Sarem, 3km to Sarem, Rodsar, Iran	50°13'40" E 36°52'24" N	-17

مطالعه کاریوتیپ

بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ (v/v) ضدعفونی شده و در شرایط سترون، داخل پتری‌دیش و روی کاغذ صافی کاشته شدند. سپس بذرها در دمای اتاق جوانه‌دار شدند و از ریشه‌چه‌های با طول ۱–۰/۵ cm برای مطالعه استفاده شد. برای تهیه سلول‌های متافازی عمل پیش‌تیمار (به مدت ٤ h و در دمای ٤ °C با محلول ۰/۵٪ آلفابرمونفتالین)، عمل تثبیت (با محلول کارنوی به‌مدت ١٦ h در دمای ٤°C)، عمل هیدرولیز (با اسید کلریدریک نرمال در دمای ٦٠ °C و به‌مدت ۸ min) و در ادامه رنگ‌آمیزی با استفاده از هماتوکسیلین انجام شد (Shariat *et al.*, 2013). برای اندازه‌گیری طول کروموزوم از نرم افزار MicroMeasure 3.3 استفاده شد. داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار تجزیه واریانس شدند. یادآوری می‌شود که هر تکرار یک سلول از مریستم گیاه است و از هر جمعیت پنج اسلاید از مریستم انتهایی پنج گیاه مختلف تهیه گردید. پارامترهای کاریوتیپی با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد.

طول کروموزوم[1] ($CL = L + S$)،

طول نسبی کروموزوم[2] ($RL\% = CL / \sum CL \times 100$)

1 Chromosome Length; CL

2 Relative length of chromosome; RL%

اختلاف دامنه طول نسبی[1] ($DRL = RL\%_{Max} - RL\%_{Min}$)

شاخص تقارن[2] ($S\% = CL_{Min} / CL_{Max} \times 100$)

ضریب تغییرات ($CV_{CL}\% = CL\ standard\ deviation / total\ CL\ mean) \times 100$) و برای

تخمین نامتقارن بودن کاریوتیپ از شاخص عددی رومرو – زرکو (Romero-Zarco, 1986) استفاده شد. قبل از تجزیه واریانس، آزمون نرمال بودن روی داده‌ها انجام شد و نیازی به تبدیل داده نبود. از نرم‌افزارهای آماری Minitab17 و SPSS 22 برای تجزیه واریانس استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با روش LSD[3] انجام گردید.

تعیین اندازه ژنوم (2C DNA) با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری

برای انجام فلوسایتومتری در گیاهان، ابتدا بافت گیاهی مناسب انتخاب شد. هر بافتی که حاوی هسته‌های زنده باشد برای اندازه‌گیری مقدار DNA هسته‌ای توسط فلوسایتومتری دقیق‌تر است، اما عموماً برگ‌های کاملاً توسعه یافته ارجح هستند (Doležel *et al.*, 2007; Mahdavi and Karimzadeh, 2010; Karimzadeh *et al.*, 2011; Shariat *et al.*, 2018b). در مرحله بعد، از یک گیاه مرجع استاندارد دارای مقدار DNA معین برای کالیبره کردن استفاده شد (Doležel and Bartoš, 2005). تهیه سوسپانسیون هسته به وسیله تخریب پروتوپلاست از طریق همگن‌سازی مکانیکی (خرد کردن[4]) با استفاده از تیغ تیز و بافر WBP[5] انجام شد. این بافر نوعی بافر قابل اعتماد و قابل استفاده برای جامعه وسیعی از گیاهان مختلف و حتی نمونه‌های گیاهان مشکل‌دار[6] (نمونه‌های برگی گیاهانی که دارای ترکیبات مختلف سیتوسولی و متابولیت‌های ثانویه است) هستند مناسب است (Loureiro *et al.*, 2007). پس از خرد کردن نمونه‌های برگی، گیاه نمونه و گیاه مرجع استاندارد به‌طور همزمان در ۱ ml بافر WPB، سوسپانسیون حاصل از فیلتر نایلونی[7] مخصوص با اندازه‌های مختلف عبور داده شد که برای حذف قطعات و بقایای بزرگ بافت‌ها استفاده می‌شود. به‌طور معمول فیلتر ۳۰ µm به رنگ سبز بیشترین کاربرد را دارد. سپس ۵۰ µg ml^{-1} رنگ فلورسنت PI[8] (برداشت حجم ۵۰µl از محلول PI با غلظت ۱ mg ml^{-1}) و ۵۰ µg ml^{-1} RNase (برداشت حجم ۵۰µl از محلول RNase با غلظت ۱ mg ml^{-1}) در دمای اتاق به نمونه اضافه شد. رنگ PI اختصاصی برای رنگ‌آمیزی DNA ژنومی و RNase برای از بین بردن RNA و جلوگیری از اتصال PI به RNA اضافه شد (Loureiro *et al.*, 2005). سپس نمونه‌ها بر روی یخ قرار داده شدند و توسط دستگاه فلوسایتومتر (BD Biosciences, Bedford, MA, USA) و با استفاده از نرم‌افزار BD FACSDivaTM مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. بیش از ۵۰۰۰ هسته رنگ‌آمیزی شده در هر نمونه تجزیه وتحلیل شد. داده‌ها ابتدا به نرم‌افزار Flowing نسخه 2.5.0 و بعد به نرم‌افزار 2.4e (Partec, Münster, Germany) منتقل شدند. در نهایت هیستوگرامی ارائه شد و مورد بررسی قرار گرفت.

تهیه بافر WBP

غلظت نهایی مواد لازم برای تهیه بافر WPB (Loureiro *et al.*, 2007) در جدول ۲ آورده شده است. به این ترتیب که هر یک از مواد ذکر شده در جدول ۲ در

1 Difference of range of relative length; DRL

2 Symmetry Index; S%

3 Least Significant Difference; LSD

4 Chopping

5 Woody Plant Buffer; WBP

6 Problematic samples

7 Nylon mesh

8 Propidium Iodide; PI

آب مقطر حل گریدیده و به حجم ۲۰۰ ml و اسیدیته مناسب (pH = 7.5) رسانده شد. لازم به ذکر است که بافر به صورت تازه استفاده شد.

جدول ۲- ترکیبات بافر WBP برای استخراج هسته (Loureiro *et al.*, 2007)

Table 2- Chemical composition of WBP nuclei isolation buffer

ماده Chemical	غلظت Concentration	مقدار لازم برای ۲۰۰ml The required amount for 200 ml
Tris-HCl	0.2 M	4 ml
$MgCl_2.6H_2O$	4 mM	0.163 g
Triton X-100	%1	2 ml
EDTA $Na_2.2H_2O$	2 mM	0.1448 g
NaCl	86 mM	1.005 g
Sodium metabissulfite	10 mM	0.3802 g
PVP-10	%1	2 g

روش کار و محاسبه داده‌های فلوسایتومتری

در این پژوهش اندازه ژنوم جمعیت‌های گیاه مرزه توسط دستگاه فلوسایتومتری در آزمایشگاه فلوسایتومتری گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس اندازه‌گیری شد. برای این منظور، از ۱ cm^2 برگ تازه، جوان و کاملاً توسعه یافته گیاه جعفری (Parsley, *Petroselinum crispum*, 2C DNA = 4.45 pg) به‌عنوان گیاه مرجع داخلی (Doležel *et al.*, 2007) و همین سطح از برگ گیاه مرزه استفاده شد. عمل خردکردن با تیغ تیز انجام گردید و با بافر استخراج هسته WPB مخلوط شد. مخلوط حاصل، از فیلتر مش نایلونی ۳۰ µm ساخت شرکت Partec عبور داده شد. سوسپانسیون هسته در دستگاه فلوسایتومتر (BD FACSCanto™ flow cytometer; BD Biosciences, Bedford, MA, USA) تحلیل شده و هیستوگرام حاصل، در نرم‌افزار Flowing Software نسخه 2.4.1 با مشخصات Cell Imaging Core, Turku Center for Biotechnology تجزیه‌وتحلیل و در نرم افزار FloMax ver.2.4.e ساخت شرکت Partec (Partec, Münster, Germany) ویرایش گردید. برای محاسبه اندازه ژنوم برحسب Mbp، با توجه به مقاله Doležel و همکاران (2003)، هر ۱ pg از محتوای ژنوم برابر ۹۷۸ Mbp است. اندازه ژنوم مونوپلوئید[1] مقدار DNA یک مجموعه کروموزوم 1 Cx value با تعداد کروموزوم پایه *x* بوده و اندازه ژنوم هولوپلوئید[2] مقدار DNA تمام محتوای کروموزومی با تعداد کروموزوم *n*، صرف‌نظر از هر سطح پلوئیدی، آنیوپلوئیدی و غیره است (Greilhuber *et al.*, 2005; Karimzadeh *et al.*, 2011). برای گیاهان دیپلوئید، اندازه ژنوم به صورت مونوپلوئیدی منظور می‌شود، یعنی تمام هسته سلول‌های هاپلوئید موجود در گامت در نظر گرفته می‌شوند، درحالی‌که در گیاهان با سطوح پلوئیدی متفاوت (همانند جمعیت‌های مورد مطالعه) اندازه ژنوم به صورت هولوپلوئیدی بررسی می‌شود (Greilhuber *et al.*, 2005; Mahdavi and Karimzadeh, 2010). همچنین، مقدار CV و میانگین پیک G_1 برای هر تکرار و نمونه محاسبه شد و برای تخمین مقدار 2C DNA اعمال گردید. برای محاسبه مقدار 2C DNA پیک G1 نمونه از فرمول زیر استفاده شد (Doležel and Bartoš

1 Monoploid

2 Holoploid

(2005; Karimzadeh *et al*., 2011).

(pg) مقدار 2C DNA گیاه استاندارد × (میانگین پیک G_1 استاندارد / میانگین پیک G_1 نمونه) = (pg) مقدار 2C DNA نمونه

روش تجزیه آماری

قبل از انجام تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار Minitab 17 آزمون نرمال بودن داده‌ها انجام شد. نتایج این آزمون نشان داد که داده‌ها نرمال بودند. سپس تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و مقایسه میانگین‌ها بر روی داده‌ها به روش آزمون LSD با استفاده از نرم‌افزارهای Minitab 17 و SAS 9 انجام گردید.

نتایج

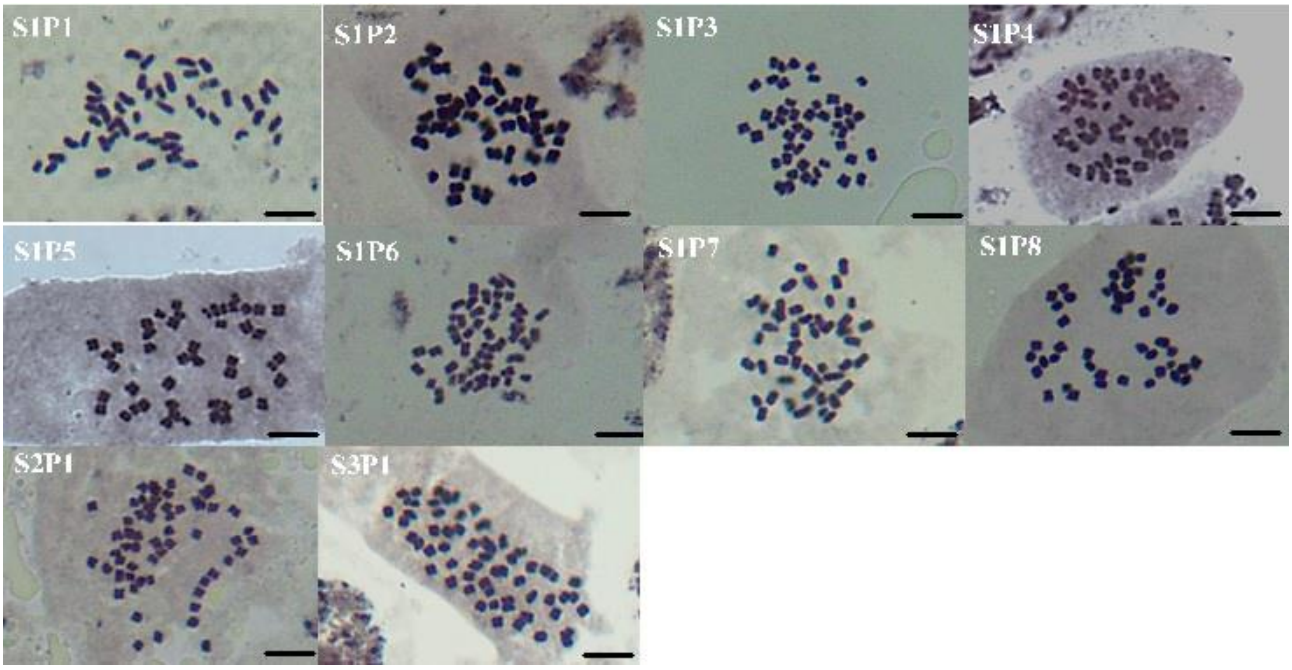
بررسی کاریوتیپی

نتایج حاصل از بررسی کروموزومی تعداد ۱۰ جمعیت مرزه مشخص کرد که هشت جمعیت (S1P1-S1P8) دیپلوئید (۲n=۲x=۴۸) و دو جمعیت (S2P1-S3P1) تراپلوئید (۲n=۴x = ۶۰) بودند (شکل ۱). با توجه به نتایج تجزیه واریانس تفاوت بین جمعیت ها برای طول کرموزوم در سطح ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۳). میانگین طول کروموزوم‌های جمعیت‌های مرزه µm ۱/۴۶ (۱/۱۹–۱/۷۱ µm) بود که بیشترین میانگین طول کل کروموزوم مربوط به جمعیت S1P2 و کوتاه‌ترین آن متعلق به جمعیت S2P1 بود (جدول ۴). از آماره درصد ضریب تغییرات (CV_{CL}%) برای نشان دادن اختلافات بین کروموزوم‌های هر جمعیت و مطالعه تقارن کاریوتیپی استفاده شد. پایین بودن این ضریب نشان دهنده یکنواختی بیشتر اندازه کروموزوم‌های یک کاریوتیپ و یا متقارن بودن آن کاریوتیپ است. بالا بودن ضریب تغییرات نشان‌دهنده پراکنش اندازه کروموزوم‌ها در کاریوتیپ و یا به‌عبارتی نامتقارن بودن کاریوتیپ است (Shariat *et al*., 2013). بالاترین CV_{CL}% مربوط به جمعیت S1P1 (۱۶/۸۷) بود که این جمعیت نسبت به جمعیت‌های دیگر نامتقارن است و جمعیت S1P3 (۱۲/۵۶) دارای کاریوتیپ متقارن در میان بقیه جمعیت‌هاست (جدول ۵).

نتایج حاصل از شاخص DRL% نشان داد که جمعیت S1P2 با داشتن بیشترین مقدار (۲/۸) نامتقارن‌ترین و جمعیت S2P1 با داشتن کمترین مقدار (۱/۷) متقارن‌ترین کاریوتیپ را دارند (جدول ۵). آماره شاخص تقارن S% نیز برای بررسی وضعیت تقارن کاریوتیپ استفاده شد (Gennur *et al*., 1988). البته، هرچه درصد آماره شاخص تقارن بیشتر باشد، کاریوتیپ متقارن‌تر است. این شاخص هرچه به سمت ۱۰۰٪ نزدیک‌تر شود نشان‌دهنده این است که کروموزوم‌ها از لحاظ طول کاملاً مشابه‌اند، گرچه ممکن است در سایر خصوصیات کاریوتیپی با هم متفاوت باشند. از سوی دیگر، هرچه مقدار شاخص تقارن به سمت مقادیر پایین‌تر از ۱۰۰٪ میل کند نشان‌دهنده اختلاف بیشتر طول کروموزوم‌هاست. در بین جمعیت‌های مورد مطالعه، شاخص تقارن جمعیت S1P3 بالاترین (۶۰/۷) مقدار را داشت که نمایانگر شباهت بیشتر کروموزوم‌ها از لحاظ طول، یا متقارن بودن کاریوتیپ است. همچنین شاخص تقارن جمعیت S1P2 کمترین (۴۹/۳) مقدار را داشت که نشان می‌دهد کروموزوم‌ها از لحاظ طول با هم اختلاف بیشتری دارند.

با توجه به اینکه هریک از روش‌های سنجش تقارن کاریوتیپی، از ویژگی خاصی از کروموزوم استفاده کرده‌اند، لزوماً نباید نتایج حاصل از آنها مشابه یکدیگر باشد. یادآوری می‌شود که A_2 شاخص رومرو– زرکو است (Romero-Zarco, 1986) و روش آسانی برای تخمین تغییر در طول کروموزوم می‌باشد که به تعداد و اندازه کروموزومی بستگی ندارد و از آنجایی که از انحراف معیار به جای واریانس استفاده می‌شود، واحد

ندارد. مقدار A_2 از ۰ تا ۱ متغیر است. اگر ۱= A_2 باشد، حداکثر نامتقارنی بین کروموزومی و اگر ۰= A_2 باشد، نشان می‌دهد که بین کروموزوم‌های یک کاریوتیپ نامتقارنی وجود ندارد و یا اختلافی بین کروموزوم‌ها مشاهده نمی‌شود. برای جمعیت‌های مرزه مورد مطالعه، حداکثر مقدار A_2=۰/۱۶ برای جمعیت‌های S1P1، S1P2، S1P6 و S1P8 یعنی دارای بیشترین نامتقارنی بین کروموزومی است و حداقل A_2=۰/۱۲ مربوط به جمعیت S1P3 می‌باشد که بیشترین تقارن بین کروموزومی را نشان می‌دهد (جدول ۵).

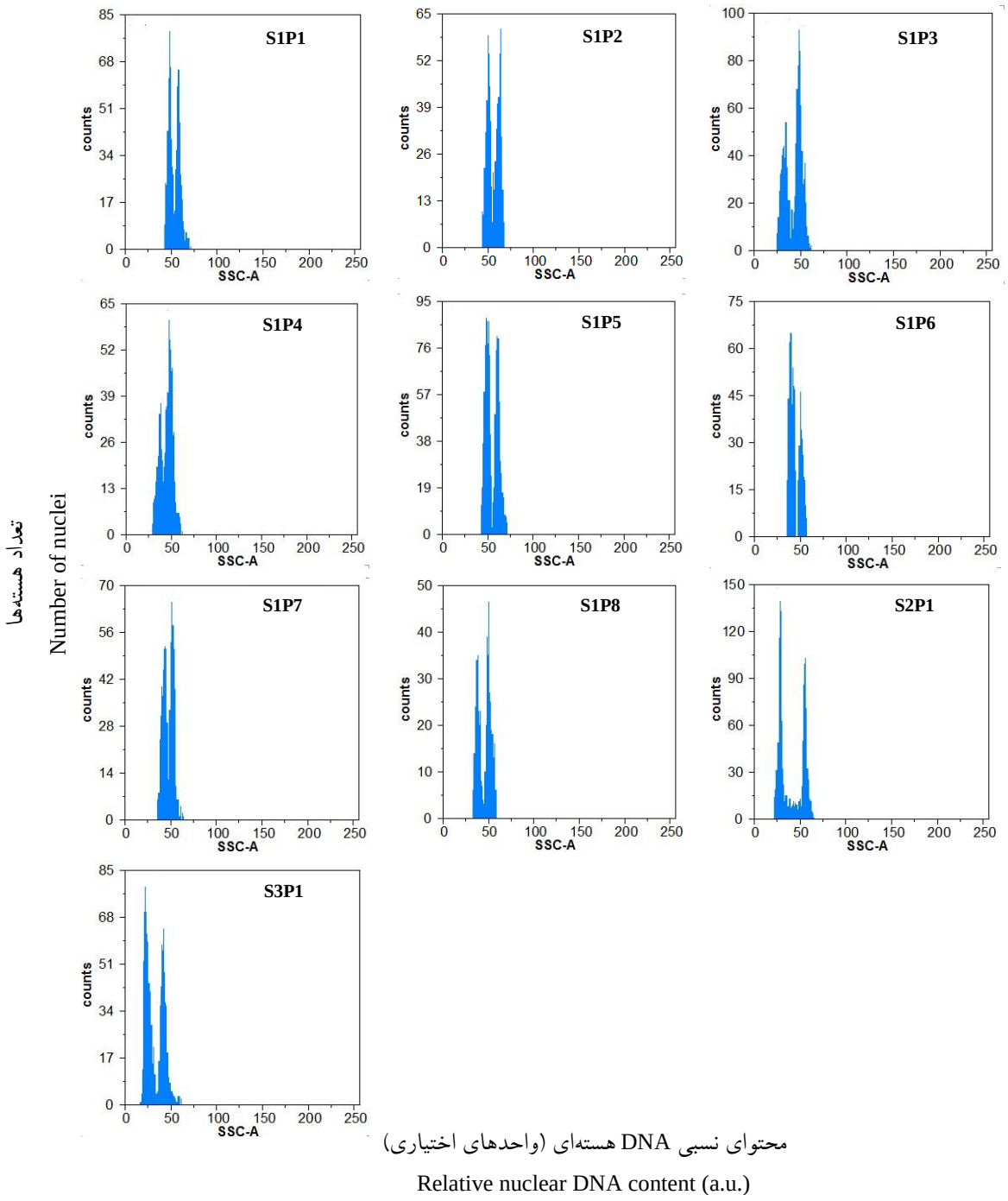


شکل ۱- کاریوتیپ کروموزوم‌های سوماتیکی جمعیت‌های گیاه مرزه (*Satureja* spp.) مورد مطالعه (خط مقیاس = µm ۵)

Fig 1- Somatic chromosomes of *Satureja* population (*Satureja* spp.), Bar = 5 µm

تجزیه وتحلیل فلوسایتومتری مقدار DNA ژنومی گیاه مرزه

برای مقایسه مقدار تقریبی DNA هسته‌ای، از هر جمعیت سه نمونه ارزیابی شد. نتایج به صورت هیستوگرامی از پیک‌های G1 گیاه نمونه مورد بررسی و گیاه استاندارد ارائه شده است که در شکل ۲ برای هر نمونه، هیستوگرام یک تکرار نمایش داده شده است. در شکل‌های مربوطه، محور x نمایانگر شدت فلورسنس و در نتیجه مقدار DNA می‌باشد که با افزایش مقدار DNA (افزایش شدت فلورسنس) تغییر مکان به سمت راست مشاهده می‌گردد. فلوسایتومتری بر روی تمامی جمعیت‌ها با استفاده از گیاه رفرنس استاندارد جعفری (Parsley, *Petroselinum crispum*, 2C DNA = 4.45 pg) و رنگ PI انجام شد. در هر تکرار، میانگین پیک‌های گیاه استاندارد جعفری و پیک‌های گیاه نمونه مرزه (*Satureja* spp.) و ضریب تغییرات (CV%) با کمک نرم‌افزار Partec Ver. 2.4e FloMax محاسبه شد. میانگین ضریب تغییرات پیک‌های گیاهان نمونه و استاندارد کمتر از ۵٪ بود.



شکل ۲- هیستوگرام‌های مربوط به مقدار 2C DNA جمعیت‌های گیاه مرزه (*Satureja* spp.) مورد مطالعه

در هر شکل، پیک سمت چپ مربوط به G1 گیاه مرزه و پیک سمت راست مربوط به G1 گیاه رفرنس استاندارد جعفری (Parsley, *Petroselinum crispum*, 2C DNA = 4.45 pg) است.

Fig 2- Flow cytometric histogram of 2C DNA *Satureja* populations (*Satureja* spp.). In each figure, the left peak indicates G1 peak of the savory plant and the right peak indicates the G1 peak of the standard Parsley reference plant (*Petroselinum crispum*, 2C DNA = 4.45 pg).

تجزیه واریانس طول کروموزوم (CL) و اندازه ژنوم (مقدار 2C DNA) در جمعیت‌های مرزه

در این تحقیق ۱۰ جمعیت گیاه مرزه برای خصوصیت کروموزومی طول کل کروموزوم بررسی و مطالعه شدند. داده‌های کروموزومی به صورت طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار (هر سلول از هر مریستم انتهای ریشه هر گیاه‌چه به‌عنوان یک تکرار) مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج حاصل از تجزیه واریانس در جدول ۳ آورده شده است. طبق نتایج بدست آمده، بین ۱۰ جمعیت مرزه برای طول کروموزوم (CL) اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت. برای تعیین گروه‌های ژنوتیپی با اختلاف معنی‌دار، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱٪ برای طول کروموزوم انجام شد (جدول ٤). بر این اساس ویژگی طول کروموزوم در چهار گروه طبقه‌بندی گردید.

داده‌های اندازه ژنوم (مقدار 2C DNA) با سه تکرار مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفتند. بر اساس جدول ۳ بین جمعیت‌ها از لحاظ مقدار DNA هسته‌ای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت که حکایت از تنوع در مقدار DNA ژنومی بین جمعیت‌های مختلف گیاه مرزه دارد. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱٪ (جدول ٤) انجام شد. پس از انجام مقایسه میانگین، جمعیت‌ها از نظر اندازه ژنوم به هفت گروه طبقه‌بندی شدند. در این مطالعه، مقدار 2C DNA جمعیت‌های S2P1 و S3P1 برای اولین بار گزارش می‌شوند. با وجود بیشتر بودن تعداد کروموزوم در جمعیت‌های تتراپلوئید مورد مطالعه، میانگین اندازه ژنوم در جمعیت‌های دیپلوئید (۳/۵۲ pg) بیش از میانگین اندازه ژنوم در دو جمعیت تتراپلوئید (۲/۳۸ pg) بود.

جدول ۳- تجزیه واریانس ویژگی طول کروموزوم (CL) و اندازه ژنوم (مقدار 2C DNA) جمعیت‌های مرزه

Table 3- Analysis of variance of chromosome length (CL) and genome size (DNA 2C value) of savory populations

منابع تغییرات Source of Variation	طول کروموزوم (CL) Chromosome Length		اندازه ژنوم (مقدار 2C DNA) Genome size	
	DF	MS	DF	MS
جمعیت Population	9	0.122**	9	0.775**
خطا Error	40	0.017	20	0.003
کل Total	49		29	
ضریب تغییرات (٪) Coefficient of variation (%)		8.86		1.79

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

** indicate significant at 1%

جدول ٤- مقایسه میانگین‌های طول کروموزوم (CL) و مقدار 2C DNA جمعیت‌های گیاه مرزه (*Satureja* spp.) مورد مطالعه

Table 4 - Comparison of mean chromosome length (CL) and 2C DNA values of savory populations

جمعیت Population	سطح پلوئیدی Ploidy level	طول کروموزوم Chromosome length	2*n*	*x*	2C DNA mean (pg) ± SE	1C DNA mean (pg)	اندازه ژنوم هولوپلوئید (1C DNA, Mbp)	اندازه ژنوم مونوپلوئید (1Cx DNA, Mbp)
S1P1	2*x*	$1.71^{a} \pm 0.08$	48	24	$3.78^{a} \pm 0.05$	1.89	1848.42	1848.42
S1P2	2*x*	$1.70^{a} \pm 0.05$	48	24	$3.64^{b} \pm 0.03$	1.82	1779.96	1779.96
S1P3	2*x*	$1.35^{bcd} \pm 0.03$	48	24	$3.29^{e} \pm 0.03$	1.64	1603.92	1603.92
S1P4	2*x*	$1.54^{abc} \pm 0.04$	48	24	$3.46^{cd} \pm 0.03$	1.73	1691.94	1691.94
S1P5	2*x*	$1.42^{bcd} \pm 0.05$	48	24	$3.56^{bc} \pm 0.01$	1.78	1740.84	1740.84
S1P6	2*x*	$1.32^{cd} \pm 0.04$	48	24	$3.50^{c} \pm 0.01$	1.75	1711.50	1711.50
S1P7	2*x*	$1.57^{ab} \pm 0.08$	48	24	$3.63^{b} \pm 0.02$	1.81	1770.18	1770.18
S1P8	2*x*	$1.32^{cd} \pm 0.06$	48	24	$3.34^{de} \pm 0.05$	1.67	1633.26	1633.26
S2P1	4*x*	$1.19^{d} \pm 0.08$	60	15	$2.25^{g} \pm 0.04$	1.12	1095.36	547.68
S3P1	4*x*	$1.39^{bcd} \pm 0.04$	60	15	$2.51^{f} \pm 0.06$	1.25	1222.50	611.25
Range		1.71-1.19			3.78 -2.25	1.1-12.89	1095.18-36.42	547.18-68.42
$LSD_{1\%}$		0.22			0.13			

در ستون‌های CL و 2C DNA، میانگین‌های دارای حرف لاتین مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با هم ندارند.

میانگین طول کروموزوم در میان کل جمعیت‌ها (CL = ۱/٤٦) و جمعیت‌های S1P1 و S2P1 به‌ترتیب ۱/۷۱ و ۱/۱۹ بیشترین و کمترین طول کروموزوم را داشتند.

In CL and 2C DNA columns, means with a common Latin letter are not statistically significant at the 1% probability level.

Mean chromosome length among total populations (CL = 1.46) and S1P1 and S2P1 populations had the highest and lowest chromosome lengths of 1.71 and 1.19, respectively.

جدول ٥- اطلاعات تقارن کاریوتیپی ۱۰ جمعیت گیاه مرزه (*Satureja* spp.) مورد مطالعه

Table 5- Karyotypic cymmetry data of 10 savory population (*Satureja* spp.)

کد جمعیت	تقارن کاریوتیپی A_2	CV_{CL}%	S%	DRL%
S1P1	0.16	16.87	50.69	2.65
S1P2	0.16	16.81	49.32	2.80
S1P3	0.12	12.56	60.74	2.05
S1P4	0.15	15.23	54.15	2.43
S1P5	0.13	13.02	58.42	2.17
S1P6	0.16	16.44	52.10	2.72
S1P7	0.13	13.89	55.59	2.32
S1P8	0.16	16.63	55.23	2.43
S2P1	0.13	12.83	60.21	1.75
S3P1	0.14	13.69	55.50	1.90
Range	0.0-12.16	12.16-56.87	49.60-32.74	1.2-75.80

بحث

تعداد ۱۰ جمعیت مرزه برای ویژگی طول کروموزوم مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس، حکایت از اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ برای طول کروموزوم داشت. هرچند که تنوع کاریوتیپی می‌تواند منشأ ایجاد تنوع ژنتیکی باشد، اما ممکن است از

انجام موفق تلاقی‌های درون گونه‌ای و بین گونه‌ای ممانعت به‌عمل آورد. ازاین‌رو، انتخاب پایه‌های والدینی برای انجام موفق تلاقی‌های درون و بین گونه‌ای باید بر مبنای تشابه بیشتر کاریوتیپ‌ها از نظر این شاخص‌ها باشد که بیانگر همولوژی بیشتر کروموزوم‌ها خواهد بود. گزارش‌ها در گیاه مرزه حکایت از تنوع سطح پلوئیدی و تفاوت در تعداد کروموزوم‌های پایه (۲۴، ۲۲، ۲۱، ۱۵، ۱۴، ۱۳، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۹، ۶= x) دارد (Krogulevich, 1978; Gill, 1981; Arohonka, 1982; Morton, 1993; Markova and Goranova, 1995; Shariat *et al.*, 2013, Irani *et al.*, 2014). در این تحقیق، نتایج بررسی کاریوتیپ نشان داد که هشت جمعیت (S1P1-S1P8) دیپلوئید ($2n = 2x = 48$) و دو جمعیت S2P1 و S3P1 تتراپلوئید ($2n = 4x = 60$) بودند. تعداد کروموزوم‌های پایه در جمعیت‌های دیپلوئید برابر با ۲۴= x و در دو جمعیت تتراپلوئید برابر با ۱۵= x بود. مطالعاتی در رابطه با بررسی کاریوتیپی گونه *Satureja hortensis* وجود دارد که در توافق با این مطالعه و بیانگر ۴۸ عدد کروموزوم در این گونه دیپلوئید است (Ferakova and Murin, 1974; Gill, 1981). در مطالعه‌ای، کاریوتیپ سه جمعیت متعلق به گونه *S. mutica* جمع‌آوری شده از استان‌های لرستان، خراسان و گیلان بررسی شد. این جمعیت‌ها دیپلوئید با تعداد کروموزوم ($2n = 2x = 26$) گزارش شد (Irani *et al.*, 2014). به بیانی دیگر، تعداد کروموزوم‌های پایه در جمعیت‌های این گونه ۱۳ کروموزوم گزارش گردید (x =۱۳). در این تحقیق، گونه *S. mutica* (جمعیت S2P1) جمع‌آوری شده از استان آذربایجان‌شرقی تتراپلوئید ($2n = 4x = 60$) با تعداد کروموزوم‌های پایه ۱۵ کروموزوم گزارش گردید (x = ۱۵). تفاوت سطح پلوئیدی و تعداد کروموزوم این گونه در گزارش مذکور و این تحقیق، بیانگر وجود تنوع درون گونه‌ای قابل توجهی برای برنامه‌های اصلاحی در این گونه است. وضعیت مشابهی در گیاه دارویی آویشن (*Thymus daenensis*) با دو سطح پلوئیدی و تعداد کروموزوم‌های پایه متفاوت ($2n = 2x = 30$، $2n = 4x = 60$، 56; x = ۱۵، ۱۴) گزارش شده است (Mahdavi and Karimzadeh, 2010). در این مطالعه، دو جمعیت دیپلوئید مربوط به دو استان اصفهان و مرکزی و دو جمعیت تتراپلوئید مربوط استان لرستان بود که حکایت از تنوع بسیار خوب ژنتیکی گیاهی در فلات ایران دارد.

میانگین طول کروموزوم در همه ۱۰ جمعیت گیاه مرزه مربوط به سه گونه *Satureja hortensis*، *S. mutica* و *S. boissieri* مورد مطالعه ۱/۴۶ µm (دامنه ۱۹/۷۱ µm–۱/۱) بود که از ۱/۱۹ µm در جمعیت تتراپلوئید S2P1 تا ۱/۷۱µm در جمعیت دیپلوئید S1P1 متغیر بود. نتایج حاصل از بررسی کاریوتیپی سایر محققان روی گونه‌های مختلف مرزه حکایت از آن دارد که میانگین طول کروموزوم‌ها در جمعیت‌های متعلق به گونه‌های *S. mutica* ($2n = 2x = 26$) ۲/۰۹ µm (دامنه ۸۷/۳۱ µm–۱/۲)، *S. spicigera* ($2n = 2x = 44$) ۱/۶۱ µm (دامنه ۵۷/۶۴ µm–۱/۱)، *S. macrosiphonia* ($2n = 2x = 28$) ۱/۹۳ µm (دامنه ۸۱/۰۵ µm–۱/۲)، *S. sahandica* ($2n = 2x = 30$) ۱/۶۰ µm (دامنه ۵۲/۶۵–۱/۱) (Irani *et al.*, 2014) و میانگین این شاخص در گونه‌های *S. bakhtiarica* ($2n = 2x = 30$) ۱/۴۴ µm، *S. khuzestanica* ($2n = 2x = 30$) ۱/۵۰ µm، *S. rechingeri* ($2n = 2x = 30$) ۱/۹۵ µm، *S. sahandica* ($2n = 2x = 30$) ۱/۳۵ µm و *S. spicigera* ($2n = 4x = 60$) ۱/۳۶ µm بودند (Shariat *et al.*, 2013). جمعیت S2P1 در این مطالعه، کمترین طول کروموزوم را در مقایسه با تمام گونه‌های مورد بررسی مذکور دارا بود.

برای تعیین تقارن کاریوتیپی، جمعیت‌های مرزه مورد بررسی قرار گرفتند. بر پایه شاخص DRL% جمعیت S1P2 با داشتن بیشترین مقدار (۲/۸) نامتقارن‌ترین و جمعیت S2P1 با داشتن کمترین مقدار (۱/۷) متقارن‌ترین کاریوتیپ را داشتند. نتایج شاخص تقارن جمعیت S% نشان داد که جمعیت S1P3 بالاترین (۶۰/۷) مقدار را دارد که نمایانگر متقارن بودن کاریوتیپ است. همچنین،

شاخص تقارن جمعیت S1P2 کمترین (۴۹/۳) مقدار را دارد که نشان می‌دهد کروموزوم‌ها از لحاظ طول با هم اختلاف بیشتری دارند. A_2 شاخص نامتقارن بودن کروموزومی است و روش آسانی برای تخمین تغییر در طول کروموزوم می‌باشد که به تعداد و اندازه کروموزومی بستگی ندارد. مقدار A_2 از ۰ تا ۱ متغیر است. اگر A_2 = ۱ باشد، حداکثر نامتقارنی بین کروموزومی و اگر A_2 = ۰ باشد، نشان می‌دهد که بین کروموزوم‌های یک کاریوتیپ نامتقارنی وجود ندارد و یا اختلافی بین کروموزوم‌ها مشاهده نمی‌شود. برای جمعیت‌های مرزه مورد مطالعه، حداکثر مقدار A_2 = ۰/۱۶ برای جمعیت‌های S1P1، S1P2، S1P6، S1P8 بود که نشان‌دهنده بیشترین نامتقارنی بین کروموزومی است و حداقل A_2 = ۰/۱۲ مربوط به جمعیت S1P3 می‌باشد که بیشترین تقارن بین کروموزومی را نشان می‌دهد. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که گونه‌های گیاهی که از نظر تکاملی پیشرفته‌تر هستند دارای تنوع در نوع و اندازه کروموزوم بوده و در نتیجه از نظر کاریوتیپی نامتقارن‌تر می‌باشند که این عدم تقارن در اثر جابجایی قطعات کروموزومی تشدید می‌گردد. عدم تشابه کاریوتیپی از نظر پارامترهای سنجش تقارن کاریوتیپی می‌تواند ضمن جلوگیری از انجام موفق تلاقی‌های درون گونه‌ای منجر به نارسایی در تولیدمثل و تولید بذر نامناسب در نتاج شود. به‌عبارت دیگر، ممکن است نتایج حاصل از این گونه تلاقی‌ها تا اندازه‌ای عقیم باشند (Sharma, 1994).

فلوسایتومتری بر روی تمامی جمعیت‌ها با استفاده از گیاه رفرنس استاندارد جعفری (Parsley, *Petroselinum crispum*, 2C DNA = 4.45 pg) و رنگ PI انجام شد. میانگین 2C DNA برای تمامی جمعیت‌های دیپلوئید 2C DNA = 3.52 pg (دامنه ۲۹/۷۸ pg–۳/۳) و برای دو جمعیت تتراپلوئید 2C DNA=2.38 pg (دامنه ۲۵/۵۱ pg–۲/۲) تفاوت آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ نشان داد. در بیشتر موارد، نتایج حاصل از بررسی اندازه ژنوم گیاهان، حکایت از بالاتر بودن مقدار 2C DNA گونه‌های تتراپلوئید نسبت به گونه‌های دیپلوئید همان جنس بوده است (Mahdavi and Karimzadeh, 2010; Shariat *et al.*, 2018b, Shariat and Sefidkon, 2021). اما بر خلاف انتظارات، در این تحقیق، میانگین اندازه ژنوم در جمعیت‌های دیپلوئید (۳/۵۲ pg) بیش از میانگین اندازه ژنوم در دو جمعیت تتراپلوئید (۲/۳۸ pg) بود. به‌طوری‌که بیشتر بودن اندازه ژنوم جمعیت‌های دیپلوئید، به تفاوت در تعداد کروموزوم‌های پایه در هشت جمعیت دیپلوئید (x = ۲۴) و دو جمعیت تتراپلوئید (x = ۱۵) نسبت داده می‌شود.

مدارک بسیاری بیانگر آن است که بین اندازه ژنوم و سطح پلوئیدی لزوماً رابطه مستقیمی وجود ندارد (Karimzadeh, 2012; Lipnerová *et al.*, 2013). در تعدادی از گزارش‌ها، مقایسه اندازه ژنوم در گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید از یک جنس ولی با گونه‌های متفاوت، نشان داد که اندازه ژنوم در گیاهان دیپلوئید بیش از گیاهان تتراپلوئید بود. در تحقیقی، با بررسی اندازه ژنوم پنج گونه مختلف جنس آرتمیزیا (*Artemisia*)، نتایج نشان داد که اندازه ژنوم گونه دیپلوئید (*A. deserti*, ۲n = ۲x = ۱۸; 2C DNA = 13.99 pg) حدود ۱/۲ برابر بیشتر از گونه تتراپلوئید (*A. marschalliana*, ۲n = ۴x = ۳۶; 2C DNA = 11.50 pg) بود (Salehi *et al.*, 2018). البته، مقایسه اندازه ژنوم گونه‌های یک جنس، در سطوح هاپلوئید و مونوپلوئید نیز انجام شده است. در مطالعه‌ای روی تعداد ۵۱ گونه مختلف دیپلوئید و آمفی‌دیپلوئید جنس تنباکو (*Nicotiana*)، با بررسی اندازه ژنوم هاپلوئید (n) هر گیاه، در بعضی موارد گونه‌های آمفی‌دیپلوئید اندازه ژنوم کمتری نسبت به گونه‌های دیپلوئید داشتند (Narayan, 1987). مطالعه‌ای دیگر روی گونه‌های مختلف توت فرنگی (*Fragaria*) با چهار سطح پلوئیدی متفاوت (۲x, ۴x, ۶x, ۸x)، بیانگر رابطه منفی اندازه ژنوم کروموزوم‌های پایه (x) و سطح پلوئیدی بود. به‌عبارت دیگر، افزایش سطح پلوئیدی، با کاهش اندازه ژنوم

کروموزوم‌های پایه همراه بود (Nosrati, 2015). گیاهان پلی‌پلوئید به دلیل داشتن ژنوم بزرگتر، اغلب دارای اندازه روزنه بزرگتر (Beaulieu *et al.*, 2007; Majdi *et al.*, 2010; Shariat *et al.*, 2018a)، زمان گلدهی زودتر (Veselý *et al.*, 2012) و چرخه عمر طولانی‌تر (Pellicer *et al.*, 2010) هستند. در این تحقیق، از آنجایی که اندازه ژنوم جمعیت‌های تتراپلوئید کمتر از جمعیت‌های دیپلوئید بود، بنابراین کمترین اندازه روزنه و سلول‌های محافظ نیز در دو جمعیت تتراپلوئید تشخیص داده شد. گونه‌هایی با اندازه ژنوم بزرگ‌تر دارای احتمال بیشتری برای پوشش مناطق وسیع هستند که به‌دلیل تعداد شاخه بیشتر و تاج پوششی بزرگ‌تر است. از سویی، گیاهان با ژنوم کوچکتر، در مقایسه با گونه‌های دارای ژنوم بزرگتر، در سازگاری با زیستگاه‌های متغیر موفق‌ترند. این احتمالاً به این دلیل است که گیاهان با ژنوم کوچکتر، سلول‌های کوچکتر (Cavalier-Smith, 1982) داشته و تقسیمات میتوز و میوز سریع‌تر (Knight and Beaulieu, 2008)، جوانه‌زنی سریع دارند که سبب کاهش زمان چرخه تولید نسل (Mowforth and Grime, 1989) می‌شود.

منابع مورد استفاده

– Arohonka, T. (1982). Chromosome counts of vascular plants of the island Seili in Nauvo, southwestern Finland. Turun Yliopiston Biologian laitoksen Julkaisuja, 3: 1-12. (In Finnish)
– Beaulieu, J.M., Moles, A.T., Leitch, I.J., Bennett, M.D., Dickie, J.B., and Knight, C.A. (2007). Correlated evolution of genome size and seed mass. New Phytologist, 173(2): 422-437.
– Cavalier-Smith, T. (1982). Skeletal DNA and the evolution of genome size. Annual Review of Biophysics and Bioengineering, 11(1): 273-302.
– Ceccarelli, M., Morosi, L., and Cionini, P. G. (1998). Chromocenter association in plant cell nuclei: determinants, functional significance, and evolutionary implications. Genome, 41: 96-103.
– Doležel, J. and Bartoš, J. (2005). Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. Annals of Botany, 95(1): 99-110.
– Doležel, J., Bartoš, J., Voglmayr, H., and Greilhuber, J. (2003). Nuclear DNA content and genome size of trout and human. Cytometry, 51(2): 127-129.
– Doležel, J., Greilhuber, J., and Suda, J. (2007). Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. Nature Protocols, 2(9): 2233-2244.
– Ferakova, V. and Murin, A. (1974). In index of chromosome numbers of Slovakian flora. Part 4. Acta Facultatis Rerum Naturalium Universitatis Comenianae Botany, 23: 1-23.
– Gill, L.S. (1981). Chromosomal evolution and incidence of polyploidy in the Canadian Labiatae. Revue de cytologie et de biologie végétales ; le botaniste. 4: 331-339.
– Greilhuber, J., Doležel, J., Lysák, M.A., and Bennett, M.D. (2005). The origin, evolution and proposed stabilization of the terms ‘genome size’ and ‘C-value’ to describe nuclear DNA contents. Annals of Botany, 95: 255-260.
– Hamidpour, R., Hamidpour, S., Hamidpour, M., Shahlari, M., and Sohraby, M. (2014). Summer savory: from the selection of traditional applications to the novel effect in relief, prevention, and treatment of a number of serious illnesses such as diabetes, cardiovascular disease, alzheimer’s disease, and cancer. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 4(3): 140-144.
– Irani, P., Mohsen, S., Hejazi, H., Reza, S., and Aghdaei, T. (2014). Karyological study on four species of *Satureja* (Lamiaceae) in Iran. International Journal of Biosciences, 4(7): 229-240.
– Jamzad, Z. (2009). *Thymus* and *Satureja* Species of Iran. Publishing of Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran.
– Karimzadeh, G. (2012). Effect of Low Temperature on Cell Division and Morphology of Wheat. LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG. Heinrich-Böcking-Straße 6-8. 66121 Saarbrücken, Germany, 356 p.
– Karimzadeh, G., Danesh-Gilevaei, M., and Aghaalikhani, M. (2011). Karyotypic and nuclear DNA variations in *Lathyrus sativus* (Fabaceae). Caryologia, 64(1): 42-54.
– Knight, C.A. and Beaulieu, J.M. (2008). Genome size scaling through phenotype space. Annals of Botany, 101(6): 759-766.
– Krogulevich, R.E. (1978). Karyological analysis of the species of the flora of eastern Sayana. In Malyshev, L.I. and Peshlcova, G.A. (eds.), Flora of the Prebaikal. Novosibirsk pp. 19-48.
– Lipnerová, I., Bures, P., Horova, L., and Smarda, P. (2013). Evolution of genome size in *Carex* (Cyperaceae) in relation to chromosome number and genomic base composition. Annals of Botany, 111(1): 79-94.

karyotype asymmetry. Taxon 35: 526–530.
– Salehi, M., Karimzadeh, G., Naghavi, M.R., Naghdibadi, H., and Rashidi Monfared, S. (2018). Expression of key genes affecting artemisinin content in five *Artemisia* species. Scientific Reports, 8 (12659): 1-11.
– Shariat, A., Karimzadeh, G., and Assareh, M.H. (2013). Karyology of Iranian endemic *Satureja* (Lamiaceae) species. Cytologia, 78(3): 305-312.
– Shariat, A., Karimzadeh, G., Assareh, M.H., and Esfahan, E.Z. (2016). Drought stress in Iranian endemic savory (*Satureja rechingeri*): *In vivo* and *In vitro* studies. Journal of Plant Physiology and Breeding, 6(1): 1-13.
– Shariat, A., Karimzadeh, G., Assareh, M.H., and Hadian, J. (2017). Variations of physiological indices and metabolite profiling in *Satureja khuzistanica* in response to drought stress. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 25(2): 232-246.
– Shariat, A., Karimzadeh, G., Assareh, M. H., Hadian, J. (2018a). Metabolite profiling and molecular responses in a drought-tolerant savory, *Satureja rechingeri* exposed to water deficit. 3 Biotech, 8(11): 1-11.
– Shariat, A., Karimzadeh, G., Assareh, M.H., and Loureiro, J. (2018b) Relationships between genome size, morphological and ecological traits in *Satureja* (Lamiaceae) species. Iranian Journal of Botany, 24(2): 163-173.
– Shariat, A. and Sefidkon, F. (2021). Tetraploid induction in savory (*Satureja khuzistanica*): cytological, morphological, phytochemical and physiological changes. Plant Cell, Tissue and Organ Culture .https://doi.org/10.1007/s11240-021-02053-y
– Sharma, J.R. (1994). Principals and Practice of Plant Breeding. New Dehli: McGraw-Hill Publishing Company, India.
– Siljak-Yakovlev, S., Pustahija, F., Åolic, E.M., Bogunic, F., Muratovic, E., BaÅ¡ic, N., Catrice, O., and Brown, S.C. (2010). Towards a genome size and chromosome number database of Balkan flora: C-values in 343 taxa with novel values for 242. Advanced Science Letters, 3: 190-213.
– Veselý, P., Bureš, P., Šmarda, P., and Pavlíček, T. (2012). Genome size and DNA base composition of geophytes: the mirror of phenology and ecology? Annals of Botany, 109(1): 65-75.
– Loureiro, J., Rodriguez, E., Doležel, J., and Santos, C. (2005). Assessment of ploidy stability of the somatic embryogenesis process in *Quercus suber* L. using flow cytometry. Planta, 221(6): 815-822.
– Loureiro, J., Rodriguez, E., Doležel, J., and Santos, C. (2007). Two new nuclear isolation buffers for plant DNA flow cytometry: A test with 37 species. Annals of Botany, 100(4): 875-888.
– Mahdavi, S. and Karimzadeh, G. (2010). Karyological and nuclear DNA content variation in some Iranian endemic *Thymus* species (Lamiaceae). Journal of Agricultural Science and Technology, 12(4): 447-458.
– Majdi, M., Karimzadeh, G., Malboobi, M.A., Omidbaigi, R., and Mirzaghaderi, G. (2010). Induction of tetraploidy to feverfew (*Tanacetum parthenium* Schulz-Bip.): morphological, physiological, cytological, and phytochemical changes. HortScience, 45(1): 16-21.
– Markova, M. and Goranova, V. (1995). Mediterranean chromosome number reports 5(435-473). Fl. Medit, 5: 289-317.
– Markova, M.L. (1989). Chromosome numbers of Bulgarian angiosperms. Fitologija, 36: 67-68.
– Morton, J.K. (1993). Chromosome numbers and polyploidy in the flora of Cameroons Mountain. Opera Botanica, (121): 159-172.
– Mowforth, M.A. and Grime, J.P. (1989). Intra-population variation in nuclear DNA amount, cell size and growth rate in *Poa annua* L. Functional Ecology, 3(3): 289-295.
– Narayan, R.K.J. (1987). Nuclear DNA changes, genome differentiation and evolution in *Nicotiana* (Solanaceae). Plant Systematics and Evolution, 157(3-4): 161-180.
– Noormand Moaied, F., Bihamta, M.R., Tabaei Aghdaei, S.R., and Naghavi, M.R. (2021). Study of phylogenetic relationships of different species of *Satureja* spp. based on nuclear ITS region and chloroplast *matK* gene. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 28(2): 173-190.
– Nosrati, H. (2015). Relationship between ploidy level and genome size in strawberries. Plant Biosystems. An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, 149(6): 1036-1041.
– Pellicer, J., Fay, M.F., and Leitch, I.J. (2010). The largest eukaryotic genome of them all? Botanical Journal of the Linnean Society, 164(1): 10-15.
– Romero-Zarco, C. 1986. A new method for estimating

Chromosomal and genome size diversity in savory (*Satureja* spp.) medicinal plant

S. Zare Teymoori[1], G. Karimzadeh[2*], and A. Shariat[3]

1- M.Sc. Graduated, Dept. Plant Genetics and Breeding, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
2- Corresponding Author, Prof. Dept Plant Genetics and Breeding, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. Email: karimzadeh_g@modares.ac.ir
3- Researcher, Research Institute of Forests and Rangelands of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Received: 07.04.2021 Accepted: 10.09.2021

Abstract

Savory (*Satureja* spp.) with different species and valuable compounds such as thymol and carvacrol, has special importance among medicinal plants. In this study, the seeds of eight populations of three different species of *Satureja* (*S. hortensis*, *S. mutica*, and *S. boissieri*), as well as the seeds of two improved German savory cultivars (*S. hortensis* cv. Aromag) and (*S. hortensis* cv. Saturn), were evaluated cytogenetically. Karyotypic results showed that eight populations of *S. hortensis* (S1P1-S1P8) were diploid ($2n=2x=48$) and two populations of *S. boissieri* and *S. mutica* (S2P1 and S3P1) were tetraploid ($2n=4x=60$) with different basic chromosome numbers of 24 and 15, respectively. The average chromosome length in all the populations was 1.46 µm (ranged from 1.19 to 1.71 µm). Propidium iodide (PI) flourochrome and standard parsley plant (*Petroselinum crispum*, 2C DNA = 4.45 pg) were used to measure genome size using flow cytometry. Data were statistically analyzed in a completely randomized design with five and three replications for chromosome length and genome size, respectively. The results showed a significant difference among the populations based on the two statistics methods ($p<0.01$). The mean value of 2C DNA for all the diploids was 3.52 pg (ranged from 3.29 to 3.78 pg) and for the two tetraploid populations was 2.38 pg (ranged from 2.25 to 2.51 pg). In the present study, the amount of genome size was reported for the first time for the mentioned species, which along with other measured traits can contribute to the richness of karyological knowledge in *Satureja*.

Keywords: Savory, *Satureja*, Medicinal plant, Chromosome, Genome size, Flow cytometry