

## مطالعه کاربولوژیکی چهار گونه *Anthemis* از ایران

کاظم یوسفزاده<sup>۱\*</sup>، سعداله هوشمند<sup>۲</sup> و حسین زینلی<sup>۳</sup>

\*- نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه شهرکرد پست الکترونیک: Kayousefzadeh@yahoo.com

۲- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهرکرد

۳- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان

تاریخ پذیرش: ۸۹/۰۳/۲۳

تاریخ دریافت: ۸۸/۰۷/۱۲

### چکیده

در این مطالعه، تنوع چهار گونه *Anthemis* متعلق به مناطق مختلف ایران با استفاده از ویژگی‌های کاربولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور آلفا برمونفتالین جهت پیش تیمار، محلول لویتسکی جهت تثبیت، سود یک نرمال برای هیدرولیز و استوهماتوکسیلین آهن جهت رنگ‌آمیزی استفاده شدند. صفات و ویژگی‌های کاربوتیبی شامل طول کل مجموع کروموزومی دیپلوئید، درصد شکل کلی، شاخص عدم تقارن، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی محاسبه شدند. در همه گونه‌های مورد بررسی تعداد کروموزومها  $2n=18$  بود. آنالیز کاربوتیبی نشان داد که کروموزوم‌های متاستریک در همه گونه‌ها غالبیت داشته و ماهواره بصورت ریز در اغلب آنها قابل مشاهده است و بلندترین کروموزوم و طول کل مجموع کروموزومی به *A. altissima* تعلق داشت. براساس جدول دوطرفه استبیز، گونه *A. pseudocotula* در کلاس کاربوتیبی ۱A و گونه‌های *A. cotula*، *A. hyalina* و *A. altissima* در کلاس ۲A قرار گرفتند. گونه‌های مورد بررسی شاخص عدم تقارن درون کروموزومی بین ۰/۲۸-۰/۴ و عدم تقارن بین کروموزومی ۰/۱۲-۰/۱۵ نشان دادند و در مجموع، کاربوتیبی *A. pseudocotula* متقارن‌تر از سایر گونه‌ها بود. تجزیه خوشه‌ای نمونه‌های مورد بررسی براساس داده‌های کاربولوژیکی نشان داد که رابطه نزدیکی بین *A. cotula* و *A. hyalina* وجود دارد. در این بررسی شمارش کروموزومی *A. hyalina* و *A. pseudocotula* برای اولین بار گزارش می‌شوند و دیگر شمارش‌ها با گزارش‌های قبلی مطابقت دارند.

واژه‌های کلیدی: آنتمیس، تنوع ژنتیکی، کاربوتیبی، کروموزوم.

### مقدمه

آستراسه (Astraceae) بزرگ‌ترین خانواده گیاهی می‌باشد (Bremer, 1994). این خانواده جنس‌ها و گونه‌های بسیاری دارد که در کل دنیا دارای پراکندگی بوده و بدلیل در بر داشتن تعداد بسیار زیادی گیاهان مفید، موضوع تعداد زیادی از مطالعات کاربولوژیکی قرار گرفته

است (Watanabe, 2002). آنتمیده (Anthemideae) جزو یکی از هفت تبار بزرگ آستراسه با حدود ۱۰۹ جنس و در حدود ۱۸۰۰ گونه در سطح جهان است (Bremer, 1994; Tahir et al., 2002). آنتمیده در ایران شامل ۱۲ جنس و حدود ۱۳۴ گونه است که از میان آنها *Anthemis*، *Tanacetum*، *Achillea* و *Artemisia* جزء

### مواد و روشها

در این مطالعه، چهار گونه از جنس *Anthemis* شامل *A. pseudocotula*، *A. cotula*، *A. altissima* و *A. hyalina* در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). بذر گونه‌ها از بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تهیه شدند.

به منظور تهیه کاربوتیپ از مریستم انتهایی ریشه استفاده شد که از بذرهای کشت شده روی کاغذ صافی مرطوب در پتری دیش بدست آمدند. پتری‌ها در اتاقک رشد فاقد نور با دمای متناوب ۱۵ درجه (۸ ساعت) و ۲۰ درجه سانتیگراد (۱۶ ساعت) قرار داده شدند. پس از ۴-۳ روز ریشه‌چه‌های مناسب (با طول ۰/۵ تا ۱ سانتیمتر) از بذرها جدا گردیدند. برای بدست آوردن سلول‌های مناسب در مرحله تقسیم میتوزی، ریشه‌های بذری بدست آمده به مدت شش ساعت در محلول پیش‌تیمار آلفابروموفتالین در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. به منظور تثبیت، ریشه‌چه‌ها پس از شستشو به محلول تثبیت کننده لویتسکی (فرمالدئید ۱۰٪ + اسید کرومیک ۱٪ به نسبت ۱:۱) منتقل شدند و به مدت ۲۴ تا ۳۶ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد در محلول مذکور نگه‌داری شده و سپس به مدت ۱/۵ ساعت با استفاده از جریان ملایم آب لوله‌کشی شستشو شدند. زمان هیدرولیز با توجه به گونه گیاهی اندکی متغیر است و در این مطالعه زمان ۲۵-۲۰ دقیقه توسط سود یک نرمال در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد مناسب تشخیص داده شد و رنگ آمیزی با استفاده از استو-هماتوکسیلین آهن (Guerra, 1999) به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد انجام شد. پس از رنگ‌آمیزی با استفاده از تکنیک اسکواش اقدام به تهیه

مهم‌ترین جنس‌ها می‌باشند (Poljakov, 1967; Rechinger, 1986). جنس *Anthemis* دومین جنس بزرگ تبار آنتمیده است و دارای بیش از ۲۱۰ گونه می‌باشد که ۱۵۰ گونه آن در آسیا (Bremer & Humphries, 1993) شناسایی شده است. در ایران ۳۹ گونه گیاه علفی یکساله و چندساله از آن وجود دارد که تعداد ۱۵ گونه آن منحصراً بومی ایران می‌باشند (مظفریان، ۱۳۷۵). مطالعات کاربولوجیکی و سیتولوجیکی زیادی از این تاکسون انجام شده است، با این حال به نظر می‌رسد که شمارش کروموزومی در کمتر از ۴۰ درصد گونه‌های آنتمیده انجام شده باشد (Valles et al., 2003). بنابراین مطالعات کاربولوجیکی این جنس هنوز حائز اهمیت می‌باشد، بخصوص آنکه علاوه بر دانش اندکی که از شمارش کروموزومی این گونه‌ها در اختیار است، اطلاعات بسیار کمتری از ویژگی‌های کروموزومی آنها و تنوعی که از نظر ویژگی‌های کروموزومی درون و بین گونه‌ها مشاهده می‌شود، در دست است.

بطور کلی، از طریق مطالعه صفات سیتوزنتیکی، امکان مقایسه جمعیت‌ها و گیاهان وحشی و بومی فراهم می‌شود. وجود اختلاف در شکل و اندازه کروموزوم‌ها در تقسیم میتوز و نیز رفتار کروموزوم‌ها در مراحل تقسیم میوز بیانگر وجود تنوع ژنتیکی می‌باشد. این اختلافات در داخل جمعیت‌ها نیز قابل انتظار است و گیاهان متعلق به یک گونه هیچ‌گاه کاملاً شبیه نیستند (Stebbins, 1971).

هدف این پژوهش، مطالعه و بررسی چهار گونه از جنس *Anthemis* از نظر ویژگی‌های کاربوتیپی، عدد کروموزومی و همچنین تعیین قرابت و خویشاوندی بین گونه‌های مورد مطالعه با استفاده از تجزیه خوشه‌ای بوده است.

تغییرات شاخص سانترومری  $CV_{CI} = (S_{CI} / \bar{X}_{CI} \times 100)$ . نهایتاً با استفاده از این داده‌ها و بکارگیری تجزیه خوشه‌ای به روش Ward نمونه‌های مورد بررسی گروه‌بندی گردیدند (حسام‌زاده حجازی و ضیایی نسب، ۱۳۸۷).

### نتایج

نتایج حاصل از تجزیه کاریوتیپی گونه‌های مورد مطالعه در جدول‌های ۱ و ۲ و کاریوگرام گونه‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. در بررسی‌های کاریولوژیکی انجام شده، تعداد کروموزوم‌ها در همه گونه‌ها برابر  $2n=2x=18$  بود (جدول ۱ و شکل ۱). در بین گونه‌های مورد بررسی مجموع طول کل کروموزومی دیپلوئید از  $70/64$  (*Aa1*) *A. altissima* تا  $110/6$  میکرون در *A. hyalina* تنوع نشان داد. درحالی‌که گونه *A. hyalina* با فرمول کاریوتیپی  $6m+5sm+2t$  کمترین درصد فرم کلی (۳۶/۸٪) را به خود اختصاص داد و با توجه به بیشترین مقدار شاخص عدم تقارن درون کروموزومی ( $A_1=0/4$ )، کاریوتیپی با تقارن کمتر را در بین گونه‌های مورد بررسی دارا بود (جدول‌های ۱ و ۲). در همه گونه‌های مورد بررسی کروموزوم‌های متاستریک غالب هستند، به نحوی که بین پنج (*A. altissima*) تا هفت جفت (*A. pseudocotula*) از کروموزوم‌های گونه‌های مورد بررسی، از این نوع بودند (جدول ۱)، همچنین، بلندترین و کوتاه‌ترین کروموزوم نیز متاستریک بودند و تنها در *A. cotula* (نمونه *Ac1*) احتمالاً بدلیل بروز یک وارونگی پری‌ستریک، کوتاه‌ترین کروموزوم آکروستریک گردیده است (شکل ۲). گونه‌های مورد بررسی شاخص عدم تقارن درون کروموزومی بین  $0/28-0/4$  و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی  $0/12-0/15$  نشان دادند (جدول ۲)

نمونه‌های میکروسکوپی گردید. پس از مشاهده سلول‌های متافازی مناسب، از هر گونه یا نمونه حداقل ۱۰ سلول متافازی مناسب انتخاب و از آنها عکس‌برداری شد. سپس تعداد کروموزوم‌های هر ژنوتیپ شمارش و اندازه‌گیری خصوصیات کاریوتیپی از قبیل طول کروموزوم و طول بازوهای بلند و کوتاه برای هر گونه یا نمونه بر حسب میانگین داده‌های حداقل ۳ متافاز با استفاده از نرم‌افزار میکرومیتر انجام (Reeves, 2001) و جفت کروموزوم‌های همتا با توجه به صفات طول کروموزوم‌ها و نسبت بازوهای کروموزومی مشخص گردیدند. سپس با استفاده از اطلاعات بدست آمده، کاریوتیپ هر گونه مشخص و بصورت کاریوگرام ترسیم و آیدیوگرام آنها توسط نرم‌افزار اکسل رسم گردید.

مقایسه تقارن کاریوتیپ‌ها با استفاده از روش دوطرفه Stebbins (۱۹۷۱) و فرمول کاریوتیپی گونه‌ها توسط روش Levan و همکاران (۱۹۶۴) انجام شد. برای تجزیه کاریوتیپ نمونه‌های مورد ارزیابی، پس از اندازه‌گیری طول بازوهای بلند و کوتاه و طول کل کروموزوم که بطور مستقیم توسط نرم افزار محاسبه شدند، خصوصیات و پارامترهای کاریولوژیکی زیر محاسبه گردید: ۱- طول کل ژنوم دیپلوئید (T.L)، ۲- درصد فرم کلی (TF%)، ۳- طول کوتاه‌ترین کروموزوم (S)، ۴- طول بلندترین کروموزوم (L)، ۵- نسبت طول بزرگترین کروموزوم به کوتاه‌ترین کروموزوم (Lc/Sc)، ۶- اندیس عدم تقارن درون کروموزومی ( $A_1$ ) و اندیس عدم تقارن بین کروموزومی ( $A_2$ ) (Romero-Zarco, 1986)، ۷- اختلاف نسبی بلندترین و کوتاه‌ترین کروموزوم (DRL) (میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۱)، ۸- شاخص عدم تقارن ( $AI=(CV_{CI} * CV_{CI})/100$ ) (Paszko, 2006) و ۹- ضریب

روی یک جفت از کروموزوم‌های ساب متاستریک آن میکروماهواره مشاهده گردید. همچنین در این گونه کمترین DRL نیز (۰/۰۲۱) مشاهده شد. بیشترین DRL نیز متعلق به *A. cotula* نمونه Ac2 بود که احتمالاً می‌تواند ناشی از بازآرایی‌های درون و بین کروموزومی باشد.

و از آنجا که هر چه میزان این دو شاخص به صفر نزدیکتر باشد، بیانگر تقارن بیشتر کاربوتیپ است. در مجموع کاربوتیپ *A. pseudocotula* متقارن‌تر از سایر گونه‌ها بود (شکل ۳) و در دسته‌بندی کاربوتیپی Stebbins نیز در دسته ۱A قرار گرفت (جدول ۱). این گونه دارای فرمول کاربوتیپی  $7m+Sm+Sm^{sat}$  بود که

جدول ۱. تعداد کروموزوم، دسته و فرمول کاربوتیپی گونه‌های مورد بررسی از جنس *Anthemis*

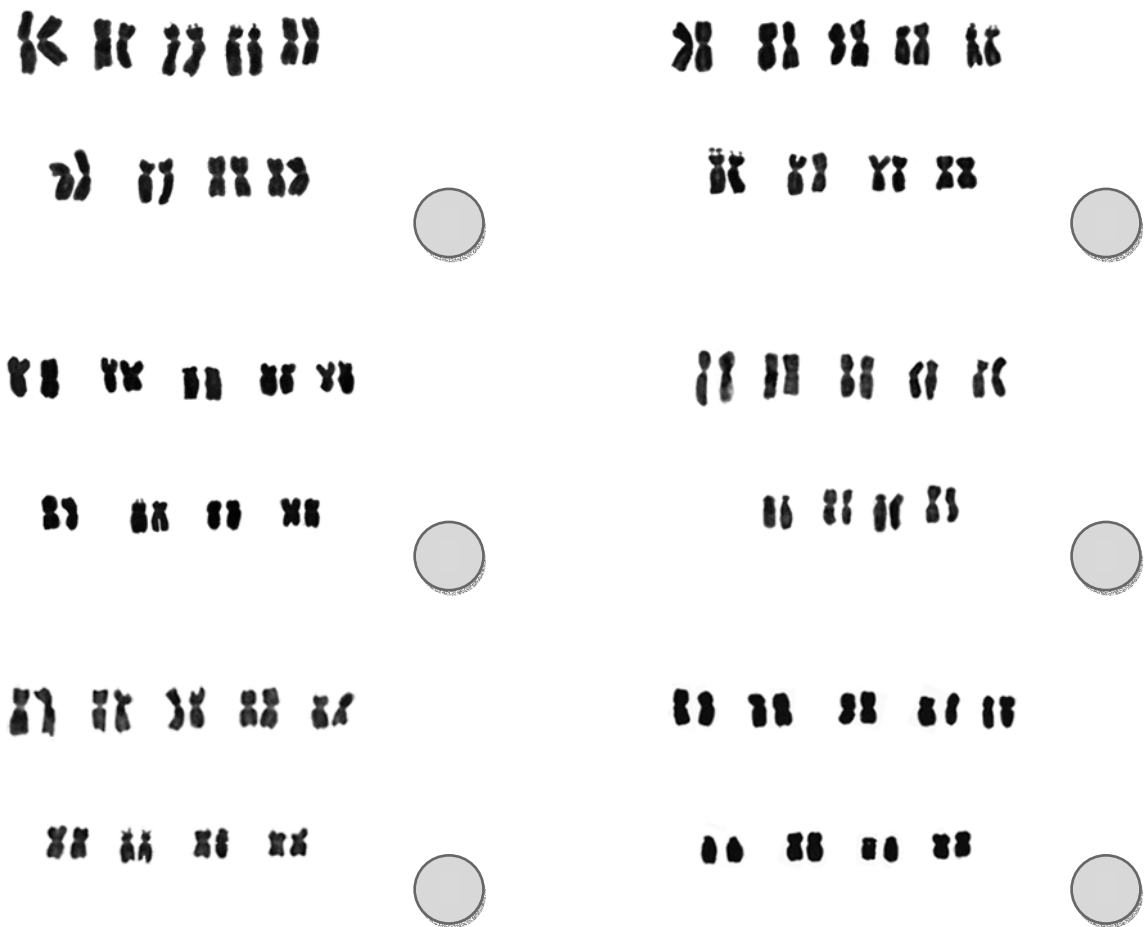
گونه	کد نمونه	تعداد کروموزوم (2n)	دسته کاربوتیپی*	فرمول کاربوتیپی
<i>A. altissima</i>	Aa1	۱۸	2A	$5m+2Sm+2Sm^{sat}$
<i>A. altissima</i>	Aa2	۱۸	2A	$6m+Sm+2Sm^{sat}$
<i>A. pseudocotula</i>	Ap1	۱۸	1A	$7m+Sm+Sm^{sat}$
<i>A. cotula</i>	Ac1	۱۸	2A	$6m+2Sm+t$
<i>A. cotula</i>	Ac2	۱۸	2A	$6m+2Sm+Sm^{sat}$
<i>A. hyalina</i>	Ah1	۱۸	2A	$6m+Sm+2t$

: دسته‌بندی کاربوتیپی به روش استینز (۱۹۷۱)

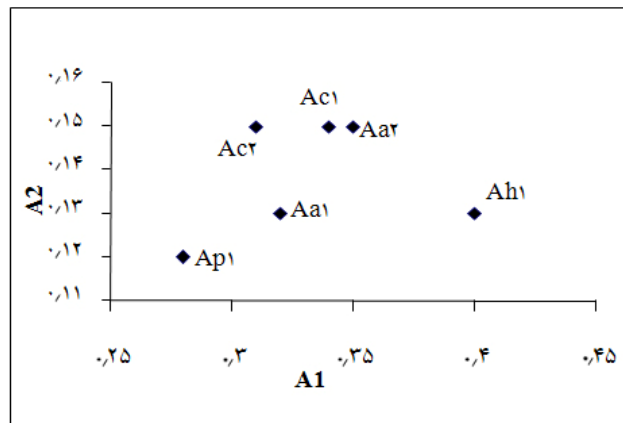
جدول ۲. ویژگی‌های کاربوتیپی در گونه‌های مورد بررسی

*کد نمونه	T.L(μm)	A1	A2	AI	TF%	S(μm)	L(μm)	DRL	Lc/Sc	CVci
Aa1	۱۱۰/۶	۰/۳۲	۰/۱۳	۳/۶	۳۹/۷	۶/۳	۷/۷۶	۰/۰۲۶	۱/۲	۲۷/۶
Aa2	۱۱۰/۴	۰/۳۵	۰/۱۵	۳/۴	۳۸/۴	۴/۶۵	۷/۶۹	۰/۰۲۷	۱/۶۵	۲۲/۴
Ap1	۸۲/۱	۰/۲۸	۰/۱۲	۲/۳	۳۹/۵	۳/۹۶	۵/۷۴	۰/۰۲۱	۱/۴	۲۱/۴
Ac1	۷۰/۸	۰/۳۴	۰/۱۵	۴/۴	۳۸/۱	۳/۲۳	۵/۱	۰/۰۲۶	۱/۵۷	۳۰/۰
Ac2	۷۴	۰/۳۱	۰/۱۵	۴/۸	۴۰/۴	۲/۸۳	۵/۶	۰/۰۳۷	۱/۹۷	۲۲/۹
Ah1	۷۰/۶۴	۰/۴۰	۰/۱۳	۴/۹	۳۶/۸	۳/۱۰	۴/۶۷	۰/۰۲۲	۱/۵۰	۳۶/۳

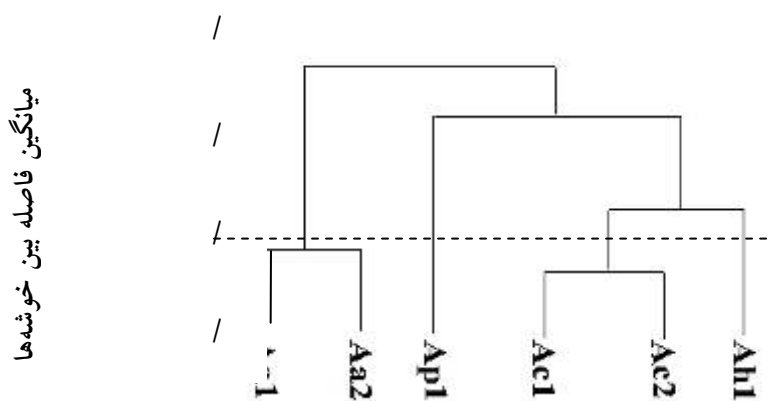
\* - برای تعیین گونه به جدول ۱ مراجعه شود.



شکل ۱. کاریوگرام چهار گونه Anthemis مورد بررسی: ۱- *A. altissima* (Aa1)، ۲- *A. altissima* (Aa2)، ۳- *A. altissima* (Ap1)، ۴- *A. cotula* (Ac1)، ۵- *A. cotula* (Ac2) و ۶- *A. hyalina* (Ah1)



شکل ۲. دیاگرام پراکنش گونه‌های مورد بررسی براساس دو پارامتر A<sub>1</sub> و A<sub>2</sub>



شکل ۳. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌های *Anthemis* مورد بررسی به روش Ward

### بحث

*A. cotula* دو جفت کروموزوم ماهواره‌دار گزارش نموده‌اند. از طرف دیگر Fernandes و Queiros (۱۹۷۱) یک بیوتیپ در گونه *A. cotula* با ساتلیت‌های پشت سر هم گزارش نمودند و وجود تنها یک جفت کروموزوم ماهواره‌دار را در این گونه تأیید کرده‌اند. هرچند Uitz (۱۹۷۰) کاریوتیپ این گونه را فاقد ساتلیت گزارش نموده بود. اما در گونه *A. altissima* روی دو جفت از کروموزوم‌ها ماهواره مشاهده شد و در *A. altissima* نمونه *Aa2* احتمالاً بدلیل بروز یک وارونگی پری‌سستریک روی یکی از کروموزوم‌ها، افزایش عدم تقارن کاریوتیپی بروز نموده (شکل ۱) و این مورد با تبدیل یکی از کروموزوم‌های متاستریک به ساب متاستریک اتفاق افتاده است (جدول ۱). در همین نمونه، محل کروموزوم‌های ماهواره‌دار نیز تغییر نموده است که در این گونه تغییرات محل کروموزوم‌های واجد ماهواره تحت تاثیر تغییرات اندازه کروموزوم‌ها دچار جابجایی شده و ترتیب کروموزوم‌ها تغییر می‌نماید که علت آن می‌تواند ناشی از انواع عوامل تغیی دهنده طول کروموزوم یا بازآرایی‌های

در این پژوهش هر شش نمونه‌ی مربوط به چهار گونه از جنس آنتمیس دارای عدد کروموزومی  $2n=18$  بودند. نتایج مطالعات کاربولوجی و شمارش عدد کروموزومی توسط سایر محققان در مورد گونه‌های *A. altissima* (Chehregani & Mehanfar, 2008) و *A. cotula* (Mitsuoka & Ehrendorfer, 1972; Inceer & Ayaz, 2007) نیز مؤید نتایج این تحقیق ( $2n=18$ ) می‌باشد. گونه *A. cotula* نمونه *Ac2* از دو نوع کروموزوم متاستریک و ساب متاستریک تشکیل شده است، اما *A. cotula* نمونه *Ac1* دارای یک جفت کروموزوم آکروستریک علاوه بر دو نوع یاد شده بود. البته این دو نمونه *A. cotula* به لحاظ تقارن کاریوتیپی شرایط تقریباً مشابهی داشتند (شکل ۳). بنابراین در تمام گونه‌های مورد بررسی بجز در گونه *A. hyalina* و *A. cotula* (نمونه *Ac1*) یک یا دو ماهواره روی کروموزوم‌های آکروستریک بصورت میکروماهواره مشاهده گردید (جدول ۱ و شکل ۱). هرچند Mitsuoka و Ehrendorfer (۱۹۷۲) در گونه

- Inceer, H. and Ayaz, S., 2007. Chromosome numbers in the tribe Anthemideae (Asteraceae) from north-east Anatolia. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 153: 203-211.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Mitsuoka, S. and Ehrendorfer, F., 1972. Cytogenetic and evolution of *Matricaria* and related Genera (Asteraceae-Anthemideae). *Österr. Bot.z.* 120:155-200.
- Paszko, B., 2006. A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. *Plant System Evolution*, 258: 39-48.
- Poljakov, P. P., 1967. Origin and Classification of Compositae. *Trudy Institute Botanica, Alma-Ata, Kazach SSR.*
- Rechinger, K.H., 1986. Flora Iranica, Compositae, Anthemideae VI, No. 158. *Akademische Druck-u. Verlagsanstalt, Graz-Austria.*
- Reeves, A., 2001. Micromesure: A new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. *Genome*, 44:439-443.
- Romero-Zarco, C., 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon*, 35: 526-530.
- Stebbins, G.L., 1971. *Chromosomal Evolution In Higher Plants.* Edward Arnold, London. 216 p.
- Tahir, M.H.N., Sadaghat, H.A. and Bashir, S., 2002. Correlation and path coefficient analysis of morphological traits in sunflower. *International Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4: 341-344.
- Uitz, H., 1970. Cytologische und bestäubungsexperimentelle beitrage zur verwandtschaft und evolution der anthemideae (Astraceae). *Diss. University Graz.* 83 pp.
- Valles, J., Torrell, M., Garcia-Jacas, T., Yilatersana, N. and Susanna, A., 2003. The genus *Artemisia* and its allies: phylogeny of subtribe Artemisineae (Astraceae) based on nucleotide sequence on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers (ITS). *Plant Biology*, 5: 274-278.
- Watanabe, W., 2002. Index to chromosome numbers in Asteraceae. <http://www.asteraceae.cla.kobe-u.ac.jp/index.html>

بین کروموزومی باشد.

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌ها نشان داد (شکل ۳) که گونه *A. hyalina* قرابت و خویشاوندی بیشتری با *A. cotula* دارد و *A. altissima* قرابت کمتری با سایر گونه‌های مورد بررسی نشان داد. در این بررسی شمارش کروموزومی *A. hyalina* و *A. pseudocotula* و فرمول کاریوتیپی هر چهار گونه برای اولین بار گزارش می‌شوند.

### منابع مورد استفاده

- حسام‌زاده حجازی، س.م. و ضیایی نسب، م.، ۱۳۸۷. بررسی سیتوژنتیکی برخی از جمعیت‌های گونه‌های دیپلوئید جنس *Onobrychis* موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۶(۲): ۱۵۸-۱۷۱.
- مظفریان، و.، ۱۳۷۵. فرهنگ نام‌های گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر. تهران. ص ۴۵ و ۴۳۹.
- میرزایی ندوشن، ح.، مهرپور، ش.، رضایی، م.ب. و رشوند، س.، ۱۳۸۱. مطالعه مقدماتی جمعیت‌هایی از گونه *Aloe littoralis* تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۹: ۸۴-۴۹.
- Bremer, K., 1994. *Asteraceae: Cladistics and Classification.* Portland. Timber Press, Portland, Oregon. 752 p.
- Bremer, K. and Humphries, C., 1993. Genetic monograph of the Astraceae-Anthemideae. *Bulletin of the Natural History Museum.*, 23: 71-177.
- Chehregani, A. and Mehanfar, N., 2008. New Chromosome Counts in the Tribe Anthemideae (Astraceae) from Iran. *Cytologia*, 73(2): 189-196.
- Fernandes, A., Queiros, M., 1971. Contribution a la connaissance cytotaxonomique des spermatophyta du purtugal. II. Compositae. *Boletim da Sociedade Broteriana*, (2. Ser.) 45: 5-121.
- Guerra, M., 1999. Hematoxylin: a simple, multiple-use dye for chromosome analysis. *Genetics and Molecular Biology*, 22(1): 77-80.

## Karyological study of four *Anthemis* species from Iran

K. Yousofzadeh\*<sup>1</sup>, S. Houshmand<sup>2</sup> and H. Zeinali<sup>3</sup>

1\*- Corresponding author, M.Sc., Plant Breeding, Shahrekord University, Email: Kayousefzadeh@yahoo.com

2- Assist. Prof., Agronomy and Plant Breeding Department, Shahrekord University

3- Assist. Prof., Esfahan agriculture and natural resource center

Received: 04.10.2009

Accepted: 13.06.2010

### Abstract

In this study, we investigated karyological characteristics variation of four *Anthemis* species selected from various locations of Iran. We used of  $\alpha$ -bromonaphthalene for pretreatment, Lewitsky solution for fixation, 1N NaOH for hydrolysis and finally, aceto iron-hematoxylin for staining stage. Detailed karyotype features, *i.e.* total chromosome length (TL), total form percent (TF %), asymmetry index (AI), intrachromosomal asymmetry ( $A_1$ ) and interchromosomal asymmetry ( $A_2$ ) were also estimated. Somatic chromosome number were  $2n=18$  for all species. Karyotypic analysis showed a predominance of metacentric chromosomes and satellite was observed in the shape of microsatellite in almost all of them. The largest chromosome and genome length belong to *A. altissima*. In addition, the four studied species showed varying interchromosomal ( $A_1$ ; range = 0.28-0.40), and interchromosomal ( $A_2$ ; range = 0.12-0.15) asymmetry indices. According to Stebbins categories, they were separated to 2A (*A. altissima*, *A. cotula* & *A. hyalina*) and 1A (*A. pseudocotula*) karyotypic symmetry classes. *A. pseudocotula* had more symmetric karyotype than other species. Clustering of the *Anthemis* species and accessions based on cytogenetic data showed close relationship between *A. cotula* and *A. hyaline*. Chromosome count of *A. hyaline* and *A. pseudocotula* are reported here for the first time. Other two counts are agreement with the previous reports.

**Key words:** *Anthemis*, Chromosome, Diversity, Karyotype.