بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده کشاورزی

گروه علوم باغبانی

پایان‌نامه جهت دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد رشته علوم باغبانی- گرایش سبزیکاری

عنوان

مطالعه‌ی میوز و نرباروری هیبریدهای *Allium ampeloprasum* ssp. *persicum* ×*Allium ampeloprasum* ssp. *porrum*

استاد راهنما

دکتر جابر پناهنده

استادان مشاور

دکتر علیرضا مطلبی آذر **دکتر صاحبعلی بلند نظر**

پژوهشگر

خدیجه نیکزاد

آبان ۱۳۹۰

تقدیر و تشکر

سپاس و احترام فراوان نثار تمام کسانی که تاکنون به من ذره‌ای علم و معرفت آموخته‌اند. از زحمات بی‌دریغ، تلاش‌های بی‌وقفه و راهنمایی‌های ارزشمند آقای دکتر جابر پناهنده که راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفته‌اند، صمیمانه تشکر می کنم. آموختن علم از ایشان از یک سو و اخلاق از سوی دیگر توفیق بزرگی بود که نصیب من گردید. پیش از همه و بیش از همه برای ایشان آرزوی سلامتی، شادکامی، موفقیت و سربلندی دارم. از آقایان دکتر علیرضا مطلبی آذر و دکتر صاحبعلی بلندنظر که مشاور من در این راه بوده‌اند ممنون هستم. از داور این پایان نامه، آقای دکتر ناصر مهنا که وقت گرانبهای خود را وقف مطالعه این پایان نامه کردند، نهایت تشکر را دارم. از تمام آموزگاران در مقاطع مختلف آموزشی تشکر می کنم. و بالاخره، از پدر و مادرم و تمامی خویشانم که زمینه‌ساز انتخاب و پیمودن راه تحقیق و پژوهش بودند صمیمانه سپاسگزاری می کنم.

گر چه غم و رنج من درازی دارد

عیش و طرب تو سرفرازی دارد

بر هر دو مکن تکیه که دوران فلک

در پرده هزار گونه بازی دارد

خیام

نام خانوادگی دانشجو: نیکزاد **نام**: خدیجه

عنوان پایان نامه: مطالعه‌ی میوز و نرباروری هیبریدهای *Allium ampeloprasum* ssp. *persicum* ×*Allium ampeloprasum* ssp. *porrum*

استاد راهنما: دکتر جابر پناهنده

استاد مشاور اول: دکتر علیرضا مطلبی آذر **استاد مشاور دوم**: دکتر صاحبعلی بلند نظر

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته**: علوم باغبانی **گرایش**: سبزیکاری **دانشگاه**: تبریز

دانشکده: کشاورزی **تاریخ فارغ التحصیلی**: آبان۱۳۹۰

واژه‌های کلیدی: باروری دانه گرده، تقسیم میوز، رنگ پذیری دانه گرده، گیاه هیبرید، ناهنجاری کروموزومی

چکیده: تره‌ایرانی (*Allium ampeloprasum* ssp. *persicum*) گیاهی است که با وجود کشت و کار وسیع در کشور ما، چندان در سطح جهانی شناخته شده نیست. تره‌فرنگی نزدیک‌ترین سبزی مهم به تره‌ایرانی محسوب می‌شود. به منظور مطالعه‌ی رفتار میوزی و باروری دانه‌های گرده‌ی نتاج حاصل از تلاقی دو گیاه تره‌ایرانی و تره‌فرنگی، ۱۰ ژنوتیپ تولیدی در طی سال‌های ۱۳۸۹ الی ۱۳۹۰ در آزمایشگاه ژنتیک و اصلاح سبزی‌های دانشگاه تبریز مورد بررسی قرار گرفتند. اوایل صبح گلهای نارس از ژنوتیپهای مختلف برداشت شد و تثبیت و رنگ‌آمیزی شدند. مراحل مختلف تقسیم میوز از نظر درصد سلول‌های مادر گرده‌ی دارای کروموزوم با تأخیر، پل‌های کروماتیدی و ریز هسته‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابی باروری دانه‌های گرده‌ی و درصد رنگ‌پذیری دانه‌های گرده ۱۰ ژنوتیپ هیبرید و ۱۰ ژنوتیپ تره‌ایرانی انجام شد. تفاوت معنی‌داری بین ۱۰ ژنوتیپ هیبرید از نظر درصد سلول‌های مادر گرده‌ی دارای کروموزوم با تأخیر در مراحل متافاز I ، II و کل (مجموع دو مرحله‌ی I و II) و آنافاز I و کل (مجموع دو مرحله‌ی I و II) مشاهده شد. درصد سلول‌های مادر گرده‌ی دارای کروموزوم با تأخیر در مرحله‌ی متافاز I از ۳/۵ الی ۱۹/۱ درصد (با متوسط ۷/۷٦ درصد)، در مرحله ی متافاز II از ۰ الی ۱۱/۱ درصد (با متوسط ٤/٦ درصد)، در متافاز کل از ۳/۹ الی ۲۸/۱۲۵ درصد (با متوسط ۹/۸ درصد)، در مرحله‌ی آنافاز I از ۰ الی ۷/۸ درصد (با متوسط ۳/۲۵ درصد) و در آنافاز کل از ۰ الی ۱۵/۷ درصد (با متوسط ۵/۳ درصد) متغیر بود. در حالی که تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد نظر از لحاظ درصد سلول های دارای ناهنجاری در مراحل آنافاز II، پایان میوز I و اسپوراد مشاهده نشد. درصد ناهنجاری‌های میوزی کم در ژنوتیپ‌های هیبرید، می-تواندنشان‌دهنده‌ی وجود شباهت کم بین کروموزوم‌های تره‌ایرانی و تره‌فرنگی باشد. تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر درصد باروری و درصد رنگ‌پذیری دانه‌های گرده هم در هیبریدها و هم در ژنوتیپ‌های تره‌ایرانی مشاهده شد. در ژنوتیپ‌های هیبرید، درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده از ۱٤/۹ الی ٤۳/۱ درصد متغیر بود. درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده در ژنوتیپ‌های تره‌ایرانی (از ٤/۸ الی ۳٦/٤ درصد)، کاهش معنی‌داری را نسبت به درصد جوانه‌زنی

ادامه چکیده پایان نامه

دانه‌های گرده در ۱۰ ژنوتیپ هیبرید مورد بررسی نشان داد. این درحالی است که درصد رنگ‌پذیری دانه گرده‌ی ژنوتیپ-های هیبرید (با متوسط ۸۸/۳ درصد) با ژنوتیپ‌های تره‌ایرانی (با متوسط ۸۳/٤ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، وجود همبستگی منفی و معنی‌دار بین درصد سلول‌های مادر گرده‌ی دارای کروموزوم با تأخیر در مراحل متافاز I و II و آنافاز I و II با درصد باروری و درصد رنگ‌پذیری دانه‌های گرده، نشان داد که باروری دانه‌های گرده تحت تأثیر میزان ناهنجاری‌های کروموزومی قرار می‌گیرند. بنابراین، می‌توان از آزمون باروری دانه‌های گرده به عنوان روشی سریع و مناسب برای بررسی وجود ناهنجاری‌های میوزی استفاده نمود.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه و بررسی منابع

مقدمه ۱
۱-۱- گیاهشناسی و اهمیت تره ۳
۱-۲- مشخصات سیتوژنتیکی تره ۵
۱-۳- عوامل موثر بر رفتار میوزی گیاهان ۸
۱-۳-۱- رفتار میوزی تره فرنگی ۱۰
۱-٤- ارتباط بین ناهنجاری‌های کروموزومی و باروری دانه گرده ۱۳
۱-۵- سایر عوامل موثر بر زیوایی دانه گرده ۱٤
۱-۵-۱- عوامل خارجی ۱۵
۱-۵-۱-۱- رطوبت ۱۵
۱-۵-۱-۲- دما ۱٦
۱-۵-۱-۳- اشعه UV- B ۱٦
۱-۵-۱-٤- گاز CO_2 ..... ۱۷
۱-۵-۲- عوامل داخلی ۱۷
۱-۵-۲-۱- ژنوتیپ ۱۷
۱-٦- اهداف اصلاحی ۱۸
۱-۷- روش‌های اصلاحی ۱۸
۱-۷-۱- گزینش و اهلی‌سازی ۱۹
۱-۷-۲- معرفی گیاهان ۲۰
۱-۷-۳- هیبریداسیون ۲۱
۱-۷-٤- جهش ۲۵
۱-۷-۵- پلی پلوییدی ۲۵
۱-۷-۵-۱- اثرات پلی پلوییدی ۲۷
۱-۷-٦- بیوتکنولوژی ۳۰
۱-۸- ذخایر ژنتیکی قابل استفاده ۳۲
۱-۹- اقدامات اصلاحی انجام شده و دستاوردها ۳۳
۱-۱۰- اهداف آزمایش ۳۳

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- مکان انجام آزمایش ۳٤
۲-۲- تهیه و آماده‌سازی مواد آزمایشی ۳٤
۲-۳- روش تولید گیاهان هیبرید ۳٤
۲-٤- آماده سازی بسترهای کشت و کاشت گیاهان ۳۵

۲-۵- روش‌های آزمایشگاهی ۳۵
۲-۵-۱- بررسی مراحل مختلف تقسیم میوز ۳۵
۲-۵-۱-۱- نمونه‌برداری ۳۵
۲-۵-۱-۲- تثبیت ۳۶
۲-۵-۱-۳- شستشو و نگهداری در الکل ۷۰ درصد ۳۶
۲-۵-۱-٤- رنگ آمیزی ۳۷
۲-۵-۱-۵-هیدرولیز ۳۷
۲-۵-۱-٦-رنگ آمیزی ۳۷
۲-۵-۱-۷- تهیه‌ی اسلاید میکروسکوپی ۳۸
۲-۵-۲- ارزیابی زیوایی و باروری دانه‌های گرده ۳۹
۲-۵-۲-۱- درصد دانه گرده‌ی رنگ پذیر ۳۹
۲-۵-۲-۲- درصد جوانه‌زنی دانه گرده ۳۹
۲-۵-۳- روش‌های تجزیه آماری ٤۰
۲-۵-٤- محلول‌های رنگی مورد استفاده و روش تهیه‌ی آن‌ها ٤۱
۲-۵-٤-۱- محلول رنگی استوکارمن- گلیسرول ٤۱
۲-۵-٤-۲- محلول رنگی استواورسئین ۱ درصد ٤۲
۲-۵-٤-۳- محلول رنگی استو آهن هماتوکسیلین ٤۲

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- متافاز I ٤۳
۳-۲- آنافاز I ٤۵
۳-۳- متافاز II ۵۰
۳-٤- آنافاز II ۵۲
۳-۵- مجموع متافاز I و II ۵٤
۳-٦- مجموع آنافاز I و II ۵۵
۳-۷- ریز هسته در پایان میوز I ۵٦
۳-۸- ریز هسته در مرحله اسپوراد ٦۰
۳-۹- آزمون های دانه گرده ٦۲
۳-۹-۱- جوانه‌زنی دانه گرده ٦۲
۳-۹-۲- دانه گرده‌ی رنگ‌پذیر ٦۸
۲-۱۰- نتیجه‌گیری کلی ۷٤
۲-۱۱- پیشنهادات ۷۵
منابع ۷٦

فهرست جداول

عنوان صفحه

جدول ۱-۱- مواد غذایی موجود در تره فرنگی ۵

جدول ۱-۲- املاح معدنی و ویتامین‌های موجود در تره فرنگی ۵

جدول ۳-۱- تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده‌ی گیاهان هیبرید در دو محیط کشت ٦٨

جدول ۳-۲- تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده‌ی ژنوتیپ‌های تره ایرانی در دو محیط کشت ٦٨

فهرست شکل‌ها

عنوان صفحه

شکل ۳-۱- درصد سلول‌های دارای کروموزوم‌های با تأخیر در مرحله‌ی متافاز I میوز ۱۰ ژنوتیپ هیبرید ٤٤

شکل ۳-۲- متافاز I فاقد (الف وب) و دارای کروموزوم با تأخیر(ج) ٤٥

شکل ۳-۳- آنافاز I فاقد کروموزوم با تأخیر و پل کروماتیدی (الف و ب) و دارای ناهنجاری (ج، د و ی) ٤٦

شکل ۳-٤- درصد سلول‌های دارای کروموزوم‌های با تأخیر در مرحله‌ی آنافاز I میوز ۱۰ ژنوتیپ هیبرید ٤٩

شکل ۳-۵- متافاز II فاقد (الف و ب) و دارای (ج) کروموزوم با تأخیر ۵۱

شکل ۳-٦- درصد سلول‌های دارای کروموزوم‌های با تأخیر در مرحله‌ی متافاز II میوز ۱۰ ژنوتیپ هیبرید ۵۲

شکل ۳-۷- آنافاز II فاقد (الف) و دارای (ب) کروموزوم با تأخیر و پل کروماتیدی ۵۳

شکل ۳-۸- درصد سلول‌های دارای کروموزوم‌های با تأخیر در مجموع مراحل متافاز I و II میوز ۱۰ ژنوتیپ هیبرید ۵۵

شکل ۳-۹- درصد سلول‌های دارای کروموزوم‌های با تأخیر در مجموع مراحل آنافاز I و II میوز ۱۰ ژنوتیپ هیبرید ۵٦

شکل ۳-۱۰- پایان میوز I فاقد ریز هسته (الف) و دارای ریز هسته (ب، ج و د) ۵۷

شکل ۳-۱۱- مرحله‌ی اسپوراد فاقد ریز هسته (الف) و دارای ریز هسته (ب) ٦۰

شکل ۳-۱۲- دانه‌های گرده‌ی جوانه‌زده (الف) و جوانه‌نزده (ب) ٦۳

شکل ۳-۱۳- درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده‌ی ۱۰ ژنوتیپ هیبرید ٦٤

شکل ۳-۱٤- درصد جوانه‌زنی دانه های گرده ۱۰ ژنوتیپ تره‌ایرانی در دو محیط کشت جامد و مایع ٦۷

شکل ۳-۱۵- دانه‌های گرده‌ی رنگ‌پذیر ٦۹

شکل ۳-۱٦- درصد رنگ پذیری دانه گرده ی ۱۰ ژنوتیپ هیبرید ٦۹

شکل ۳-۱۷- رنگ پذیری دانه گرده در گیاه تره ایرانی ۷۰

شکل ۳-۱۸- تلاقی گامت‌های دو گیاه اتوتتراپلوییید ۷۳

فصل اول

مقدمه

فلات پهناور ایران با دارا بودن تنوع آب و هوایی گسترده در طول هزاران کیلومتر مربع از کوهستان-ها، دشت‌ها و مناطق ساحلی، منشأ و مرکز پیدایش بسیاری از گونه‌های گیاهی جهان می‌باشد. در واقع ایران را می‌توان یکی از غنی‌ترین مراکز تجمع ژنتیکی عالم گیاهی دانست. بنابراین لزوم مطالعه، معرفی و نگهداری این ذخایر ژنتیکی هر چه بیشتر احساس می‌گردد.

بررسی‌های مربوط به رده‌بندی گیاهی نشان می‌دهد که رویشگاه طبیعی برخی از گونه‌های گیاهان خانواده‌ی Alliaceae ایران می‌باشد. به طوری که بعضی از گروه‌ها و گونه‌های جنس *Allium* تنها مختص ایران هستند اما باوجودی‌که بعضی از آن‌ها می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی استفاده‌ی جهانی داشته باشند، چندان در سطح جهانی شناخته شده نبوده و نیازمند معرفی هستند. از آن جمله می‌توان به گیاه تره‌ایرانی با نام علمی *Allium ampeloprasum* ssp. *persicum* اشاره نمود که به عنوان یکی از سبزی‌های بومی در نقاط مختلف با نام‌های فارسی و محلی گندنا و کاوار یا کور نامیده می‌شود. این گیاه با وجود اهمیتی که در کشور ما دارد، در منابع علمی چندان شناخته شده نیست. تره‌فرنگی (*A. ampeloprasum* ssp. *porrum*) نیز گیاه دیگری از همین جنس و گونه است. هر دو این گیاهان تتراپلویید و به احتمال زیاد اتوتتراپلویید هستند (خزانه‌داری و جونز، ۱۹۹۷؛ غفاری و شابزاز، ۱۳۸٤).

تولید گیاهان هیبرید به منظور بهره‌برداری از هتروزیس[1]، یکی از بهترین روش‌های اصلاحی گیاهان می‌باشد اما بسیاری از گیاهان هیبرید تولید شده بین گونه‌های متفاوت، درجات مختلفی از ناهنجاری‌های کروموزومی را طی تقسیم میوز نشان می‌دهند (ژائو و همکاران، ۲۰۰۷؛ فلیسمینو و همکاران، ۲۰۱۰).

[1] - Heterosis

مطالعات انجام شده در برخی از گیاهان نشان داده است که این ناهنجاری‌ها می‌تواند بر باروری دانه‌های گرده و میزان کارایی گیاهان هیبرید جهت کاربرد در نسل‌های آتی موثر باشند (هی و همکاران ۲۰۰۱). بسته به فاصله‌ی ژنتیکی والدین، میزان ناهنجاری‌های کروموزومی نیز متفاوت خواهد بود . لذا میوز از نظر تعیین میزان شباهت ژنوم گونه‌های والدین، اطلاعات بیشتر و در عین حال کاربردی‌تری را در اختیار قرار می‌دهد.

با توجه به اینکه نزدیک‌ترین محصول مهم جهانی به تره‌ایرانی، تره‌فرنگی است و مشکلات موجود در اصلاح اتوتتراپلوییدها برای بهره‌برداری از هتروزیس مستلزم تلاقی والدین هتروزیگوس و دور از هم است (ریک، ۱۹۸٦)، لذا در صورتی‌که هیبریدهای بین دو زیرگونه از میوز متعادل و باروری کافی برخوردار باشند، می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی آتی استفاده نمود. در مطالعه‌ی حاضر، گیاهان هیبرید حاصل از تلاقی دو گیاه تره‌ایرانی به عنوان والد مادری و تره‌فرنگی به عنوان والد پدری از نظر ناهنجاری‌های موجود در تقسیم میوز و باروری دانه‌های گرده مورد بررسی قرار گرفته و ارتباط بین میزان ناهنجاری‌ها و باروری دانه‌های گرده جهت کاربردهای آتی این گیاهان مورد مطالعه قرار گرفت.

۱-۱-گیاه‌شناسی و اهمیت تره

جنس *Allium* بیش از ۵۰۰ گونه‌ی گیاهی را شامل می‌شود که در نیمکره‌ی شمالی پراکنده شده‌اند. از مهم‌ترین گیاهان تحت کشت این گونه می‌توان به پیاز (*A. cepa* L.)، سیر(*A. sativum* L.) ، پیازچه (*A. schoenoprasum* L.)، پیازچه‌ی برگی (*A. fistulosum* L.)، تره‌فرنگی و تره‌ایرانی (در ایران) اشاره نمود. اغلب گیاهان این جنس از آسیا منشأ یافته‌اند. مناطق اصلی تنوع ژنتیکی این گیاهان شامل افغانستان، ایران و غرب پاکستان می‌باشد (روباتسکی و یاماگوچی، ۱۹۹۷). تره‌فرنگی گیاهی از گونه‌ی *ampeloprasum* است اما در رابطه با نام گونه‌ی تره‌ایرانی تردیدهایی وجود دارد. طاهباز (۱۹۷٦) تره-ایرانی را از نظر رده‌بندی خویشاوند گیاه *A. ampeloprasum* ssp. *irinicum* مشخص کرد. وی همچنین با تعیین و مقایسه‌ی کاریوتیپ دو گیاه تره‌ایرانی و تره‌فرنگی، نتیجه‌گیری کرد که تفاوت‌های بین آن‌ها نشان‌دهنده‌ی تعلق دو گیاه مذکور به دو زیرگونه‌ی متفاوت است. وان در میر (۱۹۹۷) بر مبنای همین نتایج، تره‌ایرانی را البته نه به صورت قطعی به عنوان گروهی مستقل به حساب آورده است. موسوی و همکاران (۲۰۰٦) به منظور تعیین موقعیت تاکسونومیکی تره‌ایرانی، مطالعات مورفولوژیکی و سیتولوژیکی روی جمعیت‌های مختلفی از تره‌ایرانی (ارومیه، شادگان، سمنان، کرج، اصفهان، کرمانشاه، لرستان، یزد و مازندران) انجام دادند. از مجموع ٤۵ صفت کمی و کیفی مورد مطالعه در بین جمعیت‌های مختلف، ۲۵ صفت تفاوت معنی‌دار نشان دادند. جمعیت‌های اصفهان و شادگان دو اکوتیپ متفاوت را در داخل جمعیت‌های مورد بررسی تشکیل دادند. نتایج حاصل، وجود ارتباط بسیار نزدیک بین گیاه تره-ایرانی و گونه‌ی *A. ampeloprasum* را نشان داد. به‌علاوه در مقایسه‌ی انجام شده بین تره‌ایرانی و زیر-گونه‌ی *Iranicum* ، وجود اختلاف مورفولوژیکی نشان داد که تره‌ایرانی دارای هویتی مستقل از زیرگونه-

ی مجاور و خویشاوند خود می‌باشد. به همین دلیل موسوی و کاشی (١٣٧٤) نام علمی *Allium ampeloprasum* ssp. *Persicum* Mousavi Kashi را برای این گیاه پیشنهاد کردند. گونه‌ی *ampeloprasum* یکی از گونه‌های متنوع جنس *Allium* است. ویژگی اصلی گیاهان این جنس، طعم و رایحه‌ی ویژه‌ی آن‌ها است. وجود گل‌آذین چتر، گل‌های دارای نکتار، تخمدان سه خانه‌ای (دانشور، ١٣٨٢) و عدد پایه‌ی کروموزومی ٨ برای گونه‌های اهلی، از سایر ویژگی‌های این گیاهان به شمار می‌آید (روباتسکی و یاماگوچی، ١٩٩٧).

تره‌فرنگی گیاهی دو ساله، دارای بوته‌هایی قوی و بزرگ با برگ‌های سفت و سخت، باریک و بلند، صاف و خطی شکل است. برگ‌ها به صورت متناوب و متقابل قرار می‌گیرند. ارتفاع گیاه از ٤٠ الی ٧٥ سانتی‌متر متفاوت است. بخش مورد استفاده‌ی گیاه، ساقه‌ی کاذب سفید- ارغوانی آن است که در اثر قرارگرفتن غلاف برگ‌ها روی همدیگر ایجاد می‌شود (پیوست، ١٣٨٥).

طعم اصلی گیاهان این جنس از تأثیر آنزیم آلیناز بر ترکیبات حاوی گوگرد (S-alkyl cysteine sulfoxide)، به هنگام له شدن یا شکسته شدن بافت‌ها ناشی می‌گردد. مهم‌ترین ترکیبات فرار موجود در این گیاهان شامل ترکیبات آلیل[٢]، پروپیل- آلیل[٣]، پروپیل[٤]، متیل- پروپیل[٥]، متیل- آلیل[٦] و متیل[٧] می‌باشد. در بین گیاهان مهم این جنس، تره‌فرنگی دارای بالاترین غلظت متیل- پروپیل بوده و ترکیب پروپیل نیز در آن از غلظت بالایی برخوردار است. اما غلظت پروپیل- آلیل در این گیاه بسیار ناچیز بوده و قابل

[2] - Allyl
[3] - Propyl - allyl
[4] - Propyl
[5] - Methyl - Propyl
[6] - Methyl - allyl
[7] - Methyl

صرف نظر کردن است. همچنین هیچ گزارشی مبنی بر وجود ترکیبات آلیل و متیل در تره‌فرنگی وجود ندارد (روباتسکی و یاماگوچی، ۱۹۹۷).

مواد آلی موجود در تره‌فرنگی، دارای اثرات مثبت بر دستگاه گوارشی هستند. طعم و مزه‌ی این گیاه مربوط به مواد معدنی (به ویژه پتاسیم)، ویتامین‌ها و روغن‌های اتری است. جداول ۱-۱ و ۱-۲ ارزش غذایی گیاه تره‌فرنگی را نشان می‌دهند (پیوست، ۱۳۸۵).

جدول ۱- ۱. مواد غذایی موجود در تره‌فرنگی (گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)

آب	پروتئین	چربی	کربوهیدرات	سلولز
۸۹	۲.۲	۰.۳	۳.۲	۲.۳

جدول ۱-۲. املاح معدنی و ویتامین‌های موجود در تره‌فرنگی (میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) (پیوست، ۱۳۸۵)

کلسیم	فسفر	آهن	منیزیم	پتاسیم	ویتامین A	تیامین	ریبوفلاوین	نیاسین	ویتامین c
۸۵	٤٥	۱	۱۸	۲۲٥	۰.۰۲	۰.۱	۰.۰٦	۰.٥۳	۳

۱-۲-مشخصات سیتوژنتیکی تره

شواهد به دست آمده از مطالعات سیتوژنتیکی، با امکان بهبود گیاهان از طریق اقدامات اصلاحی ارتباط مستقیم دارد (سینگ، ۱۹۹۰). تره‌فرنگی گیاهی تتراپلویید (2n=4x=32)، خودسازگار و دگرگشن است (خزانه‌داری و جونز، ۱۹۹۷) و شامل انواع وحشی و زراعی با سطوح پلوییدی 4x، 5x و 6x است که نوع تتراپلویید رایج‌ترین آن‌ها است (عرشی، ۱۳۷۹). تره‌ایرانی نیز گیاهی تتراپلویید (2n=4x=32) است. مطالعات سیتوژنتیکی موسوی (به نقل از دشتی، ۱۳۸٤) بر روی ٤ جمعیت اصفهان، شادگان،

لرستان و یزد از تره‌ایرانی که طبق بررسی‌های این محقق دارای حداکثر اختلاف مورفولوژیکی بودند، انجام شد و مکان سانترومر و طول بازوهای کروموزوم‌های آن‌ها تعیین شد.

گونه‌ی *A. ampeloprasum* هم از لحاظ سیتوژنتیکی و هم از لحاظ مورفولوژیکی متنوع است. به‌طوری‌که تا کنون شش سطح پلوییدی در جمعیت‌های مختلف این گونه گزارش شده است. دیپلوییید (2n=2x=16)، تریپلوییید(2n=3x=24) ، تتراپلوییید (2n=4x=32)، پنتاپلوییید (2n=5x=40)، هگزاپلوییید (2n= 6x=48) و اکتاپلوییید (2n = 8x =56) (غفاری و شابزاز، ١٣٨٤).

دراینکه آیا تره‌فرنگی و تره‌ایرانی اتوتتراپلوییید و یا آلوتتراپلوییید هستند، بحث وجود دارد. تحقیقات محدودی طی سال‌های گذشته در این زمینه به انجام رسیده است و نقطه نظری که توسط اکثر این محققان تأیید می‌شود، به اتوتتراپلوییید بودن هر دوی این گیاهان اشاره دارد (خزانه‌داری و جونز، ١٩٩٧؛ عرشی، ١٣٧٩؛ غفاری وشابزاز، ١٣٨٤). طاهباز (١٩٧٦) برای اولین بار این دو محصول را از لحاظ سیتوژنتیکی مورد بررسی قرار داد و نتیجه گرفت هر دو گیاه آلوتتراپلوئید می‌باشند اما نتایج او دارای نکات مبهمی می‌باشد به‌طوری‌که ایشان برای تره‌ایرانی ١٥ جفت کروموزوم همولوگ و دو کروموزوم متفاوت را معرفی کرده که برای گیاهی با تولید مثل جنسی و هرمافرودیت ممکن نمی‌باشد. ایشان تفاوت‌هایی را در کروموزوم‌های تره‌ایرانی و تره‌فرنگی گزارش کرد اما تشخیص این تفاوت‌ها و قضاوت درباره‌ی آن‌ها با روش‌های رنگ‌آمیزی معمولی کار بسیار سختی است و در برخی موارد ممکن است کروموزوم‌های همتای دو گونه تفاوت‌های مورفولوژیکی نداشته باشند اما به دلیل تفاوت‌های درونی هیبریدهای حاصله یا نتاج نسل‌های تفکیک، میوز ناهنجاری داشته و در نتیجه هیبریدهای حاصل عقیم باشند (هاوکس، ١٩٩٤). تحقیقات انجام‌شده در جهت تعیین کاریوتیپ تره‌ایرانی و تره‌فرنگی ، بر اساس

اندازه‌ی کروموزوم‌ها، نسبت طول بازوها و جایگاه فرورفتگی ثانویه، ۸ گروه ٤ تایی از کروموزوم‌ها را نشان داد که شامل ٦ مجموعه‌ی ٤ تایی متاسانتریک و ۲ مجموعه‌ی ٤ تایی ساب متاسانتریک ماهواره‌دار می‌باشند. به نظر می‌رسد که تره‌ایرانی و تره‌فرنگی هر دو اتوتتراپلوییدباشند (غفاری و شابزاز، ۱۳۸٤).

کول و گوهیل (۱۹۷۰) بر اساس مطالعات سیتوژنتیکی خود بر روی نوعی *Allium ampeloprasum* که به ادعای آن‌ها دارای مشخصات مشابه تره‌فرنگی بود، تره‌فرنگی را گیاهی آلوتتراپلوییدمعرفی کردند اما کوراه (۱۹۸٦) در این که آیا این نوع به اندازه‌ی کافی مشابه تره‌فرنگی باشد، تردید دارد. این درحالی است که لوان (۱۹٤۰)، کادری و کامل و مورین (به نقل از کوراه، ۱۹۸٦) طی بررسی‌های سیتوژنتیکی، تره‌فرنگی را گیاهی اتوتتراپلوییدمعرفی نموده‌اند. به عقیده‌ی این محققان، در صورت آلوتتراپلوییدبودن گیاه مذکور، مشاهده‌ی کروموزوم‌ها تنها به صورت بیوالان در طی میوز قابل توجیه است اما وجود کوادریوالان‌ها در طی تقسیم میوز تره‌فرنگی، گویای اتوتتراپلوییدبودن این گیاه است.

مطالعات انجام‌شده در زمینه‌ی سیتوژنتیک گیاه تره‌فرنگی نشان داده است که مقدار بسیار کمی نوترکیبی در این گیاه اتفاق می‌افتد که قابل چشم پوشی است. علت این اتفاق به موقعیت خاص کیاسما در کروموزوم‌های این گیاه باز می‌گردد. بنابراین قسمت عمده‌ی کروموزوم‌ها از نسلی به نسل دیگر به صورت دست نخورده منتقل می‌شوند (عرشی، ۱۳۷۹).

وجود کروموزوم‌های B در هر دو گیاه گزارش شده است (پناهنده و آقایف، ۱۳۷۹؛ عرشی، ۱۳۷۹). تا کنون مطالعه‌ی جامع و کاملی برای بررسی نقش‌های احتمالی کروموزوم B در این گیاهان انجام نشده است. تنها بررسی انجام شده در تره‌فرنگی، نشان‌دهنده‌ی وجود ارتباط بین کروموزوم B و سرعت جوانه‌زنی بذر این گیاه است. بذور با نسبت‌های بالای سلول‌های حاوی کروموزوم B (٦۲ الی ۸٦

درصد)، به طور معنی‌داری سریعتر از بذوری جوانه می‌زنند که حاوی نسبت‌های پایین‌تری از این کروموزوم (۳ الی ٤۳ درصد) هستند (ووسا به نقل از پلوومن و بوگورد، ۱۹۹٤).

۱-۳-عوامل موثر بر رفتار میوزی گیاهان

میزان ناهنجاری‌های کروموزومی طی تقسیم میوز ، به عوامل مختلفی از جمله سطح پلوییدی و نوع پلوییدی گیاهان وابسته است. ژنوم یک گیاه دیپلویید از دو سری از کروموزوم‌های همولوگ تشکیل شده‌است که یک سری از والد پدری و سری دیگر آن از والد مادری به ارث رسیده‌است. بنابراین، به دلیل عدم امکان تشکیل کوادریوالان طی تقسیم میوز، این گیاهان از میوز متعادلی برخوردار می‌باشند (ریک، ۱۹۸٦).

رفتار میوزی گیاهان پلی پلویید بسته به نوع پلوییدی آن‌ها متفاوت است. گیاهان آلوتتراپلویید از دو ژنوم متفاوت مضاعف شده برخوردار هستند. بنابراین دو سری کروموزوم همولوگ در این گیاهان وجود دارد که در طی تقسیم میوز در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. در نتیجه، از تقسیم میوز متعادل برخوردار بوده و به اصطلاح رفتار دیپلوییدی دارند. در مقابل، ژنوم گیاهان اتوتتراپلویید دارای چهار سری کروموزوم همولوگ است که در طی تقسیم میوز قادر به جفت‌شدن هستند. در این حالت ممکن است کروموزوم‌ها به صورت دو به دو در کنار هم قرار گیرند و یا اینکه کوادریوالان تشکیل دهند. تشکیل کوادریوالان حالت‌های مختلفی از جدایی کروموزومی را به دنبال دارد (لوین، ۲۰۰۲). واریته‌ی اتوتتراپلویید گیاه *Hyoscyamus muticus* انواع مختلفی از ناهنجاری‌های کروموزومی شامل کوادریوالان و یونیوالان را طی تقسیم میوز نشان می‌دهد. درحالی‌که میوز در واریته‌ی دیپلویید، نرمال بوده و درصد

خیلی کمی از یونیوالان وجود دارد که در باروری موثر نیست (ریواستاوا، ۱۹۹۲). نتایج اخیر طی مطالعه و مقایسه‌ی میوز در گیاهان دیپلویید و اتوتتراپلویید آرابیدوپسیس نیز تأیید شد (پسینکا، ۲۰۱۱).

جفت‌شدن متعادل کروموزوم‌ها و وجود حداقل بی‌نظمی در طی تقسیم میوز، برای بهره‌برداری موفقیت‌آمیز از نتاج هیبریدهای بین گونه‌ای ضروری است. در گیاهان حاصل از تلاقی دو والد دیپلویید از دو گونه، وجود شباهت بین ژنوم والدین، عامل کلیدی در جفت‌شدن متعادل کروموزوم‌ها می‌باشد. در اغلب موارد، تلاقی‌های بین گونه‌ای این گیاهان، منجر به تولید هیبریدهایی با تعادل پایین سیتوژنتیکی و وقوع درجات مختلفی از ناهنجاری‌های کروموزومی در طی تقسیم میوز می‌گردد (سجرن، ۱۹۹۳). تا کنون تلاش‌های محققان جهت تولید هیبرید بین گونه‌ای سیر بارور و پیاز و نیز پیازچه‌ی برگی و پیاز که هر سه گیاهانی دیپلویید می‌باشند، بدون نجات جنین موفقیت‌آمیز نبوده است (کوراه، ۱۹۸٦). در بررسی تقسیم میوز گیاهان هیبرید F_1 حاصل از تلاقی پیازچه برگی و پیاز خوراکی، درصد بسیار زیادی از ناهنجاری‌های کروموزومی نظیر کروموزوم‌های با تأخیر و کوادریوالان به ثبت رسید (لوان، ۱۹٦٤). بر مبنای گزارش فلیسمینو و همکاران (۲۰۱۰)، به طور متوسط حدود ۵۰ درصد از سلول‌های مادر گرده در مراحل متافاز و آنافاز گیاهان هیبرید بین گونه‌ای جنس *Brachiaria*، دارای حداقل یک کروموزوم با تأخیر بودند. ترکیب ژنوم‌های غیر خویشاوند و وجود تفاوت بین کروموزوم‌های همولوگ، سبب کاهش جفت شدن متعادل کروموزوم‌ها، افزایش بی‌نظمی‌های تقسیم میوز و تولید گامت غیر طبیعی در گیاهان دیپلویید خواهد شد. بنابراین از بین بردن موانع برای تولید گیاهان هیبرید بین گونه‌ای یکی از مهم‌ترین جنبه‌ها برای پیشرفت در اصلاح این گیاهان است (سجرن و همکاران، ۱۹۹۳؛ اومهارا، ۲۰۰٦). اوسومی و همکاران (۱۹۹۳) سیر بارور و پیاز را که هر دو گیاهانی دیپلویید از دو گونه‌ی متفاوت می‌باشند، به

منظور تولید گیاهانی با مواد طعم‌دهنده‌ی هر دو والد، تلاقی دادند. بررسی تقسیم میوز، درصد بالایی از ناهنجاری‌های کروموزومی را نشان داد به طوری که تنها ٤٢ درصد از کروموزوم‌ها به صورت بیوالان جفت شده بودند. ۵۱ درصد از سلول‌های مادر گرده در مرحله‌ی تتراد حداقل دارای یک ریز هسته بودند. قسمت اعظم گیاهان تولیدی به طور کامل عقیم بودند. این در حالی است که در گیاهان اتوتتراپلویید، در صورت تلاقی دو گیاه با ژنوم مشابه، با تشکیل کوادریوالان طی پروفاز I بی‌نظمی‌های میوزی افزایش می‌یابد. بنابراین، شباهت بسیار زیاد کروموزوم‌های والدین در گیاهان اتوتتراپلویید چندان مطلوب نمی‌باشد و استفاده از والدینی با درصدی از تفاوت‌های کروموزومی ، منجر به میوز متعادل‌تری نسبت به حالت قبل می‌گردد.

۱-۳-۱- رفتار میوزی تره‌فرنگی

بیشترین ناهنجاری‌های میوزی که تاکنون در گیاهان مختلف گزارش شده است، شامل تشکیل یونیوالان و کروموزوم‌های با تأخیر، کوادریوالان‌ها، پل‌های کروماتیدی و ریز هسته در پایان میوز I و مرحله‌ی اسپوراد می‌باشد (خزانه‌داری و جونز، ۱۹۹۷؛ بینسفلد و همکاران، ۲۰۰۱؛ دیلکووا و بینگهام، ۲۰۱۰؛ هی و همکاران، ۲۰۱۱). انجام مشاهدات کمی در مراحل مختلف تقسیم میوز به منظور بررسی رفتار کروموزوم‌ها، نحوه‌ی جداشدن آن‌ها و منشأ هر یک از ناهنجاری‌ها ضروری به نظر می‌رسد اما در گیاه تره‌فرنگی به دلیل وجود تعداد زیاد کروموزوم‌ها، قرار گرفتن کروموزوم‌ها بصورت تجمعی و چسبندگی آن‌ها به دلیل قرارگیری در مواد تثبیت‌کننده، شمارش کروموزوم‌ها مشکل می‌باشد. به همین دلیل، مطالعات محدودی در مرحله‌ی آنافاز I در زمینه‌ی درصد یونیوالان‌ها و کروموزوم‌های با تأخیر انجام شده است. بنابه نتایج تحقیقات، بیش از سه درصد از سلول‌های مادر گرده در مرحله‌ی متافاز I

حداقل یک یونیوالان داشتند (خزانه داری و جونز، ۱۹۹۷). مروری بر تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که یونیوالان‌ها به دلیل رفتارهای متفاوت و متنوع، عامل اصلی اغلب ناهنجاری‌های مشاهده شده طی تقسیم میوز می‌باشند. عدم ثبات کوادریوالان‌ها بین مرحله‌ی پاکی‌تن و مرحله‌ی متافاز I، دلیل اصلی تولید یونیوالان‌ها در گیاهان تتراپلویید می‌باشد(دیلکووا و بینگهام، ۲۰۱۰) . اما این تنها منشأ تولید کروموزوم‌های یونیوالان نیست. پاگلیارینی (۲۰۰۰) و لوین (۲۰۰۲) بیان کردند که درصد کروموزوم‌های یونیوالان و به دنبال آن فراوانی کروموزوم‌های با تأخیر تحت تأثیر فراوانی متفاوت کیاسماها خواهد بود. بر این اساس، گیاهان دارای کروموزوم‌های با تعداد کیاسمای کمتر، یونیوالان‌های بیشتری را در مرحله‌ی دیاکینز و یا متافاز I میوز تشکیل می‌دهند.

خزانه‌داری و جونز (۱۹۹۷)، یونیوالان‌ها را به عنوان منشأ اصلی کروموزوم‌های با تأخیر معرفی کرده‌اند. کوادریوالان‌ها طی تقسیم میوز، اغلب به صورت منظم (۲:۲) جدا می‌شوند اما گاهی بی‌نظمی-هایی در جدایی این کروموزوم‌ها مشاهده می‌گردد (۱:۳). همان‌طور که گفته شد، یکی از محصولات جدایی نامنظم این کروموزوم‌ها، یونیوالان‌ها می‌باشند. کروموزوم‌های یونیوالان مستعد داشتن تقسیم میوز نامتعادل هستند. دو عدد یونیوالان موجود در یک سلول که در طی متافاز I همزمان با سایر کروموزوم‌ها در استوای سلول قرار نگرفته‌اند، ممکن است به صورت تصادفی و بدون تقسیم در مرحله‌ی آنافاز I به قطب‌های سلول تغییر مکان دهند. در این حالت ممکن است هر یونیوالان به یکی از قطب‌ها برود یا اینکه هر دو به یک قطب بروند. کروموزوم یونیوالانی که تا پایان مرحله‌ی آنافاز I به ترتیب ذکر شده به قطب‌های سلول نرود، از حضور در هر دو سلول حاصل از تقسیم اول محروم می‌گردد. در این حالت، کروموزوم با تأخیر ایجاد خواهد شد. این نتایج توسط پاگلیارینی (۲۰۰۰) نیز تأیید می‌گردد.