بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده علوم پایه و کشاورزی

مرکز تهران

پایان نامه برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی- علوم گیاهی

گروه زیست شناسی

مطالعه ی سیتوژنتیکی چند گونه از بومادران

فاطمه افشاری

استاد راهنما:

دکتر محمد ضابط

استاد راهنما همکار:

دکتر غلامرضا بخشی خانیکی

استاد مشاور:

دکتر محسن ابراهیمی

تابستان ۹۰

با درود به روح پدرم؛

و سپاس از همدلی مادرم؛

تقدیم به:

همسر عزیزم سیدحمیدرضا

پسر نازنینم سید محمد حسین

که بی شک موفقیتم را مدیون آنها هستم و در این راه مشقت های بسیاری را متحمل شده اند.

وظیفه خود می دانم مراتب سپاس و قدردانی را از محضر اساتید ارجمند که در طول مراحل پژوهش سهم بسزایی داشتند ابراز دارم:

اساتید محترم راهنما:

جناب آقای دکتر محمد ضابط و **جناب آقای دکترغلامرضا بخشی خانیکی** که در تدوین کلیه مراحل پایان نامه همواره از راهنمایی های بی دریغشان برخوردار بودم

استاد محترم مشاور:

جناب آقای دکتر محسن ابراهیمی که پیشرفت این پروژه مرهون لطف ایشان می باشد

استاد داور محترم:

جناب آقای دکتر عباس قلی پور که با راهنمایی های ارزنده ی خویش به رفع نقایص این پروژه کمک شایانی نمودند

و

اساتید محترم **جناب آقای دکتر منصور امیدی** و **جناب آقای دکتر عیسی ظریفی** که صادقانه مرا در انجام این پروژه یاری نموده اند

مسئولین و پرسنل محترم آزمایشگاه گیاه شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

جناب آقای مهندس لطفی، خانم مهندس باقری، خانم مهندس کریم پور و خانم مهندس عابدینی

و

آقایان محمد جوان، سید مجتبی للهی، مهندس مهدی جوان، مهندس ابوالفضل جوان، مهندس محمود افشاری، مهندس مهران افشاری ، مهندس محسن عطاری و مهندس مصطفی فرج پور

و

خانم ها بتول اشرفی، سارا مقسومی، زینب نظری، سحر صیادی ، هانیه سادات حسینی، نجمه کریمی پور و نعیمه کریمی پور که به نحوی در انجام این تحقیق مرا یاری نمودند و کلیه دانش آموزان عزیزم در مدارس صدیقه طاهره (س) آسیابان، فروغ دانش بورنگ و شهید دهقانی کوشکک که همواره با دعای خیرشان اینجانب را همراهی نموده اند کمال تشکر و سپاس را دارم...

فاطمه افشاری– شهریور ۱۳۹۰

چکیده

بومادران (*Achillea*) از تیره ی کاسنی (compositae) به طور خودرو درکنارجوی ها می روید و سطح وسیعی از مراتع ایرا ن را به خود اختصاص داده است. این جنس شامل ۱۱۵ گونه در سراسر جهان می باشد که ۱۹ گونه ی آن در ایران رویش دارد. این پژوهش مطالعه ی سیتوژنتیک بر روی شش جمعیت از دو گونه ی *Achillea* شامل *Achillea millefolium* و *Achillea santolina* انجام گرفته است. مریستم نوک ریشه ی جمعیت های مورد مطالعه استفاده شده و پس از پیش تیمار، تثبیت، هیدرولیز، رنگ آمیزی و انتخاب صفحه ی گسترش متافازی مناسب، از نمونه ها با فتومیکروسکوپ عکسبرداری شده و مورفولوژی کروموزوم ها مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج نشان می دهد که عدد پایه ی کروموزومی در شش جمعیت *Achillea*، x=۹ بوده و سه جمعیت دیپلوئید (۲n=۲x=۱۸) و سه جمعیت تتراپلوئید (۲n=۴x=۳۶) بوده اند. با اندازه گیری پارامترهای مختلف کاریوتیپ L (طول بازوی بلند کروموزوم)، S (طول بازوی کوتاه کروموزوم)، T (طول کل کروموزوم) مشخص شده که دامنه ی تغییرات طول کروموزوم از ۳/۹ میکرون در جمعیت ۸۸۳۹(*A.santolina* الیگودرز) تا ۱/۲ میکرون در جمعیت ۸۶۸۸ (*A.santolina* اراک) متغیر می باشد. بررسی تقارن کاریوتیپ بر اساس روش های %S, %TF,DRL استبینز و لوان نشان داده که متقارن ترین کاریوتیپ مربوط به جمعیت ۸۶۸۸ (*A.santolina* اراک) بوده، بنابراین این جمعیت یک گونه ی قدیمی تر است و نامتقارن ترین کاریوتیپ ها مربوط به جمعیت های ۶۱۵۰ (*A.mellifolium* استهبان) و ۸۸۳۹ (*A.santolina* الیگودرز) بوده است، لذا این جمعیت ها گونه های جدید تر هستند. تجزیه ی واریانس نشان داده که که میانگین های این جمعیت ها برای سه مولفه ی L، S، T یکسان نیستند. با توجه به آزمون دانکن، جمعیت ها بر اساس L، S و T به پنج دسته تقسیم شده اند که این نشان دهنده ی تغییرات بیشتر این صفات است. نتایج حاصل از همبستگی نشان داده که جمعیت ها از نظر T همبستگی معنی داری در سطح ۱ درصد دارند. در بین دو جمعیت دیپلوئید ۱۳۳۱۰ (*A.mellifolium* مشکین شهر) و ۸۳۷۲ (*A.mellifolium* اردبیل)، بیشترین همبستگی را از نظر S ، L، L-S، S/L داشته اند. در بین تتراپلوئیدها نیز جمعیت‌های ۸۶۸۸ (*A.santolina* اراک) و ۴۷۲۳ (*A.mellifolium* ایلام) از نظر T و%RL بیشترین همبستگی را داشته اند که جدول استبینز نیز این مطلب را تایید می نماید.

واژگان کلیدی:

Achillea millefolium, Achillea santolina، کروموزوم، کاریوتیپ، سیتوژنتیک

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و کلیات

مقدمه و کلیات ۱
۱-۱- یافته های کروموزومی ۳
۱-۱-۱- تعداد کروموزوم ٤
۱-۱-۲- ساختار کروموزوم ٥
۱-۱-۲-۱- تجزیه و تحلیل کاریوتیپ ٦
۱-۱-۲-۲- اهمیت بررسی کاریو تیپی در گیاهان ۷
۱-۱-۲-۳- معیارهای تعیین کاریو تیپ ۸
۱-۱-۲-٤- انواع کاریوتیپ ۹
۱-۱-۲-٥- اصول تجزیه و تحلیل کاریوتیپ ۱۰
۱-۱-۳- رفتار کروموزم ۲٤
۱-۱-۳-۱- تقسیم میتوز ۲٦
۱-۱-۳-۲- طول دوره میتوز ۳۱
۱-۱-٤- ناهنجاری های کروموزوم ۳۲
۱-۲- گیاهان دارویی ۳٤
۱-۲-۱- تاریخچه گیاهان دارویی ۳٦
۱-۲-۲- خصوصیات گیاهان دارویی ۳۸
۱-۲-۳- دلایل استفاده از گیاهان دارویی ۳۸
۱-۲-٤- اهمیت اقتصادی گیاهان دارویی در ایران و جهان ٤۰
۱-۲-٥- پتانسیل تولید گیاهان دارویی در کشور ٤۱
۱-۳- تیره ی کاسنی ٤۱
۱-٤- بومادران ٤۳
۱-٤-۱- تاریخچه بومادران ٤۳
۱-٤-۲- گیاه شناسی بومادران ٤٤
۱-٤-۳- ترکیبات بومادران ٤٤
۱-٤-٤- تاریخ کاشت ٤٥
۱-٤-٥- کاشت ٤٦

۱-٤-٦- داشت ٤٦
۱-٤-۷- برداشت ٤۷
۱-٤-۸- دامنه انتشار ٤۷
۱-٤-۹- خواص درمانی ٤۷
۱-٤-۱۰- احتیاط مصرف ٤۸
۱-٤-۱۱- نام تجاری دارو ٤۸
۱-۵- هدف اهلی کردن گیاهان دارویی ٤۹

فصل دوم: مبانی نظری بر پیشینه تحقیق

۲-۱- مروری بر برخی پژوهش های علمی انجام شده در مورد گیاه بومادران در ایران ۵۲
۲-۲- پیشینه تحقیق بررسی سیتوژنتیک بومادران در ایران ۵۷
۲-۳- هدف از انجام این پژوهش ٦۰

فصل سوم: روش تحقیق

۳-۱- محل و زمان انجام آزمایش ٦۲
۳-۲- مواد گیاهی ٦۲
۳-۳- وسایل و تجهیزات مورد نیاز در آزمایشگاه سیتوژنتیک ٦۳
۳-۳-۱- وسایل رومیزی برای تهیه نمونه های میکروسکوپی ٦۳
۳-۳-۲- تجهیزات آزمایشگاهی ٦٤
۳-٤- روش تهیه نمونه های کروموزومی ٦٤

فصل چهارم: یافته های تحقیق

٤-۱- تعداد کروموزوم ها و سطح پلوئیدی ۷۱
٤-۲- عکس برداری ۸٤
٤-۳- تقارن کاریوتیپی ۸۸
٤-٤- بررسی همبستگی کاریوتیپ ها ۹۲
٤-٤-۱- همبستگی بین جمعیت ها از نظر طول بازوی کوتاه ۹۲
٤-٤-۲- همبستگی بین جمعیت ها از نظر طول بازوی بلند ۹٤

٤-٤-٣- همبستگی بین جمعیت ها از نظر طول کروموزم ٩٥
٤-٤-٤- همبستگی بین جمعیت ها از نظر S/L ٩٦
٤-٤-٥- همبستگی بین جمعیت ها از نظر L/S ٩٧
٤-٤-٦- همبستگی بین جمعیت ها از نظر F% ٩٨
٤-٤-٧- همبستگی بین جمعیت ها از نظر RL% ٩٩
٤-٤-٨- همبستگی بین جمعیت ها از نظر L-S ١٠١
٤-٥- تجزیه ی واریانس داده های کاریوتیپی ١٠٢
٤-٥-١- تحلیل واریانس یک طرفه ١٠٢
٤-٥-٢- تحلیل واریانس دو طرفه بدون اثر متقابل ١٠٩
٤-٦- مقایسه و دسته بندی میانگین های کروموزوم ها ١١٠

فصل پنجم: نتیجه گیری کلی

٥-١- نتیجه گیری ١١٤
٥-٢- پیشنهادات ١٢٠
ضمیمه ١٢٢
٦- منابع و مآخذ ١٢٣
چکیده لاتین ١٢٩

فهرست جداول

جدول ٤-١ مشخصات کروموزومی جمعیت ۸۸۳۹ ..... ۷۲

جدول ٤-٢ مشخصات کروموزومی جمعیت ۸۳۷۲ ..... ۷۳

جدول ٤-٣ مشخصات کروموزومی جمعیت ۱۳۳۱۰ ..... ۷۵

جدول ٤-٤ مشخصات کروموزومی جمعیت ۸٦۸۸ ..... ۷٦

جدول ٤-٥ مشخصات کروموزومی جمعیت ٤۷۲۳ ..... ۷۸

جدول ٤-٦ مشخصات کروموزومی جمعیت ٦۱۵۰ ..... ۸۰

جدول ٤-۷ بررسی دامنه تغییرات برخی ویژگی های کاریوتیپی گونه های مورد مطالعه ۸۳

جدول ٤-۸ بررسی ضریب تغییرات جمعیت ها مورد مطالعه از نظر S, T, L ۸٤

جدول ٤-۹ آماره های محاسبه شده از ویژگی های کاریوتیپی ۸۸

جدول ٤-۱۰ تقارن کاریوتیپی به روش استیبنز ۹۱

جدول ٤-۱۱ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر S در جمعیت های ۳٦ کروموزومی..... ۹۳

جدول ٤-۱۲ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر S در جمعیت های ۱۸ کروموزومی..... ۹۳

جدول ٤-۱۳ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر L در جمعیت های ۳٦ کروموزومی ۹٤

جدول ٤-۱٤ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر L در جمعیت های ۱۸کروموزومی ۹۵

جدول ٤-۱۵ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر T در جمعیت های ۳٦ کروموزومی ۹٦

جدول ٤-۱٦ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر T در جمعیت های ۱۸ کروموزومی ۹٦

جدول ٤-۱۷ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر S/L در جمعیت های ۳٦ کروموزومی..... ۹۷

جدول ٤-۱۸ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر S/L در جمعیت های ۱۸ کروموزومی..... ۹۷

جدول ٤-۱۹ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر L/S در جمعیت های ۳٦ کروموزومی ۹۸

جدول ٤-۲۰ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر L/S در جمعیت های ۱۸ کروموزومی..... ۹۸

جدول ٤-۲۱ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر %F در جمعیت های ۳٦ کروموزومی..... ۹۹

جدول ٤-۲۲ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر %F در جمعیت های ۱۸ کروموزومی..... ۹۹

جدول ٤-٢٣ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر RL% در جمعیت های ٣٦ کروموزومی..... ١٠٠
جدول ٤-٢٤ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر RL% در جمعیت های ١٨ کروموزومی..... ١٠٠
جدول ٤-٢٥ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر L-S در جمعیت های ٣٦ کروموزومی ١٠١
جدول ٤-٢٦ همبستگی بین ژنوتیپ ها از نظر L-S در جمعیت های ١٨ کروموزومی..... ١٠١
جدول ٤-٢٧ برابری واریانس S, L, T در بین جمعیت های مورد مطالعه ١٠٣
جدول ٤-٢٨ تحلیل واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین جمعیت ها ١٠٤
جدول ٤-٢٩ میانگین مربعات جدول های تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده در تقسیم میتوز در جمعیت ها ١٠٩
جدول ٤-٣٠ مقایسه میانگین های ژنوتیپ های مورد مطالعه از نظر ویژگی های مختلف کروموزومی با روش دانکن ١١٢

فهرست نمودار ها

نمودار ٤-١ میانگین طول بازوی کوتاه در بین جمعیت ها ١٠٤

نمودار ٤-٢ میانگین طول بازوی بلند در بین جمعیت ها ١٠٥

نمودار ٤-٣ میانگین طول کروموزوم در بین جمعیت ها..... ١٠٥

نمودار ٤-٤ میانگین F% در بین جمعیت ها..... ١٠٦

نمودار ٤-٥ میانگین RL% در بین جمعیت ها ١٠٦

نمودار ٤-٦ میانگین L/S در بین جمعیت ها..... ١٠٧

نمودار ٤-٧ میانگین S/L در بین جمعیت ها..... ١٠٧

نمودار ٤-٨ میانگین L-S در بین جمعیت ها..... ١٠٨

نمودار ٤-٩ پراکنش S, L, T در بین جمعیت های مورد مطالعه ١٠٨

فهرست تصاویر

تصویر ٤-١- ایدیوگرام جمعیت ٨٨٣٩ ..... ٧٢
تصویر ٤-٢- کاریو گرام جمعیت ٨٨٣٩ ..... ٧٢
تصویر ٤-٣- ایدیوگرام جمعیت ٨٣٧٢ ..... ٧٤
تصویر ٤-٤- کاریو گرام جمعیت ٨٣٧٢ ..... ٧٤
تصویر ٤-٥- ایدیوگرام جمعیت ١٣٣١٠ ..... ٧٥
تصویر ٤-٦- کاریو گرام جمعیت ١٣٣١٠ ..... ٧٥
تصویر ٤-٧- ایدیوگرام جمعیت ٨٦٨٨ ..... ٧٧
تصویر ٤-٨- کاریو گرام جمعیت ٨٦٨٨ ..... ٧٧
تصویر ٤-٩- ایدیوگرام جمعیت ٤٧٢٣ ..... ٧٩
تصویر ٤-١٠- کاریو گرام جمعیت ٤٧٢٣ ..... ٧٩
تصویر ٤-١١- ایدیوگرام جمعیت ٦١٥٠ ..... ٨١
تصویر ٤-١٢- کاریو گرام جمعیت ٦١٥٠ ..... ٨١
تصویر ٤-١٣ کروموزوم های جمعیت ٨٨٣٩ ..... ٨٥
تصویر ٤-١٤ کروموزوم های جمعیت ٨٣٧٢ ..... ٨٥
تصویر ٤-١٥ کروموزوم های جمعیت ١٣٣١٠ ..... ٨٥
تصویر ٤-١٦ کروموزوم های جمعیت ١٣٣١٠ ..... ٨٦
تصویر ٤-١٧ کروموزوم های جمعیت ٨٦٨٨ ..... ٨٦
تصویر ٤-١٨ کروموزوم های جمعیت ٤٧٢٣ ..... ٨٧
تصویر ٤-١٩- کروموزوم های جمعیت ٦١٥٠ ..... ٨٧

فصل اول

مقدمه

و

کلیات

۱- مقدمه

سیتوژنتیک شاخه ای از علم ژنتیک است که نقش موثری در کشف و تکمیل اطلاعات ژنتیکی و بیولوژیکی موجودات زنده دارد. این علم ترکیبی از سیتولوژی (مطالعه ی کروموزوم واجزای سلول) و ژنتیک (مطالعه ی توارث) می باشد که به نحوی فعالیت، رفتار و ساز وکار انتقال کروموزوم ها طی تقسیم های سلولی میتوز و میوز، تعداد و ساختار کروموزوم ها، ناهنجاری های کروموزومی از نظر تعداد و ساختمان آنها در طی نوترکیبی و انتقال و تظاهر ژن ها می پردازد. به طور کلی سیتوژنتیک را شاید بتوان علم کروموزوم نامید که شامل مشخصات میکروسکوپی (الکترونی و نوری) و مولکول کروموزوم است. بعلاوه رفتار کروموزوم ها در طی انتقال رویشی و زایشی را نیز بررسی می‌کند (امیدی و همکاران، ۱۳۸۸: ۱).

قوانین توارث مندل از سال ۱۸۶۵ ارائه شد و هنوز روشی بنیادی در بررسی صفات گوناگون در طی نسل‌های مختلف به شمار می رود. در اواخر قرن نوزدهم و اوایل قرن بیستم با پیشرفت های به عمل آمده در زمینه های مختلف علوم بیولوژی مشخص شد که کروموزوم ها عناصر کلیدی تقسیم و باروری و به عبارتی مسئول انتقال فاکتورهای توارثی از نسلی به نسل دیگر هستند و تنوع و تکامل موجودات زنده را کنترل می کنند. سوتون و بواری[۱] در سال ۱۹۰۳ با ارائه ی نظریه ی کروموزومی توارث علم سیتوژنتیک را پایه ریزی کردند. تحقیقات انجام شده در ذرت، تاتوره و مگس سرکه در قرن بیستم نشان داد که تعداد کروموزوم های هر فرد مشخص و منحصر به فرد است. هم چنین مشخص شد که فاکتورهای توارثی (ژن ها) در سطح کروموزوم ها و در هسته‌ی سلول‌ها جای دارند

۱- Sutton and Boveri

و براساس ساز و کارهای بسیار دقیق در طی فرایند های میتوز و میوز از سلولی به سلول دیگر یـا از نسلی به نسل دیگر منتقل می‌شوند (عالیشاه، امیدی، ۱۳۸۷: ۱).

پیشرفت های حاصل در شناخت سلول به ویژه پیشرفت های حاصل در کاربرد روش های استفاده از نور پولاریزه، انتشار اشعه ی ایکس، انواع میکروسکوپ (نوری، فاز متضاد، کانونی و غیـره)، اشـعه‌ی لیزر و مانند آن موجب تغییر اساسی در تفسیر ساختمان‌های سلولی شده اسـت. سـاختارهای اصـلی زیادی درحد ماکرو مولکول وجود دارند که فرا ساختمان سـلول را مـی‌سـازند (امیـدی و همکـاران، ۱۳۸۸: ۱).

۱-۱- یافته های کروموزومی

یافته های کروموزومی یکی از منابع مهم در تاکسونومی[۱] و رده بندی نیز می باشند، که از آن به عنوان سیتوتاکسونومی[۲] یا تاکسونومی یاخته نام برده می شود. این یافته ها به دو روش در رده بندی به کـار برده می شوند. در روش اول یافته ها فقط جنبه ی تشریحی دارند. برای نمونـه تعـداد کرومـوزوم‌هـا می‌تواند همـان اهمیـت تعـداد برچـه هـا را داشـته باشـد. در روش دوم از تعـداد کرومـوزوم هـا و همساختی[۳] آنها میتـوان یافتـه هـای ویـژه ای را بـه دسـت آورد. در مطالعـات سیسـتماتیک زیسـتی (فیلوژنتیکی)[۴] جنبه ی دوم از اهمیت بیشتری برخوردار است (خسروی، ۱۳۷۵: ۱۵۳). این یافتـه هـا تحت چهار عنوان مورد توجه قرار می گیرند:

۱- Taxonomy
۲- Cytotaxonomy
۳ - Homology
٤- Phylogenetic

۱- تعداد کروموزوم؛

۲- ساختار کروموزوم؛

۳- رفتار کروموزوم؛

۴- ناهنجاری های کروموزوم (بخشی خانیکی، ۱۳۸۸).

۱-۱-۱- تعداد کروموزوم

از اوایل قرن گذشته مشخص گردید که در همه ی افراد یک گونه تعداد کروموزوم های هر یاخته (عدد کروموزومی) ثابت است. هم چنین به جز چند برابر شدن تعداد کروموزوم، گونه هایی با خویشاوندی نزدیک احتمالا تعداد کروموزوم یکسان دارند و گونه هایی که دوری بیشتری نشان می‌دهند احتمالا دارای تعداد کروموزوم های متفاوت هستند. این ثبات نسبی موجب شده که در تاکسونومی، عدد کروموزومی به عنوان صفتی مهم و کاربردی معرفی شود و از این رو تنها داده‌ی سیستماتیک زیستی است که پیوسته در فلورها و منابع همسان گزارش می شود. داده ها معمولا به صورت عدد دیپلوئید (۲ n) ارائه می شوند. در بافت سوماتیک معمولا شمارش بر روی یاخته‌هایی است که تقسیم در آن همزمان و سریع باشد. برای نمونه یاخته های بافت مریستمی، جنین و یاخته‌های بافت هاگدان جوان. اهمیت عدد کروموزومی در تاکسونومی از فراوانی فهرست‌های منتشر شده‌ی شمارش کروموزومی آشکار می‌شود (خسروی، ۱۳۷۵: ۱۵۴).

بررسی فهرست های کروموزومی نشان می دهد که گونه های خویشاوند (گونه های یک جنین) معمولا تعداد کروموزوم متفاوت دارند. بیشترین تفاوت ها ناشی از پدیده ی پلی پلوئیدی[۱] است. پلی

۱- Polyploidy

پلوئیدی نقش عمده ای در تکامل گیاهان دارد که از فرآیند های میتوزی یا میوزی به وجود مـی آیـد (خسروی، ۱۳۷۵: ۱۵۵).

در میتوز عدد کروموزومی از تقسیم میتوزی کروموزوم بدون تقسیم یاخته دو برابر می شود. اگر ایـن یاخته بخشی از یک بافت جنین جوان یا بافت مریستم شود می تواند بخشی طبیعی از بخشـی باشـد که به یک گیاه تبدیل می شود (خسروی، ۱۳۷۵: ۱۵۷).

۱-۱-۲- ساختار کروموزوم

اولین ویژگی ساختاری رایج، محل قرار گرفتن سانترومر[۱] می باشد که شامل نسبت طول بـازوی هـر کروموزوم در ژنوم می باشد.

دومین ویژگی اندازه ی کل کروموزوم ها است که می تواند به طور مطلق اندازه گیری شود.

سومین ویژگی تعیین محل دومین فشردگی ها می باشد که حدود ماهواره ها[۲] را مشخص می‌کند.

نمایش مجموعه ی عدد پایه (ژنوم) با میکروسکوپ نوری کاریوتیپ[۳] نام دارد که همیشه بـر اسـاس مشاهدات کافی استخراج می گردند.

معمولا کاریوتیپ ها را به صورت ایدیوگرام[۴] و یا کاریوگرام[۵] نمایش می دهند. این ویژگی ها همـراه با اندازه ی کروموزوم در تمام سطوح رده بندی تاکسونومیکی بسیار ارزشمند است (خسروی، ۱۳۷۵: ۱۶۵).

۱- Centromere
۲- Satellites
۳- karyotype
٤- Idiograms
٥- Karyograms

۱-۱-۲-۱- تجزیه و تحلیل کاریوتیپ

کاریوتیپ خصوصیات مورفولوژیکی مجموعه ی کروموزومی است که در متافاز میتوز دیده می شود. همان طور که اشاره شد تجزیه وتحلیل کاریوتیپی روی سلول های سوماتیکی (میتوز) صورت می‌پذیرد که برای این کار بیشتر از میتوز نوک ریشه استفاده می گردد (عالیشاه، امیدی، ۱۳۸۷: ۷۱).

تجزیه‌ی کاریوتیپ اغلب براساس مطالعه ی کروموزوم های متافازی در سلول های سوماتیکی انجام می‌شود. این امر بر مبنای دو شاخص طول کروموزوم (شاخص تصویری) و موقعیت فرورفتگی‌های اولیه و ثانویه در سطح کروموزوم های فشرده ی متافازی انجام می شود (فوکویی و کاکدا، ۱۹۹۴) [۱].

کروموزوم ها در مرحله ی متافاز حداکثر فشردگی را نشان می دهند و این کروموزوم ها را می توان با استفاده از پیش تیمار مشاهده کرد. روش های سیتولوژیکی، تعیین ساختار کروموزومی و تشخیص کروموزوم های خاص را تسهیل و امکان پذی می کند. از کاریوتیپ، کاریوگرام و ایدیوگرام برای بیان مشخصات کروموزوم ها استفاده می شود. کاریوتیپ اندازه، تعداد ومورفولوژی کروموزوم‌های یک سلول یا یک گونه را تشریح می کند. کاریوگرام تصویری است که از کنار هم چیدن تصاویر کروموزومی حاصل می شود، به طوری که کروموزوم های همولوگ بر حسب اندازه، از بزرگ به کوچک مرتب می شوند. ایدیوگرام یک ترسیم گرافیکی از کروموزوم، و یا به عبارتی یک شمای خلاصه شده و قابل تفسیر از کاریوگرام است (امیدی و همکاران، ۱۳۸۸: ۱۵۵).

گاهی اوقات، برخی روش های معمول رنگ آمیزی، قادر به تشخیص جزئیات کروموزوم های مشابه

۱- Fukui and Kakeda, ۱۹۹٤

نیستند. در چنین مواردی، روش های نواربندی C و N گیمسا[1] برای تشخیص این گونه کروموزوم ها مناسب هستند. به تازگی نیز روش های دورگه سازی در محل[2] برای کروموزوم های گیاهی (به ویژه غلات) بهینه سازی و استفاده شده اند که امکانات و تسهیلات مناسبی برای شناسایی و تشخیص کروموزوم های مشابه (از نظر ریخت شناسی) فراهم کرده اند (امیدی و همکاران، ۱۳۸۸: ۱۵۶).

۱-۱-۲-۲- اهمیت بررسی کاریوتیپی در گیاهان

پژوهش های کاریوتیپ نقش مهمی در تعیین قرابت گونه ها ایفا می کند و به عنوان اولین قدم در تجزیه ی فیلوژنی و تکامل گروه های خویشاوند مطرح است. انجام پژوهش های سیتولوژیکی در گونه های گیاهی و نیز در جمعیت های مختلف زراعی، بومی و وحشی آنها اهمیت زیادی دارد. بررسی اختلافات مورفولوژیکی کروموزوم ها (شکل و اندازه ی کروموزوم ها) در تقسیم میتوز و هم چنین بررسی رفتار کروموزوم ها در طی مراحل مختلف ژنتیک و اصلاح نباتات اهمیت دارد. به نژادگران گیاهی از راه تجزیه ی کاریوتیپ اطلاعاتی را کسب می کنند که در موارد مختلفی مورد استفاده قرار می گیرد. اختلافات سیتولوژیکی در گونه های مختلف گیاهی (از نظر تعداد و مورفولوژی کروموزوم) مشکلی اساسی در تلاقی پذیری گونه های خویشاوند یا غیر خویشاوند محسوب می شود و از این گذشته در بیشتر مواقع از طریق اختلال میوزی و ایجاد عقیمی در هیبریدها، روند برنامه های اصلاحی را مختل می سازد. پس به نژادگران با شناخت دقیق مشخصات کاریوتیپی گونه های گیاهی، راهبرد های لازم را برای انتقال ژن های مطلوب از گونه های وحشی به

۱– Giemsa C and N-banding

۲ – In Situ Hybridization Technique

گونه های زراعی از طریق تلاقی های دور پیش بینی می کنند. در تجزیه ی کاریوتایپ پیشرفته، با بررسی توالی و نوترتیبی های ژنی، اطلاعات مناسب و لازم برای انتقال ژن یا قطعه ای از کروموزوم فراهم می شود. عمل انتقال را به راحتی می توان با استفاده از روش های مولکولی (RFLP)، روش‌های بیوشیمیایی (نشانگرهای آنزیمی) و روش های سیتولوژیکی (مورفولوژی کروموزوم ها) مدیریت کرد. با در دست بودن نقشه ی ژنتیک کروموزومی و فاصله ی ژن مورد نظر از ژن نشانگر، جداسازی ژن مطلوب از ژن های نامطلوب آسان می شود (عالیشاه، امیدی، ۱۳۸۷: ۷۱).

سایر استفاده های کاریوتیپ، تشخیص گونه، جنس، بررسی مبدا ژنتیکی گیاهان و تشخیص همولوژی (شباهت) کروموزوم ها می باشد (احمدیان تهرانی، ۱۳۷۶: ۷۰۲).

همچنین مطالعات کاریوتیپ ممکن است تنوع را آشکار کند که مورفولوژی گیاه آن را ظاهر نسازد (اوهری، ۱۹۸۸).

۱-۱-۲-۳- معیارهای تعیین کاریوتیپ

حد دقت و صحت تجزیه ی کاریوتیپی به هدف و کیفیت مواد آزمایشی تهیه شده بستگی دارد. در بعضی موارد به اطلاعاتی چون تعداد کروموزوم یا حتی تعداد ژنوم در هسته‌ی سلول بسنده می‌شود. شاید دلیل این موضوع آن باشد که مواد مورد استفاده اطلاعات بیشتری را آشکار نمی‌کنند (برای مثال کروموزوم ها از نظر اندازه بسیار شبیه به هم هستند و به روش های نواربندی پاسخ نمی دهند و غیره). با آنکه مواد به روش های پیچیده تر واکنش بهتری نشان می دهند، در هنگام برنامه ریزی برای یک آزمایش، تصمیم گیری در مورد اینکه آیا فرد قادر به انجام روش های بیشتری است یا نه، و اگر می‌تواند آیا قادر به انجام همزمان خواهد بود یا نه، بسیار مفید است.

در مجموع ملاک های ریختی کروموزوم که در بررسی کاریوتیپی مورد استفاده قرار می گیرند شامل