به‌نژادی گیاهان زراعی و باغی
دوره ۱ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۲
صفحه‌های ۱۲۳-۱۳۰

ارزیابی تنوع سیتوژنتیک و مورفولوژیک برخی از توده‌های شنبلیلهٔ بومی ایران

عباس یداللهی*[۱]، عطیه میان‌محله[۲] و عبدالعلی شجاعیان[۳]

۱. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس (نویسنده مسئول مکاتبات*)
۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس
۳. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ وصول مقاله: ۹۱/۱۱/۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۲/۱۰/۷

چکیده

در این پژوهش ۱۱ تودهٔ شنبلیلهٔ بومی ایران ارزیابی کاریوتیپی شده است. تجزیهٔ ژنوم گونه‌ها شامل اندازه‌گیری طول کل کروموزوم‌ها، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، نسبت طول بازوی بلند به کوتاه، شاخص سانترومتری، شاخص تقارن، شاخص پراکندگی و ضریب تغییرات و طول نسبی انجام شد. گونه‌ها دیپلوئید و با عدد کروموزومی 2n=16 بودند. تقارن کاریوتیپ‌ها براساس خصوصیات مورفولوژیک توده‌ها است. براساس روش استیبنز ژنوتیپ‌های کردستان، اردستان و زنجان در گروه ۲A و سایر ژنوتیپ‌ها در گروه ۱A قرار گرفتند. در بخش مطالعات مورفولوژیک تجزیهٔ خوشه‌ای بر روی توده‌ها براساس میانگین نه صفت استانداردشده شامل (تعداد برگ، تعداد روز تا گلدهی، وزن خشک، طول ساقه، وزن هزاردانه، تعداد روز تا جوانه‌زنی، طول برگ، قطر برگ و طول دمبرگ) انجام گرفت. برای تعیین فاصلهٔ بین توده‌ها از روش Dist و روش ادغام کلاسترها استفاده شد. داده‌های مورفولوژیک با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و SPSS نرمال شدند. تجزیهٔ واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام گرفت.

کلیدواژه‌ها: تنوع، شنبلیله، کاریوتیپ، مورفولوژیک، *Leguminosae*.

* نویسنده مسئول Email: yadollah@modares.ac.ir

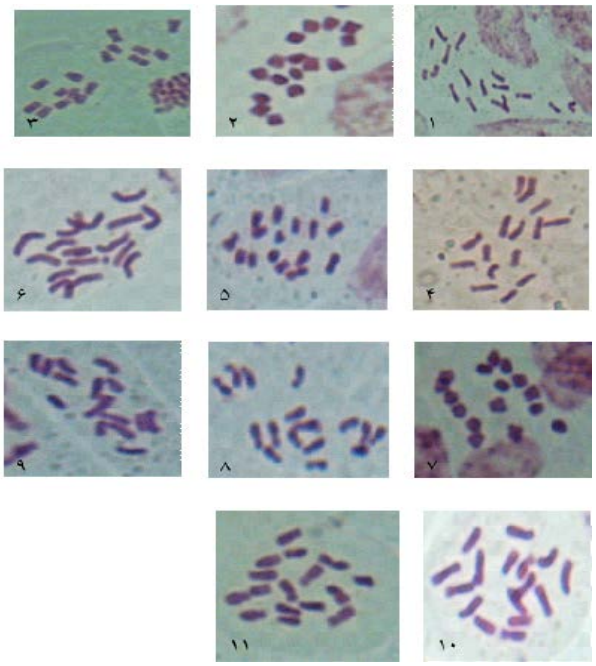
مقدمه

شنبلیله قدمت کشت بسیار طولانی در ایران دارد. شنبلیله با نام علمی *Trigonella Foenum-graceum* و نام انگلیسی Fenugreek از تیرهٔ Leguminosae (Dini, 2006)[1] است. از برگ‌ها و بذرهای این گیاه به‌عنوان محرک جریان شیر، کاهش‌دهندهٔ سطح قند خون و کلسترول، ضدسرطان، ضدمیکروب، آنتی‌بیوتیک استفاده می‌شود و نیز برای استفاده در غذا، کنترل حشرات در انبار بذر و معطرکردن مواد صنعتی کاربرد دارد. از بذرهای برداشت‌شدهٔ آن به‌جای قهوه (در آفریقا) استفاده می‌شود (۵).

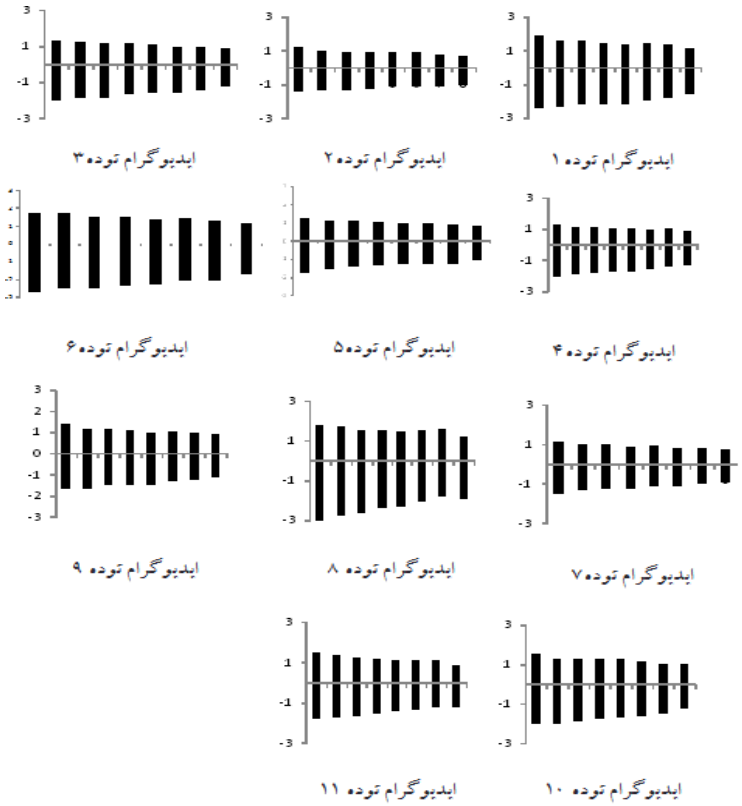
اولین مطالعات کروموزومی شنبلیله در گونه‌های *foenum-graecum* و *T.* coerulea انجام گرفت و عدد کروموزومی این دو گونه 2n=2x=16 اعلام شد (۲). کاریوتیپ ۱۹ گونه شنبلیله در ترکیه بررسی شد. تعداد کروموزوم‌های میتوزی بررسی‌شده 2n=14 و 2n=16 بودند و دو جفت کروموزوم متافاز ماهواره‌ای در *T.cariensis* و یک جفت در *T.luntata* مشاهده شد. کوچک‌ترین طول کروموزوم 0.43 µm در *T.cephalots* و بزرگ‌ترین طول کروموزوم 6.28 µm در *T.cariensis* اندازه‌گیری شد (٦). در پژوهش حاضر، ۱۱ تودهٔ بومی ایران ارزیابی کاریوتیپی شد (شکل۱) تا علاوه بر تعیین تعداد کروموزوم‌ها، تقارن کاریوتیپی آن‌ها بررسی و ایدیوگرام آن‌ها نیز رسم شود (شکل۲).

مواد و روش‌ها

۱۱ تودهٔ شنبلیلهٔ بومی ایران، جمع‌آوری شد (جدول۱). بذرها بعد از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم در پتری‌دیش در دمای محیط و رطوبت ۷۰درصد ریشه‌دار شد. طول ریشه یک تا ۱/۵ سانتی‌متر مناسب تشخیص داده شد. نوک ریشه‌ها به‌مدت ۱۹ ساعت در محلول اشباع آلفابرمونفتالین قرار گرفت (٦). برای هیدرولیز، ریشه‌ها یک دقیقه در دمای ٦۰ درجهٔ سانتی‌گراد در کلریدریک‌اسید یک مولار قرار گرفت (٦)، سپس رنگ‌آمیزی آن‌ها در استو- اورسئین دودرصد (w/v) در دمای اتاق به‌مدت ۲/۵ ساعت انجام گرفت. شایان ذکر است برای انتقال ریشه از هر مرحله به مرحلهٔ بعد، شست‌وشوی آن‌ها سه بار و هر بار پنج دقیقه با آب مقطر انجام شد (۷). پس از رنگ‌آمیزی منطقهٔ مریستمی نوک ریشه جدا و در یک قطره اسیداستیک ٤٥درصد روی لام گذاشته شد و پس از قراردادن لامل و له‌کردن نمونه‌ها مطالعات میکروسکوپی انجام گرفت. تجزیهٔ واریانس داده‌ها براساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با پنج تکرار (هر تکرار یک سلول) انجام شد. با احتساب ۱۱ توده در کل، ۵۵ تودهٔ اندازه‌گیری کروموزومی شدند. شایان ذکراست به‌منظور یافتن ۵۵ سلول مناسب، تعداد بسیار زیادی نمونه و سلول تحت مطالعه قرار گرفتند. در بررسی‌های مورفولوژیک هر توده در سه تکرار و در هر تکرار ۱۰۰ بذر شنبلیله به‌طور تصافی کاشته شد. در تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزارهای مختلفی مانند Minitab13, Excel, SPSS NTYSYS, MSTATC, استفاده شد. از نمونه‌ها توسط عدسی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ میکروسکوپ نوری (BX50 Olympus) عکس گرفته شد و نمونه‌ها از بخش پژوهش‌های سبزی و صیفی، مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیهٔ نهال و بذر دریافت شد.



شکل۱. کاریوتیپ توده‌های شنبلیلهٔ بررسی‌شده



شکل۲. ایدیوگرام توده‌های شنبلیله‌های مطالعه‌شده

جدول۱. مشخصات توده‌های شنبلیلهٔ استفاده‌شده در این پژوهش

علامت اختصاری	نام توده
P1	کرمانشاه
P2	ورامین
P3	کردستان
P4	اردستان
P5	ارومیه
P6	زنجان
P7	بوشهر
P8	نیشابور
P9	مشهد
P10	خاش
P11	همدان

نتایج و بحث

افزایش عملکرد در واحد سطح متکی بر اصلاح و ایجاد ارقام پرمحصول با خصوصیات و ویژگی‌های کمّی و کیفی بالا است و تنوع ژنتیکی اساس و پایهٔ آن است، زیرا عمل انتخاب در صورتی امکان‌پذیر است که برای صفات تنوع لازم وجود داشته باشد. بررسی‌های کاریوتیپی نشان داد کلیهٔ توده‌های شنبلیله در این پژوهش، دیپلوئید (2n=2x=16) بودند. مقایسهٔ میانگین بین توده‌ها به روش توکی در سطح احتمال پنج‌درصد انجام گرفته است و در هر ستون میانگین‌هایی که یک حرف مشترک دارند از نظر آماری معنادار نیستند و در یک گروه قرار می‌گیرند. مقایسهٔ میانگین برای توده‌هایی که اختلاف بین آن‌ها در سطح احتمال پنج‌درصد معنادار بود انجام گرفت (جدول‌های ۲، ۳ و ٤). بر این اساس، پارامترهای کروموزومی طول بازوی کوتاه، طول بازوی بلند، طول کل کروموزوم، حجم کروموزم، نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه، نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، درصد شکلی کروموزوم و شاخص سانترومری به سه دسته تقسیم شدند و تقریباً این دسته‌ها با یکدیگر همپوشانی دارند. میانگین اطلاعات کاریوتیپی نمونه‌های شنبلیلهٔ مطالعه‌شده در جدول۲ آورده شده است.

در مطالعات حاضر، بزرگ‌ترین کاریوتیپ مربوط به تودهٔ اردستان با دامنهٔ میانگین طول کروموزوم ۲/۵۴۹ و کوچک‌ترین کاریوتیپ مربوط به تودهٔ بوشهر بود. براساس روش لوان فرمول کاریوتیپی شامل دو کلاس کروموزومی (۱۰ توده ۸m و ۱ توده ۸m+ ۱ sm) و دوکلاس تقارنی استبینز (۸ تودهٔ 1A و ۳ تودهٔ 2A) بود.

جدول۲. فرمول تقارن کاریوتیپی توده‌های شنبلیلهٔ مطالعه‌شده

توده	فرمول کاریوتیپی به روش (Levan)	تقارن کاریوتیپ به روش (Stebbins)	تقارن کاریوتیپی برحسب (Romero-Zarco)		DI	TF%	S%	DRL%	CV%
			A1	A2					
۱	۸m	۱A	۰/۸	۰/۱	۰/۰۲	۴۳/۶	۵۱/۱	۱۳/۷	۱۶/۹
۲	۸m	۱A	۰/۶	۰/۱	۰/۰۳	۳۶/۵	۵۹/۶	۱۲/۸	۱۳/۸
۳	۸m	۲A	۰/۳۳	۰/۱۳	۰/۰۲	۳۵/۴	۶۰/۷	۱۲/9	۱۳/۴
۴	۸m+۱sm	۲A	۰/۳	۰/۱۸	۰/۰۲	۳۶/۲	۵۴/۳	۱۱/۶	۱۸/۵
۵	۸m	۱A	۰/۲	۰/۱۰	۰/۰۳	۳۸/۰	۶۲/۵	۱۳/۶	۱۰/۸
۶	۸m	۲A	۰/۳	۰/۲۰	۰/۰۱	۳۴/۴	۴۵/۵	۱۲/۶	۲۰/۲
۷	۸m	۱A	۰/۲	۰/۱۳	۰/۰	۳۷/۸	۶۰/۲	۱۳/۰	۱۳/۶
۸	۸m	۱A	۰/۳	۰/۱۱	۰/۰۳	۳۷/۲	۶۳/۹	۱۲/۳	۱۱/۰
۹	۸m	۱A	۰/۳	۰/۱۳	۰/۰۲	۳۵/۴	۶۰/۷	۱۳/۵	۱۶/۹
۱۰	۸m	۱A	۰/۲	۰/۰۹	۰/۰۴	۳۸/۳	۶۴/۷	۱۲/۸	۹/۷
۱۱	۸m	۱A	۰/۲	۰/۱۳	۰/۰۳	۳۷/۱	۵۸/۴	۱۳/۶	۱۳/۱

شاخص پراکندگی= ضریب تغییرات/ شاخص سانترومری

Dspersion =DI

درصد شکل کلی کاریوتیپ

karyotype of percentage form Total =TF%

شاخص تقارن index Symmetry =S%

اختلاف دامنهٔ طول نسبی کروموزوم

DRL =Difference range of relative lengh of chromosome

ضریب تغییرات variation of Coefficient =CV%

درصد شکل کلی کاریوتیپ (TF%) مشخصهٔ دیگر برای بیان وضعیت تقارن کاریوتیپ کروموزوم‌ها است. هنگامی‌که ارزش عددی آن به حداکثر مقدار آن ۵۰درصد برسد، نشان‌دهندهٔ تقارن کامل و متاسانتریک بودن کروموزوم‌های کاریوتیپ است(۸). از نظر درصد شکل کلی کاریوتیپ در این پژوهش اکثر توده‌های مطالعه‌شده متقارن بودند، با وجود این، تودهٔ یک با داشتن بالاترین مقدار (٤٣/٦٦درصد) متقارن‌ترین و تودهٔ شش با داشتن کمترین مقدار (٣٤/٤٤درصد) نامتقارن‌ترین در میان ۱۱ توده بودند.

برای برنامه‌ریزی در برنامه‌های گزینش لزوم توجه به همبستگی صفات مورد توجه قرار گرفته است. جدول٤ همبستگی ساده بین نه صفت مورفولوژیک را نشان می‌دهد. داده‌های این جدول نشان می‌دهد که طول ساقه با تعداد برگ (٠/٥٤٥**) و تعداد روز تا گلدهی (٠/٥٢٠**) بیشترین همبستگی در جهت مثبت را داشتند. تعداد برگ با تعداد روز تا گلدهی (٠/٤٨٥**)، تعداد روز تا جوانه‌زنی با تعداد برگ (٠/٣٣٣*)، قطر برگ با وزن هزاردانه (٠/٣٤٨*) و طول دمبرگ با قطر برگ (٠/٤٥٦**) همبستگی نشان دادند.

جدول۳. مقایسهٔ میانگین‌ها و (±Se) پارامترهای کروموزومی توده‌های شنبلیله

توده	S	L	TL	r-value	AR	CI
۱	۱/۴۰۱±۰/۰۴۵	۲/۰۰۶±۰/۰۸۷	۳/۴۰۷±۰/۱۲۴	۰/۷۱۹±۰/۰۱۹	۱/۴۳۵±۰/۰۴۳	۰/۴۱۵±۰/۰۰۶
۲	۰/۸۹۸±۰/۰۳۱	۱/۲۳۸±۰/۰۲۹	۲/۱۳۷±۰/۰۵۲	۰/۷۳۱±۰/۰۲۲	۱/۴۲۵±۰/۰۵۰	۰/۴۱۸±۰/۰۰۷
۳	۱/۰۸۶±۰/۰۳۶	۱/۶۷۵±۰/۰۴۷	۲/۷۶۲±۰/۰۶۸	/۶۶۰±۰/۰۲۲[de]	۱/۵۸۹±۰/۰۵۷	۰/۳۹۳±۰/۰۰۸
۴	۱/۷۳۱±۰/۲۴۵	۲/۵۴۹±۰/۲۹۰	۴/۲۸۱±۰/۵۲۰	۰/۶۶۳±۰/۰۲۶	۱/۶۱۳±۰/۰۷۳	۰/۳۹۳±۰/۰۰۹
۵	۱/۰۲۰±۰/۰۲۹	۱/۳۸۰±۰/۰۳۹	۲/۴۰۱±۰/۰۶۳	۰/۷۴۳±۰/۰۱۳	۱/۳۶۳±۰/۰۲۸	۰/۴۲۵±۰/۰۰۴
۶	۱/۴۵۸ ±۰/۰۷۵	۲/۳۲۲±۰/۱۲۱	۳/۷۸۰±۰/۱۸۵	۰/۶۴۵±۰/۰۲۱	۱/۶۲۳±۰/۰۵۸	۰/۳۸±۰/۰۰۸
۷	۰/۸۸۵±۰/۰۲۶	۱/۱۹۳±۰/۰۳۲	۲/۰۷ ±۰/۰۵۳	۰/ ۷۴±۰/۰۱۷	۱/۳۶۸±۰/۰۳۵	۰/۴۲۵±۰/۰۰۶
۸	۰/۵۴۸±۰/۰۴۰	۲/۲۷ ±۰/۰۶۸	۳/۸۲۷±۰/۰۸۸	۰/۶۹±۰/۰۲۲	۱/۴۹۹±۰/۰۵۲	۰/۴۰۶±۰/۰۰۸
۹	۱/۰۸۳±۰/۰۳۳	۱/۴۳۷±۰/۰۴۵	۲/۵۲۰±۰/۰۷۲	۰/۷۶۳±۰/۰۱۷	۱/۳۴۰±۰/۰۳۳	۰/۴۳۸±۰/۰۰۵
۱۰	۱/۱۶۵±۰/۰۴۳	۱/۵۵۴±۰/۰۵۷	۲/۷۱۹±۰/۰۹۴	۰/۷۵۸±۰/۰۱۸	۱/۳۵ ±۰/۰۳۹	۰/۴۲۸±۰/۰۰۶
۱۱	۱/۱۹۸±۰/۰۳۱	۱/۷۱۱±۰/۰۵۴	۲/۹۰۲±۰/۰۷	۰/۷۱±۰/۰۲۰	۱/۴۴۸±۰/۰۴۹	۰/۴۱± ۰/۰۰۷

خطای استاندارد error SE=Standard

خطای سانترومتری= میانگین طول کروموزوم‌ها/ میانگین طول بازوی کوتاه =index Centrometric CI

طول نسبی کروموزوم =chromosome of length Relative RL%

نسبت طول بازوی کوتاه به بلند(S/L)= r-value

طول کل کروموزوم chromosome of length TL=Total

طول بازوی بلند= lenght arm Long L

طول بازوی کوتاه S= lenght arm Short

نسبت بازوها AR= L/S Ratio; Arm

جدول٤. ضریب همبستگی بین صفات مورفولوژیک توده‌های شنبلیلهٔ مطالعه‌شده

ویژگی	تعداد برگ	تعداد روز تا گلدهی	وزن خشک	طول ساقه	وزن هزاردانه	تعداد روز تا جوانه‌زنی	طول برگ	قطر برگ	طول دمبرگ
تعداد برگ	۱								
روز تا گلدهی	۰/۴۸۵**	۱							
وزن خشک	۰/۰۷۴ns	−۰/۰۲۳ns	۱						
طول ساقه	۰/۵۴۵**	۰/۵۲**	−۰/۰۸۸ns	۱					
وزن هزاردانه	−۰/۰۱۶ns	−۰/۱۰۸ns	۰/۰۳۳ns	۰/۱۴۲ns	۱				
روز جوانه‌زنی	−۰/۳۳۳*	۰/۰۰۹ns	−۰/۱۰۸ns	۰/۰۰۹ns	۰/۳۱۵ns	۱			
طول برگ	۰/۱۵۳ns	−۰/۰۳۹ns	۰/۳۰۱ns	۰/۰۱۲ns	۰/۲۵۵ns	−۰/۰۴۴ns	۱		
قطر برگ	−۰/۲۴ns	−۰/۰۸۷ns	۰/۱۳۶ns	۰/۲۳۹ns	۰/۳۴۸*	۰/۰۸۳ns	−۰/۰۲۱ns	۱	
طول دمبرگ	−۰/۲۷ns	۰/۰۷۶ns	۰/۰۰۵ns	۰/۰۳۳ns	۰/۲۳۶ns	۰/۰۸۴ns	−۰/۲۴۵ns	۰/۴۵۶*	۱

ns ـ اختلاف غیرمعنادار در سطح پنج‌درصد

* و **ـ اختلاف معنادار به‌ترتیب در سطوح احتمال پنج‌درصد و یک درصد

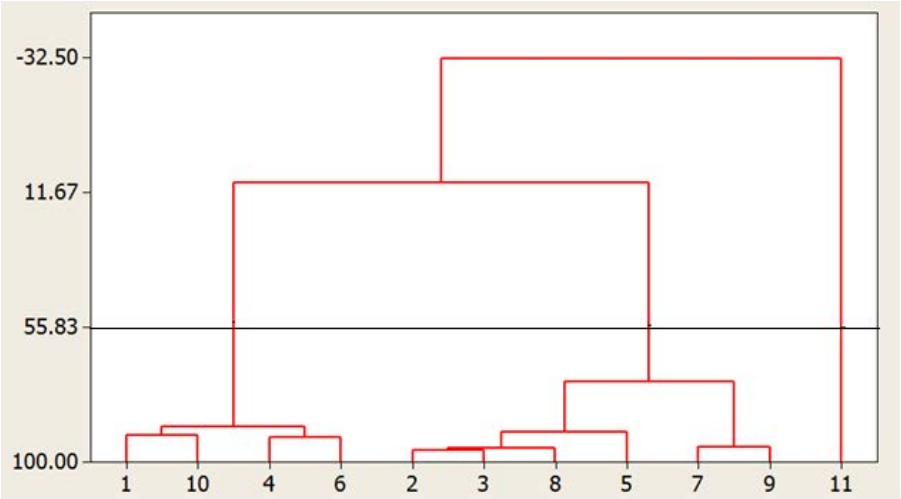
جدول۵. تجزیهٔ واریانس صفات مورفولوژیک توده‌های شنبلیلهٔ مطالعه‌شده (میانگین مربعات)

منبع تغییرات	DF	تعداد برگ	تعداد روز تا گلدهی	وزن خشک G	طول ساقه (سانتی‌متر)	وزن هزاردانه G	تعداد روز تا جوانه‌زنی	طول برگ (سانتی‌متر)	قطر برگ (سانتی‌متر)	طول دمبرگ (سانتی‌متر)
تیمار	۱۰	۶/۳۳**	۱۲۰/۶۳**	۰/۰۱**	۳۱/۴۱**	۰/۲۶**	۱/۳۸*	۰/۱۵**	۰/۰۵**	۰/۵۶**
خطا	۲۲	۰/۶۳	۳۱/۴۲	۰/۰۰۹	۱۲/۳۷	۰/۰۰۰۳	۰/۰۹	۰/۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۶
CV%		۵/۹۸	۱۳/۳۰	۱۲/۵۹	۱۳/۷۸	۱/۶۴	۸/۳۶	۱۵/۲۱	۶/۳۳	۲۰/۹۳

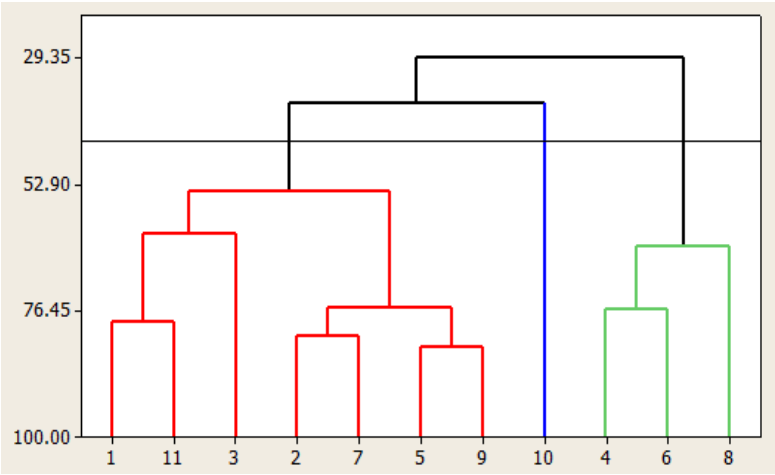
* و ** اختلاف معنادار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد

با توجه به نمودار درختی حاصل از تجزیهٔ خوشه‌ای نتایج گروه‌بندی توده‌ها براساس ۱۲ صفت مورفولوژیکی سه گروه نشان داد (شکل۳). گروه اول خود به دو زیرگروه تفکیک شد. زیرگروه اول شامل توده‌های کرمانشاه و خاش و زیرگروه دوم شامل توده‌های اردستان و زنجان بود. گروه دوم خود به سه زیرگروه تفکیک شد. زیرگروه اول شامل توده‌های ورامین، کردستان و نیشابور و زیرگروه دوم شامل تودهٔ ارومیه و زیرگروه سوم شامل بوشهر و مشهد بود. گروه سوم شامل تودهٔ همدان بود.

نتایج حاصل از تجزیهٔ کلاستر بر روی کلیهٔ صفات کروموزومی به‌صورت دندروگرام در شکل٤ آمده است. با توجه به نتایج حاصل از دندروگرام توده‌ها به سه دسته تقسیم می‌شوند. خوشه های اول، دوم و سوم به‌ترتیب هفت، یک و سه توده را شامل شدند. دستهٔ اول خود به دو زیرگروه تفکیک شد. زیرگروه اول شامل کرمانشاه، همدان و کردستان بود و زیرگروه دوم توده‌های ارومیه، مشهد، ورامین و بوشهر را شامل شد. گروه دوم شامل خاش؛ و دستهٔ سوم شامل اردستان، زنجان و نیشابور بود.



شکل۳. دندروگرام مربوط به کلیهٔ صفات مورفولوژیکی توده‌های شنبلیله



شکل ٤. دندروگرام مربوط به کلیهٔ صفات کروموزومی توده‌های شنبلیله

منابع

1. Dini M (2006) Scientific name of m edicinal plants used i n traditional medicine, Forest and Rangeland, Institute Publication, Iran. Pp: 299–300.
2. Darlington CD and W ylie AP (1955) Chromosome Atlas of Flowering Plant. George Allen and Unwin LTD, 519 p.
3. Goldblatt P (1955) Indx t o Plant to Chromosome Numbers, Missouri Botanical Garden.
4. Romesburge HC (1990) C luster Analaysis for Researchers. R.E. Krieger Pub.Co., Malabar, Florida. U.S.A.
5. Mehrafarin A, Rezazadeh Sh, Naghdi Badi H Gh, Noormohammadi Zand E and Qaderi A (2011) A Review on Biology, Cultivation and Biotechnology of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) as a Valuable Medicinal Plant and Multipurpose. Department of Cultivation and Development, Institute of Medicinal Plants. ACECR. Karaj. Iran. Vol. 10. No. 37.
6. Martin E, Akan H, Eki ci M and Aytac Z (2011) Karyotype analyses of ten section of *Tirgonella* (Fabaceae). Comp cytogenetic 5(2): 105-121.
7. Pedro MR and Al fonso DS (2000) C ytogenetic studies in *Phaesolus* L. (Fabaceae). Genetic and Molecular Bio. 23(4): 985-987.
8. Palmer RG and Heer h (1973) Root tip squash technique for Soy bean Chromosomes. Crop Science. 13: 389-391.
9. Sharma AK and Sharma A (1990) Chromosome Techniques: Theory and Practice. Butterworth & Co., London. University Park Press. 575 p.