تنوع در مقدار ژنوم ۲۲ جمعیت از جنس *Tanacetum* L. (Anthemideae, Asteraceae) در ایران: با تاکید بر ویژگیهای گرده‌شناسی، ریخت‌شناسی و اکولوژیکی

نیره اولنج[1*] و علی سنبلی[2]

[1] ایران، ملایر، دانشگاه ملایر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

[2] ایران، تهران، دانشگاه شهید بهشتی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

چکیده

بذر ۲۲ جمعیت مختلف از جنس *Tanacetum* (۱۲ گونه و ۷ زیر گونه) و بذر نمونه‌های از *Pisum sativum*، *Petunia hybrid* و *Triticum aestivum* به عنوان استاندارد انتخاب شده و در شرایط یکسان گلخانه‌ایی کاشته شدند. اندازه گیری میزان ژنوم (C-value، مقدار DNA در هسته های هاپلوئید) به وسیله دستگاه فلوسایتومتر انجام گرفت. داده‌های حاصل از مطالعه توسط نرم‌افزار SPSS 16 مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج حاصل از اندازه‌گیری ژنوم هسته ارتباط معنی‌داری را با اندازه دانه‌گرده، شکل و رنگ کاپیتول، نوع گل‌آذین و محدوده پراکنش گونه‌ها نشان داد، اما با اندازه بذر و برخی فاکتورهای محیطی نظیر ارتفاع و زیستگاه ارتباط معنی‌داری را نشان نداد. تنوع در میزان 2C value (مقدار DNA در هسته‌های دیپلویید) زیاد بوده با دامنه ۳/۸۴ پیکوگرم در *Tanacetum parthenium* (Tehran) تا ۲۴/۱۲ پیکوگرم در *Tanacetum polycephalum* subsp. *farsicum*. همچنین دامنه تنوع 2C value، ۶/۲۸ بار و C value ۲/۷۳ بار است.

واژه‌های کلیدی: *Tanacetum* L.، اندازه ژنوم،اکولوژی، گرده شناسی، مورفولوژی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۷۱۰۱۷۶۷ ، پست الکترونیکی: n.olanj@malayeru.ac.ir

مقدمه

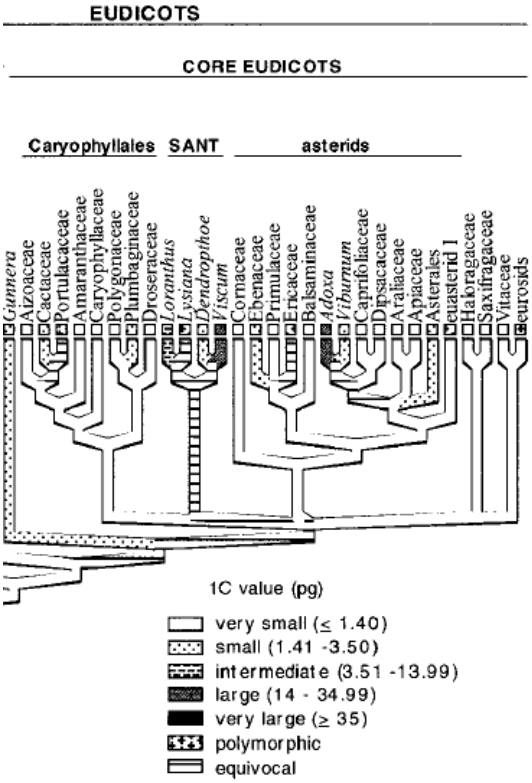
تیره کاسنی یا مینائیان (Asteraceae, Compositeae) بزرگترین تیره گیاهی با حدود ۱۷۰۰–۱۶۰۰ جنس و حدود ۲۳۰۰۰ گونه است که در تمام دنیا به جز قطب جنوب پراکنش دارد (۱۲). قبیله آنتمیده که یکی از قبیله های این تیره با اندازه متوسط می‌باشد (۴۰) شامل ۱۱۱ جنس و حدود ۱۸۰۰ گونه می‌باشد (۲۹). جنس *Tanacetum* با حدود ۱۶۰ گونه بعد از (۵۲۲) *Artemisia* و (۱۷۵) *Anthemis* سومین جنس بزرگ از این قبیله است (۲۷ و ۲۸). این جنس در فلور ایرانیکا ۵۴ گونه دارد (۳۲) که بر اساس آخرین یافته‌ها ۳۶ گونه از آن در ایران پراکنش دارند (۹، ۲۴، ۲۵، ۲۶ و ۳۶).

چندین تکنیک برای محاسبه اندازه ژنوم هسته وجود دارد که در میان آنها فلوسایتومتری به خاطر سهولت، سرعت، دقت و همچنین مشخص کردن تفاوتهای کوچک در مقدار DNA بهترین آنها می‌باشد (۶ و ۳۳). اصطلاح C-value برای اولین بار توسط سویفت (۱۹۵۰) ارائه گردید که به میزان ژنوم هاپلوئیدی همانندسازی نشده یک فرد اشاره دارد (۳۸). این مقدار به صورت پیکوگرم بیان می‌شود ($1pg=10^{-12}$). در موجودات فتوسنتز کننده میزان ژنوم (C-value) گزارش شده بیش از ۱۲۰۰۰ بار اختلاف دارد به طوری که کمترین مقدار (≈۰/۰۱ pg) در جلبک تک سلولی *Ostreococcus tauri* و بیشترین آن (۱۲۷ pg) در نهاندانه *Fritillaria assyriaca* گزارش شده است (۳). با این حال دامنه صحیح اندازه ژنوم متغیر است و تا کنون به

طور دقیق مشخص نشده است، اگر چه تعداد گونه‌هایی که میزان ژنوم آنها اندازه‌گیری شده به طور مدوام در حال افزایش است اما داده‌های موجود تنها ۱/۵ درصد از کل نهاندانگان دنیا می‌باشد (۱۴ و ۲۱).

آنالیز فیلوژنتیکی ۲۸۰۲ گونه توسط لیچ و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد. آنها در این آنالیز به این نتیجه رسیدند که اجداد گیاهان نهاندانه دارای ژنوم کوچک می‌باشند و اندازه ژنوم بیش از ۳۰ پیکوگرم فقط در تک لپه‌ها و سانتالالها دیده می‌شود(۲۳). سولتیس و همکاران (۲۰۰۳) نیز به این نتیجه رسیدند که گیاهان اجدادی دو لپه‌ایهای حقیقی دارای اندازه ژنوم کوچکی هستند به طوری که راسته‌هایی نظیر Saxifragale, Astterides و Caryophyllales اندازه ژنوم کمی دارند، در صورتی‌که کلادهایی که دارای اندازه ژنوم بالا هستند دارای موقعیت مشتق شده و در درون تک لپه‌ایها و Santalales قرار می-گیرند (شکل ۱). آنها همچنین مشخص کردند که بازدانگان با داشتن میزان بالای DNA هسته‌ای از گروه نهاندانگان جدا می‌شوند. همان طور که در شکل مشخص است راسته Asterales دارای اندازه ژنوم کمی (۱/۴۱–۳/۵۰ pg) است (۳۵).

از آنجایی که بین میزان C-value و برخی عوامل بیولوژیکی ارتباط وجود دارد، داده‌های C-value می‌تواند به عنوان پیش‌گو کننده‌های ویژگیهای فنوتیپی در سطوح مختلف عمل کند (۳۷)، بنابراین موقعیت تاکسونومیکی، تکامل ژنومی، اکولوژی، زادآوری گیاهان، بیولوژی مولکول و سلول، فیزیولوژی و تکامل با به دست آوردن میزان C-value به طور بهتری درک می‌شود (۱۴). تغییر در اندازه ژنوم به طور مستقیم با ویژگیهایی نظیر حداقل زمان تولید مثل، رشد در شرایط اکولوژیکی مختلف و همچنین ارتفاعات مختلف، فیزیولوژی و نمو گیاه ارتباط دارد (۵، ۱۹، ۳۱ و ۳۹). همچنین ارتباط مثبتی بین اندازه ژنوم و دوره زندگی گیاهان وجود دارد، به طوری که گیاهانی که دوره زندگی کوتاهی دارند نسبت به گیاهان چند ساله مقدار ژنوم بیشتری دارند (۱).



شکل ۱- تنوع اندازه ژنوم در نهاندانگان (۳۵).

مواد و روشها

بذر ۲۲ جمعیت مختلف از جنس *Tanacetum* (۱۲ گونه و ۷ زیر گونه) همرا با بذر نمونه‌های از *Pisum sativum*، *Petunia hybrid* و *Triticum aestivum* که به عنوان استاندارد انتخاب شده بودند در شرایط یکسان گلخانه‌ایی درون گلدان کاشته شدند. به منظور اندازه گیری ژنوم آنها از هر جمعیت ۵ فرد انتخاب شد و از هر فرد ۲ نمونه به طور مستقل آنالیز شد.

در ابتدا قطعات تازه و جوان هر جمعیت (حدود ۲۵ mm^2 دو برابر مقدار نمونه استاندارد) همراه با نمونه استاندارد (انتخاب نمونه استاندارد با توجه به سطح پلوییدی گیاه و همچنین بر اساس اندازه ژنوم *T. cinerariifolium* (۳۴) و

T. vulgare (۲۲) صورت گرفت) در پتری دیش پلاستیکی قرار داده شد و سپس حدود ۷۰ µL از بافر Galbraith (۱۳) روی آن ریخته و به وسیله تیغ ریش‌تراشی خرد شدند. بدین ترتیب بافت تازه گیاهی همراه با نمونه استاندارد به صورت مکانیکی در بافر استخراج خرد شده و هسته سلولها در بافر آزاد شدند. سوسپانسیونی که بدین ترتیب آماده می‌شود از یک فیلتر نایلونی ۳۰ میکرومتری عبور داده شده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با propidium iodide رنگ آمیزی می‌شود. این رنگ به نوکلوتیدهای A-T موجود در DNA متصل می‌شود. لازم به ذکر است در طول این مدت (۲۰ دقیقه) لوله حاوی سوسپانسیون در یخ و تا زمان اندازه‌گیری در دمای اتاق نگهداری می‌شود.

اندازه‌گیری میزان ژنوم به وسیله دستگاه فلوسایتومتر Epics XL انجام گرفت. اطلاعات جمع‌آوری شده به صورت پالسهای دیجیتالی توسط سیستم کامپیوتری نمایش داده می‌شود به طوری که دستگاه برای هر نمونه تزریق شده یک هیستوگرام ترسیم نموده که دارای اطلاعات آماری نظیر تعداد هسته‌های شمارش شده، متوسط اندازه پیک و ضریب تغییرات CV (coefficient of variation) می‌باشد. میزان محتوی DNA هسته برای هر نمونه طبق فرمول زیر به دست می‌آید (۱۰).

مقدار میانگین گیاه استاندارد/مقدار میانگین گیاه مورد نظر×حجم ژنوم گیاه استاندارد = حجم ژنوم نمونه(پیکو گرم)

بحث و نتیجه‌گیری

مقدار DNA هسته‌ای برای تفسیر روابط تکاملی گونه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، به طوری که برای بررسی ارتباط فیلوژنی و سیستماتیکی بسیاری از گروههای تاکسونومیک از میزان اندازه ژنوم هسته‌ای استفاده می‌شود (۳۰). نتایج به دست آمده از فلوسایتومتری این تاکسونها در جدول ۱ ارائه گردیده است. همچنین میزان ژنوم به صورت مگا جفت باز (۱ pg=۹۷۸ Mbp)، مقدار DNAی هسته در حالت هاپلوئید (۱ Cx) و همچنین نوع استاندارد مورد استفاده نیز در این جدول ارائه گردیده است. آنالیز واریانس اندازه ژنوم در بین گونه‌های مختلف این جنس اختلاف معنی‌داری را (F=1.276, P=0.000) نشان داد.

با توجه به داده‌های ارائه شده در جدول ۱ مشخص شد که دامنه تنوع2C value، ۶/۲۸ بار است و این دامنه تغییرات برای C value، ۲/۷۳ بار می‌باشد. در این جدول حداقل مقدار2C value، (۳/۸۴ pg) در گونه *T. parthenium* (Tehran) و حداکثر مقدار آن (۲۴/۱۲ pg) در گونه *T. polycephalum* subsp. *farsicum* وجود دارد که این نشان‌دهنده افزایش مقدار DNA بیش از شش بار است. مقدارِDNA برای ژنوم هاپلوئید از ۱/۹۲ pg در *T. parthenium* (Tehran) تا ۵/۱۹ pg در *T. balsamita* subsp. *balsamitoides* تغییر می‌کند. میانگین اندازه ژنوم برای گونه‌های دیپلوئید ۷/۵۲ pg است که دامنه آن بین ۳/۸۴–۱۰/۳۸pg است، این میانگین برای تاکسونهای تریپلوئید ۱۰/۱۶ pg با دامنه ۸/۵۸–۱۱/۳۱ pg، برای تتراپلوئیدها ۱۷/۲۱ pg با دامنه ۱۴/۸۷–۱۸/۲۴ pgمی‌باشد. تنها یک گونه پنتاپلوئید مشاهده شد که مقدار DNAی آن ۱۷/۱۱pgبود، دامنه مقدار DNAی هسته‌ای برای گونه‌های هگزاپلوئید ۲۲/۹۹–۲۴/۱۲ pg با میانگین ۱۷/۲۱ pg است.

سنجش اندازه ژنوم یک روش سریع و مطمئن برای تعیین سطوح پلوئیدی در گروه گونه‌هایی که حداقل یک گونه دیپلوئید از آنها اندازه‌گیری شده می‌باشد (۴۱). با افزایش سطح پلوئیدی در جنس *Tanacetum* اندازه ژنوم نیز افزایش پیدا خواهد کرد. در جدول ۲ مقدار DNAی هسته‌ای و برخی ویژگیهای اکولوژیکی، مورفولوژیکی ومیکرومورفولوژی دانه گرده ارائه شده است. ارتباط این ویژگیها با مقدار ژنوم هسته ای به شرح زیر است.

جدول ۱- مقدار DNAی هسته‌ای بر اساس مگا جفت باز و پیکو گرم.

Taxon	X	2C	2C (Mbp)	1Cx	standard
Tanacetum archibaldii	۹	۸/۷۷±۰/۰۴	۸۵۷۷/۰۶	۴/۳۹	*Petunia*
T. balsamita subsp. *balsamitoides*	۹	۱۰/۳۸±۰/۰۹	۱۰۱۵۱/۶۴	۵/۱۹	*Petunia*
T. budjnurdense	۹	۱۰/۱۳±۰/۱۹	۹۹۰۷/۱۴	۵/۰۷	*Petunia*
T. canescens	۹	۹/۳±۰/۱۳	۹۰۹۵/۴	۴/۶۵	*Petunia*
T. chiliophyllum var. *oligocephalum* (Khoy)	۹	۷/۶۷±۰/۰۵	۷۵۰۱/۲۶	۳/۸۴	*Petunia*
T. chiliophyllum. var. *oligocephalum* (Salmas)	۹	۱۴/۸۷±۰/۲۸	۱۴۵۴۲/۸۶	۳/۷۲	*Pisum*
T. joharchii	۹	۱۱/۳۱±۰/۱۱	۱۱۰۶۱/۱۸	۳/۷۷	*Pisum*
T. kotschyi (Zanjan)	۹	۸/۵۸±۰/۰۹	۸۳۹۱/۲۴	۲/۸۶	*Pisum*
T. kotschyi (Marand)	۹	۱۰/۷۲±۰/۰۷	۱۰۴۸۴/۱۶	۳/۵۷	*Pisum*
T. kotschyi (Urmia)	۹	۱۰/۰۴±۰/۱۲	۹۸۱۹/۱۲	۳/۳۵	*Pisum*
T. parthenium (Tehran)	۹	۳/۸۴±۰/۰۴.	۳۷۵۵/۵۲	۱/۹۲	*Petunia*
T. parthenium (Hamedan)	۹	۴±۰/۰۴	۳۹۱۲	۲	*Petunia*
T. parthenium (cultivated)	۹	۴/۵۱±۰/۰۴	۴۴۱۰/۷۸	۲/۲۶	*Petunia*
T. persicum	۹	۴/۴±۰/۶۹	۴۳۰۳/۲	۲/۲۰	*Petunia*
T. polycephalum subsp. *argyrophyllum*	۹	۹/۲۶±۰/۱۴	۹۰۵۶/۲۸	۴/۶۳	*Petunia*
T. polycephalum subsp. *azerbaidjanicum*	۹	۱۸/۲۴±۰/۳۱	۱۷۸۳۸/۷۲	۴/۵۶	*Pisum*
T. polycephalum subsp. *duderanum*	۹	۱۷/۶۳±۰/۵۳	۱۷۲۴۲/۱۴	۴/۴۱	*Pisum*
T. polycephalum subsp. *heterophyllum*	۹	۱۸/۱±۰/۲۹	۱۷۷۰۱/۸	۴/۵۳	*Pisum*
T. sonbolii	۹	۹/۱۷±۰/۱۹	۸۹۶۸/۲۶	۴/۵۹	*Petunia*
T. fisherae	۹	۱۷/۱۱±۰/۲۷	۱۶۷۳۳/۵۸	۳/۴۲	*Pisum*
T. polycephalum subsp. *heterophyllum*	۹	۲۲/۹۹±۰/۵۶	۲۲۴۸۴/۲۲	۳/۸۳	*Triticum*
T. polycephalum subsp. *farsicum*	۹	۲۴/۱۲±۰/۳۹	۲۳۵۸۹/۳۶	۴/۰۲	*Triticum*

X: عدد پایه کروموزمی، 2C: مقدار DNAی هسته ای بر حسب پیکوگرم، 2C (Mbp): مقدار DNAی هسته ای بر حسب مگا جفت باز،1Cx: مقدار DNAی هسته ای بر اساس هر سری کروموزمی.

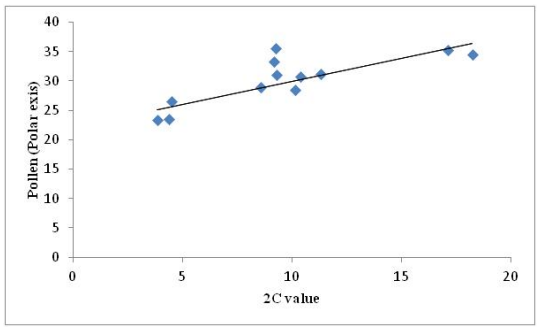
جدول ۲- مقدار DNAی هسته ای و برخی ویژگیهای اکولوژیکی، مورفولوژیکی، میکرومورفولوژی دانه گرده و کاریولوژی

Taxon	2c	P (µm)	E (µm)	ارتفاع (m)	بذر (mm)	پراکنش	شکل کاپیتول	رنگ گل	نوع گل آذین	نوع زیستگاه
Tanacetum archibaldii	۸/۷۷	ــــــ	ــــــ	۳۴۰۰	۲	انحصاری	شعاعی	سفید	گل منفرد	صخره‌ای-خشک مرطوب مرطوب مرتفع
T. balsamita subsp. *balsamitoides*	۱۰/۳۸	۳۰/۸	۳۰/۲	۳۱۶۵	۲-۲/۵	۴ کشور	شعاعی	سفید	دیهیم تنک	مرطوب مرتفع
T. budjnurdense	۱۰/۱۳	۲۸/۴۴	۳۱/۱	۱۷۰۰	۳	انحصاری	لوله ای- زبانکی	زرد	دیهیم- خوشه مرکب	خاک گچ و آهک خشک
T. canescens	۹/۳	۳۱	۳۳/۱۸	۲۰۲۰	۲-۲/۲	۳ کشور	لوله ای	زرد	دیهیم متراکم	خاک گچ و آهک خشک
T. chiliophyllum var. *oligocephalum* (Khoy)	۷/۶۷	ــــــ	ــــــ	۱۵۸۰	۱/۸-۲	۴ کشور	لوله ای- زبانکی	زرد	دیهیم – گل منفرد تنک	خاک گچ و آهک خشک
T. chiliophyllum. var. *oligocephalum* (Salmas)	۱۴/۸۷	ــــــ	ــــــ	۱۸۰۰	۲	۴ کشور	لوله ای- زبانکی	زرد	دیهیم - گل منفرد تنک	خاک گچ و آهک خشک

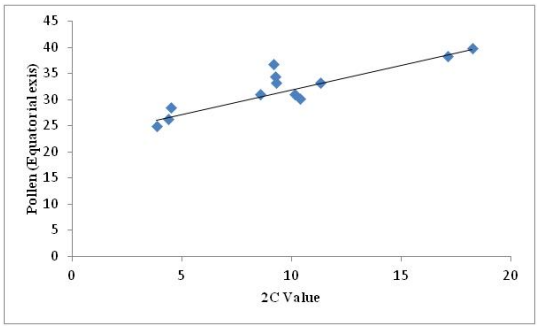
صخره‌ای خشک	گل منفرد	سفید	شعاعی	انحصاری	۳–۲/۸	۲۷۹۰	۳۳/۲۶	۳۱/۲	۱۱/۳۱	*T. joharchii*
صخره‌ای خشک	گل منفرد	سفید	شعاعی	۴ کشور	۳	۲۲۰۰	۳۰/۹۴	۲۹	۸/۵۸	*T. kotschyi* (Zanjan)
صخره‌ای خشک	گل منفرد	سفید	شعاعی	۴ کشور	۳–۲/۸	۱۹۰۰-۲۲۰۰	———	———	۱۰/۷۲	*T. kotschyi* (Marand)
صخره‌ای خشک	گل منفرد	سفید	شعاعی	۴ کشور	۳–۲/۸	۱۸۰۰-۲۳۰۰	———	———	۱۰/۰۴	*T. kotschyi* (Urmia)
مرطوب	گل منفرد- دیهیم تنک	سفید	شعاعی	جهان وط.	۲/۱–۱	۱۸۰۰	۲۴/۹۴	۲۳/۳۲	۳/۸۴	*T. parthenium* (Tehran)
مرطوب	گل منفرد- دیهیم تنک	سفید	شعاعی	جهان وط.	۲/۱–۱	۱۸۵۰		———	۴	*T. parthenium* (Hamedan)
مرطوب	گل منفرد- دیهیم تنک	سفید	شعاعی	جهان وط.	۱/۷–۱/۵	۱۸۰۰	۲۸/۴	۲۶/۵	۴/۵۱	*T. parthenium* (cultivated)
صخره‌ای- خشک	گل منفرد- دیهیم تنک	سفید	شعاعی	۲ کشور	۱/۵–۱/۳	۲۸۰۰-۳۰۰۰	۲۶/۳۲	۲۳/۵	۴/۴	*T. persicum*
خاک گچ-آهک خشک	دیهیم متراکم	زرد	لوله ای- زبانکی	۴ کشور	۲	۱۶۸۰	۳۴/۴	۳۵/۶	۹/۲۶	*T. polycephalum* subsp. *argyrophyllum*
خاک گچ-آهک خشک	دیهیم متراکم	زرد	لوله ای- زبانکی	۴ کشور	۳–۳/۲	۱۸۶۰	۳۹/۸	۳۴/۵۴	۱۸/۲۴	*T. polycephalum* subsp. *azerbaidjanicum*
خاک گچ-آهک خشک	دیهیم متراکم	زرد	لوله ای- زبانکی	۴ کشور	۲–۲/۵	۳۴۰۰	———	———	۱۷/۶۳	*T. polycephalum* subsp. *duderanum*
خاک گچ-آهک خشک	دیهیم متراکم	زرد	لوله ای- زبانکی	۴ کشور	۲–۲/۵	۲۸۰۰	———	———	۱۸/۱	*T. polycephalum* subsp. *heterophyllum*
خاک گچ-آهک خشک	گل منفرد	زرد	لوله ای- زبانکی	انحصاری	۳/۵–۴	۲۴۰۰	۳۶/۷۴	۳۳/۳	۹/۱۷	*T. sonbolii*
صخره‌ای خشک	گل منفرد	زرد	لوله ای	۴ کشور	۳/۵–۴	۳۰۰۰-۳۳۰۰	۳۸/۳	۳۵/۲۴	۱۷/۱۱	*T. fisherae*
خاک گچ-آهک خشک	دیهیم متراکم	زرد	لوله ای- زبانکی	۴ کشور	۲–۲/۵	۲۰۲۰	———	———	۲۲/۹۹	*T. polycephalum* subsp. *heterophyllum*
خاک گچ-آهک خشک	دیهیم متراکم	زرد	لوله ای- زبانکی	۴ کشور	۲–۲/۵	۲۳۰۰	———	———	۲۴/۱۲	*T. polycephalum* subsp. *farsicum*

P= میانگین طول قطبی، E= میانگین قطر استوایی

اندازه دانه‌گرده و مقدار ژنوم هسته‌ای: در بین تاکسونهایی مورد مطالعه، با افزایش مقدار طول استوایی و قطر قطبی دانه گرده میزان ژنوم هسته ای نیز افزایش می-یابد و می‌توان گفت که رابطه مستقیمی بین اندازه دانه‌گرده و میزان 2C value وجود دارد (شکل۲و ۳).



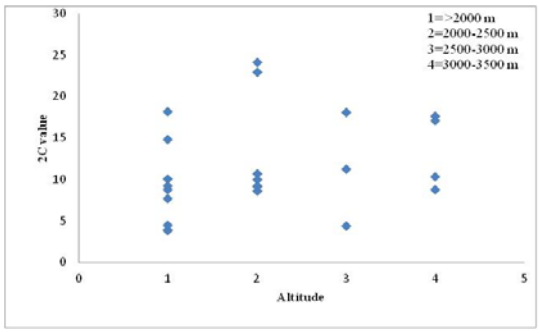
شکل۲- ارتباط بین طول قطبی دانه‌گرده و میزان 2C value



شکل۳- ارتباط بین قطر استوایی دانه‌گرده و میزان2C value

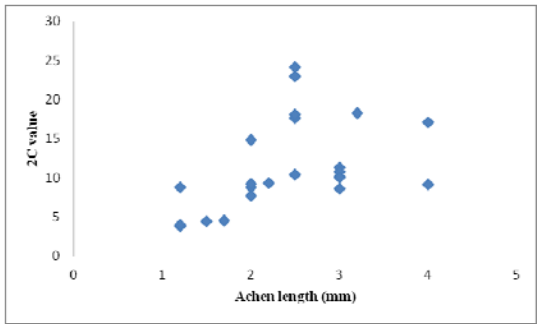
ارتفاع محل رویش و مقدار ژنوم هسته‌ای: در این مطالعه ارتباطی بین ارتفاع و مقدار DNAی هسته وجود ندارد (شکل۴). در گونه‌های جنس *Tanacetum* بیشترین میانگین میزان ژنوم (۱۳/۵۶ pg) به گونه‌هایی که در ارتفاع

بین ۲۵۰۰-۲۰۰۰ متر رویش دارند و کمترین مقدار (pg ۹/۰۳) آن به گونه‌هایی که در ارتفاعات کمتر از ۲۰۰۰ متر می‌رویند، دیده می‌شود (شکل ۴).



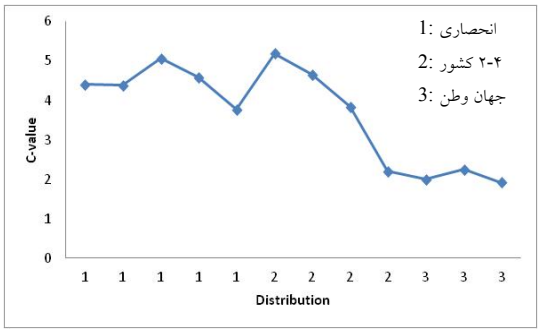
شکل ۴- ارتباط بین ارتفاع و میزان 2C value

طول بذر و مقدار ژنوم هسته‌ای: بین طول بذر و مقدار ژنوم هسته‌ای نیز ارتباطی وجود ندارد (شکل ۵) تنها در سه جمعیت مختلف گونه *T. parthenium*، جمعیت کاشته شده با اندازه بذر بزرگتر نسبت به دو جمعیت خودرو دارای میزان ژنوم هسته ای بیشتری می‌باشد.



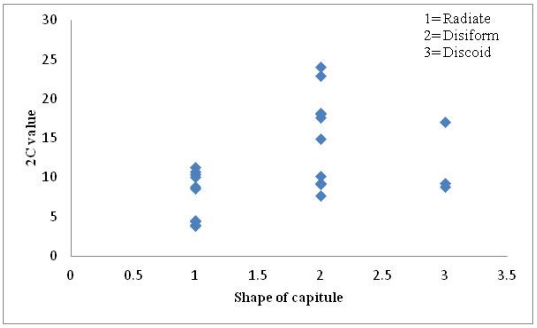
شکل۵- ارتباط بین طول بذر و میزان 2C value

پراکنش و مقدار ژنوم هسته‌ای: از بین ۲۲ جمعیت مورد بررسی چهار جمعیت اندمیک است. *T. parthenium* که در سراسر جهان پراکنش دارد کمترین میزان ژنوم هسته را دارا می‌باشد (شکل ۶). این نکته نتایج گارسیا و همکاران (۲۰۰۸) را مبنی بر اینکه گونه‌هایی با پراکنش وسیع معمولاً از استراتژی r (و از این رو مقدار کمتر ژنوم هسته ای) پیروی می‌کنند در صورتی که گونه‌هایی که پراکنش محدود دارند به استراتژی k تمایل بیشتری دارند و اندازه ژنوم بیشتری نیز دارند تایید می‌کند (۱۵). همین‌طور مشخص شد که گونه‌هایی که با داشتن مقدار کمتر DNA هسته، تمایل بیشتری به پراکنش در مناطق مختلف دارند، رشد سریع تری دارند و کمتر چوبی شده‌اند. همچنین عموماً این گونه‌ها استرس خشکی را کمتر تحمل می‌کنند (این گروه از استراتژی r تبعیت می‌کند)، در صورتی‌که در مقایسه با این گروه گونه‌هایی که دارای مقدار بیشتر DNA هسته‌ای هستند پراکنش کمتر و رشد کندتر دارند، همچنین کوتاه‌تر می‌باشند و بیشتر چوبی می‌شوند، این گونه‌ها استرس خشکی را بیشتر تحمل می‌کنند (این گروه از استراتژی k تبعیت می‌کنند) (۱۴). مطالعات انجام گرفته در این پژوهش نیز کاملاً این مطلب را تایید می‌کند چرا که گونه *T. parthenium* رشد سریعی دارد، بلند و کاملاً علفی است، در مناطق مرطوب می‌روید و با داشتن مقدار ژنوم هسته‌ای کمتر پراکنش جهانی دارد. در حالی‌که اکثر گونه-های اندمیک ارتفاع کمتری دارند، در رویشگاههای خشک و صخره‌ایی می‌رویند و دارای میزان ژنوم هسته ای بیشتری هستند. در تحقیق دیگری (۲) مشخص شد گونه‌هایی که علف هرز هستند و به عنوان گیاهان مهاجم در نظر گرفته می‌شوند، در مقایسه با گونه‌های دیگر در همان جنس مقدار DNAی کمتری دارند و برعکس، گیاهانی که در معرض انقراض هستند، مقدار DNA هسته‌ای بیشتری دارند. نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) بین تاکسونهای مورد مطالعه در این پژوهش نیز نشان داد که گونه‌هایی که پراکنش جهانی دارند، به طور معنی داری (P=0.023) دارای اندازه ژنوم کوچکتری (۴/۱۱ pg) نسبت به گونه‌های اندمیک (۱۳/۵۶ pg) هستند.



شکل ۶- ارتباط بین میزان پراکنش گونه‌های دیپلوئید وC value

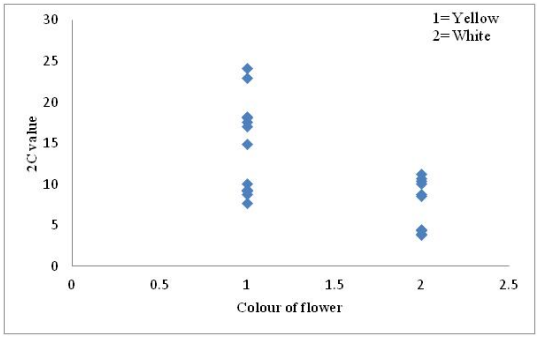
شکل کاپیتول و مقدار ژنوم هسته‌ای: کمترین میانگین مقدار ژنوم (۷/۶۵ pg) در گونه‌هایی که کاپیتول شعاعی دارند یافت می‌شود و بیشترین مقدار آن (۱۵/۲۲ pg) در گونه‌هایی که کاپیتول لوله‌ای-زبانکی دارند دیده می‌شود. گونه‌هایی که کاپیتول لوله‌ای دارند، میانگین ژنومی حد واسط (۱۱/۷۴ pg) دو گروه قبل را دارا می‌باشند. در بین گونه‌های دیپلویید گلهای دارای کاپیتول شعاعی به طور معنی داری (P=0.0075) دارای اندازه ژنوم کوچکتر (۵/۹۸۳pg) نسبت به گونه‌های لوله‌ای-زبانکی (pg ۹/۰۵۸) بوده و در بین همه گونه‌ها نیز گلهای کاپیتول شعاعی دارای اندازه ژنوم کوچکتر (۷/۶۵ pg) نسبت به گل های دیسی فرم (۱۵/۲۲ pg) هستند (P=0.008) اما با گلهای دیسکوییید اختلاف معنی داری نشان ندادند (شکل ۷).



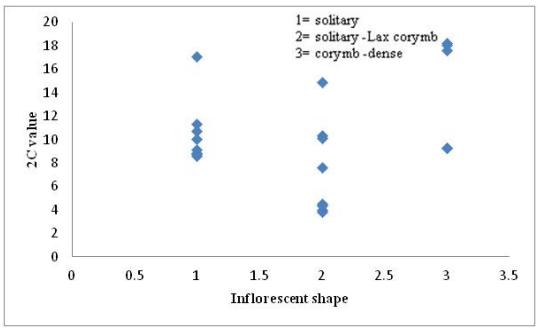
شکل ۷- ارتباط بین شکل کاپیتول و میزان 2C value. radiate: شعاعی، disiform: لوله‌ای-زبانکی، discoid: لوله‌ای.

رنگ گل و مقدار ژنوم هسته‌ای: در بین کلیه تاکسونهای مطالعه شده، مقدار ژنوم جمعیتهای گل زرد (۱۴/۸۸۳ pg) به طور معنی‌داری (P=0.002) از اندازه ژنوم تاکسونهای گل سفید (۷/۶۵۵ pg) بیشتر است (شکل ۸).

نوع گل‌آذین و مقدار ژنوم هسته‌ای: بیشترین میانگین مقدار ژنوم در گونه‌هایی که گل‌آذین منفرد دارند یافت می‌شود (۱۴/۵ pg) و کمترین مقدار آن (۷/۵ pg) در بین گونه‌هایی که گل‌آذین منفرد تا دیهیم تنک دارند مشاهده می‌شود. تاکسونهایی که دارای گل‌آذین منفرد هستند مقدار ژنومی حدواسط (۱۰/۶ pg) این دو را دارند (شکل ۹). در بین تمامی تاکسونهای مورد بررسی (سطوح مختلف پلوئیدی) مقدار ژنوم در بین گونه‌هایی که دارای دیهیم تنک هستند به طور معنی داری (P=0.006) کوچکتر (۶/۵۴pg) از گلهایی با گل‌آذین دیهیمی متراکم (۱۵/۵۷pg) می‌باشد، اما اختلاف معنی داری با گونه‌های گل منفرد ندارند. در بین تاکسونهای دیپلویید نیز اندازه ژنوم بین هر سه نوع گل آذین معنی‌دار است (P=0.001) و گونه‌هایی که دارای گل‌آذینهای دیهیمی تنک (۴/۸۸۴ pg) و گل منفرد (۸/۹۷۰ pg) هستند، اندازه ژنوم کمتری نسبت به گل‌آذین دیهیمی متراکم (۹/۷۸۶ pg) دارند.

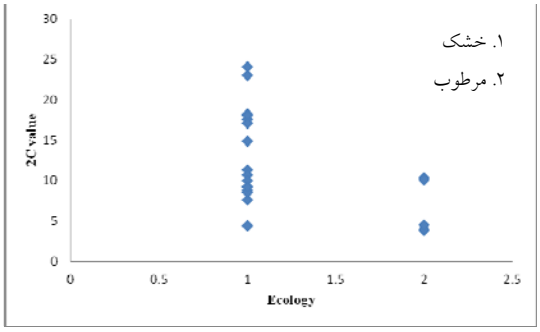


شکل۸- ارتباط بین شکل رنگ گل و میزان 2C value



شکل۹- ارتباط بین نوع گل‌آذین و میزان 2C value.

نوع رویشگاه و مقدار ژنوم هسته‌ای: مقدار ژنوم تاکسونهایی که در مناطق مرطوب رویش دارند (۶/۵۷۲pg) به طور معنی‌داری (P=0.013) نسبت به گونه‌هایی که در مناطق خشک می‌رویند (۱۳/۶۱۸ pg) کمتر است (شکل ۱۰).



شکل۱۰- ارتباط بین رویشگاه و میزان 2c value

کراس و همکاران (۱۹۹۵) عنوان کردند گونه‌هایی که به محیطهای خشک سازگارند دارای مقدار DNAی کمتری نسبت به گونه‌هایی که در مناطق همیشه سبز می‌رویند هستند (۷)، گارسیا و همکاران نیز با بررسی جنس *Artemisia* به این نتیجه رسیدند که گونه‌هایی که در مناطق خشک می‌رویند 2C value بیشتری دارند که نتایج تحقیق حاضر نیز این مطلب را تایید می‌کند(۱۶).

از آنجایی که مقدار C value درون یک گونه ثابت در نظر گرفته می‌شود، حضور تنوع در مقدار DNAی هسته‌ای بحث‌برانگیز است. برخی محققین این تغییرات را ناشی از اشتباهاتی که در اندازه‌گیری میزان ژنوم رخ می‌دهد می‌دانند و یا ناشی از اشتباه در شناسایی گونه مورد نظر عنوان می‌کنند. (۱۷، ۱۸ و ۳۰). این درحالی است که برخی دیگر از محققین از این ایده حمایت می‌کنند که مقدار ژنوم هسته ای در پاسخ به شرایط محیطی تغییر می‌کند و به تئوری انعطاف‌پذیری یا شکل‌پذیری ژنوم (Plasticity or flexibility theory) اعتقاد دارند (۱۱ و ۲۰).

تغییرات سازشی در اندازه ژنوم در پاسخ به شرایط استرس‌زای محیط (۸). نیز وجود دارد که از آن جمله می‌توان به فعالیت retrotransposon و همچنین تغییر در تعداد DNAهای تکراری اشاره کرد (۴).

با توجه به مطالعاتی که تا کنون انجام گرفته مشخص شده است که اندازه ژنوم هسته به ازای هر سری کروموزومی، با افزایش سطح پلوئیدی کاهش می‌یابد که این مطلب در تحقیق حاضر تأیید نشد. اگر چه در مطالعات دیگر تنها گونه‌هایی که پلوئیدی زوج داشتند با یکدیگر مقایسه شدند و فرد پلوئیدیها حضور نداشتند (در این تحقیق سطوح پلوئیدی فرد و زوج با هم مقایسه شدند).

در این بررسی مشخص شد که ارتباط معنی داری بین ارتفاع محل رویش و اندازه بذر با اندازه ژنوم هسته وجود ندارد. درحالی‌که بین گونه‌های اندمیک و جهان وطن با اندازه ژنوم ارتباط معنی داری وجود دارد. گونه‌های اندمیک این مطالعه (*T. budjnurdense, T. joharchii, T. archibaldii*) اندازه ژنوم بیشتری نسبت به گونه *T. parthenium* که تقریباً در همه نقاط می‌رویند، دارند. این گونه‌ها (اندمیک) در مقایسه با گونه‌های گروه دوم (جهان وطن) دارای ارتفاع کمتر بوده، در قاعده چوبی شده‌اند و بیشتر در مناطق خشک می‌رویند. گونه‌های جهان وطن، دارای رشد سریع‌تر و ارتفاع بیشتر هستند و کمتر چوبی می‌شوند. این مطلب نتایج دیگر محققین را تأیید می‌کند (۲، ۱۴ و ۱۵). بین شکل کاپیتول، رنگ گل، نوع گل‌آذین با اندازه ژنوم ارتباط معنی‌دار وجود دارد. بدین شکل که کمترین میانگین اندازه ژنوم در گونه‌هایی با کاپیتول شعاعی و بیشترین میانگین در گونه‌هایی با کاپیتول دیسی‌فرم دیده می‌شود. اندازه ژنوم گونه‌های گل زرد از گل سفیدها بیشتر است، گونه‌هایی که دارای گل‌آذین منفرد هستند، دارای اندازه ژنوم بیشتری در مقایسه با گونه‌هایی که گل‌آذین دیهیمی تنک دارند، هستند.

منابع

1- Barow, M. and Meister, A. (2003). Endopolyploidy in seed plants is differently correlated to systematics, organ, life strategy and genome size. Plant Cell and Environment, 26: 571–584.

2- Bennett, M. D. Leitch, I. J. (2005a). Angiosperm DNA C-values database. Available at: http://www.rbgkew.org.uk/cval/homepage.html (Release 4.0).

3- Bennett, MD. and Leitch, IJ. (2005b). Genome size evolution in plants. In: Gregory TR, ed. *The evolution of the genome*, San Diego: Elsevier Academic Press, 90–151.

4- Bennetzen, J. L. (2005). Transposable elements, gene creation and genome rearrangement in flowering plants. *Current Opinion in Genetics and Development,* 15: 1–7.

5- Bharathan, G. (1996). Reproductive development and nuclear DNA content in angiosperms. American Journal of Botany, 83: 440-451.

6- Biradar, D.P. and Rayburn, A.L. (1993). Intraplant nuclear DNA content variation in diploid nuclei of maize (*Zea mays* L.). Journal of Experimental Botany, 44: 1039–1044.

7- Cros, J., combes, M. C., Chabrillange, N., Duperray, C., Monnot des Angles, A. and Hamon S. (1995). Nuclear DNA content in the subgenus *Coffea* (Rubiaceae): inter and intraspecific variation in African species. Canadian Journal of Botany, 73: 14-20.

8- Cullis, A. C. (2005). Mechanisms and control of rapid genomic changes in flax. Annals of Botany, 95: 201–206.

9- Djavadi, S. B. (2008). Three new records *Tanacetum* for the flora of Iran. Rostaniha, 9(1): 23-32.

10- Doležel, J. and Bartoš, J. (2005). Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. Annals of Botany, 95: 99–110.

11- Durrant, A. and Jones, T.W.A. (1971): Reversion of induced changes in amount of nuclear DNA in *Linum*. Heredity. 27: 431-439.

12- Funk, V.A., Susanna, A., Stuessy, T. F. and Bayer, R. J. (2009). Systematics, Evolution and Biogeography of the Compositae. Vienna: International Association of Plant Taxonomy, pp:171-189

13- Galbraith, D.W., Harkins, K.R., Maddox, J.M., Ayres. N.M., Sharma D.P. and Firoozabady E. (1983) Rapid flow cytometric analysis of cell cycle in intact plant tissues. Science. 220, 1049–1051.

14- Garcia, S. Inceer, H. Garnatje, T. and Valles, J. (2005). Genome size variation in some representatives of the genus *Tripleurospermum.* Biologia Plantarum. 49 (3): 381-387.

15- Garcia, S., Canela, M. A., Garnatje, T. M., Carthur, E. D., Pellicer, J., Sanderson, S. C. and Vallès, J. (2008). Evolutionary and ecological implications of genome size in the North American endemic sagebrushes and allies (*Artemisia*, Asteraceae), Biological Journal of the Linnean Society, 94, 631–649.

16- Garcia, S., Sanz, M., Garnatje, T., Kreitschitz, A., McArthur, E. D. and Vallès, J. (2004). Variation of DNA amount in 47 populations of the subtribe Artemisiinae and related taxa (Asteraceae, Anthemideae): karyological, ecological, and systematic implications. Genom, 47: 1004–1014.

17- Greilhuber, J. (1998). Intraspecific variation in genome size: a critical reassessment. Annals of Botany, 82: 27–35.

18- Greilhuber, J. (2005). Intraspecific variation in genome size in angiosperms: identifying its existence. Annals of Botany, 95: 91–98.

19- Jasienski, M. and Bazzaz, F.A. (1995). Genome size and high CO2. Nature, 376: 559-560.

20- Joarder, I.O., Al-Saheal, Y., Begum, J. and Durrant, A. (1975): Environments inducing changes in amount of DNA in flax. *Heredity*, 34: 247-253.

21- Kaur, N., Datson, P. M. and Murray, B. G. (2012). Genome size and chromosome number in the New Zealand species of *Schoenus* (Cyperaceae). Botanical Journal of the Linnean Society, 169, 555–564.

22- Keskitalo, M., Lindén, A. and Valkonen, J. P. T. (1998). Genetic and morphological diversity of Finnish tansy (*Tanacetum vulgare* L., Asteraceae). Theoretical and Applied Genetics, 96: 1141-1150.

23- Leitch, I. J., Chase, M. W. and Bennett, M. D. (1998). Phylogenetic analysis of DNA C-values provides evidence for a small ancestral genome size in flowering plants. Annals of Botany, 82: 85–94.

24- Moradi behjou, A., Sonboli, A., Riahi, H. and Kazempour Osaloo, Sh. (2016). Achene micromorphology in *Tanacetum* (Asteraceae-Anthemideae)and its taxonomic and phylogenetic implications. Flora, 222:37-51.

25- Mozaffarian, M. (2008) Tanacetum. _ In: Assadi, M. et al. (eds), Flora of Iran, Compositae: Anthemideae and Echinopeae, no. 59. Research Institute of Forests and Rangelands, pp. 134-198.

26- Mozaffarian, V. (2005). Notes on the tribe *Anthemideae* (Compositae), new species, new records and new combinations for Iran. Iranian journal of botany, 11 (1): 115-127.

27- Oberprieler, C. (2005). Temporal and spatial diversification of Circum-Mediterranean Compositae-Anthemideae. Taxon, 54 (4): 951-966.

28- Oberprieler, C., Himmelreich, S., Kallersjo, M., Valles, J., Watson, LE. and Vogt, R. (2009). *Anthemideae*. In: Funk, VA., Susanna A., Stuessy TF. and Bayer RJ. (eds.)., *Systematics, Evolution and Biogeography of the Compositae*. Vienna: International Association Plant Taxonomy, pp. 631–666.

29- Oberprieler, C., Vogt, R. and Watson, L. E. (2007). *Anthemideae*. – In: Kubitzki, K. (ed.), The families and genera of vascular plants VIII. Springer, pp. 342-374.

30- Ohri, D. (1998). Genome Size Variation and Plant Systematics. Annals of Botany, 82: 75-83

31- Ohri, D., Nazeer, M. A. and Pal, M. (1981). Cytophotometric estimation of nuclear DNA in some ornamentals. Nucleus, 24: 39-42.

32- Podlech, D. (1986).*Tanacetum* L. Flora Iranica (Rechinger K.H) 158: 88-148. Gruck V.Druck und Verlagsanstait.

33- Price, H. J. and Johnston, J. S. (1996). Analysis of plant DNA content by Feulgen microspectrophotometry and flow cytometry. In Methods of genome analysis in plants. Edited by P.P. Jauhar. CRC Press, Boca Raton, Fla. pp. 115–132.

34- Siljak-Yakovlev, S., Pustahija, F., Solic, EM., Bogunic, F., Muratovic, E., Basic, N., Catrice, O. and Brown, SC. (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

35- Soltis, P. S. and Soltis, D. E. (2003). Applying the bootstrap in phylogeny reconstruction. Statistical Science, 18 (2): 256-267.

36- Sonboli, A., Oberprieler, C. (2010). Phylogenetic relationship and taxonomic position of *Xylanthemum tianschanicum* (Krasch.) Muradyan (Compositae,Anthemideae) as inferred from nrDNA ITS data. Biochemical Systematics and Ecology, 38: 702-707.

37- Sparrow, A.H., Miksche, J.P. (1961). Correlation of nuclear volume and DNA content with higher plant tolerance to chronic radiation. Science 134: 282-283.

38- Swift H. 1950. The constancy of desoxyribose nucleic acid in plant nuclei. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 36: 643–654.

39- Thompson, K. (1990). Genome size, seed and germination temperature in herbaceous angiosperms. Evolutionary Trends in Plants, 4: 113-116.

40- Valles, J., Garnatje, T., Garsia, S., Sanz, M. and Korobkov, A. (2005). Chromosome numbers in the tribes Anthemideae and Inuleae (Asteraceae). Botanical Journal of the Linnaean Society, 148: 77–85.

41- Vilhar, B., Vidic, T., Jogan, N. and Dermastia, M. (2002). Genome size and the nucleolar number as estimators of ploidy level in *Dactylis glomerata* in the Slovenian Alps. Plant Systematics and Evolution, 234: 1-13, 2002.

Variation of DNA amount in 22 populations of *Tanacetum* L. (Asteraceae, Anthemideae) in Iran: Palynology, Morphology and Ecological implications

Olanj N.[1] and Sonboli A.[2]

[1] Dept. of Biology, Faculty of Basic Science, Malayer University, Malayer, I.R. of Iran.

[2] Dept. of Biology, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

Seed of 22 populations of *Tanacetum* L. (12 species and 7 subspecies) and seed of *Pisum sativum, Petunia hybrid* and *Triticum aestivum* as internal standards were selected and were caltivited under the same greenhouse conditions. Genome size (C-value, mass of DNA per haploid nucleus) was estimated by flow cytometry. Data from the study were analyzed by SPSS 16 software. The result revealed genome size is positively correlated with pollen morphometric, shape and colour of capitule, type of inflorecences and corology of species, but is negatively correlated with size of seed and environmental factors such as altitude and habitat. The variation in the 2C value (mass of DNA per diploid nucleus) was high, with a range from 3.84 pg in *Tanacetum parthenium* (Tehran) to 24.12 pg in *Tanacetum polycephalum* subsp. *farsicum*. As wellas a 6.28-fold variation in 2C value and 2.73 fold variation in C value were found.

Key words: *Tanacetum* L., Genome size, Ecology, Palynology, Morphology.