

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

نیره اولنج^{۱*} و علی سنبل^۲

^۱ ایران، ملایر، دانشگاه ملایر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

^۲ 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 گلخانه‌ای 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 دیپلوئید) 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، گرده‌شناسی، مورفولوژی.

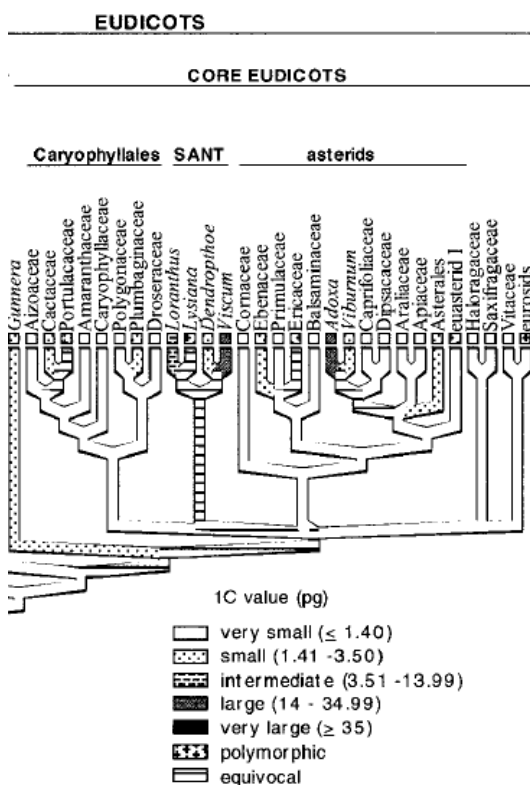
* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۷۱۰۱۷۶۷، پست الکترونیکی: n.olanj@malayeru.ac.ir

مقدمه

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 با اختلاف دارد به طوری که کمترین مقدار (pg ۰/۰۱) در جلبک تک سلولی *Ostreococcus tauri* و بیشترین آن (pg ۱۲۷) در نهانده *Fritillaria assyriaca* گزارش شده است (۳). با این حال دامنه صحیح اندازه ژنوم متغیر است و تا کنون به

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 آتمیده 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 *Artemisia* (۵۲۲) 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

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) همراه با بذر نمونه‌های از *Pisum* عنوان استاندارد انتخاب شده بودند در شرایط یکسان گلخانه‌ای درون گلدان کاشته شدند. به منظور اندازه‌گیری 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 25 mm^2) دو برابر مقدار نمونه استاندارد) همراه با نمونه استاندارد (انتخاب نمونه استاندارد با توجه به سطح پلیپیدی گیاه و همچنین بر اساس اندازه ژنوم *T. cinerariifolium* (۳۴) و

طور دقیق مشخص نشده است، اگر چه تعداد گونه‌هایی که میزان ژنوم آنها اندازه‌گیری شده به طور مداوم 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 *Asterides*, *Saxifragale* 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 می‌گیرند (شکل ۱). آنها همچنین مشخص کردند که بازندانگان با داشتن میزان بالای DNA هسته‌ای از گروه نهاندانگان جدا می‌شوند. همان طور که در شکل مشخص است راسته *Asterales* دارای اندازه ژنوم کمی (۳/۵۰-۱/۴۱ 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

در جدول ۱ ارائه گردیده است. همچنین میزان ژنوم به صورت مگا جفت باز ($1 \text{ pg} = 978 \text{ Mbp}$)، مقدار DNA هسته در حالت هاپلوئید (1 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 تنوع $2C$ value، $6/28$ بار است و این دامنه تغییرات برای C value، $2/73$ بار می‌باشد. در این جدول حداقل مقدار $2C$ value، $3/84 \text{ pg}$ در گونه *T. parthenium* (Tehran) و حداکثر مقدار آن ($24/12 \text{ pg}$) در گونه *T. polycephalum* subsp. *farsicum* وجود دارد که این نشان‌دهنده افزایش مقدار DNA بیش از شش بار است. مقدار DNA برای ژنوم هاپلوئید از $1/92 \text{ pg}$ در *T. parthenium* (Tehran) تا $5/19 \text{ pg}$ در *T. balsamita* subsp. *balsamitoides* تغییر می‌کند. میانگین اندازه ژنوم برای گونه‌های دیپلوئید $7/52 \text{ pg}$ است که دامنه آن بین $3/84-10/38 \text{ pg}$ است، این میانگین برای تاکسونهای تریپلوئید $10/16 \text{ pg}$ با دامنه $8/58-11/31 \text{ pg}$ برای تتراپلوئیدها $17/21 \text{ pg}$ با دامنه $14/87-18/24 \text{ pg}$ می‌باشد. تنها یک گونه پنتاپلوئید مشاهده شد که مقدار DNA آن $17/11 \text{ pg}$ بود، دامنه مقدار DNA هسته‌ای برای گونه‌های هگزاپلوئید $24/12-22/99 \text{ pg}$ با میانگین $17/21 \text{ pg}$ 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 DNA هسته‌ای و برخی ویژگی‌های اکولوژیکی، مورفولوژیکی و میکرومورفولوژی دانه‌گرده ارائه شده است. ارتباط این ویژگی‌ها با مقدار ژنوم هسته‌ای به شرح زیر است.

T. vulgare (۲۲) صورت گرفت) در پتری دیش پلاستیکی قرار داده شد و سپس حدود $70 \mu\text{L}$ از بافر Galbraith (۱۳) روی آن ریخته و به وسیله تیغ ریش تراشی 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 $30 \mu\text{m}$ 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 \times 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 سیستماتیک بسیاری از گروههای تاکسونومیک از میزان اندازه ژنوم هسته‌ای استفاده می‌شود (۳۰). نتایج به دست آمده از فلوسایتمتری این تاکسونها

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

Taxon	X	2C	2C (Mbp)	1Cx	standard
<i>Tanacetum archibaldii</i>	۹	۸/۷۷±۰/۰۴	۸۵۷۷/۰۶	۴/۳۹	<i>Petunia</i>
<i>T. balsamita</i> subsp. <i>balsamitoides</i>	۹	۱۰/۳۸±۰/۰۹	۱۰۱۵۱/۶۴	۵/۱۹	<i>Petunia</i>
<i>T. budjnurdense</i>	۹	۱۰/۱۳±۰/۱۹	۹۹۰۷/۱۴	۵/۰۷	<i>Petunia</i>
<i>T. canescens</i>	۹	۹/۳±۰/۱۳	۹۰۹۵/۴	۴/۶۵	<i>Petunia</i>
<i>T. chiliophyllum</i> var. <i>oligocephalum</i> (Khoy)	۹	۷/۶۷±۰/۰۵	۷۵۰۱/۲۶	۳/۸۴	<i>Petunia</i>
<i>T. chiliophyllum</i> var. <i>oligocephalum</i> (Salmas)	۹	۱۴/۸۷±۰/۲۸	۱۴۵۴۲/۸۶	۳/۷۲	<i>Pisum</i>
<i>T. joharchii</i>	۹	۱۱/۳۱±۰/۱۱	۱۱۰۶۱/۱۸	۳/۷۷	<i>Pisum</i>
<i>T. kotschyi</i> (Zanjan)	۹	۸/۵۸±۰/۰۹	۸۳۹۱/۲۴	۲/۸۶	<i>Pisum</i>
<i>T. kotschyi</i> (Marand)	۹	۱۰/۷۲±۰/۰۷	۱۰۴۸۴/۱۶	۳/۵۷	<i>Pisum</i>
<i>T. kotschyi</i> (Urmia)	۹	۱۰/۰۴±۰/۱۲	۹۸۱۹/۱۲	۳/۳۵	<i>Pisum</i>
<i>T. parthenium</i> (Tehran)	۹	۳/۸۴±۰/۰۴	۳۷۵۵/۵۲	۱/۹۲	<i>Petunia</i>
<i>T. parthenium</i> (Hamedan)	۹	۴±۰/۰۴	۳۹۱۲	۲	<i>Petunia</i>
<i>T. parthenium</i> (cultivated)	۹	۴/۵۱±۰/۰۴	۴۴۱۰/۷۸	۲/۲۶	<i>Petunia</i>
<i>T. persicum</i>	۹	۴/۴±۰/۰۶۹	۴۳۰۳/۲	۲/۲۰	<i>Petunia</i>
<i>T. polycephalum</i> subsp. <i>argyrophyllum</i>	۹	۹/۲۶±۰/۱۴	۹۰۵۶/۲۸	۴/۶۳	<i>Petunia</i>
<i>T. polycephalum</i> subsp. <i>azerbaidjanicum</i>	۹	۱۸/۲۴±۰/۳۱	۱۷۸۳۸/۷۲	۴/۵۶	<i>Pisum</i>
<i>T. polycephalum</i> subsp. <i>duderanum</i>	۹	۱۷/۶۳±۰/۵۳	۱۷۲۴۲/۱۴	۴/۴۱	<i>Pisum</i>
<i>T. polycephalum</i> subsp. <i>heterophyllum</i>	۹	۱۸/۱±۰/۲۹	۱۷۷۰۱/۸	۴/۵۳	<i>Pisum</i>
<i>T. sonbolii</i>	۹	۹/۱۷±۰/۱۹	۸۹۶۸/۲۶	۴/۵۹	<i>Petunia</i>
<i>T. fisherae</i>	۹	۱۷/۱۱±۰/۲۷	۱۶۷۳۳/۵۸	۳/۴۲	<i>Pisum</i>
<i>T. polycephalum</i> subsp. <i>heterophyllum</i>	۹	۲۲/۹۹±۰/۵۶	۲۲۴۸۴/۲۲	۳/۸۳	<i>Triticum</i>
<i>T. polycephalum</i> subsp. <i>farsicum</i>	۹	۲۴/۱۲±۰/۳۹	۲۳۵۸۹/۳۶	۴/۰۲	<i>Triticum</i>

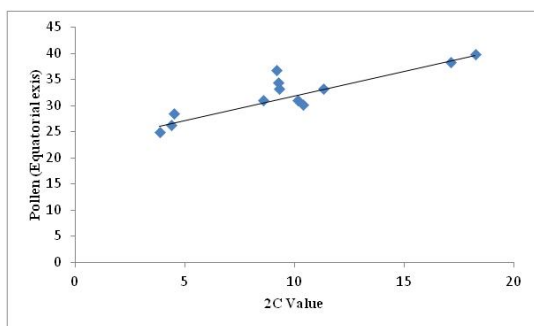
X: عدد پایه کروموزمی، 2C: مقدار DNA هسته‌ای بر حسب پیکوگرم، 2C (Mbp): مقدار DNA هسته‌ای بر حسب مگا جفت باز، 1Cx: مقدار DNA هسته‌ای بر اساس هر سری کروموزمی.

جدول ۲- مقدار DNA هسته‌ای و برخی ویژگی‌های اکولوژیکی، مورفولوژیکی، میکرومورفولوژی دانه‌گرفته و کاربیلوژی

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

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

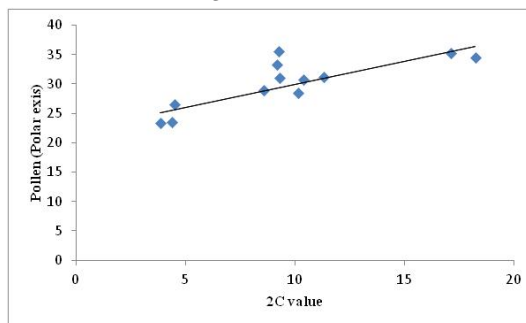
P = میانگین طول قطبی، E = میانگین قطر استوایی



شکل ۳- ارتباط بین قطر استوایی دانه‌گرده و میزان 2C value

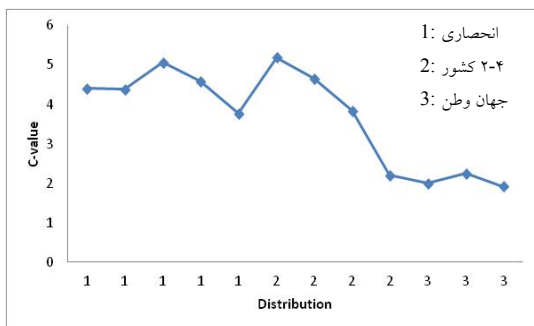
ارتفاع محل رویش و مقدار ژنوم هسته‌ای: در این مطالعه ارتباطی بین ارتفاع و مقدار DNA هسته وجود ندارد (شکل ۴). در گونه‌های جنس *Tanacetum* بیشترین میانگین میزان ژنوم (۱۳/۵۶ pg) به گونه‌هایی که در ارتفاع

اندازه دانه‌گرده و مقدار ژنوم هسته‌ای: در بین تاکسون‌هایی مورد مطالعه، با افزایش مقدار طول استوایی و قطر قطبی دانه‌گرده میزان ژنوم هسته‌ای نیز افزایش می‌یابد و می‌توان گفت که رابطه مستقیمی بین اندازه دانه‌گرده و میزان 2C value وجود دارد (شکل ۲ و ۳).



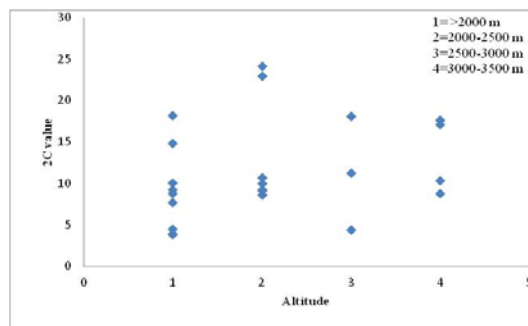
شکل ۲- ارتباط بین طول قطبی دانه‌گرده و میزان 2C value

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 T تبعیت می‌کند)، در صورتی که 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 حالی که اکثر گونه‌های اندمیک ارتفاع کمتری دارند، در رویشگاه‌های خشک و صخره‌ای می‌رویند و دارای میزان ژنوم هسته‌ای بیشتری هستند. در تحقیق دیگری (۲) مشخص شد گونه‌هایی که علف‌هرز هستند و به عنوان گیاهان مهاجم در نظر گرفته می‌شوند، در مقایسه با گونه‌های دیگر در همان جنس مقدار DNA 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 معنی‌داری ($P=0.023$) دارای اندازه ژنوم کوچکتری (۴/۱۱ pg) نسبت به گونه‌های اندمیک (۱۳/۵۶ pg) هستند.



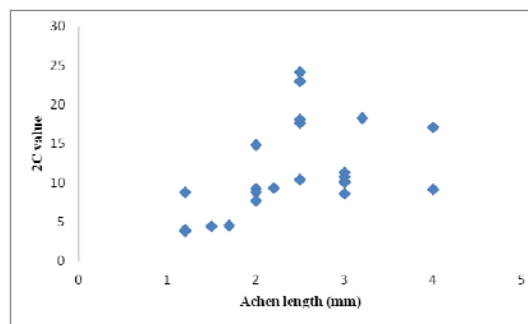
شکل ۶- ارتباط بین میزان پراکنش گونه‌های دیپلوئید و C value

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

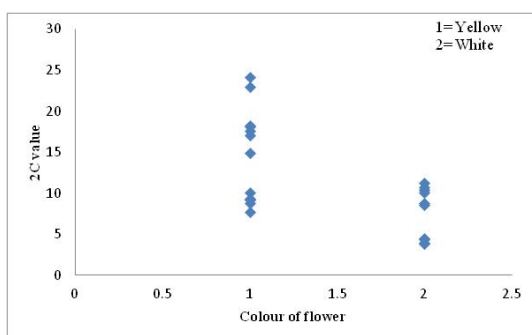
طول بذر و مقدار ژنوم هسته‌ای: بین طول بذر و مقدار ژنوم هسته‌ای نیز ارتباطی وجود ندارد (شکل ۵) تنها در سه جمعیت مختلف گونه *T. parthenium*، جمعیت کاشته شده با اندازه بذر بزرگتر نسبت به دو جمعیت خودرو دارای میزان ژنوم هسته‌ای بیشتری می‌باشد.



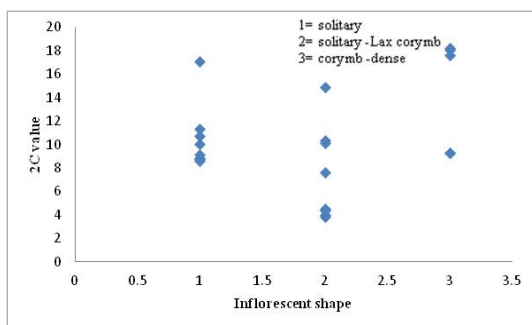
شکل ۵- ارتباط بین طول بذر و میزان 2C value

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 T (و از این رو مقدار کمتر ژنوم هسته‌ای) 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

ژنومی حدواسط (pg ۱۰/۶) 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 معنی‌داری ($P=0.006$) کوچکتر (pg ۶/۵۴) از گل‌هایی با گل‌آذین دیهیمی متراکم (pg ۱۵/۵۷) می‌باشد، اما اختلاف معنی‌داری با گونه‌های گل منفرد ندارند. در بین تاکسونهای دیپلوئید نیز اندازه ژنوم بین هر سه نوع گل‌آذین معنی‌دار است ($P=0.001$) و گونه‌هایی که دارای گل‌آذینهای دیهیمی تنک (pg ۴/۸۸۴) و گل منفرد (pg ۸/۹۷۰) هستند، اندازه ژنوم کمتری نسبت به گل‌آذین دیهیمی متراکم (pg ۹/۷۸۶) دارند.



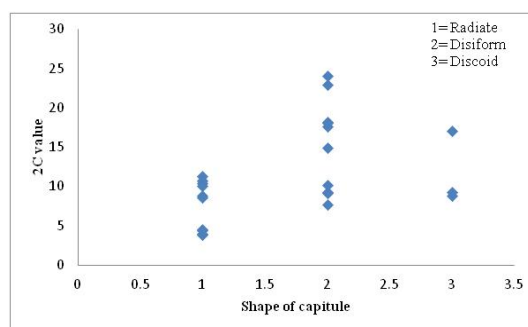
شکل ۸- ارتباط بین شکل رنگ گل و میزان 2C value



شکل ۹- ارتباط بین نوع گل‌آذین و میزان 2C value

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

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



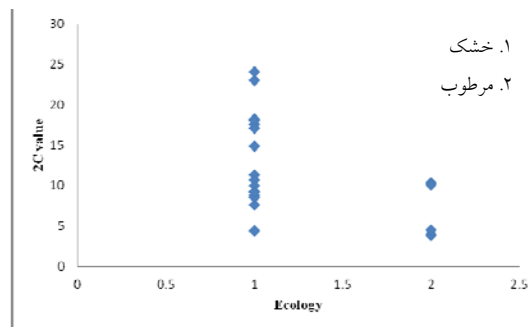
شکل ۷- ارتباط بین شکل کاپیتول و میزان 2C value: radiate شعاعی، disiform: لوله‌ای-زبانکی، discoid: لوله‌ای.

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

نوع گل‌آذین و مقدار ژنوم هسته‌ای: بیشترین میانگین مقدار ژنوم در گونه‌هایی که گل‌آذین منفرد دارند یافت می‌شود (pg ۱۴/۵) و کمترین مقدار آن (pg ۷/۵) در بین گونه‌هایی که گل‌آذین منفرد تا دیهیم تنک دارند مشاهده می‌شود. تاکسونهایی که دارای گل‌آذین منفرد هستند مقدار

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 پلوئیدها حضور نداشتند (در این تحقیق سطوح پلوئیدی فرد و زوج با هم مقایسه شدند).

در این بررسی مشخص شد که ارتباط معنی‌داری بین ارتفاع محل رویش و اندازه بذر با اندازه ژنوم هسته وجود ندارد. درحالی‌که بین گونه‌های اندمیک و جهان وطن با اندازه ژنوم ارتباط معنی‌داری 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 گل‌زرد 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.



شکل ۱۰- ارتباط بین رویشگاه و میزان 2c value

کراس و همکاران (۱۹۹۵) عنوان کردند گونه‌هایی که به محیط‌های خشک سازگارند دارای مقدار DNA کمی 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 تأیید می‌کند (۱۶).

از آنجایی که مقدار C value درون یک گونه ثابت در نظر گرفته می‌شود، حضور تنوع در مقدار DNA 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 هسته‌ای 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).

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.rbgekew.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., Chabrilange, 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* (Rehinger K.H) 158: 88-148. Gruck V.Druck und Verlagsanstalt.
- 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 Linnean 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

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

²Dept. 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 cultivated 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 inflorescences and ecology 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 well as 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.