ارزیابی سیتوژنتیکی ارقام کلزا و دو گونه وحشی سرده براسیکا

اشکبوس دهداری

یاسوج، دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی، اصلاح نباتات

تاریخ دریافت: ۹۰/۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۱۱

چکیده

شناسایی و ارزیابی ژنوتیپهای داخل سرده براسیکا به اصلاحگر در راستای شناسایی آللهای مورد نظر و کنترل کننده صفات مطلوب و در نهایت انتقال آنها به ارقام زراعی کمک می‌کند. استفاده از انواع رنگ‌آمیزیها و روشهای نواربندی کروموزومی امروزه به عنوان ابزاری مفید جهت مطالعات سیتوژنتیکی و به کارگیری آنها در علوم زیستی، اصلاح نباتات، اصلاح دام، مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی محسوب می‌شوند. به منظور بررسی تنوع سیتوژنتیکی ارقام زراعی کلزا و دو گونه وحشی شامل کلم وحشی و خردل مدیترانه‌ای این پژوهش در شرایط گلخانه و آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه یاسوج به اجرا در آمد. نتایج حاصل از مطالعه کروموزومی بیانگر شباهت زیاد درون گونه‌ای بود به‌نحوی که ارقام مختلف کلزا اعم از بهاره و پاییزه از نظر نسبت طول کل کروموزومهای شماره یک تا ۱۹ تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. از نظر سایر ویژگیهای اندازه‌گیری شده نیز در اکثر موارد تفاوت غیر معنی دار بود. توده‌های خردل از نظر خصوصیات کروموزومی اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری نشان ندادند به جز برای نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۳. این نتیجه به وضوح نشان می‌دهد که کلیه خردلهای مدیترانه‌ای مورد مطالعه علی‌رغم اینکه از مناطق مختلف با شرایط آب و هوایی کاملاً متفاوت جمع آوری شدند اما تنوع کروموزومی زیادی ندارند. در بین صفات متعدد اندازه‌گیری شده تنها نسبت طول کل کروموزوم شماره ۷ و نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ بودند که دو توده کلم وحشی از نظر آنها تفاوت معنی‌داری داشتند. شرایط آب و هوایی مناطق جمع‌آوری شده این دو ژنوتیپ تقریباً مشابه و بنابراین این نتیجه دور از انتظار نبود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس و تجزیه خوشه‌ای گونه‌های مورد بررسی بر اساس ویژگیهای شاخص عدم تقارن داخل کروموزومی (A_1)، شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A_2)، درصد شکل کلی (TF)، تفاوت طول نسبی حداکثر و حداقل (DRL) و تعداد کروموزومهای میتوزی حاکی از شباهتهای بین گونه‌ای و امکان دورگه‌گیری موفق بین ژنوتیپهای انتخابی بود.

واژه‌های کلیدی: براسیکا، تنوع سیتوژنتیکی، تنوع بین گونه‌ای

نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۷۱۴۳۲۰۳۷ ، پست الکترونیکی: adehdari@yu.ac.ir

مقدمه

سرده براسیکا حدود ۱۰۰ گونه دارد که اغلب آنها بومی نواحی مدیترانه‌ای هستند. بر اساس تعداد کروموزومهای هاپلوئید هشت گروه در این سرده شناسایی شده‌اند (۲۶). این سرده شامل شش گونه زراعی است که سه گونه آن دیپلوئید و سه گونه آن تتراپلوئید هستند. از گونه های تتراپلوئید سرده براسیکا در روغن‌کشی استفاده می‌گردد. کلزا مهم ترین گیاه روغنی در این سرده است. کلم وحشی با نام علمی *Brassica oleracea* L. یکی از گونه‌های سرده براسیکا و بومی اروپای غربی است. این گیاه دارای ژنهای مهمی است که ویژگیهای خوبی از جمله مقاومت به تنشهای زنده و غیر زنده را کنترل می‌کنند (۱ و ۱۲). به همین دلیل می‌تواند منبع ژنتیکی بسیار خوبی برای اصلاح این سرده به خصوص کلزا باشد. کلم وحشی قرابت بسیار زیادی با گونه‌های سرده براسیکا دارد و یکی از اجداد کلزا

محسوب می‌شود. خردل مدیترانه‌ای نامهای متعدد معمول و علمی از جمله *B.incana* و *Hirschfeldia incana* دارد. منشاء آن مدیترانه‌ای و در اکثر مناطق دنیا پراکنش دارد. مطالعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد این گیاه می‌تواند در خود عناصر بسیار سمی به خصوص تالیوم جمع کند. در مطالعه‌ای که در اسپانیا انجام شده مشخص گردید که این گیاه به همراه چند گونه دیگر براسیکا می‌توانند تالیوم موجود در خاک را به داخل خود انتقال و تجمع دهند. در این مطالعه ضریب انتقال تالیوم از خاک به گیاه بسیار بالا بود(۲۸). خردل مدیترانه‌ای تنها گونه *Hirschfeldia* است که از خویشاوندان اصلی براسیکا بخصوص کلم وحشی محسوب می‌گردد(۳۰).

کاتچساید (۹) تفاوتهای ریختی بین کروموزومهای بدنی *B. napus* و *B. rapa* را گزارش نمود. وی مشاهده کرد که شباهتهای زیاد و یا کمی از نظر نوع کروموزومی در این دو گونه وجود دارد. مطالعات در سایرگونه‌ها نیز نتایج مشابهی در برداشت. ریز بودن کروموزومهای این سرده مطالعات را مشکل و در برخی موارد غیر ممکن کرده است.

هیبریداسیون در سرده براسیکا از سال ۱۸۳۴ شروع شده یعنی زمانی که هربرت (نقل از ۲۸) موفق شد هیبرید F_1 بین *B. napus* و *B. rapa* تولید نماید. در همین زمان ساگرت (نقل از ۲۴) موفق به انجام تلاقی بین *B. napus* , *B. oleracea* و *B. rapa* به گونه‌ای که *B. oleracea* بعنوان والد نر بود شد. تا قبل از ۱۹۲۸ مطالعات جدی بر روی هیبریدهای بین گونه‌ای وجود نداشت و اولین بار و مهم ترین آن را باید به مورینگا (۲۱ و ۲۲) نسبت داد. مطالعات وی همراه با مطالعات یو(۳۱) و کارپچنکو (۱۹) نشان دادند که گونه‌های با سطح پلوئیدی بالا (مثل *B.carinata*, *B. cernua* و *B. napus*) آلوپلوئیدهایی هستند که ژنوم آنها از گونه‌هایی با تعداد کروموزوم پایین‌تر یعنی n=۸، n=۹ و n=۱۰ حاصل شده‌اند.

ریچهاریکس (نقل از ۲۳) سه تلاقی بین گونه‌های ۲۰ کروموزومی انجام داد و جفت‌شدگی کامل کروموزومی در هر کدام از تلاقیها مشاهده کرد مگر در تلاقی *B. rapa* × *B. pekinensis* . مطالعات بعدی نشان داد که امکان تولید هیبریدهای هگزا و اکتاژنومی وجود دارد (۱۸ و ۱۹). توصیف سیتوژنتیکی کروموزومها در سرده براسیکا بسیار مشکل است زیرا ژنوم A، B و C در متافاز میوز معمولاً بی شکل و بسیار کوچک هستند. چون سانترومر کروموزومها به خاطر کوچک بودن اندازه کروموزومها به خوبی مشخص نیست بنابراین گروهبندی آنها بر اساس طول کروموزومها می باشد. کروموزومها بسیار شبیه به هم هستند. این شباهتهای چشمگیر بیانگر یکسان بودن منشاء آنها است.

مورینا‌گا در سال ۱۹۳۳(۲۱) کار خود را بر روی گونه های تتراپلوئید زراعی این سرده آغاز کرد. او اساس کار خود را در بی والنت هایی که تشکیل می شد قرار داد. *B. napus* به وسیله یو (۳۱) با تلاقی دادن *B. oleracea* با *B. compestris* در شرایط آزمایشگاهی سنتز شد. درسال ۱۹۳۵ یو(۳۱) کار مورینگا را به صورت مثلثی که در هر رأس آن یک گونه دیپلوئید و در وسط اضلاع آن گونه‌های تتراپلوئید قرار داشتند در آورد.

هیبریدهای زیادی از تلاقی گونه‌های وحشی×وحشی و زراعی×وحشی با مرتفع ساختن موانع باروری در این سرده به دست آمده است. دورگه‌گیری بدنی در این سرده نیز امکان پذیر است. مثلاً هیبریدی به نام *Arabidobrassica* به همین روش به دست آمده است (گلبا و هافمن،۱۹۸۰ نقل از ۲۳). یکی از مهم ترین دست‌آوردها در این زمینه تولید دورگه‌های آلوپلاسمیک نرعقیم است. دست‌آورد دیگر انتقال ژنهای هسته‌ای مفید از طریق اینترگرسیون است که در این راستا می‌توان به ژنهای مقاومت به انواع بیماریها اشاره نمود. این هیبریدها احتمالاً از عدم کاهش کروموزومی *B.oleracea* و کاهش در گامت *B.napus* بوده

است. چوری و همکاران (۱۰) در سال ۱۹۹۶ قدرت انتقال ژنهای طبیعی را در دو نسل تلاقی برگشتی مورد آزمون قرار دادند. آنها شاهد افزایش باروری در هر دو نسل بودند به خصوص زمانی که *B.napus* به عنوان والد مادری انتخاب شد. این نشان داد که میزان باروری نتاج F_1 به دست آمده از تلاقی بین گونه ای را می‌توان با تلاقی برگشتی افزایش داد.

اکثر مطالعات انجام شده (۳ و ۵) در ایران محدود به مقایسه ارقام زراعی وارداتی و نهایتاً توصیه آنها به زارعین است و گزارشی در خصوص مطالعه کروموزومی گونه‌های وحشی این سرده در دسترس نیست. در همین راستا مطالعه حاضر با اهداف بررسی تنوع سیتوژنتیکی گونه های زراعی و وحشی سرده براسیکا، تعیین میزان قرابت کروموزومی و امکان تلاقی بین گونه ای این سرده و تعیین مهم ترین روش مطالعه کروموزومی گونه‌های مورد بررسی طراحی گردید.

مواد و روشها

از مناطق مختلف شامل استانهای کهگیلویه و بویر احمد، فارس و بوشهر به میزان کافی بذر از دو گونه خردل مدیترانه‌ای (خردل مدیترانه ای بوشهر، فیروزآباد، کازرون، گچساران، یاسوج، شیراز، نورآباد و دیلم) و کلم وحشی (کلم وحشی یاسوج و کلم وحشی کاکان) جمع آوری گردید. همچنین بذور ارقام مختلف کلزای بهاره و پاییزه (هشت ژنوتیپ کلزای بهاره شامل هایولا۳۳۰، PP-401-15E، Rgsoo، Oftion 500، هایولا ۶۰، هایولا۴۰۱، PP-308-8، PP-401-16 و سه ژنوتیپ کلزای پاییزه شامل کبری، اکاپی و طلایه) که در مناطق مختلف کشور کشت و کار می شوند تهیه و بعد از جمع آوری و ثبت مقدماتی مشخصات، بررسی کروموزومهای میتوزی آنها به روش استوآیرون هماتوکسیلین به شرح زیر در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه یاسوج انجام شد.

ابتدا بذور جمع آوری شده به دقت به وسیله سدیم هیپوکلریت ۰/۵ در صد به مدت یک دقیقه ضد عفونی شدند. سپس از هر ژنوتیپ حدود ۵۰ عدد بذر انتخاب و در ظروف پتری حاوی ماسه نرم ضدعفونی شده کشت و در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. زمانی که طول ریشه‌چه‌ها به ۲-۱ سانتیمتر رسید مراحل زیر بر روی آنها اعمال گردید.

با توجه به ریز بودن بذرها کل نمونه‌ها شامل بذر و ریشه ها بعد از شستشو حداقل به مدت ۲۴ ساعت در کلشیسین ۰/۰۵ درصد در دمای ۴ درجه پیش تیمار شدند. **سپس** نمونه‌ها به مدت ۱۰-۵ دقیقه در آب مقطر شستشو و در محلول ۳:۱ استیک اسید : اتانل قرار داده شدند. طول این مدت ۷-۲ روز در دمای ۴ درجه بود. به همین دلیل جهت هضم و تخریب مطلوب دیواره سلولی تیمارهای مختلف شامل کلرهیدریک اسید، آنزیمهای پکتیناز و سلولاز، غلظتها و درجه‌حرارتهای مختلف در سطوح متفاوت اعمال و در نهایت برای گونه‌های مورد بررسی به شرح زیر تیمارها حاصل گردید:

- کلزا: نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در کلرهیدریک اسید رقیق شده با آب مقطر (نسبت مساوی اسید و آب مقطر) تیمار شدند. سپس نمونه‌ها از اسید خارج و با آب مقطر شستشو داده شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها به محلول حاوی آنزیمهای پکتیناز و سلولاز منتقل و به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شدند.
- کلم وحشی: نمونه‌ها به مدت ۷ دقیقه در کلرهیدریک اسید رقیق شده با آب مقطر (نسبت مساوی اسید و آب مقطر) تیمار شدند. سپس نمونه‌ها از اسید خارج و با آب مقطر شستشو داده شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها به محلول حاوی آنزیمهای پکتیناز و سلولاز منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شدند.
- خردل مدیترانه ای: نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در کلرهیدریک اسید رقیق شده با آب مقطر (نسبت

مساوی اسید و آب مقطر) تیمار شدند. سپس نمونه‌ها از اسید خارج و با آب مقطر شستشو داده شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها به محلول حاوی آنزیمهای پکتیناز و سلولاز منتقل و به مدت ۵ دقیقه نگهداری شدند.

بعد از اعمال تیمارهای فوق شستشو با آب مقطر به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه صورت پذیرفت و نمونه‌ها حداقل به مدت ۲۴ ساعت در محلول رنگ‌آمیزی استوآیرون هماتوکسلین منتقل گردیدند. نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده ابتدا در محلولی شفاف شامل آب و آنزیم با غلظت بسیار پایین قرار داده شدند. مریستم هر کدام از آنها شناسایی و بر روی لامی حاوی یک قطره استیک اسید ۴۵ درصد منتقل شد. سپس با قرار دادن یک لامل و فشار مختصر عمل پخش شدن انجام شد. از هر ژنوتیپ سه نمونه مطلوب با مشاهده میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰۰ انتخاب و به کمک یک سیستم اپتیکی مجهز به دوربین نیکون مدل Cool pix 14 تصاویر به رایانه منتقل و ذخیره شدند.

به وسیله نرم افزار امیج تول به طرز دقیقی مشخصات کروموزومی شامل طول کل کروموزوم، طول بازوی کوتاه، طول بازوی بلند برحسب پیکسل اندازه گیری شد.

با توجه به اینکه کروموزومها در مراحل مختلف طول متفاوت دارند نمی‌توان در مقایسات به طول کل کروموزوم، طول بازوی کوتاه، طول بازوی بلند اعتماد نمود، به همین دلیل با استفاده از فرمولهای زیر نسبت طولهای فوق محاسبه و در تجزیه‌ها استفاده شد.

طول کل ژنوم/طول هر کروموزوم= نسبت طول کل کروموزوم

طول کل ژنوم/طول بازوی کوتاه کروموزوم= نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم

طول کل ژنوم/طول بازوی بلند کروموزوم= نسبت طول بازوی بلند کروموزوم

(طول هر کروموزوم/طول بازوی کوتاه) ×۱۰۰ =شاخص سانترومری

به علاوه از نسبتهای به دست آمده جهت محاسبه موارد زیر استفاده شد:

۱۰۰ × (مجموع طول کل کروموزوم/ مجموع طول کل بازوهای کوتاه)=درصد شکل کلی (**TF%**)

کمترین طول نسبی کروموزوم- بزرگترین طول نسبی = اختلاف طول نسبی(**DRL**)

$$A_1 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n} \frac{S_i}{Li}}{n}$$

در این فرمول A_1 شاخص عدم تقارن درون کروموزومی، n تعداد جفت کروموزوم هومولوگ، S_i و L_i به ترتیب طول متوسط بازوهای کوتاه و بلند هر جفت کروموزوم هومولوگ می‌باشند.

$$A_2 = \frac{S_{\bar{d}}}{\bar{\chi}}$$

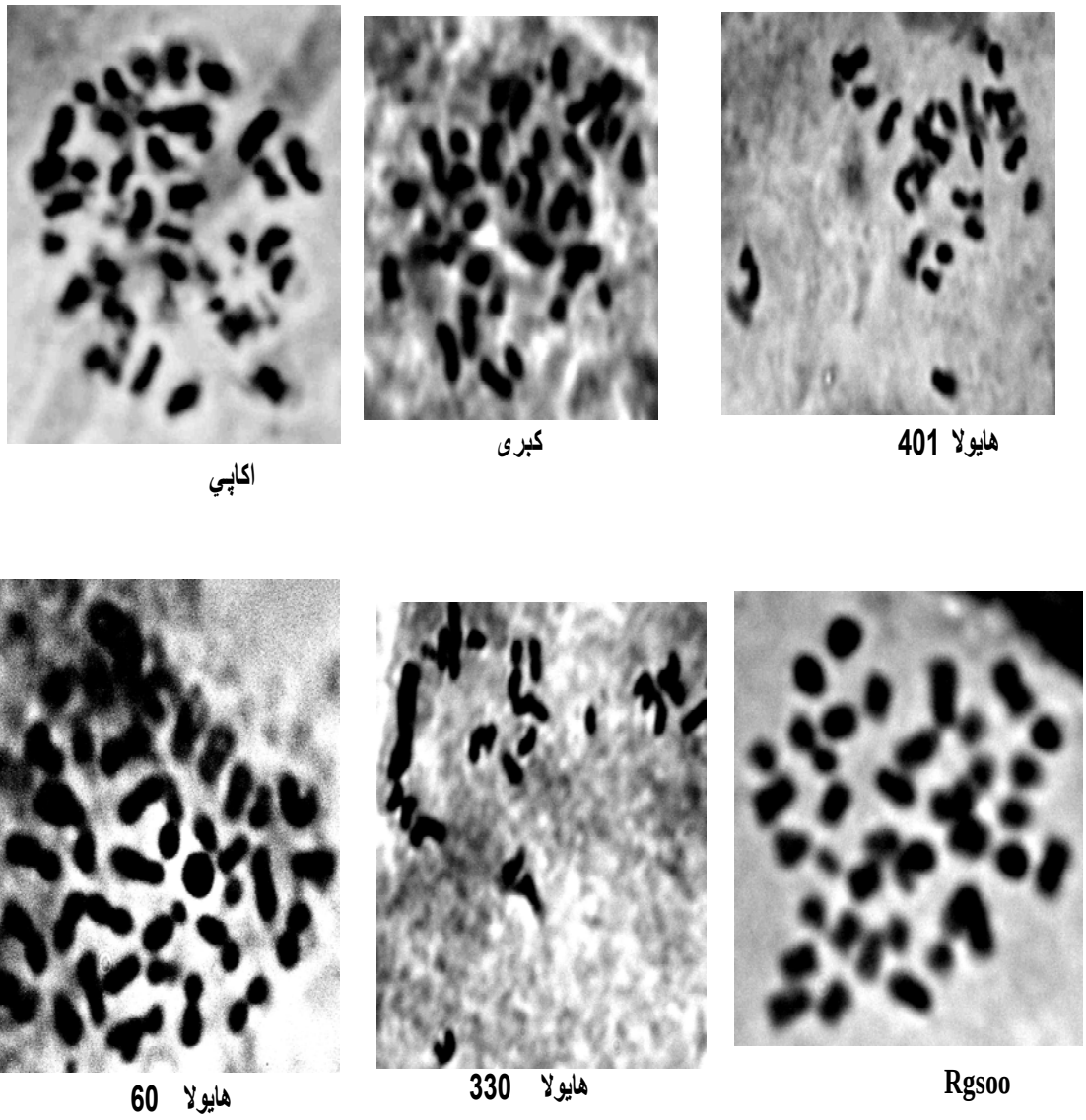
در این فرمول A_2 شاخص عدم تقارن بین کروموزومی، $S_{\bar{d}}$ انحراف معیار تفاوت میانگینهای طول نسبی کل کروموزوم و $\bar{\chi}$ میانگین طول نسبی کل کروموزوم می باشند.

بعد از اندازه‌گیری موارد فوق ابتدا آزمون نرمال بودن مشاهدات انجام و سپس تفاوت بین ژنوتیپهای هر گونه به طور مجزا با استفاده از تحلیل واریانس بررسی گردید. مقایسه میانگین ژنوتیپها برای ویژگیهایی که معنی‌دار گردیدند به روش دانکن انجام شد. سپس تفاوت بین گونه‌های مورد مطالعه از نظر ویژگیهای تعداد کروموزومهای بدنی، A_1، A_2، DRL و TF به کمک تحلیل واریانس بررسی شد. گروه بندی ژنوتیپهای هر سه گونه جهت تعیین میزان قرابت آنها از طریق تجزیه خوشه‌ای و روش UPGMA صورت پذیرفت و در نهایت ژنوتیپهایی

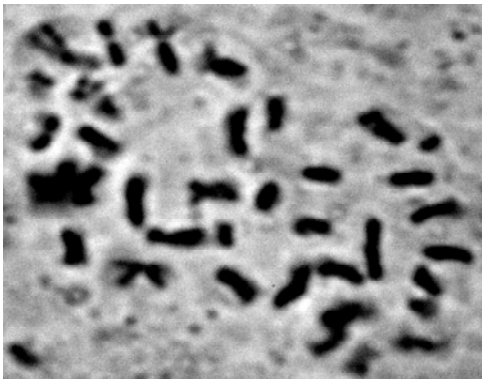
به عنوان والد برای تلاقی و دورگه‌گیری در برنامه‌های اصلاحی انتخاب شدند.

نتایج و بحث

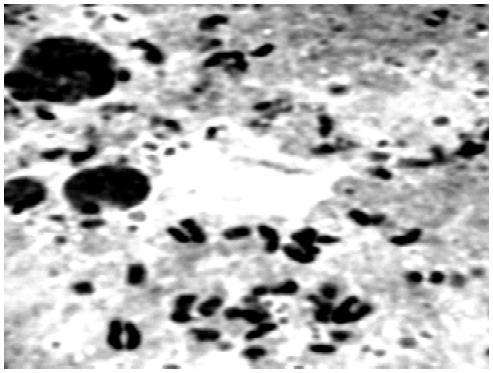
شکل ۱ نمونه کروموزومهای بدنی ژنوتیپهای کلزای مورد مطالعه را نشان می‌دهد. در همین راستا نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک طرفه ویژگیهای کروموزومی در جدول ۱ آمده است. تعداد کروموزومهای بدنی کلیه ارقام مورد مطالعه 2n=۳۸ بود. همان گونه که ملاحظه می‌گردد ارقام مختلف کلزا از نظر نسبت طول کل کروموزومهای شماره یک تا ۱۹ تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. از نظر سایر ویژگیهای اندازه‌گیری شده نیز در اکثر موارد تفاوت غیر معنی دار بود به جز از نظر نسبت طول بازوی بلند برای کروموزومهای شماره ۱۰، ۱۱ و ۱۳؛ از نظر نسبت طول بازوی کوتاه برای کروموزومهای شماره ۱، ۴، ۱۲، ۱۳ و ۱۶ و شاخص سانترومری برای کروموزومهای شماره ۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶.



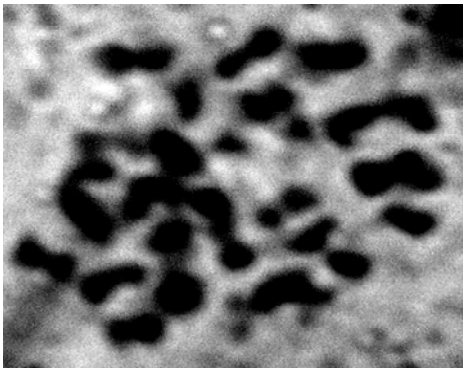
شکل ۱- کروموزومهای میتوزی ارقام مختلف کلزای مورد مطالعه



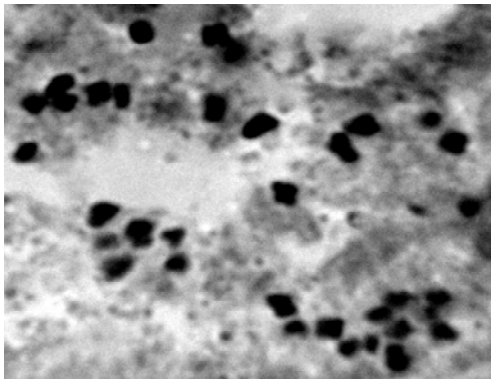
pp-308- 8



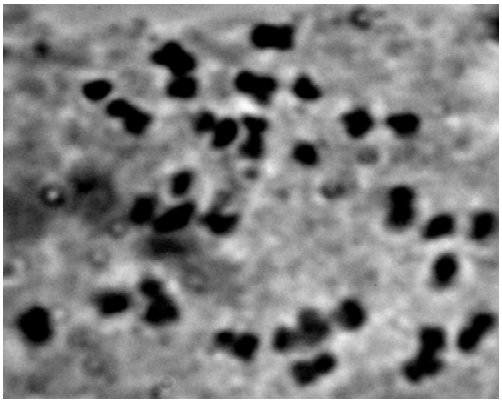
pp-401-15 E



Oftion 500



pp-401-16



طلایـه

ادامه شکل ۱

جدول ۱- میانگین مربعات ویژگیهای کروموزومی اندازه‌گیری شده در ارقام پاییزه و بهاره کلزا

شماره کروموزوم	نسبت طول			شاخص سانترومری
	کل کروموزوم	بازوی بلند	بازوی کوتاه	
۱	۰/۱۰۱۶ ns	۰/۱۶۱۹ ns	۰/۱۱۶۴ **	۷۱/۳۱۳ *
۲	۰/ ۱۴۰۴ ns	۰/۱۶۳۲ ns	۰/۱۶۳۰ ns	۳۸/۱۴۳ ns
۳	۰/۰۶۰۲ ns	۰/۰۶۲۱ ns	۰/۰۹۰۶ ns	۴۷/۵۰۲ ns
۴	۰/۰۲۸۸ ns	۰/۰۳۷۲ ns	۰/۱۴۳۲ *	۶۲/۰۸۱ ns
۵	۰/۰۶۰۴ ns	۰/۰۶۹۷ ns	۰/۰۳۳۲ ns	۲۹/۱۱۷ ns
۶	۰/۰۲۲۹ ns	۰/۰۴۸۸ ns	۰/۰۵۰۴ ns	۳۲/۵۹۱ ns
۷	۰/۰۳۶۹ ns	۰/۰۷۵۳ ns	۰/۰۸۶۵ ns	۸۴/۶۲۳ ns
۸	۰/۰۲۲۱ ns	۰/۱۲۰۲ ns	۰/۰۷۴۵ ns	۹۸/۱۴۸ ns
۹	۰/۰۲۲۱ ns	۰/۰۵۸۳ ns	۰/۰۳۵۰ ns	۲۳/۹۶۱ ns
۱۰	۰/۰۱۴۵ ns	۰/۰۹۶۸ *	۰/۰۵۵۶ ns	۴۸/۷۱۱ ns
۱۱	۰/۰۴۱۵ ns	۰/۰۷۸۱ *	۰/۰۶۲۴ ns	۶۰/۸۴۸ ns
۱۲	۰/۰۲۷۰ ns	۰/۰۶۲۴ ns	۰/۱۰۴۷ *	۱۲۴/۸۴۴ *
۱۳	۰/۰۲۱۱ ns	۰/۰۸۳۷ **	۰/۱۵۳۵ **	۲۰۹/۷۱۷ **
۱۴	۰/۰۷۹۷ ns	۰/۱۴۹۴ ns	۰/۰۵۶۳ ns	۱۱۸/۲۸۱ *
۱۵	۰/۰۹۲۲ ns	۰/۰۶۰۰ ns	۰/۰۶۴۰ ns	۱۴۳/۹۷۰ *
۱۶	۰/۰۵۰۸ ns	۰/۰۶۳۸ ns	۰/۱۴۹۱ **	۲۱۸/۱۵۷ **
۱۷	۰/۰۹۴۰ ns	۰/۰۸۴۶ ns	۰/۰۳۷۲ ns	۵۳/۸۵۰ ns
۱۸	۰/۰۵۴۸ ns	۰/۰۳۳۸ ns	۰/۰۵۷۱ ns	۱۱۱/۰۸۹ ns
۱۹	۰/۰۴۲۷ ns	۰/۰۴۱۵ ns	۰/۰۶۷۳ ns	۱۷۲/۷۸۵ ns

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک در صد را نشان می دهند.

بر اساس مشاهدات مربوط به مقایسه میانگینها (مشاهدات نشان داده نشده‌اند) بالاترین نسبت طول بازوی بلند کروموزومهای شماره ۱۰ و ۱۱ مربوط به رقم اکاپی و کروموزوم شماره ۱۳ به رقم Rgsoo اختصاص یافت. کمترین نسبت بازوی بلند کروموزومهای شماره ۱۰، ۱۱ و ۱۳ به ترتیب مربوط به ارقام طلایه، کبری و pp-401-15E بود. بالاترین نسبت طول بازوی کوتاه برای کروموزومهای شماره ۱، ۴، ۱۲، ۱۳ و ۱۶ به ترتیب به ارقام هایولا۴۰۱، هایولا۳۳۰، pp-308-8، طلایه و هایولا۳۳۰ اختصاص یافت در حالی که کمترین آنها به ترتیب متعلق به ارقام Rgsoo، pp-401-15E، اکاپی، هایولا۳۳۰ و oftion500 بود.

با توجه به تعدد صفات اندازه گیری این تفاوتها فاحش نیستند اما همین مقدار تفاوت مؤید وجود منبع مفید ژنتیکی جهت به کارگیری در برنامه‌های اصلاحی است.

در رابطه با کلزا مطالعات کاریوتیپی صورت پذیرفته که به برخی از آنها اشاره می‌گردد:

شیدایی و همکاران (۲۶) با بررسی کروموزومهای میوزی ۵۰ رقم کلزا تعداد کروموزومهای هاپلوئید را ۱۹ عدد گزارش نمودند. آنها تفاوت معنی‌داری بین ارقام مورد مطالعه از نظر فراوانی وقوع و نحوه توزیع کیاسما مشاهده کردند. مرتضوی و همکاران (۴) با بررسی کاریوتیپی رقم مودنا کلزا تعداد کروموزومها را ۳۸ و احتمال تریزومی در کروموزوم شماره ۳ را گزارش کردند. میرزایی ندوشن و

همکاران (۶) در مطالعه سیتوژنتیکی نه رقم کلزای زراعی که در ایران کشت می شوند تفاوت بین آنها از نظر ویژگیهای کروموزومی معنی دار گزارش نمودند. آنها همبستگی ارقام از نظر طول کل کروموزوم را معنی دار ولی از نظر طول بازوی بلند و بازوی کوتاه غیرمعنی دار بیان کردند.

در مقایسه با این مطالعات نتیجه حاصل از مطالعه حاضر تنوع کمتری در بین ارقام کلزا از نظر ویژگیهای کروموزومی نشان داد. استفاده از نسبت طول به جای طول مطلق به دلیل اینکه تحت تأثیر مرحله تقسیم قرار نمی‌گیرد نتایج واقعی‌تری ارائه می‌دهد.

شکل ۲ کروموزومهای متافازی میتوز و جدول ۲ نتیجه تحلیل واریانس ویژگیهای کروموزومی در ژنوتیپهای خردل مدیترانه‌ای را نشان می‌دهند.

تعداد کروموزومهای کلیه توده‌های جمع‌آوری شده 2n=۱۴ بود. ژنوتیپهای مورد مطالعه از نظر خصوصیات اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری نشان ندادند به جز برای نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۳. این نتیجه به وضوح نشان می‌دهد که کلیه خردلهای وحشی مورد مطالعه علی-رغم اینکه از مناطق مختلف با شرایط آب و هوایی کاملاً متفاوت جمع آوری شدند اما تنوع کروموزومی ندارند. این نتیجه دارای این مزیت است که می‌توان ریختی کروموزومی را به تمام خردلهای مدیترانه‌ای ایران تعمیم داد. این گیاه در اکثر مناطق ایران و در مزارع مختلف به عنوان علف هرز و به صورت خودرو رشد می‌کند که خود بیانگر سازگاری فوق‌العاده آن می‌باشد.

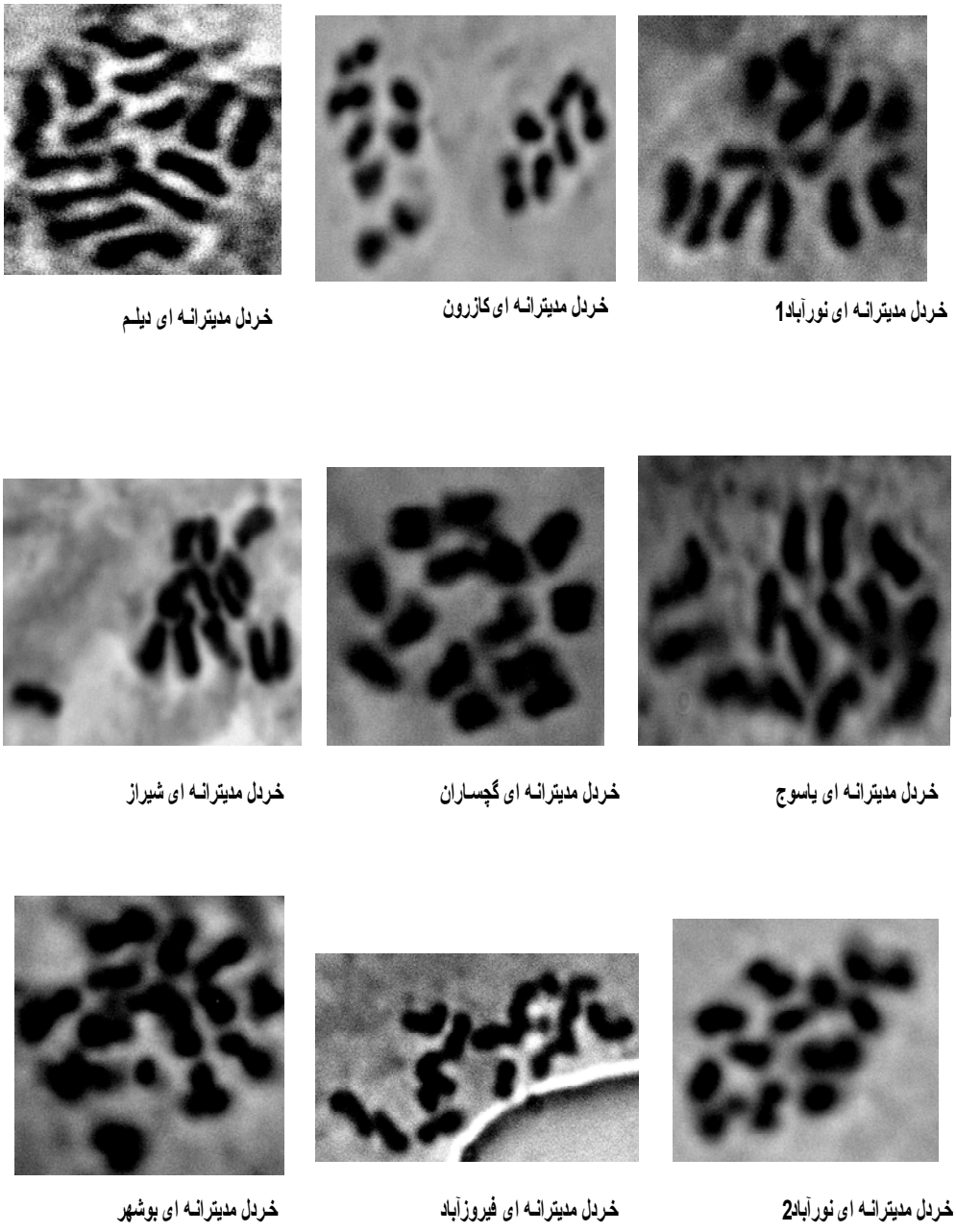
مقایسه میانگین توده‌های مورد مطالعه از نظر تنها صفت معنی دار شده یعنی نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۳ نشان داد که بالاترین میانگین به توده نورآباد۱ و کمترین آن به توده گچساران اختصاص دارد.

در شکل۲ شباهتهای کروموزومی بین کلیه توده‌ها به صورت مشاهده‌ای نتایج حاصل از تجزیه‌های آماری را تأیید می شود.

در خصوص مطالعه کاریوتیپی خردل مدیترانه‌ای گزارشهای زیادی در دسترس نیست. در ایران مسلماً این اولین گزارش در رابطه با مطالعه کروموزومهای میتوزی این گیاه است.

زی-کیو و همکاران (۳۲) در یک بررسی کروموزومهای خردل مدیترانه‌ای را مورد مطالعه قرار دادند. آنها در گزارش خود تعداد کروموزومها را ۱۴ عدد ذکر کردند. سه جفت از اینها متاسنتریک و چهار جفت دیگر ساب متاسنتریک بودند. به علاوه در بررسی رفتار میوزی هفت بای والانت به صورت گرد، نیمه حلقوی و ضربدری مشاهده نمودند. فرست و همکاران (۱۳) با بررسی سیتوژنتیکی یک تریسومی در خردل مدیترانه‌ای وجود یک کروموزوم حلقوی که اندازه آن نصف کروموزوم هومولوگش بود گزارش نمودند. آنها احتمال شکستگی این کروموزوم در میتوز را بدلیل دای‌سنتریک بودنش زیاد دانستند.

شکل ۳ کروموزومهای متافازی میتوز دو جمعیت کلم وحشی را نشان می‌دهد. همانگونه که جدول ۳ نشان می دهد دو ژنوتیپ کلم وحشی مورد مطالعه نیز تنوع چندانی از نظر ویژگیهای کروموزومی اندازه‌گیری شده نشان ندادند. تعداد کروموزومها در هر دو توده 2n=۱۸ بود. در بین صفات متعدد اندازه‌گیری شده تنها نسبت طول کل کروموزوم شماره ۷ و نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ بودند که ژنوتیپها از نظر آنها تفاوت معنی‌داری داشتند. شرایط آب و هوایی مناطق جمع‌آوری شده این دو ژنوتیپ تقریباً مشابه و بنابراین این نتیجه دور از انتظار نیست



شکل ۲- کروموزومهای میتوزی ارقام مختلف خردل مدیترانه‌ای مورد مطالعه

جدول ۲- میانگین مربعات ویژگیهای کروموزومی اندازه‌گیری شده در توده‌های خردل مدیترانه‌ای

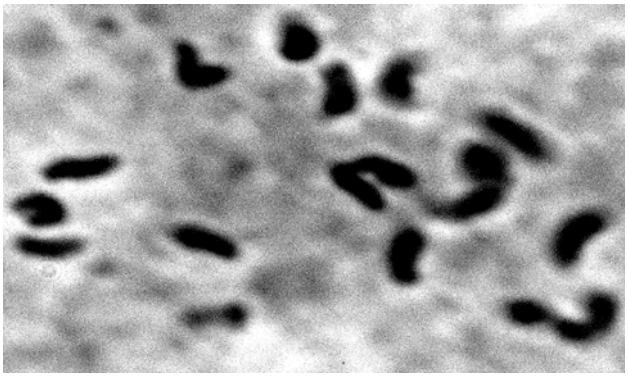
شماره کروموزوم	نسبت طول			شاخص سانترومری
	کل کروموزوم	بازوی بلند	بازوی کوتاه	
۱	۰/۹۸۱۴ ns	۱/۲۲۶۵ ns	۱/۰۱۰۰ ns	۱۲۵/۵۰۲ ns
۲	۰/ ۱۳۸۱ ns	۰/۳۸۹۰ ns	۰/۳۷۱۰ ns	۴۱/۷۲۹ ns
۳	۰/۰۴۷۰ ns	۰/۳۴۵۵ ns	۰/۹۳۲۴ *	۱۰۵/۵۱۸ ns
۴	۰/۱۰۰۹ ns	۰/۲۸۸۷ ns	۰/۲۳۷۳ ns	۳۸/۶۹۳ ns
۵	۰/۰۴۲۱ ns	۰/۲۲۷۷ ns	۰/۲۰۸۰ ns	۴۵/۰۵۷ ns
۶	۰/۱۷۵۰ ns	۰/۳۲۸۰ ns	۰/۶۸۳۰ ns	۱۳۱/۰۲۹ ns
۷	۰/۳۳۷۶ ns	۰/۱۷۸۳ ns	۰/۱۶۶۷ ns	۲۳/۶۲۸ ns

ns و * به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج در صد را نشان می دهند.

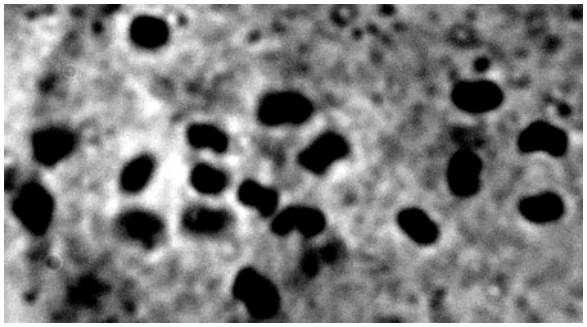
جدول ۳- میانگین مربعات ویژگیهای کروموزومی اندازه‌گیری شده در دو توده کلم وحشی مورد مطالعه

شماره کروموزوم	نسبت طول			شاخص سانترومری
	کل کروموزوم	بازوی بلند	بازوی کوتاه	
۱	۲/۸۱۰۰ ns	۱/۴۰۶۰ ns	۱/۳۷۶۰ ns	۴/۶۸۲ ns
۲	۰/ ۱۱۰۱ ns	۰/۰۳۳۸ ns	۰/۱۴۹۶ ns	۳۷/۶۵۰ ns
۳	۰/۰۴۹۷ ns	۰/۳۹۵۶ ns	۰/۰۳۶۱ ns	۲۲/۵۰۴ ns
۴	۰/۱۱۰۴ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۳۸۹۹ ns	۵۱/۵۶۸ ns
۵	۰/۲۰۳۵ ns	۰/۳۸۲۶ ns	۰/۰۶۵۱ ns	۴۹/۰۲۰ ns
۶	۰/۲۰۱۶ ns	۰/۰۰۳۲ ns	۰/۷۹۹۱ *	۹۴/۰۹۰ ns
۷	۰/۳۸۵۸ *	۰/۰۴۶۸ ns	۰/۰۵۲۵ ns	۲۰/۰۲۰ ns
۸	۰/۱۶۴۴ ns	۰/۲۹۴۵ ns	۰/۲۷۱۲ ns	۷/۹۱۲ ns
۹	۰/۰۰۰۷ ns	۰/۰۵۹۸ ns	۰/۰۰۲۸ ns	۰/۶۶۶۷ ns

ns و * به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج در صد را نشان می دهند.



کلم وحشی کاکان



کلم وحشی یاسوج

شکل۳ - کروموزومهای میتوزی دو توده کلم وحشی مورد مطالعه

.مقایسه میانگینها نشان داد که نسبت طول کل کروموزوم شماره هفت و نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم شماره شش در توده کلم وحشی یاسوج به ترتیب با میانگینهای ۵/۳۶ و ۲/۵۶ تفاوت معنی داری نسبت به توده کلم وحشی کاکان با مقادیر ۴/۸۶ و ۱/۸۳داشت. در رابطه با مطالعه کاریوتیپی این گونه به خصوص توده‌های وحشی گزارشی از ایران در دسترس نیست.

مقایسه سه گونه مورد مطالعه: چهار ویژگی A_1، A_2، TF و DRL از جمله موارد مهمی هستند که جهت بررسی تقارن کروموزومی در داخل و بین گونه‌های گیاهی به کار می‌روند. جدول ۴ تحلیل واریانس این ویژگیها را در سه گونه مورد مطالعه نشان می‌دهد. ارقام کلزا اعم از ارقام بهاره و پاییزه تنها از نظر A_2 تفاوت معنی‌دار داشتند. ژنوتیپهای خردل مدیترانه‌ای نیز فقط از نظر TF تفاوت معنی‌دار نشان دادند. این در حالی است که دو ژنوتیپ کلم وحشی از نظر هیچ کدام از ویژگیهای فوق تفاوت معنی‌دار نشان ندادند.

جدول ۵ تحلیل واریانس همزمان سه گونه را نشان می-دهد. ملاحظه می‌گردد که سه گونه فقط از نظر A_2 تفاوت معنی‌دار داشتند. این نتیجه به خوبی شباهت کروموزومی سه گونه مورد بررسی را گوشزد می‌نماید.

از مطالعات سیتولوژی برای شناسایی هیبریدهای بین گونه ای به وفور استفاده شده است. مثلاً لیو و همکاران (۲۰) از این روش برای شناسایی هیبریدهای بین دو گونه سرده براسیکا یعنی *B. carinata****B. rapa* استفاده کردند.

شیدایی و همکاران (۲۷) تنوع سیتوژنتیکی بین پنج گونه سرده *Silence* را مطالعه و تنوع وسیعی از نظر سطح پلوئیدی، TF و سایر ویژگیها گزارش کردند.

اصغری زکریا (۸) در یک بررسی دو جمعیت *squarossa* از نظر ویژگیهای کروموزومی شامل طول کل کروموزوم، طول بازوی کوتاه و بلند کروموزوم، DRL، TF و نسبت طول کوتاه‌ترین کروموزوم مورد مطالعه قرار داد. وی تفاوت ناچیزی بین این دو جمعیت از نظر ویژگیهای مذکور مشاهده نمود. در این گونه تعداد کروموزومهای متاسنتریک شش جفت و ساب‌متاسنتریک یک جفت گزارش شده است، به همین دلیل کاریوتیپ آن به وسیله اصغری زکریا (۸) متقارن و در کلاس عدم تقارنی 1A (استبن، ۳۰) قرار گرفت.

در مطالعه دیگر چودهاری و جوشی (۱۱) نشان دادند که در تلاقی گونه های مختلف سرده براسیکا از قبیل *B. napus, B.campestris* و *B.juncea* موفقیت زمانی است که گونه های آمفی دیپلوئید به عنوان والد ماده به کار گرفته شوند. هیبرید حاصل از اینها خصوصیات حد واسط هر دو والد را نشان دادند. آنها در مطالعه خود شباهتهای کروموزومی زیادی که منجر به تولید بای والانتهای زیادی گشت گزارش کردند. کبیک و همکاران (۱۷) در مطالعه ای پایداری سیتولوژیکی ۵۰ دبل هاپلوئید حاصل از تلاقی بین

B. napus و *B. rapa* نشان دادند که در کشت میکروسپور اثر مادری نقش بارزی در باززایی و پایداری دبل هاپلوئیدهای حاصل دارد. آنها ناهنجاریهای وسیع کروموزومی در مطالعه خود مشاهده کردند. منصور نیا (۵) در مطالعه شش گونه سرده براسیکا از ویژگیهای کروموزومی برای تعیین روابط بین آنها استفاده نمود. وی وجود کوادری‌والانت و کروموزوم B را در برخی از گونه ها گزارش کرد.

جدول ۴- میانگین مربعات ویژگیهای A_1، A_2، TF و DRL در داخل سه گونه کلزا، خردل مدیترانه‌ای و کلم وحشی

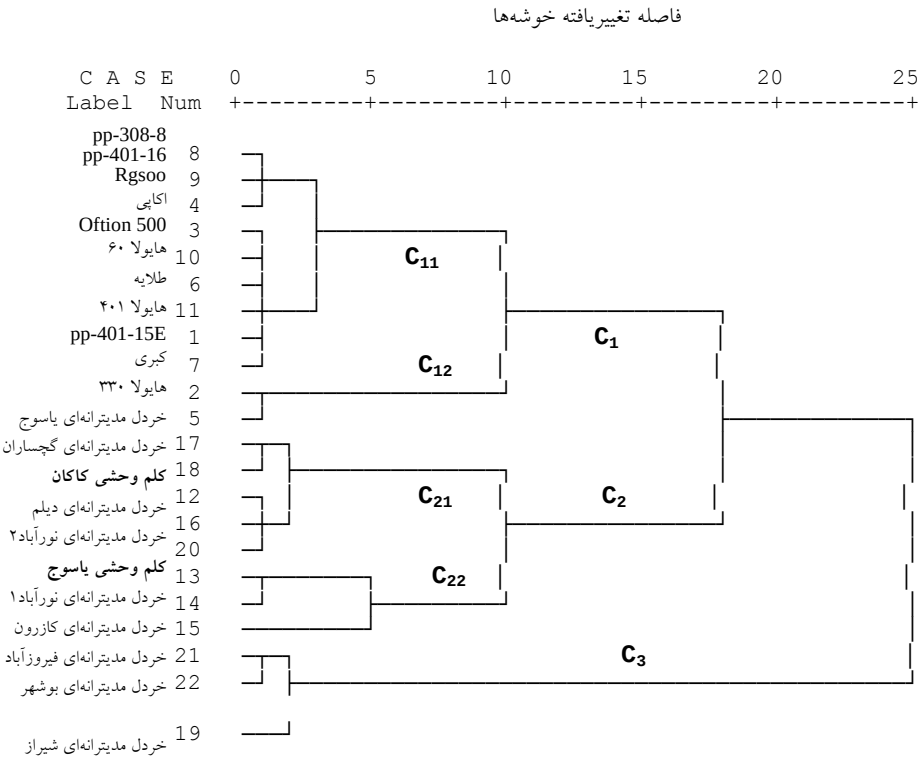
نوع گونه	A_1	A_2	TF	DRL
کلزا	۰/۰۰۶۱ ns	۰/۰۰۲۶ *	۶۴/۷۴۳ ns	۰/۱۵۱۴ ns
خردل مدیترانه‌ای	۰/۰۱۹۵ ns	۰/۰۰۴۲ ns	۲۱۸/۷۹۷ *	۲/۱۲۰ ns
کلم وحشی	۰/۰۰۶۰ ns	۰/۰۱۲۲ ns	۵۸/۰۹۵۰ ns	۲/۷۲۱۳ ns

ns و * به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج در صد را نشان می دهند.

جدول ۵- میانگین مربعات ویژگیهای A_1، A_2، TF و DRL در تجزیه همزمان سه گونه مورد مطالعه

منبع تغییر	A_1	A_2	TF	DRL
گونه	۰/۰۰۰۸ ns	۰/۰۰۶۷ *	۱۸/۱۵۹ ns	۰/۴۴۶۹ ns

ns و * به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج در صد را نشان می دهند.



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای (به روش UPGMA) ژنوتیپهای مورد بررسی در سه گونه کلزا، خردل مدیترانه‌ای و کلم وحشی بر اساس ویژگیهای کروموزومی

گروه بندی ژنوتیپها: تجزیه خوشه‌ای شاید یکی از مهم ترین روشها برای گروه بندی و تعیین میزان قرابت گونه-های گیاهی و حیوانی باشد. شکل ۴ دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپها به روش UPGMA را نشان می دهد. ملاحظه می‌گردد که ژنوتیپها در سه گروه اصلی قرار گرفتند. در گروه یک (C_1) فقط ژنوتیپهای کلزا قرار گرفتند. این گروه خود به دو زیر گروه C_{11} و C_{12} تفکیک شده که در C_{12} تنها دو ژنوتیپ کبری و Oftion 500 قرار گرفتند و سایر ژنوتیپهای کلزا در زیر گروه C_{11} واقع شدند. گروه دوم (C_2) شامل دو ژنوتیپ کلم وحشی و شش ژنوتیپ خردل مدیترانه‌ای بود. این نتیجه حاکی از شباهت کروموزومی خیلی زیاد بین این دو گونه وحشی است. این گروه خود به دو زیر گروه C_{21} و C_{22} تقسیم گردیده که C_{22} سه ژنوتیپ کلم وحشی یاسوج، خردل مدیترانه‌ای نورآباد۱ و خردل کازرون و زیر گروه C_{21} ژنوتیپهای خردل مدیترانه‌ای یاسوج، خردل مدیترانه‌ای گچساران، کلم وحشی کاکان، خردل مدیترانه‌ای دیلم و خردل مدیترانه‌ای نورآباد۲ در خود جای دادند. در گروه سوم (C_3) تنها سه ژنوتیپ خردل مدیترانه‌ای شامل خردل فیروزآباد، خردل بوشهر و خردل شیراز قرار گرفتند.

نتایج حاصل از جدول ۵ و تجزیه خوشه‌ای شباهت کروموزومی بین گونه‌های مورد مطالعه را اثبات می‌کنند.

معمولاً یکی از اهداف تجزیه خوشه‌ای و گروه بندی انتخاب والدین برای دورگه‌گیری با اهداف مشخص در اصلاح گیاه و دام است. در صورتی که کلیه ژنوتیپها از یک گونه مشخص باشند، ارقام با فاصله ژنتیکی زیادتر برای دورگه‌گیری انتخاب می‌شوند. بنابراین در گروه اول که ارقام کلزا قرار گرفتند بهترین ارقام برای تلاقی داخل گونه‌ای ارقام pp-308-8 و هایولا ۳۰۰ می‌باشند. در گروه دوم تلاقی بین خردل مدیترانه‌ای یاسوج و خردل مدیترانه-ای کازرون بهترین نتیجه را خواهد داد.

اما در این مطالعه که سه گونه مختلف بررسی شدند هدف اصلی از تجزیه خوشه‌ای کاربرد دیگر یعنی یافتن ژنوتیپهایی از یک گونه که با ژنوتیپ یا ژنوتیپهای گونه دیگر شباهت کروموزومی زیادتری داشته باشند است. در این صورت می‌توان با تلاقی دو گونه نزدیک ژنهای مفید از یک گونه به گونه دیگر منتقل نمود. ژنوتیپهای خردل مدیترانه‌ای و کلم وحشی در یک گروه قرار گرفتند بنابراین تلاقی‌پذیری آنها بسیار زیاد خواهد بود. به علاوه ارقام کلزای موجود در زیر گروه C_{12} یعنی کبری و هایولا۳۳۰ می‌توانند با ارقام خردل مدیترانه‌ای و کلم وحشی موجود در گروه دوم به خصوص در زیر گروه C_{21} تلاقی یابند.

استفاده از تجزیه خوشه‌ای در گروه بندی ژنوتیپها و رده بندی گیاهی امری متداول است که در اینجا به تعدادی از گزارشهای اشاره می‌شود. جنسون و همکاران (۱۶) ۹۳ ژنوتیپ ویت گراس که از نظر سطوح پلوئیدی متفاوت بودند بر اساس ویژگیهای کروموزومی و به روش UPGMA گروه بندی نمودند. ایوون و همکاران (۱۵) نه ژنوتیپ سرده *Apiaceae* را به روش UPGMA و بر اساس مطالعه کاریوتیپی به چهار گروه تقسیم نمودند. شیدایی و سادات شبستری (۲۶) با مطالعه نه جمعیت فستوکای ایرانی و به کارگیری شاخصهای عدم تقارن درون و بین گونه‌ای و تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA جوامع مورد مطالعه به سه گروه اصلی تفکیک نمودند. علیشاه و همکاران (۷) با استفاده از ویژگیهای کروموزومی از جمله TF، DRL و L/S به روش UPGMA توده‌های بومی پنبه ایرانی را گروه بندی نمود.

هیجازی (۱۴) با مطالعه سیتوژنتیکی و مولکولی دو سرده براسیکا و سیناپیس (خردلها) نتیجه گرفتند که هر دوی اینها دارای یک جد مشترک هستند. میرزایی ندوشن (۶) از ویژگیهای کروموزومی برای تعیین روابط بین صفات در نه رقم کلزا استفاده کرد. وی از طریق تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپها را به پنج گروه تقسیم نمود. حجازی و ضیایی

نسب (۲) با مطالعه کاریولوژیکی ۱۹ جمعیت تتراپلوئید اسپرس تنوع وسیعی را گزارش نمودند. این دو محقق در مطالعه دیگری (۳) بر روی ۱۹ ژنوتیپ شبدر تعداد کروموزومهای پایه را در ژنوتیپهای مختلف متفاوت گزارش کردند. به علاوه ژنوتیپهای مورد مطالعه را از نظر تکاملی در سه گروه قرار دادند.

شیدایی و همکاران (۲۵) بر اساس ویژگیهای کروموزومی در تقسیم میوز ۵۰ رقم کلزا را از طریق تجزیه خوشه‌ای و به روش UPGMA به شش گروه اصلی تفکیک نمودند.

منابع

۱ – امیری اوغان ح.، مقدم م.، داوری م. و داوری ج. ۱۳۸۳. نحوه عمل ژن و وراثت پذیری شاخص‌های مقاومت به تنش خشکی در کلزا. *مجله علوم کشاورزی ایران*، ۷۳–۸۱ :۳۵

۲ – حجازی س. م. ح. و ضیایی نسب. ۱۳۸۸. بررسی کاریولوژیکی بعضی از جمعیتهای گونه های تتراپلوئید جنس اسپرس موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران. مجله زیست شناسی ایران، ۳۳۲–۳۲۱ :۲۲(۲).

۳ – حجازی س. م. ح. و ضیایی نسب. ۱۳۸۵. بررسی کاریولوژیکی برخی از گونه های جنس شبدر موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران. مجله زیست شناسی ایران، ۳۱۳–۲۹۹ :۱۹,(۳)

۴– مرتضوی س.م.، نداف م. و مرتضوی م. ۱۳۸۹. *بررسی خصوصیات کاریوتیپی گیاه روغنی کلزا رقم مودنا*. همایش ملی دست‌آوردهای نوین در تولید گیاهان با منشا روغنی. بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی.

۵– منصورنیا م. ۱۳۷۷. بررسی بیو سیستماتیک گونه‌های براسیکای ایران و مقایسه سیتوژنتیکی ارقام زراعی کلزا. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شهید بهشتی.

۶– میرزایی‌ندوشن ح.، حاجی منیری م.، شیدایی م.، نجاحی و. و احمدی م. ۱۳۷۹. *بررسی سیتوژنتیک ارقامی از کلزا و روند همبستگی کاریوتیپی ژنوتیپها*. پژوهش و سازندگی، ۲۰–۱۶، ۱۳.

7-Alishah O., Ahmadikhah A. and Nasrollanejad S. 2007. Intragenomic diversity and geographical adaptobility of diploid cotton species revealed by cytogenetic studies. *Afr J. Biotech*. 6: 1387-1392.

8- Asghari-Zakaria R. 2007. Karyological studies in two natural population of *Boissiera squarossa*. *Int. J. Agric.Biol*. 9: 779-781.

9- Catcheside D. G. 1934. The chromosomal relationship in swede and turnip group of *Brassica. Ann. Bot.* 48: 601-633.

10- Chevre A., Eber F., Baranger A., Kerlan M.C., Barret P., Festoc G., Vallee P., and Renard M. 1996. Interspecific gene flow as a component of risk assessment for transgenic *Brassicas*. Acta Hort 407:169–179.

11- Choudhary B. R. and Joshi P. 1999. Interspecific hybridization in *Brassica*. *10th International Rapeseed Congress*, Canberra, Australia.

12- Crouch J.H., Lewis B.G. and Mithen R.F. 1994. The effect of a genome substitution on the resistance of *Brassica napus* to infection by *Leptosphaeria maculans*. *Plant Breed.* 112: 265-278.

13- Frost H. B., Lesley M. M. and Locke W. F. 1960. Cytogeneticsofa trisomic of *Matthiola incana* involving aring chromosomeand somatic instability of singleness of flowers and shape of leaves. *Calif. Univ. pubs . Agr. Sci.* 1083-1099.

14-Hijazy H. Y. 2005. Cytogenetic and molecular reevaluation the relationships of species belonging to the two genera *brassica* and *sinapis. Cytologia* 70: 447-454.

15- Iovene M., Grzebelus E., Carputo D., Jiang j. and Simon P.W. 2008. Major cytogenetic landmarks and karyotype analysis in *Daucus carota* and other *apiaceae*. *Am J. Bot.* 95: 793-804.

16- Jensen K.B., Larson S.R., Waldron B.L. and Asay K.H. 2005. Cytogenetic and molecular characterization of hybrids between 6x, 4x, and

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه یاسوج از طریق طرح پژوهشی شماره ۱۲۶۵ صورت پذیرفت که بدین وسیله قدردانی می‌گردد. از سرکار خانم مهندس حکیمه کرمی که در طول اجرای طرح همکاری صمیمانه داشتند نهایت تشکر و سپاسگزاری بعمل می‌آید.

2x ploidy levels in crested wheatgrass. *Crop Sci.* 46: 105-112.

17- Kabik, T. J., G. P. Hawkins and G. R. Strinqam. 1999. Cytological stability of doubled haploid lines derived from interspecific crosses between *Brassica napus* L. and *B. rapa* L. 10th International Rapeseed Congress, Canberra, Australia.

18- Karpechenko G.D. 1924. Hybrids of *Raphannus sativus* L. x *Brassica oleracea L. J. Genetics* 14: 373-396.

19- Karpechenko G.D. 1927. polyploid Hybrids of *Raphannus sativus* L. x *Brassica oleracea L. Bull Appl. Bot. Gen. Pt. Breed. Genetics* 17: 305-410.

20- Liu J., Wang H., Yu L., Li D. and Li M. 2009. Morphology and cytology of flower chimeras in hybrids of *Brassica carinata x B. rapa. Afr J. Biotech*. 8: 801-806.

21- Morinaga T. 1933. Interspecific hybridization in *Brassica* V. The cytology of F1 hybrid of *B. carinata* and *B. alboglabra*. *Japanese J. Bot.* 6: 467-475.

22- Morinaga, T. 1934. Interspecific hybridization in Brassica. VI. The cytology of F1 hybrids of *B.juncea* and *B.nigra*. *Cytologia* 6: 62-67.

23- Prakash S. and Chopra V.L. 2004. Eighty years of *Brassica* cytogenetics. http://regional.org.au/au/gcirc/4/54.htm?print=1.

24- Ramsey A.D. and Ellis P.R. 1994. Resistance in wild *Brassica* to the cabbage whitefly, *Aleyrodes proletella*. *Proceedings of the Ninth CruciferGenetics Workshop*. *Acta Horticulturae* 407.

25- Sheidai M., Noormohamadi Z. and Sotodeh M. 2006.Cytogenetic variability in several canola cultivars. *Caryologia* 59: 267-276.

26- Sheidai M. and Sadat Bagheri Shbestarei E. 2007. Cytotaxonomy of some *Festuca* species and populations in Iran. *Acta Bot. croat.* 66: 143-151.

27- Sheidai M., Nikoo M. and Gholipour A. 2008. Cytogenetic variability and new chromosome number reports in *Silene* L. species (Sect. Lasiostemones, Caryophyllaceae). *Acta Biol Szeged* 52: 313-319.

28- Sikka S.M. 1940. Cytogenetica of Brassica hybrids and species. *J. Genet.* 40 : 441-474.

29- Stebbins G.L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. Addison-wesley. London H.K.

30-Tuncok Y., Kozan O., Cavder G., Guven H. and Fowler J. 1995. Urgina martima toxicity. *J. Toxicol Clin Toxical* 33: 83-86.

31- U N. 1935. Genomic analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. Japanese Journal of Botany 7: 389-452.

32- Ze-q L., peng L., Song-dong Z.,Whi-liang X. and Hou-fen. 1999. A study on karyotype and meiosis of *Mathiola incana*, an oil species for peculiar uses. *Chines J. Oil Crop Sci.* 4: 421-450.

Cytogenetical evaluation of canola cultivars and two wild species of *Brassica*

Dehdari A.

Plant Breeding Dept., Agriculture Faculty, Yasouj University, Yasouj, I.R. of Iran

Abstract

Identification and evaluation of intrageneric *Brassica* species will be useful to identified valuable genes and traits and finally transfere of them into cultivated varieties. Cytogenetical methods such as chromosomal staining and banding are very important tools to use in different science branches including biology, plant breeding, animal breeding and biotechnology. In order to evaluate of cytogenetical characteristics of canola, wild hoary mustard and wild cabbage this study was conducted genetic lab. of Yasouj university. The cytogenetical results revealed high intraspecific similarity among genotypes of all three studied species. Different spring and winter canola cultivars showed no significant for total relative length of chromosomes, and for most of other measured chromosomal characters. Hoary mustard genotypes showed no significant differences for all chromosomal characters except for relative length of short arm of chromosome 3. This result clearly showed less cytogenetical variation among hoary mustard genotypes collected from different part of Iran. Also two wild cabbage genotypes indicated significant differences only for relative total length of chromosome 7 and for relative length of short arm of chromosome 6. The results of analysis variances and cluster analysis for intra-chromosomal symmetry index (A_1), inter-chromosomal symmetry index (A_2), total form percentage (TF), differences between relative length of the longest and the shortest chromosomes (DRL) and somatic chromosomal number revealed interspecific similarity, indicating crossability among selective genotypes. Sowing date and species type had high effect on flowering date. So, sowing date adjustion could be very important factor to synchronize flowring date.

Keywords: *Brassica*, Cytogenetical diversity, Interspecific variation.