

مطالعه کاریوتیپ شش اکوتیپ از دو گونه بومادران *Achillea santolina* و *Achillea millefolium*

Karyotypic study of six ecotypes of two species of yarrow; *Achillea millefolium* and *Achillea santolina*

محمد ضابط^{۱*}، فاطمه افشاری^۲

۱- استادیار، دانشگاه بیرجند

۲- کارشناس ارشد، سازمان آموزش و پرورش بیرجند

Zabet M^{*1}, Afshari F²

1. Assistant Professor, University of Birjand.

2. Graduated MSc Student, Ministry of Education, Birjand

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mzabet@birjand.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۵)

چکیده

در این پژوهش مطالعه سیتوژنتیکی اکوتیپ‌های استهبان، اردبیل، مشکین‌شهر و ایلام از گونه *Millefolium* و اکوتیپ‌های الیگودرز و اراک از گونه *Santolina* انجام گرفت. پس از پیش تیمار مرستم نوک ریشه، تثبیت، هیدرولیز و رنگ آمیزی؛ انتخاب صفحه گسترش متافازی مناسب صورت گرفت و از نمونه‌ها با فتومیکروسکوپ عکس-برداری شد و مورفولوژی کروموزوم‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد که عدد پایه کروموزومی در شش اکوتیپ $x=9$ بود. سه اکوتیپ الیگودرز، اردبیل و مشکین‌شهر دیپلوئید ($2n=2x=18$) و سه اکوتیپ اراک، ایلام و استهبان تتراپلوئید ($2n=4x=36$) بودند. با اندازه‌گیری پارامترهای مختلف کاریوتیپی L (طول بازوی بلند کروموزوم)، S (طول بازوی کوتاه کروموزوم)، T (طول کل کروموزوم) مشخص شد که در میان اکوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر بازوی کوتاه (S) بیشترین دامنه تغییرات ($1/2$) مربوط به اکوتیپ الیگودرز و کمترین دامنه تغییرات ($0/2$) مربوط به اکوتیپ اردبیل بود. از نظر بازوی بلند (L) اکوتیپ الیگودرز با $2/7$ بیشترین دامنه تغییرات و اکوتیپ ایلام و اراک با $0/8$ کمترین دامنه تغییرات را داشت. دامنه تغییرات طول کل کروموزوم (T) در اکوتیپ الیگودرز با $3/9$ بیشترین و در اکوتیپ اراک با $1/2$ کمترین بود. از نظر دامنه تغییرات شاخص هازیوارا ($F\%$) اکوتیپ مشکین‌شهر با مقدار $20/84$ بیشترین و اکوتیپ استهبان با مقدار 7 کمترین دامنه تغییرات را داشت. دامنه تغییرات طول نسبی کروموزوم ($RL\%$) اکوتیپ الیگودرز با $7/82$ حداکثر و اکوتیپ ایلام با $1/57$ حداقل بود. بررسی تقارن کاریوتیپ بر اساس روش‌های $TF\%$ ، DRL و $S\%$ نشان داد که متقارن‌ترین کاریوتیپ مربوط به اکوتیپ اراک و نامتقارن‌ترین کاریوتیپ مربوط به اکوتیپ استهبان و الیگودرز بود. بنابراین اکوتیپ اراک قدیمی‌تر از سایر اکوتیپ‌ها و اکوتیپ‌های استهبان و الیگودرز متکامل‌ترین اکوتیپ‌ها می‌باشند.

واژه‌های کلیدی

بومادران

تقارن

سیتوژنتیک

کاریوتیپ

کروموزوم

مقدمه

بومادران از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی مورد مصرف توسط جوامع و تمدن‌های مختلف در طول تاریخ بوده و پراکندگی وسیعی در جهان دارد. به دلیل خواص متعدد دارویی و استفاده در صنایع آرایشی و بهداشتی و غذایی از گیاهان دارویی بسیار مهم در سطح دنیا بوده‌است (Omidbeig 2000). آمار استفاده از داروهای گیاهی در سال‌های اخیر رشد قابل توجهی پیدا کرده‌است. عوارض جانبی بسیار زیاد داروهای شیمیایی و گرانی آنها موجب گرایش مجدد مردم به طب گیاهی شده‌است. استفاده از داروهای گیاهی به لحاظ مقبولیت، در دسترس بودن و آسانی مصرف در جهان و خصوصاً کشورهای در حال توسعه رو به فزونی است. این امر لزوم مطالعه بیشتر در مورد این گیاه دارویی را به خوبی توضیح می‌دهد؛ به همین دلیل در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از پژوهشگران کشور بوده‌است (Ministry of Health and Medical Education 2014). در زمینه سیتوژنتیک بومادران مطالعات اندکی صورت گرفته و بیشتر تحقیقات انجام شده در این گیاه در مورد ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس، تنوع ژنتیکی و فنوتیپی، اثرات مختلف اسانس و تیمارهای زراعی بوده‌است.

Rahimallik et al. (2009b) تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای *Achillea* را با نشانگر AFLP مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آنها در اغلب گونه‌ها تنوع ژنتیکی زیادی بین ژنوتیپ‌ها را نشان داد. گونه *A. tenuifolia* بیشترین و *A. santolina* کمترین تنوع ژنتیکی را داشتند. نتایج حاصل از تجزیه کلاستر نشان داد که تنوع جغرافیایی از تنوع ژنتیکی تبعیت می‌کند. در تحقیقی دیگر توسط Rahimallik et al. (2007) صفات مهم گونه‌های بومادران دارویی بومی ایران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آنها نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد در بین صفات اندازه‌گیری شده وجود داشت. در بین نمونه‌های *A. biberstenii* اکوتیپ استان لرستان بالاترین درصد اسانس و سطح برگ، در بین نمونه‌های *A. tenuifolia* اکوتیپ استان آذربایجان غربی و در بین نمونه‌های *A. santolina* اکوتیپ اصفهان و لرستان بیشترین درصد اسانس را داشتند.

Faragpour (2009) در بررسی تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی بین و درون گونه‌ای بومادران ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی به این نتیجه رسید که گونه *A. mellifolium* از تنوع خوبی برخوردار بود. در مطالعه Ghani et al. (2009) بازده اسانس و تعداد ترکیبات اسانس در شرایط زراعی نسبت به شرایط رویشگاهی افزایش یافته، در حالی که میزان (درصد) ترکیبات اصلی کاهش یافت.

نتایج مطالعات Farsi et al. (2001) نشان داد که شش گونه مورد مطالعه به دو گروه دیپلوئید $2n=2x=18$ (*A. filipenula*, *A. eriophora*, *A. wilhelmsii*) و تتراپلوئید $2n=4x=36$ (*A. biebersteinii*, *A. tenuifolia*, *A. millefolium*) گروه‌بندی شدند. از نظر نوع کروموزوم‌ها دو گونه *A. wilhelmsii* و *A. eriophora* بسیار به هم شبیه بودند و از نظر مورفولوژی کروموزوم‌ها یک تطابق صددرصد وجود داشت. با توجه به مشابهت کروموزوم‌ها از نظر طول نسبی چنین استنباط می‌شود که گونه تتراپلوئید *A. tenuifolia* به احتمال زیاد بر اثر پلی‌پلوئیدی از گونه *A. filipendula* منشأ گرفته‌است. گونه *A. biebersteinii* یک اتو تتراپلوئید بوده زیرا جفت کروموزوم‌های ۱ و ۲، ۳ و ۴، ... و ۳۵ و ۳۶ شباهت بسیار زیادی با یکدیگر دارند، به عبارت دیگر یک شباهت صددرصد بین جفت کروموزوم‌ها وجود داشت.

Sheidai et al. (2009) تعداد کروموزوم‌ها را در چند گونه بومادران مورد بررسی قرار دادند. گونه‌های *A. A. eriophora* دارای $2n=2x=18$ کروموزوم؛ گونه‌های *A. biebersteinii*، *A. talagonica*، *A. oxydonta*، *A. tenuifolia*، *A. wilhelmsii*، *A. vermicularis* دارای $2n=4x=36$ کروموزوم و گونه *A. millefolium* دارای ۵۶ کروموزوم بود. در این پژوهش آزمون χ^2 اختلاف معنی‌داری را برای فرکانس نسبی کیاسما و جفت شدن کروموزوم در بین گونه‌های بومادران نشان نداد که این مطلب بیانگر آن بود که هیچ تغییر مهمی در تعداد ژن‌های کنترل کننده جفت شدن کروموزوم‌ها رخ نداده است. اگرچه *A. tenuifolia* در این تحقیق دیپلوئید می‌باشد و انتظار می‌رود که فقط از بی‌والانت‌ها در متافاز میوز یک به وجود آمده باشد، اما مقدار خیلی کمی کوادری والانت (یک عدد) نیز در این گونه

هدف از این پژوهش ارزیابی سیتوژنتیکی کروموزوم‌های مرحله متافازی میتوز، تعیین سطح پلوئیدی، بررسی ویژگی‌های کاربوتیپی و ریخت‌شناسی کروموزوم‌ها، تهیه کاربوتیپ اکوتیپ‌ها و تعیین روابط بین گونه‌ها و جایگاه تکاملی اکوتیپ‌ها بر اساس ریخت‌شناسی کروموزوم‌ها مورد مطالعه بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۸۹-۱۳۸۸ انجام شد. مواد گیاهی شامل ۲۰ ژنوتیپ از بخش‌های مرکزی و غرب کشور بود. در مرحله جوانه‌زنی، کاشت تعدادی از این بذرها منجر به تولید مریستم نشد و به دلیل ناکافی بودن بذرها آزمایش‌های لازم در مورد آنها انجام نشد، لذا ادامه کار بر روی ۶ اکوتیپ از دو گونه بومادران انجام شد (جدول ۱).

جدول ۱- نام علمی (جنس- گونه) و محل جمع‌آوری (استان- شهرستان) اکوتیپ‌های بومادران مورد مطالعه

نام نمونه	استان	شهرستان
<i>Achillea millefolium</i>	اردبیل	اردبیل
<i>Achillea millefolium</i>	اردبیل	مشکین شهر
<i>Achillea millefolium</i>	ایلام	ایلام
<i>Achillea millefolium</i>	فارس	استهبان
<i>Achillea santolina</i>	مرکزی	اراک
<i>Achillea santolina</i>	لرستان	الیگودرز

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های کروموزومی به روش اسکواش صورت گرفت:

الف- جمع‌آوری ریشه: در این مرحله بذرها به طور منظم و در فاصله‌های یک سانتی‌متر بر روی کاغذ صافی قرار گرفت و پتری با پارافیلیم به طور کامل بسته شد. پتری‌ها به مدت یک تا دو روز در یخچال و سپس برای ادامه جوانه‌زنی به محیط با دمای بین ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. بعد از سه الی چهار روز که طول ریشه‌ها به یک تا دو سانتی‌متر رسید، برداشت شدند. نیم سانتی‌متر از نوک ریشه برای انجام مراحل بعد به وسیله تیغه جدا شد. ب- پیش تیمار ریشه: در مراحل اولیه از محلول اشباع آلفا مونو بروموفتالین برای پیش تیمار نمونه‌ها استفاده شد. به دلیل

مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده برخورد هتروزیگوت بین دو جفت کروموزوم می‌باشد.

در تحقیقات به‌نژادی انجام مطالعات سیتوژنتیکی از اقدامات اولیه است. زیرا که شناخت تعداد کروموزوم‌ها در انتخاب روش‌های به‌نژادی موثر است. تعیین سطح پلوئیدی نیز که از مطالعات کروموزومی به دست می‌آید در انجام دورگه‌گیری از اهمیت فراوانی برخوردار است (Hieter et al. 1999). از کاربردهای دیگر مطالعات کروموزومی استفاده از این اطلاعات در شناسایی و طبقه‌بندی گیاهان در سیستم جدید به عنوان بخشی از تاکسونومی جدید است. تنوع زیاد در کروموزوم‌ها، ثابت بودن تعداد کروموزوم‌ها در افراد یک گونه و تنوع تعداد، اندازه و ساختمان کروموزوم‌ها در گونه‌های متفاوت شاخص‌های مفیدی برای اهداف تاکسونومیکی هستند (John 1989; Bakhshi Khaniki 2009). از طرفی مطالعه ساختار کروموزومی و رفتار آنها در اکثر موارد گشودن دیدگاه جدیدی را در فیلوژنی و معماری جنس نوید می‌دهد (Massoumii 1987).

شناسایی کاربوتیپ‌ها به صورت جامع، آگاهی از خصوصیات، مشخصات و تشخیص مرزهای تمایز بین آنان، از اصول ابتدایی می‌باشد. داشتن اطلاعات در مورد کاربوتیپ یک گیاه به به نژادگران گیاهی کمک می‌کند تا با شناخت دقیق آن، راهبردهای لازم را برای انتقال ژن‌های مطلوب از گونه‌های وحشی به گونه‌های زراعی از طریق تلاقی‌های دور پیش‌بینی کنند. افزایش در عملکردهای کمی و کیفی گیاهان دارویی نه تنها به عملیات به زراعی بلکه به تغییر ساختار ژنتیکی گیاه و به‌نژادی آن نیز ارتباط دارد. در این خصوص تعیین ساختار ژنتیکی و سیتولوژی گونه‌های دارویی و معطر، مقایسه ارقام اصلاح شده و گونه‌های بومی گیاهان در هر منطقه از لحاظ عملکردهای کمی و کیفی، بررسی بهترین روش اصلاح در گیاهان دارویی و معطر و بررسی امکان بکارگیری تکنیک‌های کشت بافت و مهندسی ژنتیک می‌تواند ارزشمند باشد. با توجه به دامنه وسیع اکولوژیک جنس بومادران و اهمیت دارویی آن، مطالعات هر چه بیشتر به صورت ویژگی‌های کاربوتیپ در گروه‌های سیستماتیک، جغرافیایی و اکولوژیکی ضرورت دارد.

با استفاده از اطلاعات به دست آمده از اندازه‌گیری بازوی بلند (L) و بازوی کوتاه (S) کروموزوم‌های متافازی اکوتیپ‌های مورد مطالعه پارامترهای کاریوتیپی زیر محاسبه شد: ۱) شاخص درصد شکلی کلی ($TF = \text{Total Form percentage}$) که به عنوان شاخص دسته‌بندی کاریوتیپی است (Huziwar 1962): $100 \times$ (مجموع طول کل کروموزوم / مجموع طول کل بازوهای کوتاه) = $TF\%$; ۲) شاخص $r\text{-value}$: نسبت طول بازوهای بلند (L) به بازوی کوتاه (S) کروموزوم است (Stebbins 1971); ۳) شاخص نسبت بازوها (arm ratio): برای بررسی و تعیین تغییرات و اختلافات مورفولوژیکی کروموزوم‌ها بر اساس محل سانترومر معرفی شد که از نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم به طول بازوی بلند کروموزوم محاسبه می‌شود (Mathew and Mathew 1983); ۴) شاخص اختلاف طول دو بازوی کروموزومی ($d - \text{value}$): بر اساس اختلاف طول بازوی بلند و بازوی کوتاه به دست می‌آید: $L - S$; ۵) شاخص $F\%$: این شاخص برای تعیین و تشخیص وضعیت تقارنی کاریوتیپ پیشنهاد شد (Huziwar 1962): $F\% = S/T \times 100$; ۶) طول نسبی کروموزوم ($RL\%$): از این شاخص نیز برای تشخیص و تعیین تقارن کاریوتیپی استفاده می‌شود: $100 \times$ طول کل کروموزوم / طول کروموزوم = طول نسبی; ۷) اختلاف دامنه طول نسبی ($DRL\%$): از اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها به عنوان شاخصی برای مقایسه تقارن کاریوتیپ‌ها استفاده می‌شود: طول نسبی مینیمم - طول نسبی ماکزیمم = اختلاف دامنه طول نسبی ($DRL\%$); ۸) طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (Alishah and Omidi 2008) ($S\%$): این شاخص نیز برای تعیین و مقایسه تقارن کاریوتیپ‌ها کاربرد دارد: $100 \times$ طول [کل] کروموزوم / طول کوتاه‌ترین کروموزوم = طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم. در نهایت با استفاده از اطلاعات موجود کاریوگرام و ایدیوگرام اکوتیپ‌های مربوطه ترسیم شد (Omidi et al. 2009). در تجزیه‌های آماری از نرم‌افزار Excel برای ترسیم ایدیوگرام و برای تهیه کاریوگرام از نرم‌افزار Photoshop استفاده شد.

ریز بودن کروموزوم‌ها در ادامه کار محلول ۸- هیدروکسی کینولین مورد استفاده قرار گرفت. ریشه‌ها به مدت دو تا چهار ساعت در محلول ۸- هیدروکسی کینولین قرارداده شدند به طوری که زمان مطلوب برای به دام انداختن کروموزوم‌ها در متافاز دو و نیم ساعت به دست آمد.

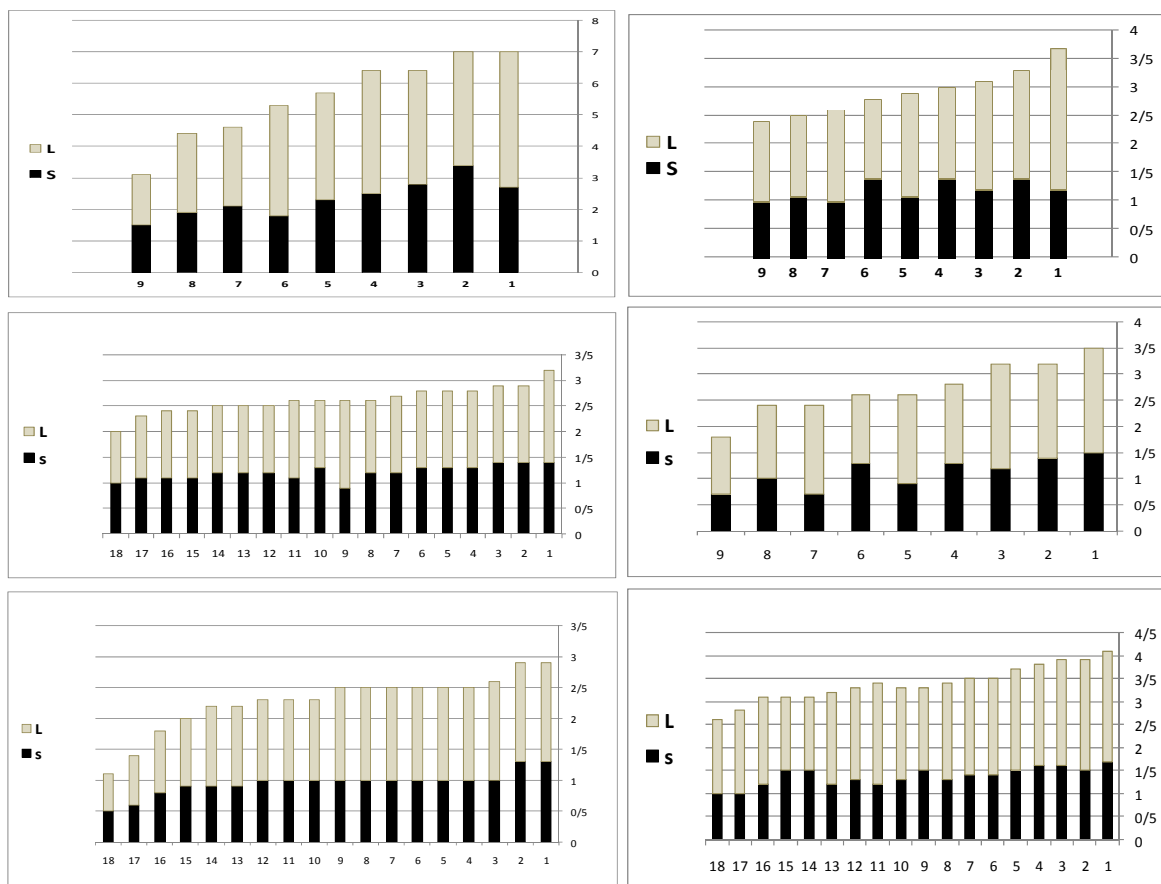
ج- تثبیت ریشه: در این تحقیق از محلول تثبیت‌کننده کارنوی ۱- استفاده شد. ریشه‌ها پس از طی دوره پیش تیمار به خوبی با آب مقطر شسته و سپس به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در اپندورف‌های حاوی تثبیت‌کننده در دمای یک تا چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

د- هیدرولیز ریشه: ریشه‌ها در اسید کلریدریک نرمال (HCl یک نرمال) در دمای محیط به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند تا بافت‌های ریشه نرم شده و نتیجه مورد نظر حاصل شد.

ه- رنگ‌آمیزی ریشه: انتهای مریستمی ریشه پس از تثبیت و هیدرولیز از اسید کلریدریک خارج و پس از شست و شوی کامل با آب مقطر به وسیله دستمال کاغذی به خوبی آب‌گیری و برای رنگ‌آمیزی آماده شد. در این مرحله ریشه‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در دمای محیط درون استوارسئین قرارداده شدند.

و- اسکواش: بعد از رنگ‌آمیزی، نوک ریشه با تیغ جدا شده و با سوزن آزمایشگاه خرد کردن و له شدن بافت مریستمی نوک ریشه انجام شد. یک قطره اسید استیک ۴۵ درصد به نمونه‌های واقع بر روی لام اضافه شد و له کردن بر روی اسید استیک انجام شد. لامل بر روی نمونه گذاشته شده و به وسیله انتهای خودکار چند ضربه آهسته (به طوری که لامل حرکت نکند) به لامل زده شد. گستره نازکی از سلول‌های متلاشی شده ایجاد شد که جهت مشاهده صفحه متافازی در زیر میکروسکوپ قرار گرفت.

ز- عکسبرداری و تهیه کاریوتیپ: پس از اسکواش اسلاید آماده شده به وسیله فتومیکروسکوپ نوری مدل Olympus-BX41 ابتدا با درشت‌نمایی ۴۰ و سپس با درشت‌نمایی ۱۰۰ مورد بررسی قرار گرفت. برای عکس‌برداری از فیلم ۱۳۵ میلی‌متری سیاه و سفید با وضوح ۴۰۰ استفاده شد که پس از پایان کار، فیلم ظاهر شده و به صورت دیجیتال برای انجام تجزیه‌های آماری مورد استفاده قرار گرفت.



شکل ۱- ایدیوگرام شش اکوتیپ بومادران (به ترتیب از بالا و راست به پایین و چپ: الیگودرز، اردبیل، مشکین شهر، اراک، ایلام و استهبان). L و S به ترتیب طول بازوی بلند و کوتاه می باشند.

نتایج و بحث

اکوتیپ الیگودرز از گونه *A.santolina* دارای $2n=2x=18$ کروموزوم بود. طول بلندترین و کوتاه ترین کروموزوم در این اکوتیپ ۷ و $\frac{3}{1}$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی کوتاه $\frac{1}{5}$ و $\frac{3}{4}$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی بلند $\frac{1}{6}$ و $\frac{4}{3}$ ؛ حداکثر و حداقل میزان نسبت بازوی کوتاه به بازوی بلند (S/L) $\frac{0}{94}$ و $\frac{0}{51}$ ؛ حداکثر و حداقل مقدار نسبت بازوی بلند به کوتاه (L/S) $\frac{1}{9}$ و $\frac{10}{5}$ ؛ حداکثر و حداقل شاخص اختلاف طول دو بازوی کروموزوم (d-value) $\frac{1}{7}$ و $\frac{0}{1}$ ؛ بیشترین و کمترین طول نسبی کروموزوم (%RL) $\frac{14}{02}$ و $\frac{6}{2}$ درصد میکرون و بالاترین و کمترین شاخص هازیوارا (%F) $\frac{48}{5}$ و $\frac{33}{9}$ درصد تعیین شد (شکل های ۱، ۲ و ۳)

اکوتیپ اردبیل دارای $2n=2x=18$ کروموزوم بود. طول بلندترین و کوتاه ترین کروموزوم در این اکوتیپ $\frac{3}{7}$ و $\frac{2}{4}$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی کوتاه ۱ و $\frac{1}{4}$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی بلند $\frac{1}{4}$ و $\frac{2}{5}$ ؛ حداکثر و حداقل میزان نسبت بازوی کوتاه به بازوی بلند (S/L) ۱ و $\frac{0}{48}$ ؛ حداکثر و حداقل مقدار نسبت بازوی بلند به کوتاه (L/S) $\frac{2}{08}$ و ۱؛ حداکثر و حداقل شاخص اختلاف طول دو بازوی کروموزوم (d-value) $\frac{1}{3}$ و صفر؛ بیشترین و کمترین طول نسبی کروموزوم (%RL) $\frac{14}{01}$ و $\frac{9}{09}$ درصد میکرون و بالاترین و کمترین شاخص هازیوارا (%F) ۵۰ و ۳۲/۴ درصد تعیین شد.



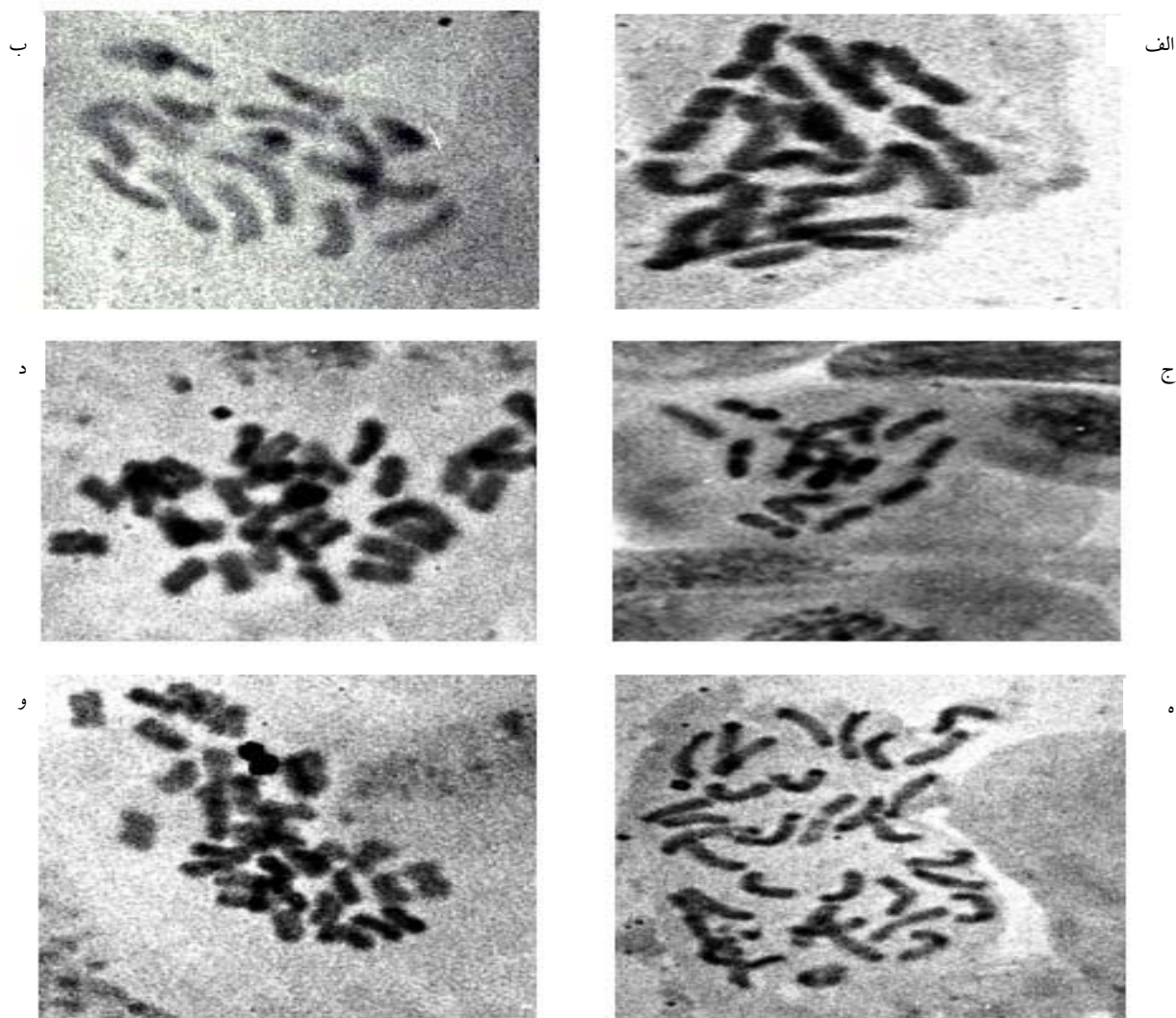
شکل ۲- کاریوگرام شش اکوتیپ بومادران (به ترتیب از بالا به پایین: الیگودرز، اردبیل، مشکین شهر، اراک، ایلام و استهبان)

اکوتیپ ایلام دارای $2n=4x=36$ کروموزوم بود. طول بلندترین و کوتاه‌ترین کروموزوم در این اکوتیپ $4/1$ و $2/6$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی کوتاه ۱ و $1/7$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی بلند $1/6$ و $2/4$ ؛ حداکثر و حداقل میزان نسبت بازوی کوتاه به بازوی بلند $0/94(S/L)$ و $0/55$ ؛ حداکثر و حداقل مقدار نسبت بازوی بلند به کوتاه $1/8(L/S)$ و $1/07$ ؛ حداکثر و حداقل شاخص اختلاف طول دو بازوی کروموزوم (d-value) ۱ و $0/1$ ؛ بیشترین و کمترین طول نسبی کروموزوم (%RL) $6/7$ و $4/5$ درصد میکرون و بالاترین و کمترین شاخص هازیوارا (%F) $48/3$ و $35/7$ درصد تعیین شد.

اکوتیپ استهبان دارای $2n=4x=36$ کروموزوم بود. طول بلندترین و کوتاه‌ترین کروموزوم در این اکوتیپ $2/9$ و $1/1$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی کوتاه $0/5$ و $1/3$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی بلند $0/6$ و $1/6$ ؛ حداکثر و حداقل میزان نسبت بازوی کوتاه به بازوی بلند $0/83(S/L)$ و $0/67$ ؛ حداکثر و حداقل مقدار نسبت بازوی بلند به کوتاه $1/6(L/S)$ و $1/2$ ؛ حداکثر و حداقل شاخص اختلاف طول دو بازوی کروموزوم (d-value) $0/7$ و $0/1$ ؛ بیشترین و کمترین طول نسبی کروموزوم (%RL) $7/07$ و $2/6$ درصد میکرون و بالاترین و کمترین شاخص هازیوارا (%F) $45/4$ و $38/4$ درصد تعیین شد.

اکوتیپ مشکین شهر دارای $2n=2x=18$ کروموزوم بود. طول بلندترین و کوتاه‌ترین کروموزوم در این اکوتیپ $3/5$ و $1/8$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی کوتاه $0/7$ و $1/5$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی بلند $1/1$ و 2 ؛ حداکثر و حداقل میزان نسبت بازوی کوتاه به بازوی بلند $1(S/L)$ و $0/41$ ؛ حداکثر و حداقل مقدار نسبت بازوی بلند به کوتاه $2/43(L/S)$ و 1 ؛ حداکثر و حداقل شاخص اختلاف طول دو بازوی کروموزوم (d-value) ۱ و صفر؛ بیشترین و کمترین طول نسبی کروموزوم (%RL) $14/2$ و $7/3$ در صد میکرون و بالاترین و کمترین شاخص هازیوارا (%F) ۵۰ و $29/16$ درصد تعیین شد.

اکوتیپ اراک دارای $2n=4x=36$ کروموزوم بود. طول بلندترین و کوتاه‌ترین کروموزوم در این اکوتیپ $3/2$ و 2 ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی کوتاه $0/9$ و $1/4$ ؛ حداقل و حداکثر طول بازوی بلند ۱ و $1/8$ ؛ حداکثر و حداقل میزان نسبت بازوی کوتاه به بازوی بلند $1(S/L)$ و $0/53$ ؛ حداکثر و حداقل مقدار نسبت بازوی بلند به کوتاه $1/89(L/S)$ و 1 ؛ حداکثر و حداقل شاخص اختلاف طول دو بازوی کروموزوم (d-value) $0/8$ و صفر؛ بیشترین و کمترین طول نسبی کروموزوم (%RL) $6/7$ و $4/2$ درصد میکرون و بالاترین و کمترین شاخص هازیوارا (%F) ۵۰ و $34/6$ درصد تعیین شد.



شکل ۳- سلول‌های متافازی شش اکوتیپ بومادران (الف) الیگودرز، (ب) اردبیل، (ج) مشکین‌شهر، (د) اراک، (و) ایلام، (ه) استهبان

(T) در اکوتیپ الیگودرز با $3/9$ بیشترین و در اکوتیپ اراک با $1/2$ کمترین مقدار را دارد. از نظر دامنه تغییرات شاخص هازیوارا (F%) اکوتیپ مشکین‌شهر با مقدار $20/84$ بیشترین و اکوتیپ استهبان با مقدار 7 کمترین دامنه تغییرات را داشت. دامنه تغییرات طول نسبی کروموزوم (RL%) اکوتیپ الیگودرز با $7/82$ حداکثر و اکوتیپ ایلام با $1/57$ حداقل بود. ویژگی کاریوتیپی (L/S) در اکوتیپ مشکین‌شهر با $1/4$ بیشترین مقدار و در اکوتیپ استهبان با $0/5$ کمترین دامنه تغییرات را دارد. هم چنین ویژگی کاریوتیپی (S/L) در اکوتیپ مشکین‌شهر با مقدار $0/59$ حداکثر دامنه تغییرات و در اکوتیپ استهبان با مقدار $0/27$ کمترین دامنه

خصوصیات کروموزومی ژنوتیپ‌ها از نظر دامنه تغییرات برخی ویژگی‌های کاریوتیپی در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه شده‌است. در میان اکوتیپ‌های مورد مطالعه طول بلندترین کروموزوم از $2/9$ تا 7 میکرون متغیر بود که حداکثر آن مربوط به اکوتیپ الیگودرز و حداقل آن مربوط به اکوتیپ استهبان بود. از نظر بازوی کوتاه (S) بیشترین دامنه تغییرات ($1/2$) مربوط به اکوتیپ الیگودرز و کمترین دامنه تغییرات ($0/2$) مربوط به اکوتیپ اردبیل بود. از نظر بازوی بلند (L) اکوتیپ الیگودرز با $2/7$ بیشترین دامنه تغییرات و اکوتیپ ایلام و اراک با $0/8$ کمترین دامنه تغییرات را دارا می‌باشند. دامنه تغییرات طول کل کروموزوم

تغییرات را نشان می‌دهد. در نهایت از نظر (L-S) اکوتیپ الیگودرز با ۱/۶ بیشترین دامنه تغییرات و اکوتیپ استهبان با ۰/۶ کمترین دامنه تغییرات را دارا می‌باشند.

جدول ۳ ضریب تغییرات اکوتیپ‌های مورد بررسی را از نظر بازوی کوتاه، بازوی بلند، و طول کروموزوم نشان می‌دهد. بر این اساس بالاترین ضریب تغییرات S مربوط به اکوتیپ اراک به مقدار ۰/۳۲۸۱ و کمترین ضریب تغییرات مربوط به اکوتیپ استهبان به مقدار ۰/۰۴ بود. اکوتیپ الیگودرز بالاترین ضریب تغییرات L به مقدار ۰/۲۸ و اکوتیپ اراک کمترین ضریب تغییرات L را به مقدار ۰/۰۴ را دارا می‌باشند؛ همچنین اکوتیپ الیگودرز بالاترین ضریب تغییرات T به میزان ۰/۴۴ و اراک با مقدار ۰/۰۶ کمترین ضریب تغییرات T را دارد. به طور کل می‌توان نتیجه گرفت که اکوتیپ الیگودرز دارای تنوع بیشتری از لحاظ پارامترهای مربوط به طول کروموزوم نسبت به سایر اکوتیپ‌ها بود و لذا دارای کروموزوم‌های متنوع‌تری بود.

پارامترهای درصد شکل کلی (TF%)، اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها (DRL%)، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S%)، طول یک سری کامل کروموزومی (TL)، میانگین طول کروموزوم، نسبت طول بلندترین کروموزوم به کوتاه‌ترین کروموزوم (L/S)، نسبت طول کوتاه‌ترین کروموزوم به بلندترین کروموزوم (S/L) و فرمول کاربوتیپی در جدول ۴ ارائه شده‌است.

بررسی کمی میزان TF% نشان می‌دهد که حداکثر این میزان (۴۶/۰۷ درصد) مربوط به اکوتیپ الیگودرز بود و حداقل آن (۴۰/۵ درصد) مربوط به اکوتیپ ایلام است. بیشترین میزان S% مربوط به اکوتیپ اردبیل (۹/۰۹ درصد) و کمترین میزان آن مربوط به جمعیت استهبان (۲/۶۸ درصد) می‌باشد. حداکثر میزان کمیت DRL% مربوط به اکوتیپ الیگودرز (۷/۸۲) و حداقل آن مربوط به اکوتیپ ایلام (۲/۲) بود. حداکثر میزان کمیت طول یک سری کامل کروموزومی (TL) ۶۰/۹ میکرون مربوط به اکوتیپ ایلام و حداقل آن ۲۴/۵ میکرون مربوط به اکوتیپ مشکین‌شهر بود. بررسی نسبت طول کوتاه‌ترین کروموزوم به بلندترین کروموزوم (S/L) نشان می‌دهد که حداقل میزان آن ۰/۳۷ مربوط به اکوتیپ استهبان و بیشترین آن ۰/۶۴ مربوط به اکوتیپ اردبیل بود. نسبت طول بلندترین کروموزوم به کوتاه‌ترین کروموزوم

(L/S) نشان می‌دهد که حداقل میزان آن ۱/۵۴ مربوط به اکوتیپ اردبیل و بیشترین میزان آن ۲/۶۳ مربوط به اکوتیپ استهبان بود. فرمول کاربوتیپی که بر اساس جدول لوان ارائه شده نشان داد که در بعضی از اکوتیپ‌ها کروموزوم‌ها بیشتر از نوع متاسانتریک بوده و برخی کروموزوم‌ها تقریباً از نوع ساب متاسانتریک (sm) می‌باشد (جدول ۴). در این اکوتیپ‌ها کروموزوم ساب تلوسانتریک، آکروسانتریک و تلو سانتریک مشاهده نشد. اکوتیپ اراک با داشتن فرمول کاربوتیپی 2M+16m و جمعیت اردبیل با داشتن فرمول کاربوتیپی 1M+8m متقارن‌ترین جمعیت‌ها می‌باشند. عدم وجود کروموزوم‌های دیگر نشان می‌دهد که این دو اکوتیپ از نظر تیپ کروموزومی نسبتاً یکسان هستند. مشکین‌شهر با دارا بودن فرمول کاربوتیپی 1M+6m+2sm و جمعیت ایلام با داشتن فرمول کاربوتیپی 16m+2sm به دلیل داشتن دو کروموزوم ساب متاسانتریک، نامتقارن‌ترین فرمول کاربوتیپی را دارا می‌باشند. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان استنباط کرد که جمعیت‌های اراک و اردبیل متقارن‌ترین کاربوتیپ‌ها را دارند، لذا نسبت به جمعیت‌های دیگر ابتدایی‌تر می‌باشند. جمعیت‌های استهبان و الیگودرز و مشکین‌شهر دارای نامتقارن‌ترین کاربوتیپ‌ها بوده در نتیجه این سه جمعیت نسبت به جمعیت‌های دیگر پیشرفته‌تر هستند. تا حدودی می‌توان نتیجه گرفت که شاید اکوتیپ مشکین‌شهر از اکوتیپ اردبیل به وجود آمده‌است. براساس روش استیبنز اکوتیپ‌های مورد مطالعه در کلاس‌های 1A، 2A و 1B قرار گرفتند (جدول ۵). با توجه به جدول استیبنز اکوتیپ‌های اراک و ایلام در کلاس 1A، اکوتیپ‌های اردبیل و مشکین‌شهر در کلاس 2A و اکوتیپ‌های الیگودرز و استهبان در کلاس 1B قرار گرفتند. در این تحقیق بررسی سیتوژنتیکی بر روی ۶ اکوتیپ از دو گونه بومادران صورت گرفت که گونه *A. millefolium* هم به صورت دیپلوئید و هم تتراپلوئید مشاهده شد و تعداد کروموزوم‌های آن در اکوتیپ‌های اردبیل و مشکین‌شهر $2n=2x=18$ و در اکوتیپ‌های ایلام و استهبان $2n=4x=36$ بود که این با گزارشات قبلی در مورد *A. millefolium* که آنرا گونه‌ای تتراپلوئید با ۳۶ کروموزوم ($2n=4x=36$) و گونه‌ای هگزاپلوئید با ۵۴ کروموزوم ($2n=6x=54$) گزارش کرده بودند اندکی متفاوت است (Farsi et

جدول ۲- بررسی دامنه تغییرات برخی ویژگی‌های کاربوتیپی اکوتیپ‌های بومادران

دامنه تغییرات								
ژنوتیپ	S (μ)	L (μ)	T (μ)	%F	%RL	L/S (μ)	S/L (μ)	L-S (μ)
الیگودرز	1.2	2.7	3.9	14.6	7.82	0.85	0.43	1.6
مشکین شهر	0.8	0.9	1.7	20.84	6.9	1.4	0.59	1
اردبیل	0.2	1.1	1.3	17.6	4.92	1.08	0.52	1.3
ایلام	0.7	0.8	1.5	12.6	1.57	0.74	0.39	0.7
اراک	0.4	0.8	1.2	15.4	2.5	0.8	0.48	0.8
استهبان	0.8	1	1.8	7	4.47	0.5	0.27	0.6

(S بازوی کوتاه؛ L بازوی بلند؛ T طول کل کروموزوم؛ L/S نسبت بازوی بلند به کوتاه (r-value؛ S/L نسبت بازوی کوتاه به بلند (arm ratio؛ L-S) (d- (value؛ %F) شاخص هازیوارا؛ %RL) طول نسبی کروموزوم؛ μm میکرون.

جدول ۳- ضریب تغییرات صفات (S)، (L) و (T) در اکوتیپ‌های بومادران

ضریب تغییرات (درصد)			
ژنوتیپ	S%	L%	T%
ایلام	0.05	0.06	0.09
استهبان	0.04	0.07	0.11
اردبیل	0.05	0.12	0.13
اراک	0.32	0.04	0.06
الیگودرز	0.20	0.28	0.44
مشکین شهر	0.11	0.10	0.17

جدول ۴- پارامترهای کاربوتیپی به همراه پارامترهای اندازه‌گیری تقارن در اکوتیپ‌های بومادران

اکوتیپ	2n	%TF	%DRL	میانگین کل	%S	L/S (μ)	S/L (μ)	TL (μ)	فرمول کاربوتیپی
الیگودرز	۱۸	42.08	7.82	5.50	6.20	2.10	0.44	49.9	8m + 1sm
اردبیل	۱۸	40.90	4.92	2.90	9.09	1.54	0.64	26.4	1M + 8m
مشکین شهر	۱۸	40.80	6.90	2.72	7.30	1.94	0.51	24.5	1M + 6m + 2sm
اراک	۳۶	46.07	2.50	2.60	4.20	1.60	0.62	47.1	2M + 16m
ایلام	۳۶	40.50	2.20	3.38	4.26	1.57	0.63	60.9	16m + 2sm
استهبان	۳۶	41.80	4.49	2.27	2.68	2.63	0.37	41.0	17m + 1sm

گزارش شد. تعداد کروموزوم‌های گونه *A. santolina* برای اولین بار گزارش می‌شود. (Farsi et al. (2001) تعداد کروموزوم‌های گونه *A. millefolium* را $2n=4x=36$ و Sheidai et al. (2009)

همچنین در این تحقیق تعداد کروموزوم‌های *A. santolina* به دو صورت دیپلوئید (اکوتیپ الیگودرز، $2n=2x=18$) و تتراپلوئید (اکوتیپ اراک، $2n=4x=36$)

جدول ۵- تقارن کاریوتیپی (دسته بندی دوطرفه ی استبینز) در اکوتیپ های بومادران

نسبت کروموزوم ها با L/S بیشتر از ۲	بلندترین کروموزوم/ کوتاهترین کروموزوم			
	0.00	0.01-0.5	0.51-0.99	1.0
۲>	1A G4,G5	2A G2,G3	3A	4A
۴-۲	1B G1,G6	2B	3B	4B
۴<	1C	2C	3C	4C

توضیح: (G1) الیگودرز؛ (G2) اردبیل؛ (G3) مشکین شهر؛ (G4) اراک؛ (G5) ایلام؛ (G6) استهبان.

توان در اکوتیپ تراپلوئید دو برابر طول کاریوتیپ همتای دیپلوئید آن دانست؛ لیکن این امر در مورد اکوتیپ الیگودرز و استهبان صادق نمی باشد. به طور کل بررسی خصوصیات کروموزومی اکوتیپ های مختلف بومادران نشان می دهد که تفاوت قابل ملاحظه ای بین طول کروموزوم ها وجود دارد و این موید این مطلب است که بین اکوتیپ های مختلف تغییرات ژنتیکی و به تبع آن تغییرات فنوتیپی قابل توجه می باشد. از این رو تحقیقات بعدی برای شناسایی صفات مطلوب و انتقال آنها در یک وارسته و معرفی آن به عنوان یک رقم زراعی حائز اهمیت می باشد. با توجه به این امر مطالعات سیتوژنتیکی بیشتری ضرورت دارد تا نتایج حاصل از دورگ گیری بین اکوتیپ های دیپلوئید و تراپلوئید به مرحله ثبات و پایداری لازم در برنامه های اصلاحی برسد.

با توجه به همبستگی مثبتی که بین TF% و تقارن کاریوتیپی وجود دارد؛ در نتیجه اکوتیپ الیگودرز با دارا بودن حداکثر مقدار متقارن ترین کاریوتیپ و ایلام به لحاظ داشتن حداقل مقدار نامتقارن ترین کاریوتیپ از لحاظ این پارامتر می باشد. از دیگر معیارهای تشخیص تقارن کاریوتیپی اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم ها (DRL%) است که بین مقادیر آن با تقارن همبستگی منفی وجود دارد؛ لذا گونه ها و اکوتیپ هایی که این معیار در آنها کمتر است دارای تقارن بیشتری هستند. حداکثر میزان این کمیت مربوط به اکوتیپ الیگودرز و حداقل آن مربوط به اکوتیپ ایلام می باشد که نشان می دهد اکوتیپ ایلام متقارن ترین اکوتیپ و الیگودرز نامتقارن ترین اکوتیپ از نظر شاخص DRL% می باشد. با توجه به آنکه هرچه میزان S% کمتر باشد تقارن کاریوتیپ کمتر است لذا با توجه به آنکه بیشترین میزان S% مربوط به اردبیل و

تعداد کروموزوم های این گونه را $2n=6x=54$ گزارش کرده اند. در این دو پژوهش نمونه دیپلوئیدی مشاهده نشده بود. در بررسی کاریوتیپ، دامنه طول کروموزوم ها بین $1/8$ تا $3/9$ میکرون متغیر بود. با توجه به اینکه اندازه بعضی از کروموزوم ها دو برابر بعضی از کروموزوم های دیگر می باشد؛ لذا احتمال می رود که اندازه بزرگ کروموزومی ناشی از تکرار در مکان های ژنی و در سری های مختلف باشد که خود نشانگر حرکت به سوی سازگاری است (Sharma and Sen 2002)؛ البته عکس این مطلب نیز صادق است چرا که مضاعف شدن ژن ها به صورت عرضی، توام با کوتاه شدن کروموزوم ها در گونه های مختلف بعضی از جنس ها بوده است. متفاوت بودن اندازه طول کروموزوم ها حکایت از یک کاریوتیپ پیشرفته و دارای کروموزوم هایی با اندازه مختلف باشد (Torrell et al. 1999). حداکثر میزان کمیت طول یک سری کامل کروموزومی (TL) در اکوتیپ های ایلام و الیگودرز و حداقل این مقدار در اکوتیپ های اردبیل و مشکین شهر مشاهده شد. مقدار طول کل کروموزوم های اکوتیپ الیگودرز علی رغم داشتن ۱۸ کروموزوم از اکوتیپ استهبان که ۳۶ کروموزوم دارد بیشتر است. میزان DNA همبستگی بسیار خوبی با طول کاریوتیپ و سطح پلوئیدی از خود نشان می دهد (Valles and McArthur 2001)؛ بنابراین می توان نتیجه گرفت که مقدار DNA در اکوتیپ های ایلام و الیگودرز در بالاترین سطح و در اکوتیپ های اردبیل و مشکین شهر در پایین ترین سطح قرار دارد. تغییرات میزان ژنوم به روند تکامل و سایر تفاوت های مربوط به انتخاب اکولوژیکی محیط وابسته است. اختلاف طول کاریوتیپ در اکوتیپ ها با سطح پلوئیدی متفاوت کاملاً مشخص است و طول کاریوتیپ را می-

اکوتیپ‌ها پیدا نشده‌است. با توجه به آنکه اکوتیپ‌های مختلف بومادران از نقاط مختلفی جمع‌آوری شده بود لذا ممکن است تکامل شکل در کروموزوم‌ها منجر به نامتقارنی خاصی در کاربوتیپ‌ها به ویژه آنها که محیط‌های متغیری را به خود اختصاص می‌دهند شده باشد (Evans 1968).

با توجه به تنوع گونه‌های بومادران در ایران و وجود گونه‌های مقاوم به شرایط دشوار محیطی، شناخت گسترده‌تر ارقام و گونه‌ها و دوری و نزدیکی آنها از نظر کروموزومی، وجود ماهواره‌ها و مورفولوژی آنها برای حفظ و استفاده از ذخایر ژرم‌پلاسما در برنامه‌های به نژادی بومادران ضروری می‌باشد. بایستی تحقیقات سیتوژنتیکی کامل‌تری بر روی صفات میوزی و کاربوتیپی به طور همزمان بر روی گونه‌های مختلف صورت پذیرد تا ارتباط ویژگی‌های کاربوتیپی و رفتار جفت شدن کروموزوم‌ها روشن شود. ارقامی که از نظر ویژگی‌های کاربوتیپی در دسته‌های مختلف دور از یکدیگر قرار گرفته‌اند، ممکن است دارای ناسازگاری‌های ژنتیکی باشند؛ از این رو در استفاده از این ارقام در پروژه‌های اصلاحی احتیاط‌های لازم باید صورت گیرد. نتایج این تحقیق اطلاعات پایه‌ای را برای نگهداری، حفاظت و معرفی برخی از ویژگی‌های مهم کاربوتیپی بومادران در پروژه‌های اصلاحی فراهم می‌کند.

کمترین میزان آن مربوط به جمعیت استهبان می‌باشد؛ لذا جمعیت اردبیل متقارن‌ترین و جمعیت استهبان نامتقارن‌ترین کاربوتیپ را از نظر پارامتر S% می‌باشد. با توجه به نتایج متفاوت به دست آمده از پارامترهای فوق نمی‌توان یک اکوتیپ خاص را به عنوان متقارن‌ترین اکوتیپ معرفی کرد.

براساس جدول دوطرفه استبینز (Stebbins 1971) کاربوتیپ‌ها در سه کلاس 1A، 2A و 1B قرار گرفتند. بر این اساس اکوتیپ‌های اراک و اردبیل متقارن‌ترین کاربوتیپ‌ها را دارند و در نتیجه ابتدایی‌تر هستند و اکوتیپ‌های استهبان و الیگودرز دارای نامتقارن‌ترین کاربوتیپ‌ها بوده، لذا این دو اکوتیپ نسبت به اکوتیپ‌های دیگر جدیدتر و پیشرفته‌تر هستند. نامتقارنی کاربوتیپ احتمالاً به علت وقوع تغییرات ساختمانی کروموزوم از قبیل حذف کروموزومی و یا جابجایی‌های نابرابر و غیره است که بین کروموزوم‌ها در گونه‌های مختلف و بین اکوتیپ‌های مختلف صورت گرفته‌است. مسیرهای مختلفی که این گونه‌ها و اکوتیپ‌ها از نظر انتخاب طبیعی و مصنوعی در محیط‌های مختلف طی زمان طولانی سپری کرده‌اند سبب شده که تغییراتی در بین و درون گونه شکل گرفته باشد و در نهایت اختلافات کاربوتیپی بین گونه‌ها و درون گونه‌ها ایجاد شود. در بومادران نیز همانند اکثر گیاهان عالی هم افزایش و هم کاهش کروموزوم معمول است ولی تاکنون رابطه‌ای بین اندازه کروموزوم و پراکنش جغرافیایی

منابع

- Alishah O, Omidi M (2008) Laboratory methods of cytogenetics. Tehran University Press, Tehran, Iran. (In Farsi).
- Bakhshi Khaniki GH (2009) Plant cytogenetic. Payam Noor University Press, Tehran, Iran. (In Farsi).
- Evans GM (1968) Nuclear changes in flax. *Heredity* 23: 25-38.
- Farajpour M, Ebrahimi M, Maddah Arefi H, Amiri R (2009) The study of genetic and morphological variation among and within *Achillea* species of Iran. Dissertation, Tehran University, Iran. (In Farsi).
- Farsi M, Qureshi Alhosaini J, Jaafari E (2001) Cytogenetic evaluation of several species of yarrow in Iran. *Agricultural Knowledge* 11: 17-28. (In Farsi).
- Ghani A, Azizi M, Pahlavan Pour AA, Hasanzade Khayyat M (2009) The Comparison of the percentage and components of essence in Shiraz yarrow in wild and field conditions. *Journal of Medicinal Plants* 8:120-128 (In Farsi).

- Hieter P, Griffiths T (1999) Polyploidy more is more of less. *Science* 285: 210-211.
- Huziwar Y (1962) Karyotype analysis in some genera of composite. VIII. Further studies on the chromosome of *Aster*. *American Journal of Botany* 49:116-119.
- John CK (1989) Cytological studies in the genus *Alysicarpus*. Dissertation, Poona University, India.
- Levan A, Fredga K, Sandberg AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas* 52: 201-220.
- Maasoumi AK (1987) Notes on the genus *Asteragalus* in Iran, I. Cytotaxonomic studies of some species. *Iranian Journal of Botany* 3: 117- 128.
- Mathew P M, Mathew A (1983) Studies on the south Indian composite .V. Cytotaxonomic consideration of tribes vernonieae and eupatorieae. *Cytologia* 48: 679-690.
- Ministry of Health and Medical Education, Medical Sciences and Health Services (2014) Recognition of *Thmus vulgaris*, *Cassia angustifolia* and *Achillea mille*

folium. Available at: <http://www.paveh.kums.ac.ir/fa/news/2446>. Paveh, Kermanshah, Iran (In Farsi).

Omidbeigi R (2000) Approaches to the production and processing of medicinal plants (I). Tarrahane Nashr Press, Tehran, Iran (In Farsi).

Omidi M, Alishah O, Samanfar B (2009) Plant cytogenetics. Tehran University Press, Tehran, Iran. PP: 764 (In Farsi).

Rahim Malek M, Rahim Malek S, Etemadi N, Sayyed Tabatabai BE, Sabzolian MR (2007) The study of important traits of native medicinal yarrow species (*Achillea*) of Iran. In: Proceedings of 5th Congress of Horticultural Sciences, Iran, university of Shiraz (In Farsi).

Rahim Malek M, Sayyed Tabatabai BE, Arzani A, Etemadi N (2009b) Assessment of genetic diversity among and within *Achillea* species using amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Biochemical and Systematics and Ecology* 37:354-361.

Sharma A, Sen S (2002) *Chromosome Botany*. Enfield, NH. Science Publishers Inc, USA.

Sheidai M, Azani N, Attar F (2009) New chromosome number and pollen formation in *Achillea* species (*Asteraceae*). *Acta Biologica szegediensis* 53: 39-43.

Stebbins GL (1971) *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold Ltd., London Press, UK, 216p.

Torrell M, Gracia Jacas N, Susanna A, Valles J (1999) Phylogeny in *Artemisia* (*Asteraceae*, *Anthemideae*) inferred from nuclear, Ribosomal DNA (ITS) sequences. *Taxon* 48:721-736.

Valles J, McArthur ED (2001) *Artemisia* systematic and phylogeny: cytogenetic and molecular in sights. In: *Proceedings of Shrubland ecosystem genetics and biodiversity*, Provo, UT Ogden: US department of agriculture forest service, Rocky Mountain Research station, 2000 13-15: 67-74.