



Cytogenetic Study of the Genus *Thymus* (Lamiaceae) in Iran

M. Moradi^{1*}, H. Nastari-Nasrabadi², K. Ghasemi-Bezdi³

Received: 04-09-2021

Revised: 10-04-2022

Accepted: 02-06-2022

Available Online: 30-01-2023

How to cite this article:

Moradi, M., Nastari-Nasrabadi, H., & Ghasemi-Bezdi, K. (2023). Cytogenetic Study of the Genus *Thymus* (Lamiaceae) in Iran. *Journal of Horticultural Science* 36(4): 857-867. (In Persian with English abstract)

DOI: [10.22067/jhs.2022.72022.1082](https://doi.org/10.22067/jhs.2022.72022.1082)

Introduction

The Genus *Thymus* is one of the most important genera of the Lamiaceae family. According to Jalas (1971), *Thymus* is divided into eight sections: *Micantes*, *Mastichina*, *Piperella*, *Teucrioides*, *Pseudothymbra*, *Thymus*, *Hyphodromi*, and *Serpyllum*. About 18 species exist in some areas of Iran and most of them belong to *Serpyllum* Section and *kotschiani* Subsection. Chromosomal information is an important key for taxonomy, phylogeny, evolution, genetics and breeding in thyme. Therefore, this work was carried out to study the cytogenetic characteristics of genus *Thymus* belonging to the Subsection *Kotschyani* for breeding purposes and taxonomy.

Materials and Methods

Seeds were collected from 5 wild populations and germinated on wet filter paper at 20 °C. One cm long roots were pretreated with 8-hydroxyquinolin and then washed in distilled water and fixed in carnoy solution for 24 hours. Hydrochloric acid (1N) was applied for 7 min to hydrolyze the roots. Staining was done by orcein for 24 h at room temperature. Stained roots squashed in one drop of 45% acetic acid and examined by a ZEISS Axiophot compound microscope. Cells in metaphase stage were photographed with a D450; Canon Inc. Japan digital camera. Ten well prepared metaphasic cells were selected and some chromosomal characteristics such as total chromosomal length (TL), long arm length (L), short arm length (S), the arm ratio (AR) [LA/SA], and centromeric index (CI), were measured using Micro Measure ver. 3.3 software. The following karyological parameters were determined: total chromosome form (TF%), intrachromosomal asymmetry index (A_1) and interchromosomal asymmetry index (A_2). Karyotypic characteristics have been determined using the symmetry classes of Stebbins (SC). Karyotype formula was determined from chromosome morphology based on centromere position in accordance with the classification of Levan.

Results and Discussion

This study reports the chromosome number and meiotic behavior of 31 populations belonging to 8 species of *Thymus* Subsect. *kotschyani* from Iran. In most species of this subsection, the base number of chromosome $x = 15$ and two diploid and tetraploid ploidy levels with chromosome number of $2n = 30$ and 60 were observed. Only in *T. migricus* species, the base number of chromosome $x = 14$ was reported with two levels of diploid and tetraploid ploidy and chromosome numbers of $2n = 28$ and 56 . The chromosomes were mostly metacentric (m) or sub-metacentric (sm) in all species. Among the various species with basic number of $x = 15$, the highest percentage of TF and the lowest amount of A_1 were observed in populations belonging to *T. eriocalyx* (T7) indicating that this species has the most symmetric karyotypes. The lowest percentage of TF and the highest amount of A_1 are in population of *T. lancifoliosus* (T27) and *T. fedtschenkoi* (T28) species; this shows that the species has the most asymmetric karyotype among the species of this subsection. The highest amount of A_2 was observed in *T. eriocalyx* (T7) species, indicated the asymmetry between chromosomes and chromosomal length. The difference in the number of chromosomes, ploidy levels and karyotype asymmetry in the populations and

1 and 2- Lecturer and Assistant Professor, Department of Horticulture Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Animal Science, University of Torbat-e Jam, Torbat-e Jam, Khorasan Razavi, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: moradi@tjamcaas.ac.ir)

3- Associate Professor, Department of Agricultural and Horticultural Research, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Khorasan Razavi, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, University of Torbat-e Jam, Iran

different species may be related to different environmental conditions in their habitat, pollination system (cross pollination) or polyploidy (Aneuploidy) in this genus.

Conclusion

The results showed that basic chromosome number in most species is 15 ($x=15$). Two ploidy levels (diploid and tetraploid) were observed among different species. Chromosomes in most species, were metacentric and sub-metacentric. Based on intra- chromosomal symmetry (A_1 and TF) *T. eriocalyx* species (T7) has the most symmetric and most primitive karyotype and the species *T. lancifolius* (T27) and *T. fedtschenkoi* (T28) have the most complete and the most asymmetric karyotypes. Also based on inter- chromosomal symmetry, (A_2) *T. eriocalyx* (T) species has the most asymmetric karyotype.

Keywords: Cytogenetic, Karyotype, Subsec. *Kotschyani*, Taxonomy, *Thymus* spp.

مقاله پژوهشی

جلد ۳۶، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۱، ص. ۸۶۷-۸۵۷

مطالعه سیتوژنتیکی برخی از گونه‌های آویشن بومی ایران

مهدی مرادی^{۱*} - حسین نستری نصرآبادی^۲ - کمال قاسمی بزدی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۲

چکیده

آویشن از مهمترین گیاهان دارویی است که کاربردهای وسیعی در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی دارد. پژوهش‌های سیتوژنتیکی، نقش مهمی در تعیین قرابت گونه‌ها ایفا می‌کند و به عنوان اولین تجزیه فیلوژنی و تکامل گروه‌های خویشاوند مطرح است. تعداد، اندازه و شکل کروموزوم از فاکتورهای مهم در بررسی تکامل هستند. در اصلاح ژنتیکی هر گونه گیاهی داشتن اطلاعات کافی در خصوص سطح پلوئیدی و ویژگی‌های کاربوتیپی از مهم‌ترین نیازهای اولیه اصلاح‌گران می‌باشد. در این مطالعه ویژگی‌های کاربوتیپی برخی گونه‌های آویشن متعلق به بخش *Serpyllum* و زیر بخش *Kotschyani* مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه از سلول‌های مریستم ریشه‌چه و در مرحله متافاز میتوز برای بررسی ویژگی‌های کروموزومی و کاربوتیپی استفاده شد. بر اساس نتایج، عدد پایه کروموزومی در اکثر گونه‌ها $X=15$ و در برخی گونه‌ها $X=14$ بود. دو سطح پلوئیدی (دیپلوئید و تتراپلوئید) در میان گونه‌های مختلف مشاهده شد. کروموزوم‌ها در اکثر گونه‌ها، به صورت متاسانتریک و ساب متاسانتریک بودند. بر اساس تقارن درون کروموزومی (A_1 و TF) برخی جمعیت‌های گونه *Thymus eriocalyx* متقارن‌ترین و ابتدایی‌ترین کاربوتیپ و گونه‌های *Thymus lancifolius* و *Thymus fedtschenkoi* نامتقارن‌ترین و کامل‌ترین کاربوتیپ را دارا بودند و بر اساس تقارن بین کروموزومی (A_2) گونه *Thymus eriocalyx* دارای نامتقارن‌ترین کاربوتیپ بود. بر اساس جدول دوطرفه استینز اکثر جمعیت‌ها در کلاس 1A و 1B قرار گرفتند ولی در جمعیت‌های گونه *T. lancifolius* کلاس 2A و 3B نیز مشاهده شد. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند برای درک بهتر جایگاه تاکسونومیکی و برنامه‌های اصلاح و اهلی‌سازی مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: آویشن، تاکسونومی، زیر بخش *kotschyani* سیتوژنتیک

مقدمه

سیمن و گاما-ترینین) تشکیل می‌دهند. به طور کلی تیمول جزء اصلی ترکیب فنی در آویشن و کارواکرول نیز یک جزء فرعی است (Leung and Foster, 1996). بر اساس طبقه‌بندی جالاس (Jalas, 1976)، جنس آویشن دارای ۸ بخش شامل: *Micantes*، *Pseudothymra*، *Teucrioides*، *Piperella*، *Mastichina* و *Hyphodromi* *Thymus* می‌باشد. در بخش *Serpyllum* هشت زیر بخش شناسایی گردیده است و گونه‌های آویشن موجود در ایران عموماً در زیر بخش *Kotschyani* این بخش قرار دارند (جدول ۱). هجده گونه آویشن در ایران گزارش شده است که چهار گونه اندمیک و اغلب در دامنه‌های کوه‌ها پراکنده هستند (Jamzad, 2009). در پژوهش‌های متعددی، تعداد کروموزوم در این جنس را در دامنه بین $2n=24$ تا $2n=90$ متغیر نشان داد که حاکی از سطوح پلوئیدی مختلف دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید با عدد پایه

آویشن (*Thymus*) یکی از مهم‌ترین جنس‌های خانواده نعناع (Lamiaceae) است که در زیر خانواده Nepetoideae قرار دارد (Morales, 2002). ماده موثره آویشن اسانس است که قسمت اعظم آن را فنل‌ها (۲۰ تا ۸۰ درصد)، هیدروکربن‌های مونوترپنی (مثل پارا-

۱ و ۲- به ترتیب مدرس و استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، مجتمع آموزش عالی تربت جام، تربت جام، ایران

(*- نویسنده مسئول: Email: moradi@tjamcaas.ac.ir)

۲- دانشیار، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مشهد؛ مجتمع آموزش عالی تربت جام، ایران

DOI: 10.22067/jhs.2022.72022.1082

گیاهی و همچنین جمعیت‌های متعلق به آنها، خصوصاً گیاهان وحشی و بومی، به دلیل فراهم نمودن اطلاعات کمی روی تاریخچه تکاملی گیاه، تعیین قرابت‌های بین گونه‌ای، تعیین مشخصات کارپولوژیکی و غیره، از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است (Funamoto *et al.*, 2008). در این مطالعه ویژگی‌های سیتوژنتیکی برخی گونه‌های آویشن متعلق به بخش *Serpyllum* و زیر بخش *Kotschyani* جهت کاربرد در اهداف اصلاحی و تاکسونومی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق بذر پنج جمعیت آویشن خراسانی از مناطق مختلف (جدول ۲) جمع‌آوری شد. شناسایی نمونه‌ها با استفاده از فلورا ایرانیکا (Rechinger, 1982) در هرباریوم پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران صورت گرفت. ابتدا بذرها با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت سه دقیقه ضدعفونی شدند. جهت جوانه‌زنی، بذرها در ظروف پتری‌دیش استریل حاوی کاغذ صافی قرار داده شدند و سپس به ژرمیناتور در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی انتقال داده شدند. جوانه‌زنی پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت آغاز شد. زمانی که طول ریشه‌چه‌ها به ۰/۵ تا ۱/۵ سانتی‌متر رسید توسط اسکالپل ریشه‌چه‌ها از گیاهچه جدا گردید و سپس در محلول پیش‌تیمار به مدت چهار ساعت قرار داده شدند. در این مطالعه از پیش‌تیمار ۸- هیدروکسی کوئینولین استفاده شد، پس از این مدت ریشه‌چه‌ها در محلول تثبیت کننده محلول کارنوی-۱ به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند. جهت هیدرولیز از اسید کلریدریک یک نرمال به مدت هفت دقیقه استفاده شد. ریشه‌های هیدرولیز شده پس از شستشو و آبگیری در داخل ظروف پلاستیکی کوچک حاوی یک یا دو میلی‌لیتر رنگ اورسئین قرار داده شدند و سپس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. پس از رنگ‌آمیزی، ریشه‌چه‌ها از محلول رنگ خارج شدند و روی یک لام تمیز قرار گرفتند. پس از حذف کلاهک، در حدود دو میلی‌متر از انتهای ریشه‌چه (منطقه مریستمی) با اسکالپل قطع نموده و سپس یک قطره اسید استیک ۴۵ درصد به منظور نرم کردن بافت، رنگ‌پذیری بهتر، تورم سلول‌ها و خنثی کردن اثر اتانول روی آن ریخته شد و سپس یک لامل روی نمونه قرار داده شد و عمل اسکواش انجام شد. بعد از انجام اسکواش، اسلایدها با استفاده از میکروسکوپ نوری ZEISS Axiophot. Germany با بزرگنمایی ۱۰۰۰X مورد بررسی قرار گرفتند. ۱۰ سلول متافازی از هر جمعیت برای ارزیابی و اندازه‌گیری پارامترهای کروموزومی و کاریوتیپی با استفاده از نرم افزار Micro Measure ver. 3.3 انتخاب شد (Safari *et al.*, 2008; Martonfi and Martonfi, 1996). طول کل کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (L)، طول بازوی کوتاه

کروموزومی ۱۵، ۱۰، ۹، ۸، ۷ x می‌باشد (Ziaei Nasab *et al.*, 2009; Javadi *et al.*, 2012; Martonfi and Martonfi, 1996) دو سطح پلوئیدی را برای ۹ گونه مختلف از جنس آویشن گزارش نمودند، پنج گونه از آن شامل *T. pulegioeides*, *T. pannonicus*, *T. bihoriensis*, *alpestris* ($2n=28$), *T. serpyllum* ($2n=24$), دیپلوئید و چهار گونه *T. pucherrimus* subsp. *T. glabrescens*, *alternans*، *T. praecox* subsp. *praecox*، *sudeticus* تتراپلوئید بودند.

از آنجایی که کروموزوم‌ها پایه وراثتی موجود زنده می‌باشند، اطلاعات سیتوژنتیکی نقش ویژه‌ای را در تاکسونومی ایفا می‌نمایند. پژوهش‌های کاریوتیپی، نقش مهمی در تعیین قرابت گونه‌ها ایفا می‌کند و به عنوان اولین تجزیه فیلوژنی و تکامل گروه‌های خویشاوند مطرح است. در اصلاح ژنتیکی هر گونه گیاهی داشتن اطلاعات کافی در خصوص سطح پلوئیدی و ویژگی‌های کاریوتیپی از مهم‌ترین نیازهای اولیه اصلاح‌گران می‌باشد. اطلاعات حاصل از تفاوت در تعداد یا ساختمان کروموزوم‌ها، بین گونه‌های وحشی و زراعی می‌تواند به عنوان یک ابزار موثر در تلاقی و انتقال صفات مطلوب مورد استفاده قرار گیرد. تاکنون سطوح پلوئیدی مختلفی در گونه‌های مختلف آویشن گزارش شده است ولی خصوصیات کاریوتیپی آنها چندان مورد توجه قرار نگرفته است (Daftari and Safarnejad, 2012).

در تحقیقات به‌نژادی انجام مطالعات سیتوژنتیکی از اقدامات اولیه به شمار می‌رود، برای استفاده از ژن‌های مطلوب گونه‌های مختلف در برنامه‌های اصلاحی مانند دو رگ‌گیری، تعیین تعداد کروموزوم و سطح پلوئیدی بسیار ضروری است تا بهترین روش انتقال ژن‌ها طراحی شود. انتقال ژن‌ها بین گونه‌هایی که از شباهت کروموزومی بیشتری برخوردارند موفقیت بیشتری دارد (Lewis, 1980). از کاربردهای دیگر مطالعات سیتوژنتیکی 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 شاخص مفیدی برای اهداف تاکسونومی هستند. وجود اختلاف در تعداد، شکل و اندازه (ساختار کاریوتیپی) و رفتار کروموزوم‌ها هنگام تقسیم سلولی می‌تواند بیانگر اختلاف ژنتیکی باشد (Azizian and Bakhshi-Khaniki, 2002). به طور کلی، تحقیقات سیتوتاکسونومی، علاوه بر مشخص کردن ارتباط و قرابت بین جمعیت‌ها و تنوع بین آنها، می‌تواند اطلاعات با ارزشی در مورد خزانه ژنی موجود در کشور به منظور بهره‌گیری در بانک ژن فراهم آورد. بنابراین انجام مطالعات سیتوژنتیکی در گونه‌های

صورت تتراپلوئید و تعداد کروموزوم $2n=60$ مشاهده شد. از لحاظ کلاس استبینز در بین جمعیت‌ها دو حالت مشاهده شد، بدین صورت که جمعیت رئین در کلاس ۲A و بقیه جمعیت‌ها در کلاس ۱A قرار گرفتند. بر اساس نتایج حاصل از روش استبینز (Stebbins, 1971)، در بین جمعیت‌های مورد بررسی جمعیت رئین دارای کاربوتیپ نامتقارن تر نسبت به بقیه جمعیت‌ها می‌باشد. از نظر شاخص‌های کاربوتیپی درون کروموزومی (A_1 , TF%) جمعیت رئین نامتقارن‌ترین کاربوتیپ و جمعیت گلمخاران نامتقارن‌ترین کاربوتیپ و از نظر شاخص‌های تقارن بین کروموزومی (A_2) جمعیت پاکتل دارای نامتقارن‌ترین کاربوتیپ بود. بررسی مطالعات کروموزومی و کاربوتیپی سایر گونه‌های آویشن متعلق به زیر بخش *kotschyanii* بر اساس تحقیقات انجام شده (جدول ۵) نشان داد در اکثر گونه‌های این زیر بخش عدد پایه کروموزومی $x=15$ و دو سطح پلوئیدی دیپلوئید و تتراپلوئید با تعداد کروموزوم ۶۰ و $2n=30$ مشاهده شد. تنها در گونه *T. migricus* عدد پایه کروموزومی $x=14$ با دو سطح پلوئیدی دیپلوئید و تتراپلوئید و عدد کروموزومی ۵۶ و $2n=28$ گزارش شد.

مطالعه کاربوتیپی پنج جمعیت از گونه *T. migricus* نشان داد که تعداد کروموزوم پایه جمعیت‌های مورد مطالعه در این گونه $x=14$ می‌باشد. وجود ۲۸ کروموزوم در جمعیت‌های هریس، نازلو و بند و ۵۶ کروموزوم در جمعیت جلفا و قوشچی مربوط به سطوح دیپلوئیدی ($2n=28x=14$) و تتراپلوئیدی ($2n=56x=14$) است. اندازه کروموزوم‌های میتوزی بسیار کوچک بود و طول متوسط آن از ۰/۶۹ تا ۱/۴۲ میکرومتر متغیر بود. کوچکترین کروموزوم‌ها در جمعیت قوشچی و بزرگترین آنها در جمعیت هریس مشاهده شد. در همه جمعیت‌ها، کروموزوم‌های متاسنتریک متداول‌ترین بودند در حالی که کروموزوم‌های ساب متاسنتریک نادر بودند. شاخص‌های کاربوتیپی به دست آمده برای پنج جمعیت نشان داد که کاربوتیپی‌ها کمی نامتقارن هستند.

(S)، نسبت بازوها (AR)، شاخص سانترومری (CI)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A_1)، شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A_2)، درصد شکل کلی کاربوتیپ (TF%) محاسبه گردید. در این بررسی برای تعیین وضعیت تکاملی و مطالعه تقارن کاربوتیپی از جدول دو طرفه Stebbins استفاده شد. به منظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۵ درصد) انجام شد. اطلاعات مربوط به خصوصیات کروموزومی و کاربوتیپی سایر گونه‌های آویشن متعلق به بخش *Serpyllum* و زیر بخش *Kotschyanii* از منابع علمی مختلف استخراج و مورد مطالعه قرار گرفت. موقعیت جغرافیایی جمعیت‌های مختلف سایر گونه‌های آویشن مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است.

نتایج و بحث

سلول‌های متافازی، کاربوتیپ و ایدیوگرام ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شکل ۱ نشان داده شده است. این مطالعه تعداد کروموزوم و رفتار میتوزی ۳۱ جمعیت از ۸ گونه آویشن متعلق به زیر بخش *Kotschyanii* در ایران را گزارش می‌دهد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها برای ویژگی‌های کروموزومی جمعیت‌های آویشن خراسانی (جدول ۴) نشان داد که در بین جمعیت‌ها از نظر صفاتی مانند طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، نسبت بازوی بلند به کوتاه و شاخص سانترومری اختلاف معنی‌داری وجود دارد و در سطح یک درصد معنی‌دار بود. در این مطالعه برای هر پنج جمعیت، عدد پایه کروموزومی $x=15$ و دو سطح پلوئیدی دیپلوئید و تتراپلوئید تعیین شد. کروموزوم‌ها در اکثر جمعیت‌ها، به صورت متاسنتریک بودند و در جمعیت رئین کروموزوم‌های ساب متاسنتریک نیز مشاهده شد. به طور کلی جمعیت‌های تیوان، گلمخاران، پاکتل و هیکوه به صورت دیپلوئید و تعداد کروموزوم $2n=30$ ، در حالی که جمعیت رئین به

جدول ۱- گونه‌های مختلف جنس *Thymus* متعلق به زیر بخش *Kotschyanii* در ایران

Table 1- Different species of *Thymus* genus belong to subsection *Kotschyanii* in Iran

بخش Section	زیر بخش Subsection	گونه Species
Serpyllum (Miller) Benth.	Kotschyanii (Klokov.) Jalas	<i>T. armeniacus</i>
		<i>T. carmanicus</i> Jalas
		<i>T. daenaensis</i> Celak
		<i>T. ericalyx</i> (Ronninger) Jalas
		<i>T. fallax</i> Fisch. & C. A. Mey
		<i>T. fedtschenkoi</i> Ronninger
		<i>T. kotschyanus</i> Boiss. & Hohen.
		<i>T. lancifolius</i> Celak
		<i>T. migricus</i> Klokov & Schost
		<i>T. pubescens</i> Boiss. & Kotschy ex Celak
		<i>T. transcaspicus</i> Klokov
		<i>T. transcaucasicus</i> Ronninger
		<i>T. trautvetteri</i> Klokov

جدول ۲- موقعیت جغرافیایی و شرایط اقلیمی جمعیت‌های مختلف آویشن خراسانی

Table 2- Geographic location and climatic conditions of studied *Thymus transcaspicus* Klokov populations

استان Province	رویشگاه Location	ارتفاع Altitude (m)	طول جغرافیایی Longitude (E)	عرض جغرافیایی (Latitude (N)	میانگین دمای سالانه Average annual temperature (C°)	میانگین بارندگی سالانه Average annual rainfall (mm)	کاربری زمین Land use
خراسان رضوی Razavi Khorasan	تیوان Tiwan	2300	E58° 35' 18"	N37° 27' 13"	13.9	310	مرتع Grassland
خراسان رضوی Razavi Khorasan	گلمخاران Gomakharan	2454	E58° 23' 14"	N36° 57' 17"	11.9	337.9	زراعی Farming
خراسان شمالی Khorasan North	رئین Reiin	2150	E57° 03' 10"	N37° 23' 53"	13.5	270	چراگاه Pasture
خراسان شمالی Khorasan North	پاکتل Pakotal	2049	E57° 27' 47"	N37° 16' 18"	12.7	253	زراعی Farming
سمنان Semnan	هیکه Hiq	2026	E53° 27' 48"	N36° 01' 5"	11.2	267.9	چراگاه Pasture

درون کروموزومی، گونه *T. daenensis subsp daenensis* از نامتقارن‌ترین و در عین حال کامل‌ترین کاریوتیپ نسبت به دو گونه دیگر بود. درحالی که گونه *T. pubescens* متقارن‌ترین و ابتدایی‌ترین کاریوتیپ را نشان داد (Daftari and Safarnejad, 2012). در مطالعه جوادی و همکاران (Javadi et al., 2009) خصوصیات کاریوتیپی شش جمعیت از دو گونه آویشن شامل (*T. kotschyanus*, *T. daenensis*) از این زیر بخش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشانگر آن بود که تعداد کروموزوم پایه $x=15$ و کروموزوم‌ها در اکثر جمعیت‌ها از نوع متاسانتریک و در تعداد کمی از نوع ساب متاسانتریک بودند. سطح پلوئیدی مختلفی در بین جمعیت‌های *T. daenensis* و *T. kotschyanus* مشاهده شد (دیپلوئید و تتراپلوئید). جمعیت‌های *T. daenensis* (T16) و *T. kotschyanus* (T20) تتراپلوئید ($2n=4x=60$) و بقیه جمعیت‌ها دیپلوئید بودند ($2n=2x=30$). جمعیت *T. kotschyanus* (T20) کمترین مقدار A_1 و بیشترین مقدار TF را داشت، بنابراین به عنوان متقارن‌ترین کاریوتایپ معرفی شد. در جمعیت *T. daenensis* (T17) حداکثر شاخص A_2 مشاهده شد، بنابراین کاریوتیپ آن از سایر جمعیت‌ها نامتقارن‌تر بود.

بررسی ویژگی‌های کاریوتیپی ده جمعیت از گونه *T. eriocalyx* بیانگر دو سطح پلوئیدی (دیپلوئید و تتراپلوئید) در این جمعیت‌ها بود. عدد پایه کروموزومی در جمعیت‌های این گونه $x=15$ و تعداد کروموزوم $2n=30$ و $2n=60$ تعیین شد.

شاخص A_1 از 0.49 تا 0.64 و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A_2) بین 0.02 تا 0.1 متغیر بودند. در میان جمعیت‌های دیپلوئید، جمعیت هریس را می‌توان از جمعیت نازلو و بند با برخی ویژگی‌های کاریولوژیکی مانند بلندترین و کوتاه‌ترین بازوهای کروموزوم‌ها و طول کل کروموزوم‌ها تشخیص داد. جمعیت بند دارای کاریوتیپ نامتقارن بود. این به معنای تفاوت بین طول بازوی کوتاه و بلند است، همانطور که توسط A_1 بزرگتر نشان داده شده است. با این حال، جمعیت هریس جمعیتی با کاریوتیپ نامتقارن‌تر بود و به معنای تغییرات طول در بین کروموزوم‌ها ($A_2=0.102$). از طرف دیگر، جمعیت نازلو با داشتن کاریوتیپ بسیار متقارن با دو جمعیت دیپلوئید دیگر متفاوت بود ($A_1=0.492$ و $A_2=0.020$). در بین دو جمعیت تتراپلوئید، جمعیت جلفا دارای کاریوتیپ نامتقارن بود ($A_1=0.64$ و $A_2=0.07$). به طور کلی جمعیت هریس و جلفا نشان دهنده سطوح بالاتر ناهمگنی کاریوتیپی بودند (Yavari et al., 2010). بررسی کاریوتیپی پنج جمعیت از گونه‌های *T. lancifolius*, *T. daenensis subsp daenensis*, *T. pubescens* متعلق به زیر بخش *kotschyanus* نشان داد که عدد کروموزوم پایه در تمامی گونه‌های مورد مطالعه $x=15$ می‌باشد. از لحاظ سطح پلوئیدی گونه *T. lancifolius* با فرمول کاریوتیپی $2m+5sm$ ، دو جمعیت گونه *T. daenensis subsp daenensis* به ترتیب با فرمول کاریوتیپی $2m+8sm$ و $3m$ ، گونه *T. pubescens* با فرمول کاریوتیپی $3m+7sm$ و دیپلوئید ($2n=2x=30$) بودند. براساس جدول دوطرفه استبینز گونه‌ها در ۲ کلاس A و B قرار گرفتند. با توجه به شاخص تقارن

جدول ۳- موقعیت جغرافیایی جمعیت‌های مختلف آویشن مورد مطالعه متعلق به زیر بخش *Kotschyani*

Table 3- Geographic location of different populations of studied *Thymus* belonging to *Kotschyani* subsection

منبع Reference	گونه Species	محل نمونه برداری Location
کلوندی و همکاران، ۲۰۱۲ Kalvandi <i>et al.</i> , 2012	<i>T. eriocalyx</i>	لرستان -ازنا-سفید کوه Lorestan, Azna, Sefid kooch
	<i>T. eriocalyx</i>	لرستان -ازنا- دره تخت- اشترانکوه Lorestan Province, Azna, Dare Takht, Oshtoran kooch
	<i>T. eriocalyx</i>	لرستان -دورود- گهر رود- سراوند Lorestan Province, Doroud, Gahar Road, Saravand village
	<i>T. eriocalyx</i>	مرکزی-شازند- سورانه- کوه راسوند Markazi Province, Arak Shazand, Souraneh village, Rasvand mountain
	<i>T. eriocalyx</i>	مرکزی- اراک کوه ایسر Markazi Province, Arak, Qom Road Latehdar village, Absar Mountain
	<i>T. eriocalyx</i>	همدان- ملایر- منطقه حفاظت شده لشکر در Hamadan Province, Malayer, Conservation area of Lashkardar
	<i>T. eriocalyx</i>	همدان- توپسرکان- منطقه حفاظت شده خانگرمز Hamadan Province, Toysderkan, Tormeyanak village, Khangormaz mountain
	<i>T. eriocalyx</i>	کرمانشاه- سنقر- روستای احمد اباد- کوه دالاخانی Kermanshah Province, 11 km Riad of Songhour to Bistoon, Ahmadabad village, Dalakhani mountain
	<i>T. eriocalyx</i>	کردستان- جاده قدیم سنندج به مریوان- آریز گرجی Kurdistan Province, Sanandaj Marivan old Road, Ariz gorge
	<i>T. eriocalyx</i>	کردستان- سقز Kurdistan Province, Saghez
جوادی و همکاران، ۲۰۰۹ Javadi <i>et al.</i> , 2009	<i>T. daenensis</i>	قزوین- گاگازان Gazvin- Gagazan
	<i>T. daenensis</i>	قزوین- آبگرم Gazvin- Abgarm
	<i>T. daenensis</i>	زنجان- کینوار Zanjan- Kinevars
	<i>T. daenensis</i>	زنجان- ریمان Zanjan- Riman
	<i>T. kotschyanus</i>	قزوین- الموت Gazvin- Alamut
	<i>T. kotschyanus</i>	زنجان- ابهر Zanjan- Abhar
یاوری و همکاران، ۲۰۱۰ Yavari <i>et al.</i> , 2010	<i>T. migricus</i>	آذربایجان شرقی- هریس East Azerbaijan, Heris
	<i>T. migricus</i>	آذربایجان شرقی- جلفا East Azerbaijan, Jolfa
	<i>T. migricus</i>	آذربایجان غربی- قوشچی West Azerbaijan, Ghushchi
	<i>T. migricus</i>	آذربایجان غربی- نازلو West Azerbaijan, Nazloo
	<i>T. migricus</i>	آذربایجان غربی- بند West Azerbaijan, Band
دفتاری و همکاران، ۱۳۹۰ Daftari <i>et al.</i> , 2012	<i>T. lancifolius</i>	خراسان رضوی Razavi Khorasan Province
	<i>T. fedtschenkoi</i>	خراسان رضوی Razavi Khorasan Province
	<i>T. pubescens</i>	خراسان رضوی Razavi Khorasan Province
	<i>T. daenensis</i>	خراسان رضوی Razavi Khorasan Province
	<i>T. daenensis</i>	خراسان رضوی Razavi Khorasan Province

جدول ۴- تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی در برخی جمعیت‌های آویشن خراسانی

Table 4- of the ANOVA for thr chromosomal traits in some populations of *Thymus transcaspicus* Klokov

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares				
		طول کل کروموزوم Total Length of Chromosome (TL)	طول بازوی بلند Long arm (LA)	طول بازوی کوتاه Short arm (SA)	نسبت بازوها Arm ratio (AR)	شاخص سانترومری Centromic index (CI)
جمعیت Populations	4	0.139**	0.039**	0.25**	0.016**	0.0003**
خطا Error	45	0.002	0.009	0.004	0.003	0.008

** تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد
***: significant at 1% of probability level.

جدول ۵- جزئیات کاربوتیپی گونه/ جمعیت‌های مختلف آویشن

Table 5- Karyotypic details of *Thymus* species/populations

گونه‌ها/جمعیت‌ها Species/ Populations	X	2n	سطح پلوئیدی Ploidy level	TL	SC	A ₁	A ₂	TF%	KF
<i>T. transcaspicus</i> (T1)	15	30	2x	1.12	1A	0.21	0.13	43.86	30m
<i>T. transcaspicus</i> (T2)	15	60	4x	1.24	2A	0.23	0.14	43.17	58m + 2sm
<i>T. transcaspicus</i> (T3)	15	30	2x	1.35	1A	0.20	0.14	43.97	30 m
<i>T. transcaspicus</i> (T4)	15	30	2x	1.42	1A	0.19	0.12	44.68	30m
<i>T. transcaspicus</i> (T5)	15	30	2x	1.22	1A	0.18	0.13	44.87	30m
<i>T. eriocalyx</i> (T6)	15	30	2x	1.54	1A	0.16	0.14	45.65	30m
<i>T. eriocalyx</i> (T7)	15	30	2x	1.27	1B	0.12	0.19	46.96	30m
<i>T. eriocalyx</i> (T8)	15	30	2x	1.74	1A	0.15	0.15	45.88	30m
<i>T. eriocalyx</i> (T9)	15	30	2x	1.61	1A	0.12	0.17	46.84	30m
<i>T. eriocalyx</i> (T10)	15	30	2x	1.32	1A	0.14	0.12	46.37	30m
<i>T. eriocalyx</i> (T11)	15	30	2x	1.30	1A	0.15	0.12	45.70	2M+28m
<i>T. eriocalyx</i> (T12)	15	60	4x	1.39	1B	0.15	0.18	45.90	60m
<i>T. eriocalyx</i> (T13)	15	30	2x	2.37	1B	0.17	0.18	45.03	30m
<i>T. eriocalyx</i> (T14)	15	60	4x	1.02	1A	0.17	0.13	45.14	2M+58m
<i>T. eriocalyx</i> (T15)	15	60	4x	1.09	1A	0.12	0.17	46.58	60m
<i>T. daenensis</i> (T16)	15	60	4x	1.56	1A	0.32	0.12	40.4	45m+6sm
<i>T. daenensis</i> (T17)	15	30	2x	1.51	1B	0.29	0.17	40.94	28m+2sm
<i>T. daenensis</i> (T18)	15	30	2x	1.51	1A	0.32	0.13	40.33	30m
<i>T. daenensis</i> (T19)	15	30	2x	1.38	1A	0.29	0.14	41.15	30m
<i>T. kotschyanus</i> (T20)	15	60	4x	1.16	1A	0.26	0.14	42.11	56m+4sm
<i>T. kotschyanus</i> (T21)	15	30	2x	1.15	1A	0.28	0.13	41.45	30m
<i>T. migricus</i> (T22)	14	28	2x	1.42	-	0.57	0.1	-	28m
<i>T. migricus</i> (T23)	14	56	4x	0.86	-	0.64	0.07	-	52m+4sm
<i>T. migricus</i> (T24)	14	56	4x	0.69	-	0.52	0.05	-	56m
<i>T. migricus</i> (T25)	14	28	2x	0.77	-	0.49	0.02	-	26m+2sm
<i>T. migricus</i> (T26)	14	28	2x	0.87	-	0.58	0.03	-	26m+2sm
<i>T. lancifolius</i> (T27)	15	30	2x	3.36	2B	0.37	0.15	38.24	25m+5sm
<i>T. fedtschenkoi</i> (T28)	15	30	2x	2.92	3A	0.36	0.13	38.71	23m+7sm
<i>T. pubescens</i> (T29)	15	30	2x	3.22	3A	0.29	0.09	41.05	30m
<i>T. daenensis</i> (T30)	15	30	2x	3.28	2B	0.42	0.16	36.32	22m+8sm
<i>T. daenensis</i> (T31)	15	30	2x	3.28	3A	0.28	0.12	41.53	30m

TL: طول کل کروموزوم، A₁: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی، A₂: شاخص عدم تقارن بین کروموزومی، TF%: درصد شکل کلی کاربوتیپ، KF: فرمول کاربوتیپی
TL: total length of chromosome, A₁: intrachromosome asymmetry index, A₂: interchromosome asymmetry index, TF%: total form percentage, KF: karyotype formula

است. با توجه به رابطه عکس A_1 با درصد TF، جمعیتی که دارای بیشترین مقدار A_1 و کمترین مقدار درصد TF باشد نامتقارن تر و جمعیتی که دارای کمترین مقدار A_1 و بیشترین مقدار TF باشد دارای کاریوتیپ متقارن تری است. در میان گونه‌های مختلف آویشن با عدد پایه $x=15$ بیشترین مقدار شاخص TF و کمترین مقدار شاخص A_1 در جمعیت‌های متعلق به *T. eriocalyx* (T7, T9) مشاهده شد و نشان‌دهنده این است که این گونه دارای متقارن‌ترین و ابتدایی‌ترین کاریوتیپ در میان گونه‌های این زیر بخش می‌باشد. کمترین مقدار شاخص TF و بیشترین مقدار شاخص A_1 در جمعیت‌های گونه‌های *T. lancifolius* (T27) و *T. fedtschenkoi* (T28) مشاهده شد و بیانگر این است که این گونه‌ها دارای کاریوتیپ نامتقارن تر می‌باشند. در گونه *T. eriocalyx* (T7) بیشترین مقدار شاخص A_2 مشاهده شد، بدین ترتیب در این جمعیت بیشترین عدم تقارن بین کروموزوم‌ها و هتروژنی از نظر طول کروموزوم‌ها وجود دارد.

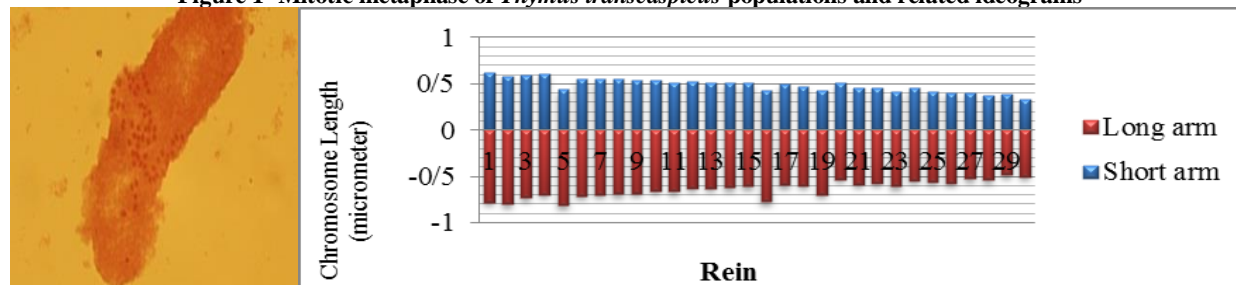
نتیجه‌گیری

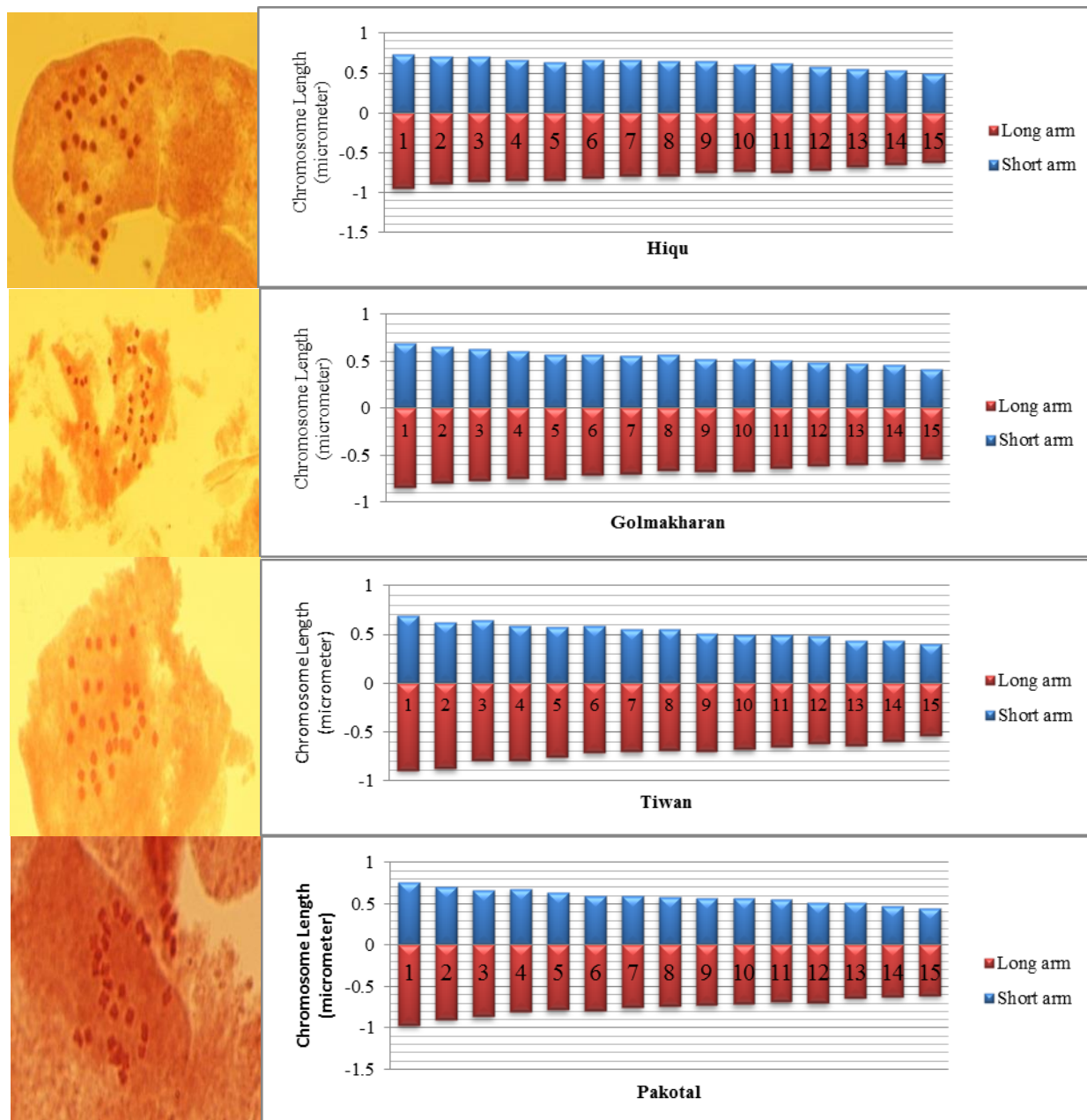
به طور کلی از تحقیقات گذشته و یافته‌های این تحقیق می‌توان استنباط کرد که در سطح پلوئیدی و تعداد کروموزوم گونه‌های مختلف آویشن ناپایداری وجود دارد که احتمالاً ناشی از تغییرات عوامل محیطی، هیبریداسیون بین گونه‌ای و پلی‌پلوئیدی (آنپلوئیدی) می‌باشد، این ناپایداری باعث می‌شود که تشخیص و تعیین منشأ تاکسونومی گونه‌های آویشن به دشواری انجام شود. در پایان، نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند برای درک بهتر جایگاه تاکسونومیکی و برنامه‌های اصلاح و اهلی‌سازی این گونه‌ها مفید باشد.

بر اساس شاخص تقارن درون کروموزومی جمعیت‌های *T. eriocalyx* (T13, T14) نامتقارن‌ترین و تکامل یافته‌ترین و جمعیت‌های *T. eriocalyx* (T7, T9, T15) متقارن‌ترین کاریوتیپ را در بین جمعیت‌ها دارا بودند (Kalvandi et al., 2012). از نظر ویژگی‌های کروموزومی در بین گونه‌های مختلف زیر بخش *kotschyanii* کوچکترین کروموزوم (۰/۶۹ میکرومتر) و بزرگترین کروموزوم (۳/۳۶ میکرومتر) به ترتیب در گونه‌های *T. migricus* (T24) و *T. lancifolius* (T27) مشاهده شد که نشان‌دهنده این است که گونه‌های مختلف آویشن دارای کروموزوم‌های بسیار کوچک می‌باشند، مهدوی و کریم زاده (Mahdavi and Karimzade, 2010) با مطالعه روی خصوصیات کاریولوژیکی چند گونه آویشن گزارش کردند که کروموزوم‌ها در گونه‌های مختلف جنس آویشن کوچک هستند. به طور کلی مطالعات سیتولوژیکی در گونه‌های مختلف جنس آویشن به دلیل اندازه بسیار کوچک کروموزوم‌های آنها بسیار مشکل است (Funamoto et al., 2008). بر اساس جدول دوطرفه استیمنز اکثر جمعیت‌ها در کلاس ۱A و ۱B قرار گرفتند ولی در جمعیت‌های گونه *T. lancifoliosus* کلاس ۲A و ۳B نیز مشاهده شد در نتیجه بر اساس این پارامتر در بین گونه‌های مورد مطالعه این گونه دارای کاریوتیپ نامتقارن تر و کامل تری نسبت به کاریوتیپ بقیه گونه‌ها می‌باشد. طبق نظر هوزیوارا (Huziwarra, 1962)، درصد شکل کلی کاریوتیپ (TF%) شاخصی برای بیان وضعیت تقارن کاریوتیپ است. هرچه درصد TF به ۵۰ نزدیک تر باشد دلیل بر قرار گرفتن سانترومر در وسط کروموزوم‌ها و کاریوتیپ متقارن و هرچه از ۵۰ کمتر باشد نشان‌دهنده وجود کروموزوم‌های با سانترومرهای انتهایی و کاریوتیپ نامتقارن است. وجود کروموزوم‌های ساب متاسانتریک و ساب تلوسانتریک نیز دلیل بر عدم تقارن کاریوتیپ

شکل ۱- نمایی از کروموزوم‌های متافازی و آیدیوگرام آویشن خراسانی

Figure 1- Mitotic metaphase of *Thymus transcaspicus* populations and related ideograms





منابع

- 1- Azizian, D., & Bakhshi-Khanik, Gh. (2002). *Principles and Methods of plant classification*, Tehran, Payamenoor, 141 pp.
- 2- Daftari, Z., & Safarnejad, A. (2012). Karyotypic study of four *Thymus* species (*T. pubescens*, *T. fedtschenkoi*, *T. daenensis*, *T. lancifolius*). *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 19(2): 241-250.
- 3- Funamoto, T., Kondo, K., Smirnov, V.S., Tatarenko, V.I., Motohashi, T., & Damdinsuren, O. (2008). A comparison of chromosome characters in tree species of *Thymus* (Lamiaceae) collected in Russia and Mongolia Altai. *Chromosome Botany* 3: 1-6.
- 4- Hornok, L. (1991). Effect of environmental factors on the production of some essential oil plants. *Horticultural* 23: 30-57.
- 5- Huziwara, Y. (1962). Karyotype analysis in some genera of compositae, further studies on the chromosome of Aster. *American Journal of Botany* 49: 116-119.

- 6- Jalas, J. (1982). *Thymus* in: Rechinger, K.H Flora Iranica no. 150. Graz. pp 532-551
- 7- Jalas, J. (1971). Notes on *Thymus* L. (Labiatae) in Europe supraspecific classification and nomenclature. Botanical journal of the Linnean Society. 64, pp. 199-235.
- 8- Jamzad, Z. (2009). *Thymus and Satureja species of Iran*, publication of Research Institute of Forests and Rangelands, 171 pp.
- 9- Javadi, H., Hesamzadeh Hejazi, S.M., & Babayev, M. (2009). Karyotypic studies of three *Thymus* (Lamiaceae) species and population in Iran. *Caryologia* 62(4): 316-325. <https://doi.org/10.1080/00087114.2004.10589697>.
- 10- Kalvandi, R., Hesamzadeh Hejazi, S.M., Atri, M., Mirza, M., Zamzad, Z., & Safikhani, K. (2012). Karyotype analysis among 10 populations of *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas species in Iran, *Annals of Biological Research* 3(8): 3916-3925.
- 11- Levan, A., Fredga, K., & Sanberge, AA. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220. <http://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x>.
- 12- Lewis, H.L. (1980). Polyploidy in species. In: W.H. Lewis (ed.) Polyploidy, *Basic Life Science* 13: 103-144.
- 13- Leung, A.Y., & Foster, S. (1996). *Encyclopedia of common natural ingredient: used in food, drugs and cosmetics*. A Wiley Interscience Publication-John Wiley&Sons Inc. 649 pp.
- 14- Mahdavi, S., & Karimzade, G. (2010). Karyological and nuclear DNA content variation in som Iranian endemic *Thymus* species (Lamiaceae). *Journal of Agricultural Science and Technology* 12(4): 447-458.
- 15- Martonfi, P., & Martonfiova, L. (1996). *Thymus* chromosome numbers from Carpathians and Pannonia. *Thaiszia Journal of Botany Kosice* 6: 25-38.
- 16- Mehrpur, S., Mirzaie-Nodoushan, H., Majd, A., & Sefidkon, F. (2002). Karyotypic studies of two *Thymus* species. *Cytologia* 67: 343-346.
- 17- Mewes, S., Kruger, H., & Pank, F. (2008). Physiological, morphological, chemical and genomic diversities of different origins of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Genetic Resource Crop Evolution* 55: 1303-1311.
- 18- Morales, R. (2002). *The history, botany and taxonomy of the genus Thymus*. In: Stahl-Biskup, E. and Saez, F. Thyme, The genus *Thymus*. Taylor and Francies Group. 332pp.
- 19- Rechinger, K.H. (1982). *Flora Iranica*. Graz: Akademische Druck- und Verlagsanstalt.
- 20- Romero Zarco, C. (1986). A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxonomy* 35: 526-530.
- 21- Safari, H., Hesamzade, M., Jalilian, N., & Ziaeenasab, M. (2008). Investigation of karyotypic variation in three species of *Sophora* sp. *Iranian Journal of Forest and Rangeland's Plant Breeding and Genetic Researches* 16: 27-37.
- 22- Stebbins, GL. (1971). *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward, Arnold. London. 216 pp.
- 23- Yavari, A., Nazeri, V., Sefidkon, F., & Hassani, M.E. (2010). Karyotypic study on some populations of *Thymus migricus* Klokov & Desj-Shost. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* 51(2):101-105.
- 24- Ziaei Nasab, M., Hesamzadeh Hejazi, S.M., Bihamta, M.R., Mirza, M., & Naderi-shahab, M.A. (2012). Assessment of karyotypical variation among 16 populations of *Thymus daenensis* Celak and *Thymus kotschyanus* Boiss. species in Iran. *African Journal of Biotechnology* 11: 1028-1036. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2441>.