مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۸ ، شماره ۴، سال ۱۳۹۱

مطالعه سیتوژنتیکی در تعدادی از گونه‌های جنس Stipagrostis

Cytogenetic Study in some Species of Stipagrostis

زرین تاج بردبار

کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۱۴

چکیده

بردبار، ز. ۱۳۹۱. مطالعه سیتوژنتیکی در تعدادی از گونه‌های جنس Stipagrostis. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۸:** ۵۷۸ - ۵۶۳.

این تحقیق به منظور ارزیابی خصوصیات سیتوژنتیکی هشت جمعیت متعلق به سه گونه از جنس Stipagrostis اجرا شد. نتایج شمارش کروموزومی، دو سطح پلوئیدی در این جنس را نشان داد که گونه *S. plumose* دیپلوئید(۲n=2x=۲۲) و گونه‌های *S. pennata* و *S. karelinii* تتراپلوئید (۲n=4x=۴۴) بودند. مطالعه حاضر تعداد کروموزوم گونه *S. karelinii* را به صورت تتراپلویید و برای اولین بار گزارش می‌کند. نتایج فرمول کاریوتیپی نشان داد که عمده کروموزوم‌های موجود در جمعیت‌های مورد مطالعه از نوع متاسنتریک (m) هستند. ماهواره و نواحی سازمان دهنده هستکی در جمعیت‌های دیپلوئید مشاهده شد. بر اساس نتایج تجزیه کاریوتیپی و دسته بندی کاریوتیپ‌ها به روش Stebbins ، جمعیت‌های دیپلوئید در کلاس ۱A و ۲A و جمعیت‌های تتراپلوئید در کلاس ۱B قرار گرفتند، به این ترتیب جمعیت‌های تتراپلوئید از نظر کاریوتیپی نامتقارن بودند. از نظر صفات کاریوتیپی اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۱) میان جمعیت‌ها برای سه صفت طول بازوی کوتاه، نسبت بازوها و شاخص سانترومری وجود داشت که بیانگر تنوع نسبی کروموزومی در میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. بیشترین میزان همبستگی میان صفت بازوی کوتاه با بازوی بلند و همچنین میان شاخص سانترومری با درصد شکل کلی و صفت شاخص سانترومری با میزان کروماتین نسبی، به ترتیب با مقادیر ۰/۹۶، ۰/۸۸ و ۰/۸۷ وجود داشت. نتایج تجزیه خوشه‌ای و ضرایب Romero zarco تا حد بسیار زیادی با یک‌دیگر هماهنگی داشت و جمعیت ها در دو گروه مجزا قرار گرفتند. در گروه اول سه جمعیت دیپلوئید از گونه *S. plumosa* و در گروه دوم سایر جمعیت‌های تتراپلوئید از گونه‌های *S. pennata* و *S. karelinii* جای گرفتند.

واژه‌های کلیدی: جنس Stipogrostis، سیتوژنتیک، کاریوتیپ، کروموزوم، گیاه سبد.

نویسنده مسئول: bordbar_zarintaj@yahoo.com تلفن: ۰۳۱۱۷۸۸۵۴۸۰

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

قبیله Aristideae جزو گیاهان تک لپه‌ای، از راسته Glumales، تیره‌ی Gramineae (Poaceae)، زیر تیره Pooideae است. این قبیله در ایران دارای دو جنس به نام‌های Aristida و Stipagrostis است که بیشتر در نواحی گرمسیری و کویری ایران پراکنده‌اند. گل آذین در جنس Stipagrostis پانیکول گسترده و یا فشرده، میوه گندمه، مدور و فشرده در پوشینه درونی، و دارای ناف خطی است (Ghahraman, 1994). جنس Stipagrostis دارای دوازده گونه در ایران است که عمدتاً در تپه‌های شنی می‌رویند. پراکندگی گونه‌های مختلف این جنس در ایران در اصفهان، یزد، خوزستان، کرمان، خراسان، سمنان، سیستان، تهران، فارس، قم، همدان، کرمانشاه و هرمزگان گزارش شده است (Janighorban, 2008).

معضل بیشتر جنس‌های خانواده گرامینه در جوانه‌زنی وجود پوشش‌های بذری است. بذرهای این گیاهان دارای خواب هستند به این معنی که در شرایط عادی رطوبتی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد جوانه نمی‌زنند (Ellis *et al.*, 1985). به دلیل ویژگی خاص این جنس در مقاومت به خشکی و شوری و همچنین در تثبیت شن‌های روان، کاشت آن‌ها در اراضی طبیعی خشک و نیمه خشک، از اهمیت زیادی برخوردار است. گونه‌های این جنس چندساله، علفی، پر پشت و مقاوم به سرما و گرما که به ویژه تابستان‌های بسیار گرم و طولانی را به خوبی تحمل می‌کنند. علت این مقاومت به خشکی ایجاد پوشش مناسب شنی در اطراف ریشه‌ها است. این پوشش اساساً نوعی قارچ مایکوریز به نام میکوریزای بیرونی (Ectomycorrhizae) است. این نوع میکوریزا از راه افزایش سطح جذب ریشه باعث افزایش تحمل به خشکی گیاه میزبان به خصوص در مناطق خشک می‌شود. از سوی دیگر همزیستی متقابل این قارچ با ریشه در جذب برخی عناصرکم مصرف خصوصاً هنگامی که خاک فاقد فسفر کافی باشد به گیاه کمک می‌کند.

گستره رویشی این گیاه تپه‌های شنی بیابان‌های مرکزی و جنوب، در نواحی رویشی ایران و تورانی و خلیج عمانی است. این گیاه مقاوم به چرا و با خوشخوراکی متوسط است که رویشگاه آن عموماً به صورت مراتع میانبند و قشلاقی در بهار و پاییز به صورت سبز خشک مورد چرای دام قرار می‌گیرد. این مزایا آن را به عنوان گیاه بسیار جالب برای سرسبز نمودن و ایجاد چراگاه‌های وسیع در مناطق خشک با خاک‌های سبک و ماسه‌ای مطرح می‌کند (Moghimi, 2005).

به طور کلی می‌توان گفت که گونه‌های مختلف این جنس به دلیل رویش در مناطق بیابانی امروزه بیشتر مورد توجه محققان در سطح بین‌المللی قرار گرفته است. در ایران علاوه بر مطالعات بیولوژیکی (Battoli, 2001) بررسی‌های سیتولوژیکی نیز در جمعیت‌هایی از

Archive of SID

www.SID.ir

منـاطق شـمال شـرقی کـشور انجـام شـد (Ghorbanazad *et al.*, 2007؛ Shariat *et al.*, 2002).

در مطالعـه‌ای کـه شـریعت و همکـاران (Shariat *et al.*, 2002) در مـورد سـه گونـه از جنس Stipagrostis انجام دادنـد مـشخص شـد کـه تعـداد کرومـوزوم‌هـای پایـه در ایـن جـنس برابر (X=۱۱) بوده و این گونه‌هـا از نظـر سـطح پلوئیـدی دارای دو سـطح دیپلوئیـد و تتراپلوئیـد هستند، بـه طـوری‌کـه جمعیـت‌هـای گونـه‌هـای *S. plumosa* و *S. karelinii* دیپلوئیـد 2n=2x=22 و جمعیت‌های گونه‌ی *S. pennata* تتراپلوئیـد 2n=4x=44 هـستند. مطالعـه همبـستگی‌هـای کـاریوتیپی در جمعیـت‌هـای مختلـف تتراپلوئیـد گونـه *S. pennata* از نظـر ابعـاد مختلـف کرومـوزومی و ارتبـاط احتمـالی ایـن جمعیـت‌هـا توسـط قربـان‌آزاد (Ghorbanazad *et al.*, 2007) انجـام شـده است.

واتـسون و دالـویتز (Watson and Dalwitz, 2000) در مقاله‌ای به مطالعات سیتولوژیکی Stipagrostis پرداختند و در آن تعـداد کرومـوزوم‌هـای پایـه (X=۱۱) همچنین دو سطح دیپلوئید و تتراپلوئید را گـزارش و کرومـوزوم‌هـای آن را از نـوع کوچک معرفی کردند. در این بررسی همچنـین بـه شـرایط فیزیـوگرافیکی منـاطق رویـشی نیـز پرداختـه شـده اسـت. رینهـارد و همکـاران (Rhinhard *et al.*, 1999) چرخـه زندگی *S. scoparia* را مورد بررسی قـرار داده و اظهار داشته‌اند که *S. scoparia* یک گونـه‌ای چندساله است که در محیط های شنی و خـشک آسیا و آفریقا رشد و نمو می‌کنـد. بـدین ترتیـب که این گونه برروی توده‌های شنی ناپایدار و نرم استقرار یافته و بیشتر به طور افقی در عمقی فقـط به اندازه چند سانتی‌متر رشد می‌کنند.

النـوآنیم و همکـاران (Alnoanim *et al.*, 1991) برا ساس مطالعـه‌ای در شرق عربستان سعودی ترکیب‌هـای شـیمیایی و جوانه‌زنی بذر در هفت گونه که به‌عنوان گیـاه چراگاهی مفید هستند را مورد بررسی قرار دادند که گونه *S. plumosa* از جمله گونه‌های مـورد بررسی بود. اگر چه نتیجه مطالعات نشان داد کـه میزان پروتئین این گونه در مقایسه بـا تعـدادی از گونـه‌هـای مـورد مطالعـه کـم اسـت، ولـی همـه گونه‌ها شامل مقادیر کافی از مواد معـدنی مـورد احتیـاج تغذیـه‌ای حیوانـات بـه غیـر از فـسفر در زمان رسیدگی بودنـد. نتـایج آزمـایش‌هـا نـشان داده که بـذرهای تـازه‌ای کـه حـدود ۱۰ مـاه در شـرایط اطـاق نگهـداری شـده بودنـد، درصـد جوانـه‌زنـی ۶۰تـا ۹۰ درصـد افـزایش یافت (Langner and Darius, 2000).

لنگـر و داریـوس (Langner and Darius, 2000) کـاربرد انگشت‌نگاری DNA درجنس Stipagrostis را به‌منظور ارزیابی الگوهای تهاجمی جمعیت‌هـای شنی مـورد بررسـی قـرار دادنـد. در ایـن تحقیـق نمونه‌ها بر اساس موفقیتـشان در اسـتقرار سـبزینه در شـن‌هـای روان مـورد بررسـی قـرار گرفتنـد.

Archive of SID

www.SID.ir

فرضیه بر اساس توان کلون‌سازی مجدد *S. scoparia* از طریق جوانه‌زنی یا پنجه‌زنی بوده‌است.

تحقیق حاضر ضمن تکمیل اطلاعات سیتوژنتیکی در گونه‌های جنس Stipagrostis به شناسایی بهتر آن‌ها مبادرت ورزیده است.

مواد و روش‌ها

مطالعات سیتوژنتیکی بر روی هشت جمعیت از سه گونه مختلف جنس Stipagrostis که از طریق بانک‌ژن منابع طبیعی اصفهان تهیه و شناسایی شده بودند، انجام شد. سه جمعیت از مناطق نایین، کاشان و یزد متعلق به گونه *S. plumosa* و سه جمعیت از مناطق اردستان، خوزستان و یزد متعلق به گونه *S. pennata* و دو جمعیت از مناطق نایین و کاشان متعلق به گونه *S. karelinii* مورد بررسی قرارگرفتند. از روش‌های مختلف شکستن خواب‌بذر پیشنهادشده توسط سازمان جهانی بذر (ISTA) برای تعیین قوه نامیه بذر استفاده شد. بس از جوانه‌زدن بذرها و رشد ریشه به طول یک سانتی‌متر مریستم انتهایی (منطقه کلاهک ریشه) جدا شده و به منظور مشاهده کروموزومی به ترتیب مراحل پیش‌تیمار (آلفا برومونفتالین ۰/۵ درصد به مدت ۲ ساعت)، تثبیت (محلول لویتسکی مرکب از سه قسمت اسید کرومیک و یک قسمت فرمالدهاید ۴۰٪ به مدت ۲۱-۱۷ ساعت)، هیدرولیز (هیدروکسید سدیم یک نرمال در دمای ۶۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵-۱۲ دقیقه) و رنگ‌آمیزی با محلول هماتوکسیلین (پودر هماتوکسیلین ۴ گرم و یک گرم آمونیوم سولفات آهن) به مدت نیم ساعت بر روی نمونه‌ها انجام شد. پس از تهیه اسلاید از مریستم انتهای ریشه به روش اسکواش، تصاویر کروموزومی تهیه شد (Löve and Löve, 1982). عکس‌برداری‌های کروموزومی با استفاده از سیستم مانیتورینگ و با بزرگنمایی ۳۲۰۰x انجام‌شد (میکروسکوپ Olympus مدل BX-40 مجهز به دوربین Canon مدلSLR). پس از عکسبرداری از صفحات متافازی مناسب برای هر جمعیت حداقل پنج کاریوتیپ در محیط نرم‌افزاری Photoshop تهیه شد. برخی از صفات کاریوتیپی مانند صفات طول کل کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (L)، طول بازوی کوتاه (S)، نسبت بازوها (AR) و شاخص سانترومری (CI) با استفاده از نرم‌افزار Micro Measure تعیین شد (Reeves, 2001). از میانگین صفات برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد، ضمن این‌که در این تحقیق طول نسبی کروموزوم‌ها مورداستفاده قرار گرفت.

برای مشخص کردن نوع کروموزوم‌های هر کاریوتیپ از جدول لوان (Levan *et al*., 1964) استفاده شد. برای تعیین جایگاه کروموزومی گونه‌ها از نظر تکاملی از روش استبینز (Stebbins, 1971) و برای تعیین درجه نامتقارنی کروموزوم‌ها از روش رومروزارکو (Romero Zarco, 1986) استفاده

Archive of SID

www.SID.ir

شد.

در گروه‌بندی و مقایسه تفاوت‌های کاریوتیپی جمعیت‌ها از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward استفاده شد. به منظور بررسی روابط بین صفات کروموزومی در جمعیت‌های مورد مطالعه، با استفاده از نرم‌افزار SAS و SPSS داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل دامنه معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال یک درصد انجام شد. به منظور بررسی نحوه اثر صفات بر یک‌دیگر از ضرایب همبستگی پیرسون استفاده شد.

نتایج و بحث

بیشترین درصد جوانه‌زنی بذر در گونه‌های بررسی شده توسط تیمار شستشو در آب جاری به مدت ۹۶ ساعت وتناوب دمایی ۲۰/۳۰ درجه سانتی‌گراد با در نظر گرفتن طول روز ۸ ساعت و شدت نور ۱۲۰۰ لوکس به دست‌آمد که موجب افزایش جوانه‌زنی به میزان ۹۵ درصد شد. زمان ظهور اولین جوانه ۴ روز بعد از کاشت و طول دوره جوانه‌زنی ۷ تا ۱۰ روز بود.

سطح پلوئیدی در گونه *S. plumosa* دیپلوئید (۲n=۲x=۲۲) و در گونه‌های *S. pennata* و *S. karelinii* به صورت تتراپلوئید (۲n=۴x=۴۴)مشاهده شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پنج صفت نشان داد که بین جمعیت‌ها از نظر سه صفت طول بازوی کوتاه و نسبت بازوها و شاخص سانترومری اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) وجود داشت (جدول ۱). در مقایسه میانگین صفات بررسی شده بیشترین و کمترین میزان صفت طول بازوی کوتاه به ترتیب در گونه *S. plumosa* جمعیت یزد (۲/۷۸) و در گونه *S. pennata* جمعیت خوزستان مشاهده شد (جدول ۲).

تصاویر متافاز میتوزی در جمعیت‌های مورد مطالعه Stipagrostis به همراه کاریوگرام و وایدیوگرام آن‌ها در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ نتایج حاصل از تجزیه کاریوتیپی در جدول ۳ ارائه شده است. بر اساس جدول ۱ همه جمعیت‌های مورد مطالعه دارای پایه کروموزومی یکسان x =۱۱ بودند.

از نظر صفت شاخص سانترومری بیشترین اندازه مربوط به جمعیت کاشان و یزد متعلق به *S. plumosa* و جمعیت کاشان متعلق به *S. karelinii* بود. کمترین میزان شاخص سانترومری مربوط به جمعیت اردستان در گونه *S. pennata* اختصاص داشت که این امر بیانگر این است که در این گونه سانترومر به وسط کروموزوم نزدیک‌تر بوده و کروموزوم‌ها از نوع متاسنتریک هستند.

خصوصیات کاریوتیپی به همراه مؤلفه‌های سنجش تقارن در جمعیت‌های گونه‌های مورد بررسی در جدول ۳ ارائه شده است. بررسی کمی TF% یا درصد شکل کلی با استفاده از روش (Huziwarar, 1962) نشان داد که

www.SID.ir

جدول۱ - تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی در هشت جمعیت مختلف Stipagrostis

Table 2. Analysis of variance for karyotypic characteristics in eight populations of Stipagrostis

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات (MS) TL	L	S	AR	CI
Population	جمعیت	7	1.098	0.300	0.550**	0.015**	0.002**
Residual	خطا	29	0.494	0.157	0.122	0.004	0.007
C.V. (%)	ضریب تغییرات		13.580	13.340	16.030	4.880	6.760

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد. **: Significant at 1% probability level.

TL: طول کل کروموزوم؛ L: طول بازوی بلند؛ S: طول بازوی کوتاه؛ AR: نسبت بازوها؛ CI: شاخص سانترومتری.

TL: Total chromosome length; L: Long arm length; S: Short arm length; AR: Arm Ratio; CI: Centromeric Index.

جدول۲ - مقایسه میانگین خصوصیات طول کل کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (L)، طول بازوی کوتاه (S)، نسبت بازوها (AR) و شاخص سانترومری (CI) در هشت جمعیت مربوط به سه گونه از Stipagrostis

Table 2. Mean comparisons of total length of chromosomes (TL), long arm (L), short arm (S), arm ratio (AR) and centromeric index (CI) in eight populations belonging to three species of Stipagrostis

جمعیت Population	محل جمع‌آوری Location		گونه Species	صفات Characters TL	L	S	AR	CI
1	Naeen	نایین	*S. plumosa*	4.62b	2.665b	1.954bc	1.363c	0.411ab
2	Kashan	کاشان	*S. plumosa*	5.63b	3.259ab	2.368abc	1.425a	0.423a
3	Yazd	یزد	*S. plumosa*	5.97a	3.191ab	2.781a	1.390ab	0.420a
4	Ardestan	اردستان	*S. pennata*	5.28ab	3.233ab	2.040bcd	1.397ab	0.369c
5	Khozestan	خوزستان	*S. pennata*	4.60b	2.828ab	1.775d	1.282c	0.373bc
6	Yazd	یزد	*S. karelinii*	5.08ab	3.030ab	2.049bcd	1.348abc	0.391abc
7	Naeen	نایین	*S. karelinii*	4.68b	2.798ab	1.886cd	1.316bc	0.388abc
8	Kashan	کاشان	*S. karelinii*	5.81a	3.358a	2.454ab	1.341abc	0.418a

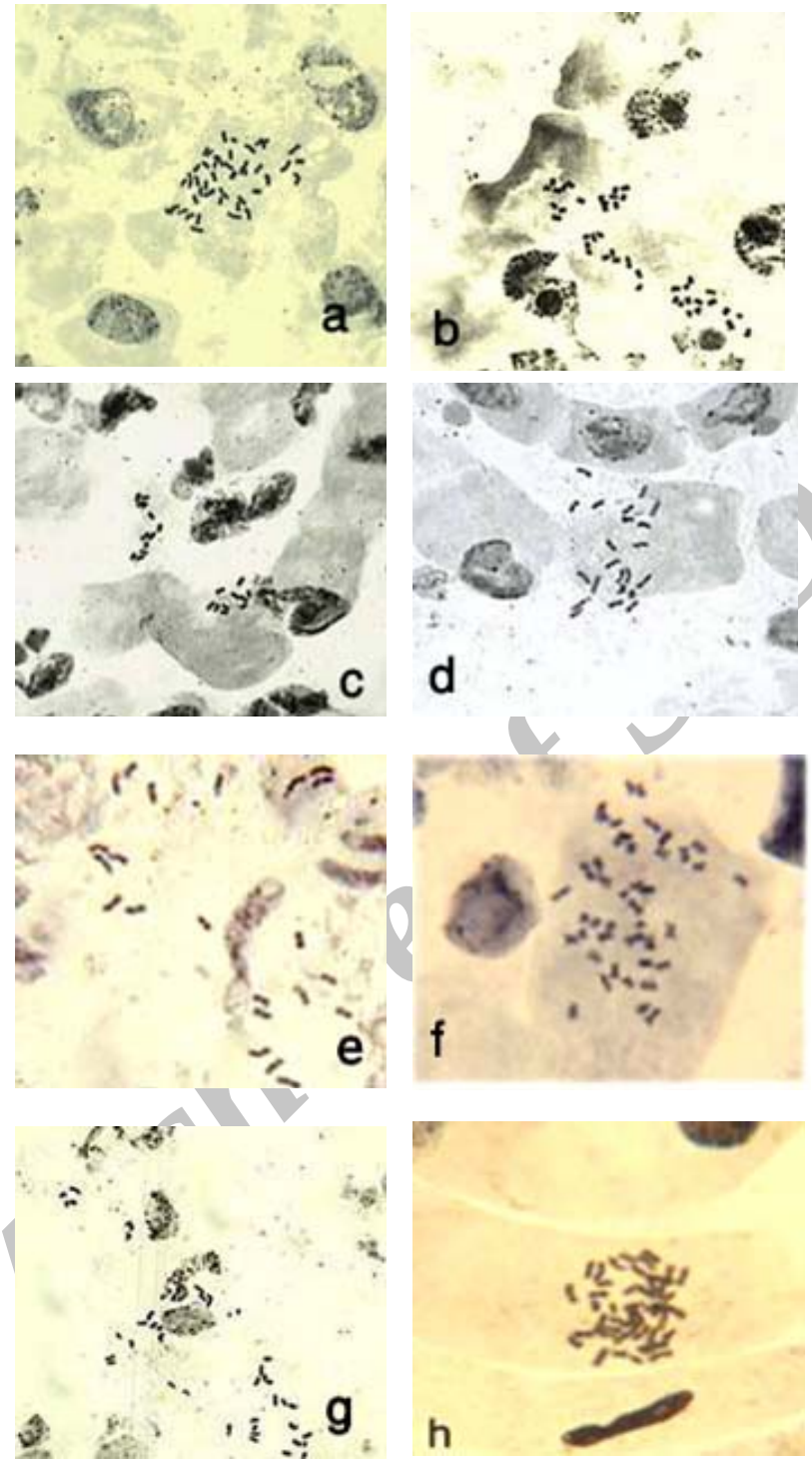
در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد ندارند.

Means in each column followed by common letter(s) are not significantly different at 1% probability level.

حداکثر آن ۴۲/۷۵ به جمعیت کاشان از گونه *S. karelinii* و حداقل آن ۳۸/۰۳ به جمعیت اردستان از گونه *S. pennata* اختصاص داشت. بنابراین جمعیت اردستان دارای کاریوتیپ نامتقارن‌تری بود.

حداکثر میزان اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها (DRL) در جمعیت نایین از گونه *S. plumosa* و به ارزش ۵/۷۱ وحداقل آن ۳/۱۳ به جمعیت نایین از گونه *S. karelinii* تعلق داشت. این امر بیانگر تقارن بیشتر گونه *S. karelinii* نسبت به سایر گونه‌ها بود. دامنه تغییرات شاخص A2 از ۰/۲۹ تا ۰/۳۸ متغیر بود. بالا بودن آن در جمعیت‌های تتراپلوئید نشان‌دهنده پراکنش اندازه کروموزوم‌ها و

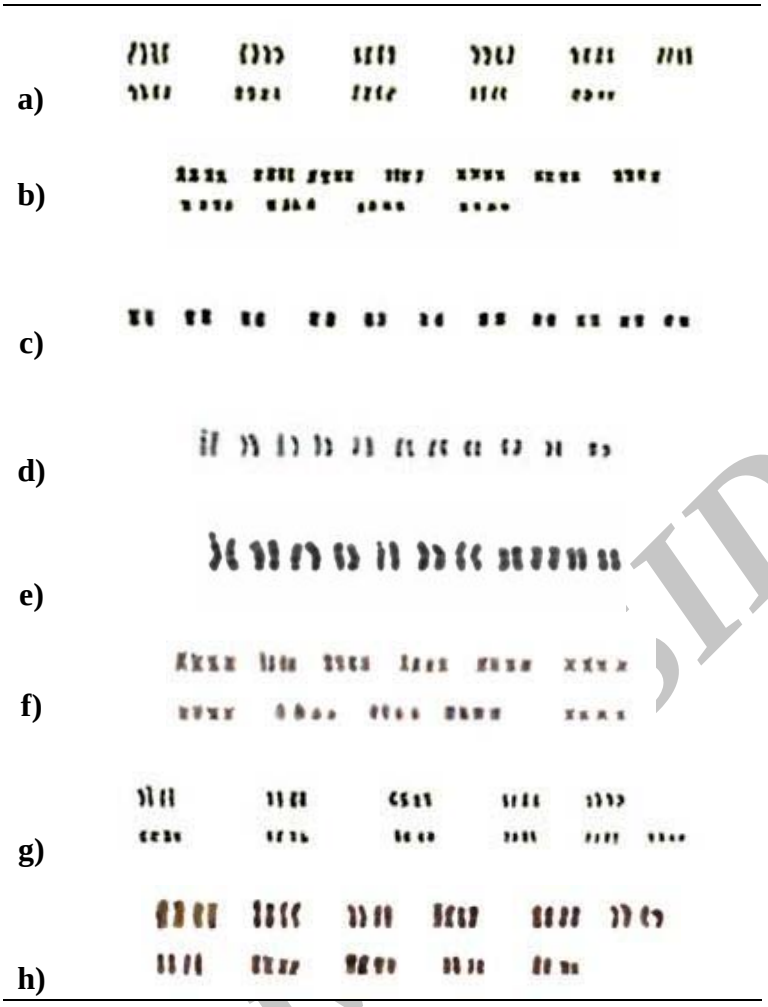
www.SID.ir



شکل ۱- شکل صفحه‌های متافازی در *Stipagrostis karelinii* (a : جمعیت کاشانb: جمعیت نایین)؛ *Stipagrostis plumosa* (c: جمعیت نایین d: جمعیت یزدe: جمعیت کاشان)؛ *Stipagrostis pennata* (f: جمعیت خوزستانg: جمعیت اردستان h: جمعیت یزد)

Fig. 1. Images of metaphase plates of Stipagrostis populations: a: S. *karelinii* (from Kashan); b: S. *karelinii* (from Naeen); c: S. *plumosa* (from Naeen); d: S. *plumosa* (from Yazd); e: S. *plumosa* (from Kashan); f: S. *pennata* (from Khuzestan); g: S. *pennata* (from Ardestan); S. *pennata* (from Yazd)

www.SID.ir



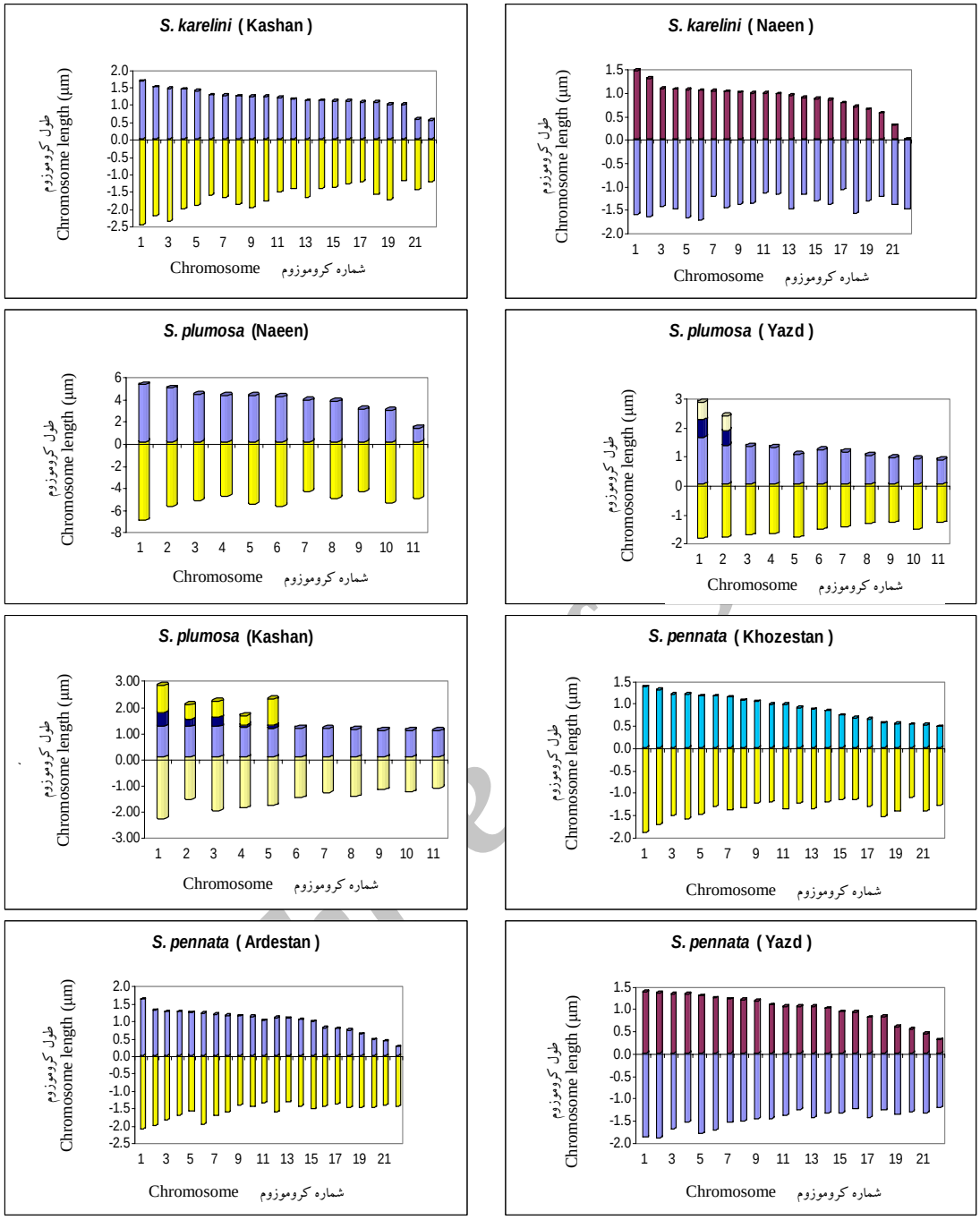
شکل ۲- کاریوگرام درجمعیت‌های مختلف *Stipagrostis karelinii* (a : جمعیت کاشان b: جمعیت نایین)؛ *Stipagrostis plumose* (b: جمعیت نایین c: جمعیت یزد d: جمعیت کاشان)؛ *Stipagrostis pennata* (e: جمعیت خوزستان f: جمعیت اردستان g: جمعیت یزد).

Fig. 2. Karyograms of Stipagrostis populations: a: S. *karelinii* (from Kashan); b: S. *karelinii* (from Naeen); c: S. *plumosa* (from Naeen); d: S. *plumosa* (from Yazd); e: S. *plumosa* (from Kashan); f: S. *pennata* (from Khuzestan); g: S. *pennata* (from Ardestan); S. *pennata* (from Yazd)

نامتقارن بودن کاریوتیپ است. دامنه تغییرات شاخص A1 نیز از ۰/۰۹ تا ۰/۱۹ به دست آمد. کم بودن این شاخص نشان‌دهنده بالاتر بودن تقارن کاریوتیپی است.

جمعیت کاشان از گونه *S. karelinii* و جمعیت خوزستان از گونه *S. pennata* به ترتیب دارای بیشترین (۳/۲۸) و کمترین (۲/۲۴) میزان نسبی کروماتین (VRC) در بین جمعیت‌های مورد بررسی بودند. این امر حاکی از این مطلب است که گونه *S. pennata* از نظر تکاملی درجه اختصاصی شدن بالاتری داشته‌است.

www.SID.ir



شکل ۳- ایدیوگرام در هشت جمعیت متعلق به سه گونه Stipagrostis

Fig. 3. Idiograms of eight populations belonging to three species of Stipagrostis

بررسی میزان طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (SI %) نشان داد که کمترین مقدار ۴۲/۰۸ درصد در جمعیت خوزستان از گونه *S. pennata* مشاهده شد و حداکثر این مقدار ۶۲/۰۴ درصد به جمعیت کاشان از گونه *S. plumosa* اختصاص داشت، بنابراین این جمعیت کاریوتیپ متقارن‌تری داشت.

دامنه ارزش S % در بین سه جمعیت

www.SID.ir

جدول۳ - خصوصیات کاریوتیپی به همراه مؤلفه‌های سنجش تقارن در جمعیت‌های گونه‌های مختلف Stipagrostis

Table 3. Karyotypic characteristics with symmetrical factors in different populations of Stipagrostis

جمعیت	گونه		فرمول کاریوتیپی	صفات Characters						
Population	Species	2n	Karyotypic formula	A1	A2	SC	VRC	DRL	TF%	SI
1	*S. plumosa*	22	10m+1sm	0.17	0.31	1A	2.50	5.71	40.35	52.51
2	*S. plumosa*	22	8m+3sm	0.15	0.32	2A	2.74	4.53	40.43	61.50
3	*S. plumosa*	22	9m+2sm	0.15	0.29	1A	2.72	4.39	41.41	62.04
4	*S. pennata*	44	20m+2sm	0.10	0.38	1B	2.57	3.55	38.03	45.78
5	*S. pennata*	44	18m+4sm	0.10	0.35	1B	2.24	3.81	39.70	42.08
6	*S. pennata*	44	16m+6sm	0.19	0.32	1B	2.47	3.16	40.28	46.70
7	*S. karelinii*	44	19m+3sm	0.09	0.36	1B	2.28	3.13	38.68	48.81
8	*S. karelinii*	44	20m+2sm	0.10	0.31	1B	3.28	3.24	42.75	42.46

A1: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی؛ A2: شاخص عدم تقارن بین کروموزومی؛ DRL: اختلاف دامنه درصد طول نسبی؛ % TF: درصد فرم کلی؛ SI: نسبت کوتاه‌ترین کروموزوم به بلندترین کروموزوم؛ VRC: میزان کروماتین نسبی؛ SC: کلاس تقارن استبینز

A1: Interachromosomal Symmetry Index; A2: Interchromosomal Asymmety Index; CI: Centromeric Index; DRL: Difference of range Relative Length; TF %: Total form Percentage; SI: Symmetry Index; VRC: Value of Relative Chromatin; SC: Stebbins symmetrical Class.

دیپلوئید *S. plumosa* بین ۵۲/۵۱ تا ۶۲/۰۴ متغیر بود. این صفت با کمی کاهش در پنج جمعیت تتراپلوئید گونه‌های *S. pennata* و *S. karelinii* معادل ۴۲/۰۸ تا ۴۸/۸۱ به دست آمد.

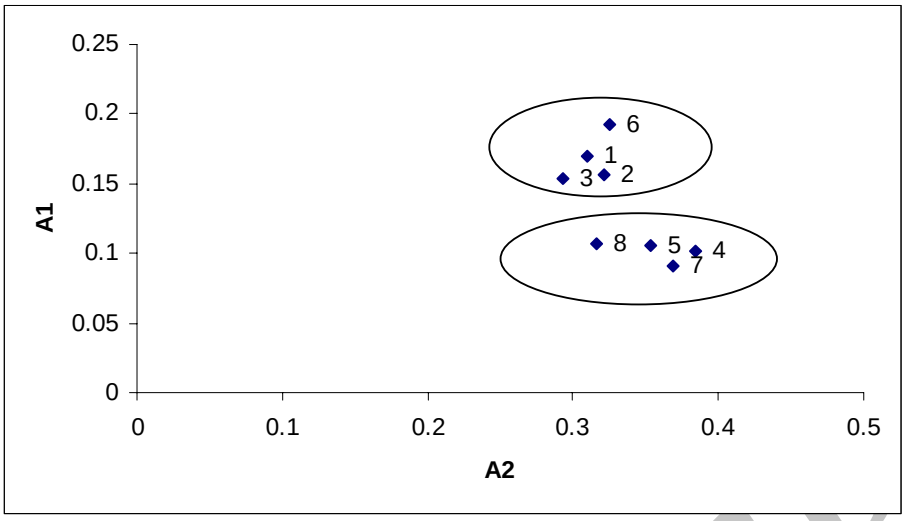
دسته‌بندی کاریوتیپ با استفاده از روش Stebbins (1971) نشان داد که جمعیت‌های گونه *S. plumosa* در کلاس‌های تقارن کاریوتیپی ۱A و ۲A و سایر جمعیت‌های تتراپلوئید از گونه‌های *S. pennata* و *S. karelinii* در کلاس ۱B قرار داشتند. فرمول کاریوتیپی محاسبه شده بر اساس روش لوان (Levan *et al.*, 1964) نشان داد که در جمعیت‌های مورد مطالعه اغلب کروموزوم‌ها را تقریبا نوع متاسنتریک (m) تشکیل می‌دهند. ماهواره و نواحی سازمان‌دهنده هستکی در جمعیت‌های گونه *S. plumosa* مشاهده شد.

نمودار پراکنش جمعیت‌ها به منظور بررسی وضعیت تقارن کاریوتیپی با استفاده از روش Romero Zarco (1986) در شکل ۴ نشان داده شده‌است. بر این اساس جمعیت‌ها در دو دسته قرار گرفتند. در دسته اول جمعیت‌های نایین و کاشان و یزد و در دسته دوم جمعیت‌های اردستان و خوزستان و نایین و کاشان جای گرفتند. در دسته دوم یعنی جمعیت‌های تتراپلوئید، اختلاف اندازه طول کروموزوم‌ها بیشتر بود و دارای بیشترین میزان A2 بودند که نشان‌دهنده نامتقارن‌تر بودن کاریوتیپ آن‌ها است.

در تجزیه خوشه‌ای به روش Ward که با استفاده از هشت صفت انجام شد، جمعیت‌ها و

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۴- نمودار پراکنش ضرایب رومرو زارکو (A1, A2) در هشت جمعیت متعلق به سه گونه از جنس Stipagrostis

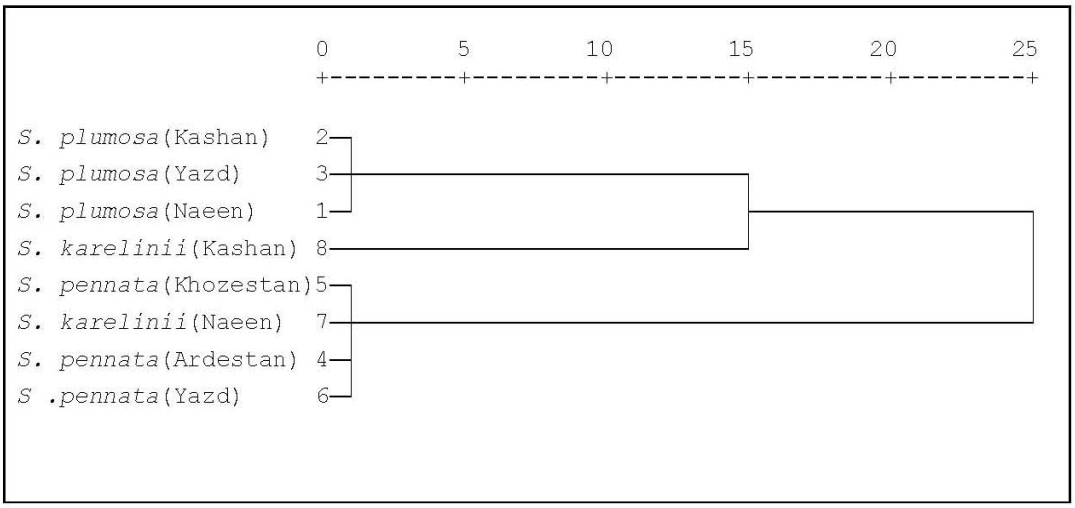
Fig. 4. Romero Zarco coefficients of distribution in eight populations belonging to three Stipagrostis species

گونه‌های مورد بررسی در دو گروه مختلف قرار گرفتند (شکل ۵). در گروه اول تمام جمعیت‌های دیپلوئید *S. plumosa* یعنی جمعیت‌های نایین، کاشان و یزد همراه با جمعیت کاشان از گونه *S. karelinii* و در گروه دوم سایر جمعیت‌های تتراپلوئید جای گرفتند.

نتایج حاصل از بررسی‌های همبستگی در جدول ۴ ارائه شده است. بیشترین میزان همبستگی معنی‌دار در سطح یک درصد میان صفت بازوی کوتاه و بازوی بلند و همچنین میان شاخص سانترومری با درصد شکل کلی و صفت شاخص سانترومری با میزان نسبی کروماتین، به ترتیب با مقادیر ۰/۹۶ و ۰/۸۸و ۰/۸۷ وجود داشت. کمترین میزان همبستگی بین صفات در همبستگی صفت میزان نسبی کروماتین با صفت A2مشاهده شد. شاخص A2همبستگی معنی‌داری با سایر صفات نشان نداد که بیانگر استقلال این شاخص در برآورد میزان تقارن یا عدم تقارن با ویژگی‌های مورد محاسبه است.

نتایج به دست آمده از این تحقیق نتایج بررسی‌های سیتوژنتیکی سایر محققان را در این زمینه تایید کرد یعنی عدد پایه کروموزومی در این جنس ۱۱ بوده و دو سطح دیپلوئید و تتراپلوئید درآن وجود داشت. دو گونه تتراپلوییید از سازگاری بیشتر به شرایط تنش‌های محیطی برخودارند (Leitch and Leitch, 2008) و احتمالاً در تثبیت شن‌های روان در مناطق خشک و شور موفق‌تر عمل می‌کنند. در این تحقیق سیتوتیپ جدیدی برای گونه *Stipagrostis karelinii* ثبت شد. بررسی‌های انجام شده روی

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۵- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای هشت جمعیت متعلق به سه گونه از جنس Stipagrostis به روش Ward بر اساس صفات کاریوتیپی

Fig. 5. Resulting dendrogram from cluster analysis (Ward) based on karyotupic characteristics in eight populations belonging to three Stipagrostis species

جدول ۴ - همبستگی میان خصوصیات جمعیت‌های Stipagrostis بر اساس صفات کاریوتیپی

Table 4. Correlation coefficient between different characteristics of Stipagrostis populations based on karyotypic analysis

Trait	Total chrom. length (TL)	Long arm (L)	Short arm (S)	Arm ratio (L/S)	Centr. Index (CI)	Relative length of shortest chromo. (RLS)	Total form percent (TF%)	Differ. range relative length (DRRL)	Value of relative chromatin (VRC)	Intera-chrom. symmetry index (A1)
L	0.076									
S	-0.155	0.967**								
L/S	0.084	0.465	0.410							
CI	0.720*	0.623	0.468	0.282						
SC	-0.614	0.583	0.730*	-0.558	-0.070					
TF%	0.461	0.711*	0.629	0.260	0.887**	0.160				
DRRL	-0.559	0.640	0.748*	-0.054	-0.081	0.571	0.134			
V	0.697	0.706	0.524	0.606	0.871**	0.081	0.769	-0.047		
A1	0.025	-0.782*	-0.823*	-0.217	-0.541	-0.544	-0.842**	-0.504	-0.483	
A2	-0.314	0.314	0.471	0.044	-0.08	0.479	0.309	0.462	0.007	0.673

* و **: به ترتیب در سطوح ۵ درصد و ۱ درصد معنی‌دار است.

* and **: Significant at 1% and 5% probability levels, respectively.

جمعیت‌های نایین و کاشان نشان داد که این گونه تتراپلوئید با ۴۴ کروموزوم است (2n=4x=44) که احتمالاً باید سیتوتیپ دیگری از این گونه باشد. قابل ذکر است که شریعت و همکاران (Shariat *et al.*, 2002) گونه *Stipagrostis karelinii* را دیپلوئید و دارای ۲۲ کروموزوم گزارش کردند (2n=2x=22)، که احتمالا سیتوتیپ متفاوتی را نسبت به مطالعه

www.SID.ir

حاضر استفاده کرده‌اند.

با بررسی جدول تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی در جنس Stipagrostis، جمعیت‌های مختلف، از نظر شاخص سانترومری و طول بازوی کوتاه و نسبت بازوها تفاوت‌های معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) با یک‌دیگر داشتند که بیانگر تنوع نسبی کروموزومی در میان ژرم پلاسم مورد بررسی و یا ناشی از اثر تثبیت در مراحل مختلف متافاز میتوز است.

دو شاخص طول کروموزوم و طول بازوی بلند در برآورد میزان تقارن یا عدم تقارن شاخص‌های مناسبی نیستند. به نظر می‌رسد که تغییرات انجام شده درابعاد کروموزومی میان جمعیت‌های مختلف این گونه هر چه بوده است در سطح طول کل کروموزوم همدیگر را متعادل کرده‌اند، به نحوی که روند تغییرات در سطح طول کل کروموزوم میان جمعیت‌های مختلف یکسان نمایان شده‌است.

بررسی فرمول کاریوتیپی نشان داد که اغلب کروموزوم‌ها در جمعیت‌های مورد مطالعه از نوع متاسنتریک (m) بودند و دارای کاریوتیپ متقارن که در مراحل ابتدایی تکامل کاریوتیپی قرار داشتند. متقارن‌ترین کاریوتیپ با ۱۰ جفت کروموزوم متاسنتریک در جمعیت نایین در گونه *S. plumosa* و با ۲۰ جفت کروموزوم متاسنتریک در گونه *S pennata* در جمعیت‌های خوزستان و یزد مشاهده شد. ماهواره و نواحی هستک‌ساز (NOR) مشخص بر روی کروموزوم‌های شماره ۱ و ۲ و ۵ در جمعیت‌های دیپلوئید کاشان و یزد در گونه *S. plumosa* مشاهده شد. پیدا نشدن ماهواره در گونه‌های تتراپلوئید احتمالاً به میزان له شدن و رنگ‌گرفتن نمونه‌های میکروسکوپی مربوط بوده است (Singh, 2003).

در تعدادی از سلول‌ها، کروموزوم‌های متافازی با فشردگی زیاد تا نصف طول نرمال وجود داشتند. همچنین در مطالعات صفحات متافازی گونه *S. pennata*، غیبت ۱ تا ۲ کروموزوم در تعدادی از سلولهای مریستمی با فراوانی (تقریباً ۵ درصد) مشاهده شد. این پدیده توسط (Hai Yan *et al*., 2006) در مطالعه وی بر روی کروموزوم‌های متافازی سیب‌زمینی نیز مشاهده شده‌است.

استقرار جمعیت‌های دیپلوئید *S. plumosa* در جایگاه ۱A از جدول دو طرفه Stebbins بیانگر تقارن کاریتیپی آن‌ها بود و نشان داد که در مراحل اولیه تکامل قرار دارند. همچنین با توجه به استقرار جمعیت‌های تتراپلوئید مانند *S. pennata* و *S. karelinii* در جایگاه ۱B از جدول استبینز نشان‌دهنده روند تکاملی رو به بالا در این جمعیت‌ها است و ثابت می کند که نسبت به جمعیت‌های دیپلوئید پیشرفته‌تر هستند.

با مقایسه محدوده مقدار SI % دربین جمعیت‌های دیپلوئید و تتراپلوئید روشن شد که با زیادتر بودن این مقدار در جمعیت‌های دیپلوئید تفاوت در اندازه کروموزوم‌ها کمتر و در نتیجه این جمعیت‌ها دارای تقارن بیشتری نسبت به جمعیت‌های تتراپلوئید هستند. این بدین

Archive of SID

www.SID.ir

معنی است که جمعیت‌های دارای کروموزوم‌های کم و بیش یکنواخت از نظر طول هستند. با توجه به مقادیر TF % در این جمعیت‌ها که به ۵۰ نزدیک است، فرض متقارن بودن کاریوتیپ در جمعیت‌های دیپلوئید ثابت می‌شود. همچنین در بین جمعیت‌های تتراپلوئید نامتقارن‌ترین جمعیت از نظر این دو صفت متعلق به گونه *S. pennata* جمعیت‌های اردستان و خوزستان بود.

براساس نتایج ضرایب همبستگی ویژگی‌های کاریوتیپی شاخص A2 همبستگی معنی‌داری با سایر شاخص‌ها نشان نداد که بیانگر استقلال این شاخص در برآورد میزان تقارن است. در ارزیابی این شاخص توسط قربان‌آزاد و همکاران (Ghorbanazad *et al.*, 2007) از ضریب همبستگی کارل پیرسون برای بررسی ارتباط کاریوتیپی جمعیت‌های مختلف *S. pennata* استفاده کردند. با این روش نتیجه‌گیری کردند که شرایط اقلیمی متفاوت در اکثر موارد تاثیر چندانی بر روند تغییرات ویژگی‌های کروموزومی در جمعیت‌های این گونه ندارد. عدم همبستگی بین نسبت بازوی کوتاه به بلند حاکی از تغییرات درون ساختمانی کروموزوم‌ها است. به عبارت دیگر به نظر می‌رسد که بیشتر تغییرات کروموزومی از نوع وارونگی قطعات کروموزومی اتفاق افتاده باشد. این پدیده می‌تواند تا حدودی میان جمعیت‌های مورد مطالعه در این بررسی ناسازگاری‌هائی از نظر تلاقی‌پذیری ایجاد کند. عدم همبستگی کافی میان کروموزوم‌ها از نظر نسبت بین بازوهای کروموزومی در این جنس توسط قربان‌آزاد نیز گزارش شده‌است (Ghorbanazad *et al.*, 2007).

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای، گونه‌هایی که در یک گروه قرار می‌گیرند صفات کاریوتیپی مشابهی داشته و در نتیجه می‌توانند در تلاقی بین گونه‌ای استفاده شوند. در تجزیه خوشه‌ای به روش Ward بر اساس صفات کاریوتیپی، کمترین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های دیپلوئید ۲ و ۳، بیشترین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های ۱ و ۴ وجود داشت. نتایج تجزیه خوشه‌ای و ضرایب Romero Zarco تا حد بسیار زیادی با یک‌دیگر هماهنگی داشت.در گروه اول تمام جمعیت‌های دیپلوئید *S. plumosa* و در گروه دوم جمعیت‌های تتراپلوئید جای گرفتند. قرار گرفتن گونه *S. karelinii* و *S. pennata* در یک گروه بیانگر نزدیکی ژنتیکی آنها نسبت به گونه *S. plumosa* است.

به عنوان نتیجه‌گیری می‌توان اعلام نمود که مطالعه حاضر تعداد کروموزوم گونه *S. karelinii* را به صورت تتراپلوییدو برای اولین‌بار گزارش می‌کند. بدین‌ترتیب که در این تحقیق سیتوتیپ جدیدی برای گونه *Stipagrostis karelinii* که از نایین و کاشان جمع‌آوری شده بود، ثبت شد.

Archive of SID

www.SID.ir

References

Alnoanim, A. A., Elgazzer, A. A., Rumney, T. G., and Alkoraiem Y. S. 1991. Study of chemical composition of range plants in the eastern province of Saudi Arabia. Arab Gulf Journal of Science and Research 9: 77-92.

Battoli, H. 2001. The study of ecological properties of the grassland *Stipagrostis plumosa* in the desert sand plain of Kashan. Available online at: http://www,ru.ac.za/instituts/rgi/ire/a4/volunteer.htm

Ellis, R. H., Hong, T. D., and Roberts E. H. 1985. Compendium of specific germination and test recommendations. pp. 347-350. In: Ellis, R. H., Hong, T. D., and Roberts, E. H. (eds.) Handbook of Seed Technology for Genebanks. V 2. International Board for Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Ghahraman, A. 1994. Iran Chromophytes. Tehran University Press, Tehran, Iran. 618 pp. (in Persian).

Ghorbanazad, A., Mirzai Nodoshan, H., and Shariat, A. 2007. Study of karyotypic characteristics of populations of *Stipagrostis pennata* using principal components analysis. Iranian Journal of Rangelands and Forest Plants Breeding and Genetic Research 4: 194-201 (in Persian).

Hai Yan L., Chen, Q., Beasley, D., Dermot, R. L., and Gottel, M. 2006. Karyotypic evolution and molecular cytogenetic analysis of *Solanum pinnatisectum*, a new source of resistance to late blight and Colorado potato beetle in potato. Cytologia 1: 25-33

Huziwara, Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of Compositeae. VIII. Further studies on the chromosome of Aster. American Journal of Botany 49: 116-119.

Janighorban, M. 2008. Preparation and Writing of Flora of Iran (Aristideae Tribe). Iranian Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran (in Persian).

Langner, S., and Darius, F. 2000. Application of DNA- fingerprinting to assess possible invasion patterns of the sand dune pioneer Stipagrostis. Proceedings of 7th European Ecology Congress, Italy.

Leitch, A. R., and Leitch, I. J. 2008. Genomic plasticity and the diversity of polyploid plants. Science 320: 481–483.

Levan, A., Fredga, K., and Sandberg, A. 1964. Nomenclature for centeromic position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.

Archive of SID

www.SID.ir

Löve, A., and Löve, D. 1982. In IOPB chromosome number reports 74. Taxon 31: 120-126.

Moghimi, J. 2005. An Introduction to some Important Range Species. Arvan Publications, Tehran, Iran. 300 pp. (in Persian).

Reeves, A. 2001. MICROMEASURE, a new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. Genome 4: 439–43.

Reinhard, B., Frank, D., and Rudriger, P. 1999. On the life cycle of *Stipagrostis scoparia* Hillocks. Journal of Arid Environments 42: 177-186.

Romero Zarco, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 36: 526-530

Shariat, A., Mirzai Nadoshan, H., and Madah, A. 2002. Karyotipic study on some spcies of Stipagrostis. Iranian Journal of Rangelands and Forest Plants Breeding and Genetic Research 9: 25-37 (in Persian).

Sheidai, M., Attaei, S., and Kosravi, M. 2006. Cytology of some Iranian *Stipa* (poaceae) species and populations. Acta Botanical Croat 65: 1-11.

Sheidai, M., Koopaz, P., and Zehzad, B. 2003. Meiotic studies of some *Avena* species and populations in Iran. IR Iran Journal of Science 14: 121-131

Sheidai, M., and Nourozi, M. 2005. Cytogenetical studies on some species of *Bromus* sect. *Bromus*. Botanica Lithuanica 3: 321-332

Sheidai, M., and Rashid S. 2007. Cytogenetic study of some Hordeum species in Iran. Acta Biologica Szegediensis 2: 107-112.

Singhh, R. J. 2003. Plant Cytogenetic. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edvard Arnold Publisher Ltd. Landon. 216 pp.

Watson, L., and Dallwitz, M. J. 2000. Grass Genera of the World, Stipagrostis Nees. Available online at: www.fao.org.

Archive of SID

www.SID.ir