# بررسی کاریولوژیکی برخی از گونه های جنس شبدر(.Trifolium sp) موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران

**سید محسن حسام زاده حجازی و مهدی ضیائی نسب**

**تهران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، بانک ژن**

تاریخ دریافت: ۸٤/۰۸/۰۸ تاریخ پذیرش: ۸۵/۰٤/۱۲

## چکیده

سرده (جنس) شبدر با داشتن ۲٤۸ گونه، یکی از مهمترین گیاهان علوفه ای از خانواده Fabaceae بشمار می رود. بین گونه های مختلف آن از نظر مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی تنوع زیادی وجود دارد. برای بررسی تنوع سیتوژنتیکی از سیستم آنالیز تصویری استفاده شد. بدین منظور، بذرهای ۱۹ ژنوتیپ متعلق به ۱۰ گونه مختلف کشت گردید و پس از جوانه زنی بذرها از مریستم انتهایی ریشه برای مطالعات کاریوتیپی استفاده شد. تعداد کروموزومهای پایه در ژنوتیپهای مورد بررسی بین x=۵ (دو ژنوتیپ، دیپلوئید)، X=۷ (سه ژنوتیپ، دیپلوئید) و X=۸ (۱۲ ژنوتیپ، دیپلوئید و دو ژنوتیپ، تتراپلوئید) متغیر بود. براساس جدول دو طرفه Stebbins ژنوتیپهای ۷۵۸۵، ۲۷ و ۵۱۵٦ در گروه 2A و سایر ژنوتیپها در گروه 1A قرار گرفتند. پلات ژنوتیپها براساس دو پارامتر $A_1$ و $A_2$ و کلاسهای تقارنی جدول استبینز نتایج مشابهی را نشان داد. تجزیه واریانس داده های حاصل از کلیه صفات مورد مطالعه در قالب طرح CRD نشان دهنده اختلاف معنی داری بین ژنوتیپها در سطح ۱ درصد است. تجزیه به مؤلفه های اصلی نشان داد که سه مؤلفه اول در مجموع بیش از ۹۲ درصد از واریانس موجود بین ژنوتیپها را توجیه می نماید، بطوریکه در مؤلفه اول صفات طول کل کروموزوم(TL) ،طول بازوی بلند (LA)، درصد نسبی طول بازوی بلند (LA%)، طول بازوی کوتاه (SA) و درصد نسبی طول بازوی کوتاه (SA%) بیشترین نقش را در ایجاد تنوع داشتند. در مؤلفه دوم صفات نسبت بازوها، شاخص سانترومری و درصد شکل کلی با داشتن بالاترین ضرایب بردارهای ویژه، دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین ژنوتیپها است. برای گروه بندی ژنوتیپها براساس صفات کاریوتیپی، تجزیه کلاستر به روش UPGMA انجام شد که با برش دندروگرام در فاصله ژنتیکی ۳/۸۹، ژنوتیپها در سه کلاس مختلف قرار گرفت. در این بررسی بیشترین فاصله ژنتیکی بین دو ژنوتیپ *T.hybridum* (۲۷) و *T.hirtum* (۳۷۰٤) و کمترین فاصله ژنتیکی بین دو ژنوتیپ ۳۱٤ و ۲۱۳۹ متعلق به گونه *T.fragiferum* مشاهده شد. دیاگرام حاصل از پراکنش ژنوتیپها براساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم، ژنوتیپهای مورد بررسی را در سه گروه متمایز قرار می دهد که این امر مؤید نتایج حاصل از تجزیه کلاستر است. در تجزیه کلاستر (UPGMA) بر اساس دو پارامتر $A_1$ و $A_2$، با برش دندروگرام در فاصله ژنتیکی ۱/۷۵ ژنوتیپها از لحاظ تکاملی در سه گروه متمایز قرار گرفت. بر این اساس دو ژنوتیپ *T.repens* (Alice) و *T.subterraneum* (۷۵۹۳) کمترین مقدار فاصله ژنتیکی را نشان می دهند و بیشترین مقدار فاصله ژنتیکی بین دو ژنوتیپ *T.hybridum* (۲۷) و *T.alexandrinum* (۸۳۱۳) مشاهده شد.

**واژه های کلیدی:** تجزیه به مؤلفه های اصلی، تجزیه کلاستر، سیتوژنتیک، سیستم آنالیز تصویری، شبدر.

## مقدمه

شبدر از تیره Fabaceae و جنس *Trifolium* است که با داشتن ۲٤۸ گونه، یکی از مهمترین گیاهان علوفه ای بشمار می رود. بین گونه های مختلف شبدر از نظر خصوصیات مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی تنوع زیادی وجود دارد. با توجه به اینکه کروموزومها، حامل ژنها بوده و خصوصیات گیاهی تا حدود زیادی تحت کنترل مواد ژنتیکی هسته می



Archive of SID
www.SID.ir

باشد، لذا یکی از روشهای بررسی تنوع در میان ارقام و گونه های مختلف گیاهی، انجام مطالعات سیتوژنتیکی است. بدیهی است گونه هائیکه از لحاظ پارامترهای سیتوژنتیکی و خصوصیات کاریوتیپی بهم شبیه هستند در روابط بین گونه ای، قرابت بیشتری داشته و در صورت وجود صفات مطلوب در این گونه ها، امکان تلاقی بین گونه ای، برای جمع آوری ژنهای مطلوب در یک گیاه، وجود خواهد داشت.

مطالعات کاریوتیپی انجام شده در سرده (جنس) شبدر نشان می دهد که تعداد کروموزوم پایه در گونه های مختلف آن ۵ ، ٦ ،۷ و ۸ می باشد که حدود ۸۰ درصد از گونه ها دارای تعداد کروموزوم پایه X=۸ بوده و حدود ۲۰ درصد از گونه ها نیز پلی پلوئید بوده و تنوع پلوئیدی نشان می دهند (۱). انجام مطالعات سیتوژنتیکی در گونه *T.scabrum* نشان داده است که این گونه دارای تعداد کروموزوم ۲n=۱۰ و ۲n=۱۲ بوده که این پدیده تنوع در تعداد کروموزوم را، به تعدادی از فاکتورهای اکولوژیکی مربوط به محیط پیدایش آنها نسبت می دهند (۳). در بررسیهای کروموزومی دو گونه شبدر سفید و شبدر قرمز مشخص شده است که شبدر قرمز دارای تعداد کروموزوم ۱٦= ۲n=۲x بوده و فرمول کاریوتیپی آن شامل ۷ جفت کروموزوم متاسانتریک و یک جفت کروموزوم ساب متاسانتریک می باشد. همچنین در شبدر سفید تعداد کروموزوم ۲n=٤x=۳۲ بوده و فرمول کاریوتیپی آن شامل ۱۱ جفت کروموزوم متاسانتریک و ۵ جفت کروموزوم ساب متاسانتریک است (۹).با انجام مطالعات سیتوژنتیکی در ٦ جمعیت از گونه *T.resupinatum* و ٤ گونه *T.fragiferum*، *T.repens*، *T.pratense* و*T.alexandrinum*، تعداد کروموزومها در گونه های مورد مطالعه از ۲n=۱٤ در شبدر قرمز تا ۲n=۳۲ در شبدر سفید متغیر بوده و تعداد کروموزومهای پایه X=۷ و ۸ =X گزارش شده است، این تحقیقات نشان می دهد که در تجزیه کلاستر (Ward وUPGMA) بر اساس صفات کاریوتیپی، جمعیتها و گونه های فوق در ۵ کلاستر قرار گرفته اند. بنحوی که چهار جمعت *Lordegan* , *Shazand* , *Kordestan* و *Enag* از گونه *T.resupinatum* در اولین کلاس، دو جمعیت دیگر *Harati* و *Soriyan* از همان گونه بصورت جداگانه در کلاستر های ۲ و۳ و گونه های *T.alexandrinum* و *T.fragiferum* نیز بترتیب در کلاسترهای ٤ و ۵ قرار می گیرند در این بررسی فاصله زیاد *T.fragiferum* از سایر ژنوتیپها را نشان دهنده اختلاف ژنومی آن با دیگر ژنوتیپها بیان نموده اند (۷). مطالعات کروموزومی انجام شده روی گونه های خویشاوند شبدر سفید مشخص نموده است که سه گونه *T.occidentale*(۲n=۲X=۱٦)، *T.nigrecens* (۲n=۲X=۱٦) و*T.uniflorum* (۲n=٤X=۳۲) خویشاوندی نزدیکی با شبدر سفید دارند زیرا آنها به راحتی با این گونه تلاقی پیدا کرده و تولید هیبریدهای بین گونه ای می نمایند و دلیل این موضوع را شباهت بسیار زیاد کروموزومهای گونه های فوق با کروموزومهای شبدر سفید در مرحله پروفاز میوزI هیبرید $F_1$ آنها می دانند (۱).

با توجه به تنوع بسیار زیاد گونه های مختلف جنس شبدر از لحاظ تعداد کروموزوم پایه و خصوصیات سیتوژنتیکی، عمده ترین اهدافی که در این بررسی دنبال شده است عبارتند از:

۱-مطالعه و بررسی سیتوژنتیک برخی گونه های جنس *Trifolium* از نظر کاریوتیپ و سطوح پلوئیدی.

۲-تعیین کاریوتیپ تاگزونها بمنظور تعیین عدد کروموزومی، مطالعه شکل و اندازه کروموزومها.

۳-یافتن فاصله ژنتیکی، قرابت و خویشاوندی بین گونه های مورد مطالعه از طریق روشهای آماری چند متغیره.

## مواد و روشها

بمنظور بررسی تنوع در گونه های مختلف جنس شبدر از لحاظ خصوصیات کاریوتیپی، ۱۹ ژنوتیپ از ۱۰ گونه



Archive of SID
www.SID.ir

مختلف متعلق به ۵ بخش از نظر تاگزونومی مورد مطالعه سیتوژنتیکی قرار گرفت. به این منظور ابتدا بذرها، پس از ضد عفونی با هیپوکلرید سدیم ۲۰ درصد بمدت ۱۰ دقیقه روی کاغذ صافی استریل داخل پتری دیش تحت شرایط کنترل شده با رطوبت ۷۰ درصد ، دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت کشت شد و پس از جوانه زدن و رشد ریشه به طول ۱-۰/۵ سانتیمتر، قسمت انتهایی ریشه آنها جدا گردید و سپس بترتیب مراحل پیش تیمار ( ۰/۵ درصد محلول اشباع شده آلفا برومونفتالین)، تثبیت (محلول لویتسکی Levitsky fluids ) مرکب از محلول کرومیوم تری اکسید و فرمالدئید ٤٠ درصد به نسبت ۳:۲)، هیدرولیز (هیدروکسید سدیم یک نرمال) و رنگ آمیزی (مخلوط هماتوکسیلین ٤ درصد و یک گرم سولفات آمونیم فریک ) انجام و پس از تهیه اسلاید به روش اسکواش، تصاویر کروموزومی تهیه شد (۵) مطالعات کروموزومی با استفاده از سیستم آنالیز تصویری با بزرگنمایی ۱۸۸۰ x انجام ( میکروسکوپ Digital Color Video Camera, Olympus BH-2 مدل SSC, DC18P) پس از بررسی و تهیه کاریوتیپ برای هر ژنوتیپ، با استفاده از نرم افزار Micromeasure، از هر اسلاید مورد بررسی حداقل ۳ سلول (تکرار) انتخاب و تعدادی از پارامترهای سیتوژنتیکی نظیر طول کل کروموزوم (TL)، درصد طول نسبی هر کروموزوم (%of set)، طول بازوی بلند (LA)، درصد طول نسبی بازوی بلند (%LA)، طول بازوی کوتاه (SA)، درصد طول نسبی بازوی کوتاه (%SA)، نسبت بازوها (Arm ratio:L/S) و شاخص سانترومری (CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است، محاسبه گردید. در این بررسی برای تعیین وضعیت تکاملی و مطالعه تقارن کاریوتیپی ژنوتیپهای مورد مطالعه از جدول دو طرفه Stebbins استفاده شد (۸) و پارامترهایی نظیر اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم (DRL)، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی ($A_1$)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی ($A_2$) (٦) و درصد شکل کلی (%TF) (۲) محاسبه گردید. برای تعیین نوع کروموزومها از روش Levan استفاده شد(٤). جهت تجزیه آماری داده های بدست آمده از پارامترهای کاریوتیپی، از طرح کاملا تصادفی(CRD) با ۳ تکرار استفاده شد. برای تعیین نقش هر یک از صفات اندازه گیری شده در ایجاد تنوع بین ژنوتیپها از تجزیه به مؤلفه های اصلی، و برای گروهبندی ژنوتیپها از تجزیه کلاستر به روش UPGMA و با استفاده از نرم افزار های SAS Version 6.12., JMP Version 3.1.2., EXCELVersion 2004 استفاده گردید.

جدول دو طرفه Stebbins برای مقایسه تقارن کاریوتیپ

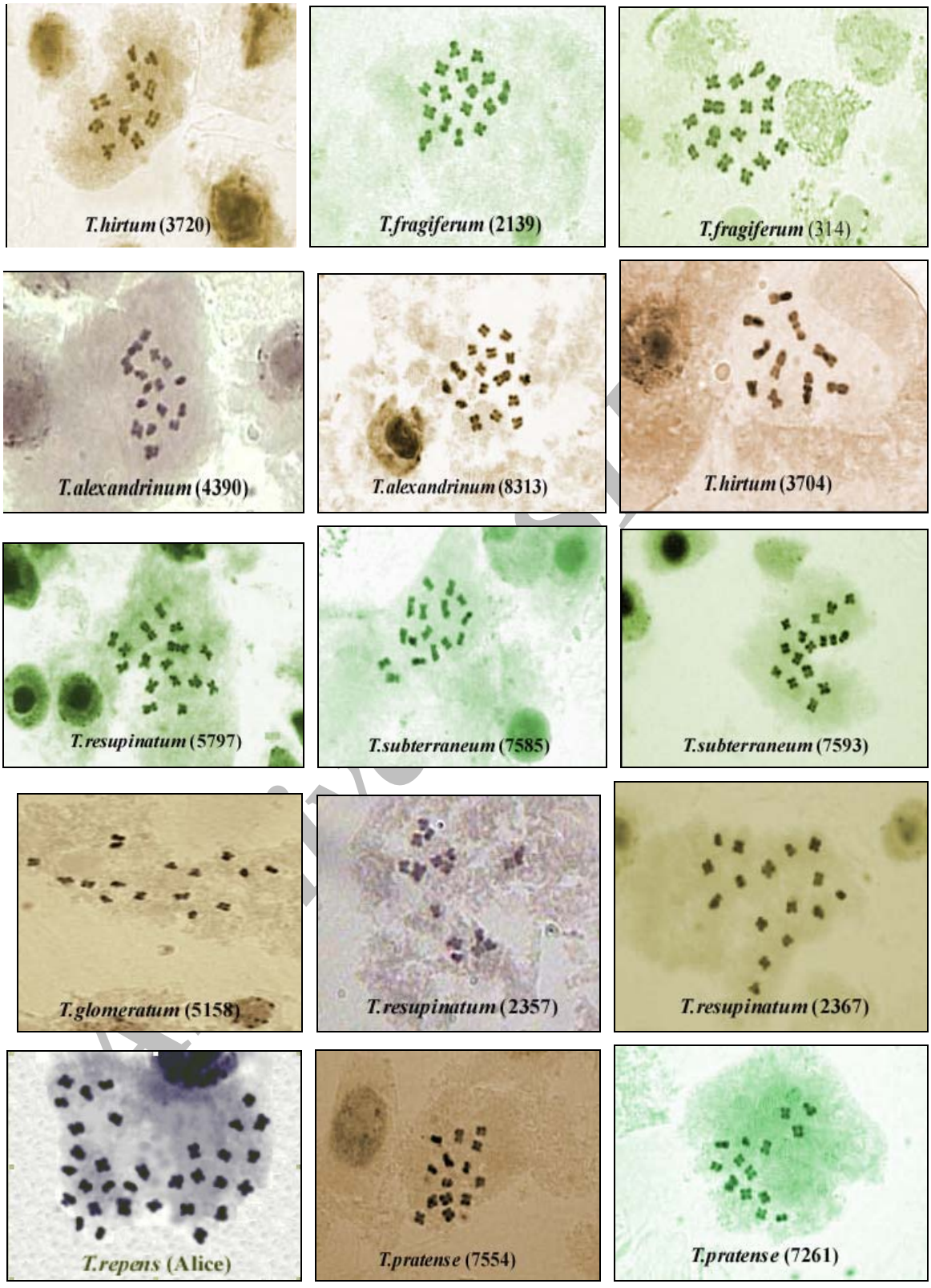
| نسبت کروموزومهای با Arm ratio بزرگتر از ۲ | | | | کوچکترین کروموزوم/ بزرگترین کروموزوم |
|---|---|---|---|---|
| ۱ | ۰/۵۱-۰/۹۹ | ۰/۰۱-۰/۵۰ | ۰ | |
| ٤A | ۳A | ۲A | ۱A | <۲:۱ |
| ٤B | ۳B | ۲B | ۱B | ۲:۱-٤:۱ |
| ٤C | ۳C | ۲C | ۱C | >٤:۱ |

## نتایج و بحث

تصویر متافاز میتوزی ژنوتیپهای مورد مطالعه همراه با کاریوگرام و نمونه ای از کاریوتیپ اندازه گیری شده با نرم افزار Micromeasure بترتیب در شکلهای شماره ۱، ۲ و ۳ و نتایج حاصل از تجزیه کاریوتیپی آنها در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. از لحاظ تعداد کروموزوم پایه بین گونه ها، پایه های کروموزومی متفاوتی(۵، ۷، X=۸) مشاهده شد که این امر بیانگر تنوع بین گونه ها می باشد. طبق جدول ۱ گونه *T.repens* تنها گونه تتراپلوئید با تعداد کروموزوم ۲n =٤X =۳۲ بود. Sheidai و همکاران (۱۹۹۸) و دانشکده کشاورزی Yuxi (۱۹۹۳) نیز با مطالعه این گونه نتایج مشابهی را گزارش نموده اند. (۷ و ۹). از بین گونه های مورد مطالعه دو گونه *T.badium* و *T.pratense* دارای

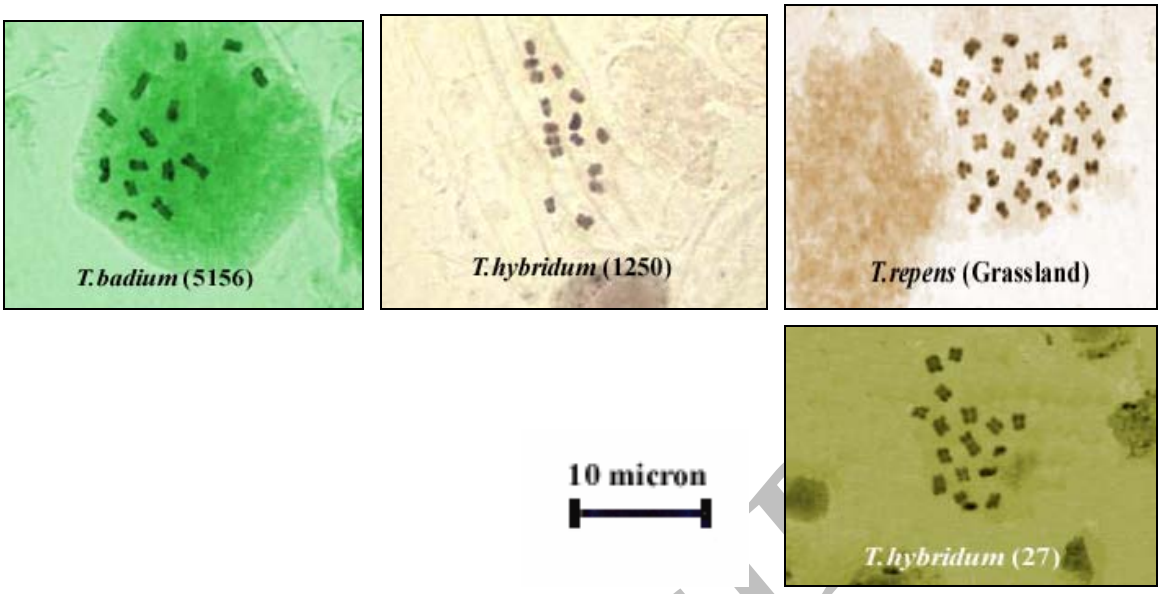


Archive of SID
www.SID.ir


T.hirtum (3720)
T.fragiferum (2139)
T.fragiferum (314)
T.alexandrinum (4390)
T.alexandrinum (8313)
T.hirtum (3704)
T.resupinatum (5797)
T.subterraneum (7585)
T.subterraneum (7593)
T.glomeratum (5158)
T.resupinatum (2357)
T.resupinatum (2367)
T.repens (Alice)
T.pratense (7554)
T.pratense (7261)



www.SID.ir

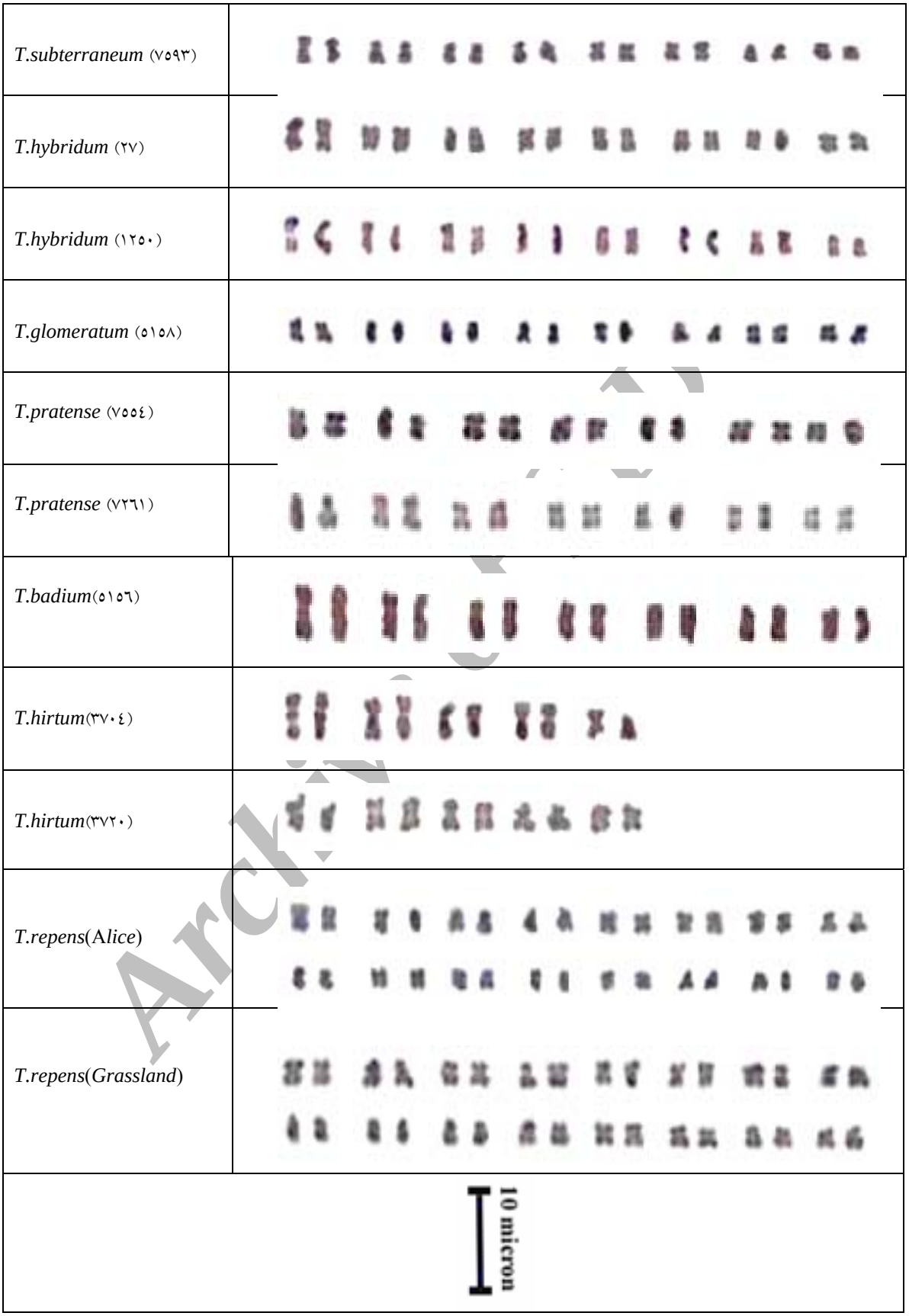



شکل شماره ۱ – تصاویرمتافاز میتوزی ژنوتیپهای مورد مطالعه

| | |
|---|---|
| *T. fragiferum* (314) | |
| | |
| *T.resupinatum* (۲۳۵۷) | |
| *T.resupinatum* (۲۳٦۷) | |
| *T.resupinatum* (۵۷۹۷) | |
| *T.alexandrinum* (٤۳۹۰) | |
| *T.alexandrinum* (۸۳۱۳) | |
| *T.subterraneum* (۷۵۸۵) | |



www.SID.ir




شکل شماره ۲-کاریوگرام ژنوتیپهای مورد مطالعه براساس طول کروموزوم و بزرگنمایی x۱۸۸۰



www.SID.ir

شکل شماره۳ –نمونه ای از کاریوتیپ اندازه گیری شده با نرم افزار Micromeasure

جدول شماره۱– ویژگیهای کاریوتیپی بهمراه پارامترهای سنجش تقارن در گونه‌های مختلف سرده (جنس) شبدر (*Trifolium. sp*)

| ژنوتیپ (کد بانک ژن) | منشا | ۲n | X | $A_1$ | | | DRL | %TF | فرمول کاریوتیپی |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *T.fragiferum* (۲۱۳۹) | استرالیا | ۱۶ | ۸ | ۰/۱۶ | ۰/۱۳۲ | ۱A | ۵/۲۱ | ٤٥/٦۰ | ۸m |
| *T.fragiferum* (۳۱٤) | کرج | ۱۶ | ۸ | ۰/۱٤ | ۰/۱٦۱ | ۱A | ۵/۸۱ | ٤٦/۱۳ | ۸m |
| *T.resupinatum* (۲۳۵۷) | کرج | ۱۶ | ۸ | ۰/۱۵ | ۰/۱٦۸ | ۱A | ٦/٤۹ | ٤٥/۷٤ | ۸m |
| *T.resupinatum* (۲۳٦۷) | نامشخص | ۱۶ | ۸ | ۰/۲٤ | ۰/۱۲۳ | ۱A | ٤/۹۹ | ٤۳/۲۱ | ۸m |
| *T.resupinatum* (۵۷۹۷) | سربند–مرکزی | ۱۶ | ۸ | ۰/۲۱ | ۰/۱۷۳ | ۱A | ٦/۵۹ | ٤۱/۱۵ | ۷m+۱sm |
| *T.hybridum* (۱۲۵۰) | زنجان | ۱۶ | ۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۳٤ | ۱A | ۵/٤۷ | ٤٤/۷۵ | ۷m+۱sm |
| *T.hybridum* (۲۷) | آمریکا | ۱۶ | ۸ | ۰/۳۷ | ۰/۱۳٤ | ۲A | ۵/۳٦ | ۳٦/٤۳ | ۵m+۳sm |
| *T.alexandrinum* (٤۳۹۰) | اصفهان | ۱٦ | ۸ | ۰/۲۲ | ۰/۱۳۱ | ۱A | ٤/٦۸ | ٤۳/۵۸ | ۸m |
| *T.alexandrinum* (۸۳۱۳) | کرج | ۱٦ | ۸ | ۰/۲۱ | ۰/۲۱٦ | ۱A | ۷/٦۹ | ٤۱/۸٦ | ۷m+۱sm |
| *T.glomeratum* (۵۱۵۸) | فرانسه | ۱٦ | ۸ | ۰/۱۸ | ۰/۱۰۷ | ۱A | ۳/۷۸ | ٤۵/۱۰ | ۸m |
| *T.subterraneum* (۷۵۸۵) | گرگان | ۱٦ | ۸ | ۰/۳۳ | ۰/۰۷٦ | ۲A | ۲/۵۳ | ۳۷/۹۹ | ٦m+۲sm |
| *T.subterraneum* (۷۵۹۳) | گرگان | ۱٦ | ۸ | ۰/۲۱ | ۰/۱۰۱ | ۱A | ۳/۸۹ | ٤۱/۷٦ | ۸m |
| *T.badium* (۵۱۵٦) | فرانسه | ۱٤ | ۷ | ۰/۳٤ | ۰/۱۳۵ | ۲A | ٤/۸۹ | ۳٦/۷۱ | ۵m+۲sm |
| *T.pratense* (۷۲٦۱) | کهکیلویه | ۱٤ | ۷ | ۰/۲٤ | ۰/۱٤۹ | ۱A | ٦/۲۳ | ٤۳/۰۲ | ۷m |
| *T.pratense* (۷۵۵٤) | کرد کوی | ۱٤ | ۷ | ۰/۲٦ | ۰/۱۲٦ | ۱A | ۵/۰٤ | ٤۲/۷۱ | ۷m |
| *T.hirtum* (۳۷۰٤) | استرالیا | ۱۰ | ۵ | ۰/۱۷ | ۰/۱٤ | ۱A | ۷/۵۰ | ٤۱/۵۲ | ۵m |
| *T.hirtum* (۳۷۲۰) | استرالیا | ۱۰ | ۵ | ۰/۲٤ | ۰/۱ | ۱A | ۵/۱۲ | ٤۲/۸۳ | ۵m |
| *T.repens* (Alice) | ایرلند | ۳۲ | ۸ | ۰/۲۲ | ۰/۰۹٦ | ۱A | ۲/٤۳ | ٤۳/۸۳ | ۱٦m |
| *T.repens* (Grass) | ایرلند | ۳۲ | ۸ | ۰/۱۹ | ۰/۰۷٦ | ۱A | ۱/۸۲ | ٤٤/۷٦ | ۱٦m |

(Intra Asymmetry chromosomal index) $A_1$ = : شاخص عدم تقارن درون کروموزومی

(Inter Asymmetry chromosomal index) $A_2$= : شاخص عدم تقارن بین کروموزومی

(Symmetry Classes) SC : کلاسهای تقارنStebbins

TF%: درصد فرم کلی، DRL : اختلاف دامنه طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم، VRC: میزان کروماتین نسبی

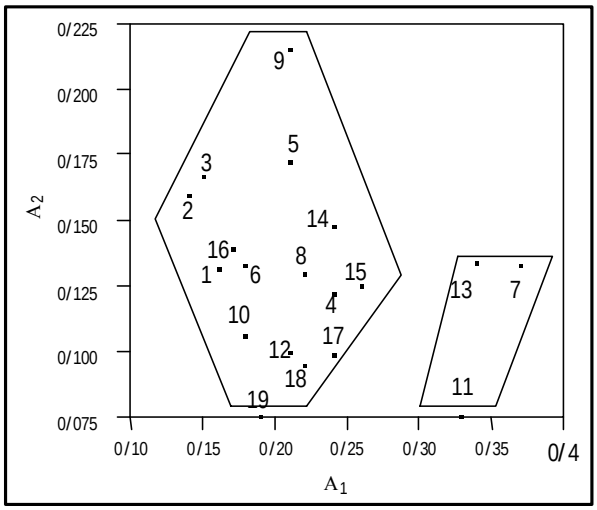


Archive of SID

www.SID.ir

تعداد کروموزوم *T.pratense* ۲n =۲X=۱٤ (منطقه کهکیلویه و بویر احمد و منطقه استان گلستان) X=۷ است که با نتایج بدست آمده توسط Sheidai و همکاران (۱۹۹۸) یکسان و با نتایج بدست آمده (X=۸) توسط دانشکده کشاورزی Yuxi (۱۹۹۳) متفاوت است که این امر با توجه به تفاوت واریته ها و وجود پایه های ۸ و X=۷ دراین گونه بدیهی می باشد. از نظر تیپ کروموزومی اکثر گونه های مورد مطالعه دارای کروموزومهای متاسانتریک هستند و در جدول دو طرفه Stebbins در کلاس ۱A قرار می گیرند که این نشان دهنده تقارن کاریوتیپی آنها می باشد. در حالیکه گونه های *T.hybridum* (۲۷), *T.badium* (۵۱۵٦) و *T.subterraneum* (۷۵۸۵) بیشترین مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی را نشان داد، و کلاس ۲A را بخود اختصاص می دهند. همچنین ژنوتیپهای فوق از لحاظ درصد TF نیز دارای کمترین مقدار است. بنابراین همه موارد فوق بنحوی مؤید یکدیگر بوده و نشان می دهد که کاریوتیپ سه ژنوتیپ مذکور در مقایسه با سایر ژنوتیپها نامتقارن تر بوده و در درجه بالاتری از تکامل قرار می گیرد. از نظر اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم (DRL) بیشترین مقدار (۷/٦۹) این پارامتر، به ژنوتیپ *T.alexandrinum* (۸۳۱۳) و کمترین مقدار (۱/۸۲) به *T.repens* (Grassland) تعلق دارد. روند تغییرات دو پارامتر DRL و$A_2$ (معرف پارامترهای نامتقارن بودن بین کروموزومی) در ژنوتیپهای مورد بررسی مقایسه شد و چون بین دو پارامتر فوق رابطه مستقیم و مثبتی وجود داشت لذا اندازه گیری یکی از دو پارامتر ذکر شده جهت تعیین تغییرات بین کروموزومی کفایت می کند. روند تغییرات دو پارامتر درصد TF و$A_1$ (بعنوان پارامترهای نامتقارن بودن درون کروموزومی) نیز در ژنوتیپهای مورد بررسی با داشتن رابطه معکوس نشان دهنده تغییرات درون کروموزومی می باشد که با اندازه گیری یکی از این دو پارامتر به میزان متقارن یا نامتقارن بودن کروموزومها پی خواهیم برد.

دیاگرام حاصل از پراکنش ژنوتیپها براساس مقادیر $A_1$ و $A_2$ نشان می دهد که ژنوتیپهای مورد بررسی از لحاظ تکامل کاریوتیپی به دو گروه کاملا مجزا از یکدیگر تعلق دارند بطوریکه ژنوتیپهای ۲۷، ۷۵۸۵ و۵۱۵٦ در یک گروه و بقیه ژنوتیپها در گروه دیگر قرار می گیرند (شکل شماره ٤).




شکل شماره٤ – دیاگرام پراکنش ژنوتیپها براساس دو پارامتر $A_1$ و $A_2$

۱-(۲۱۳۹) *T.fragiferum* ۲-(۳۱٤) *T.fragiferum* ۳-(۲۳۵۷)
٤-(۲۳٦۷) *T.resupinatum* ۵-(۵۷۹۷) *T.resupinatum*
٦-(۱۲۵۰) *T.resupinatum* ۷-(۲۷) *T.hybridum*
۸-(٤۳۹۰) *T.hybridum* ۹-(۸۳۱۳) *T.alexandrinum*
۱۰-(۵۱۵۸) *T.alexandrinum* ۱۱-(۷۵۸۵) *T.glomeratum*
۱۲-(۷۵۹۳) *T.subterraneum* ۱۳-(۵۱۵٦) *T.subterraneum*
۱٤-(۷۲٦۱) *T.badium* ۱۵-(۷۵۵٤) *T.pratense*
۱٦-(۳۷۰٤) *T.hirtum* ۱۷-(۳۷۲۰) *T.hirtum* ۱۸- *T.repens*
۱۹-(Alice) *T.repens* (Grass)

براساس جدول دوطرفه Stebbins نیز نتایج مشابهی بدست آمد بنحوی که ژنوتیپهای مورد مطالعه در دو کلاس ۱A و ۲A قرار می گیرند و ژنوتیپهای موجود در کلاس ۲A در مقایسه با ژنوتیپهای کلاس ۱A نامتقارن تر یا پیشرفته تر بنظر می رسند. پراکنش ژنوتیپهای مختلف براساس دو پارامتر $A_1$ و $A_2$ همراه با انواع مختلف تقارن های پیشنهادی توسط استبینز در شکل شماره۵ نشان داده شده



Archive of SID
www.SID.ir

است. همانگونه که ملاحظه می شود کلاسهای 1A و 2A در دو گروه مستقل قرار گرفته اند.

تجزیه واریانس داده های حاصل از صفات اندازه گیری شده در ۱۹ ژنوتیپ، براساس طرح کاملا تصادفی و با ۳ تکرار، نشان داد که بین ژنوتیپها از لحاظ کلیه صفات کروموزومی اختلاف معنی داری در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول شماره۲) که بیانگر وجود تنوع زیادی، بین ژرم پلاسمها از نظر صفات مورد مطالعه می باشد.

پس از تأیید اختلاف بین ژنوتیپها توسط تجزیه واریانس داده ها، با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن ژنوتیپها و گونه ها، مورد مقایسه و دسته بندی قرار گرفت. براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگینها که در جدول شماره ۳ آورده شده است، از نظر صفت طول کل کروموزوم (TL)، ژنوتیپهای ۳۷۰٤ و۳۷۲۰ بترتیب با میانگین طول کروموزوم ۳/۳۷ µm و ۳/۱۲ µm بیشترین ارزش میانگین را دارا بوده و این دو ژنوتیپ متعلق به گونه *T.hirtum* است که در جدول مقایسه میانگینها در یک گروه قرار دارند و با ژنوتیپهای دیگر در سطح ۱ درصد اختلاف معنی داری را نشان می دهند. علاوه بر این، ژنوتیپ ۵۱۵۸ با طول کروموزوم ۱/۸۲ µm، با کمترین میانگین طول کروموزوم بود، و بصورت جداگانه در یک گروه قرار گرفت، البته این ژنوتیپ با بسیاری از ژنوتیپهای دیگر همپوشانی نشان می دهد.

از لحاظ صفت طول بازوی بلند (LA) نیز شرایطی شبیه حالت قبل وجود دارد بطوریکه در اینجا نیز دو ژنوتیپ ۳۷۰٤ و ۳۷۲۰ بترتیب با طول بازوی بلند ۱/۷۵ µm و ۱/۷۹ µm دارای بیشترین میانگین و در یک گروه جداگانه قرار می گیرند و ژنوتیپ ۵۱۵۸ کمترین (۱/۰۰ µm) میانگین طول بازوی بلند را نشان می دهد.

از نظر طول بازوی کوتاه (SA)، همان ژنوتیپهایی که دارای بیشترین میانگین طول بازوی بلند هستند، در اینجا نیز بیشترین میانگین طول بازوی کوتاه را نشان می دهند و کمترین مقدار (۰/۸۰ µm) این صفت مربوط به ژنوتیپ ۲۷ از گونه *T.hybridum* می باشد. لازم بذکر است که تنوع در این صفت بیش از دو صفت قبلی مشاهده می شود.

در مورد سه صفت: نسبت بازوها (AR)، شاخص سانترومری (CI) و درصد شکل کلی (درصد TF)، بین ژنوتیپهای مختلف تنوع کمتری مشاهده می شود و اکثر آنها با هم همپوشانی نشان می دهند. نکته قابل ذکر اینکه سه گونه *T.hybridum* (۲۷)، *T.badium* (۵۱۵٦) و *T.subterraneum* (۷۵۸۵) از لحاظ هر سه صفت در گروههای مشابه قرار می گیرند که بیانگر شباهت بسیار زیاد این سه ژنوتیپ و اختلاف آنها با ژنوتیپهای دیگر است و چون این سه صفت بنحوی از طریق روابط درون کروموزومی بیانگر روابط تکاملی هستند، می توان گفت که این ژنوتیپها (۲۷،۵۱۵٦ و ۷۵۸۵ ) از نظر تکاملی شبیه بوده و با توجه به پائین بودن میزان درصد TF وCI، آنها در درجه بالاتری از تکامل کاریوتیپی، نسبت به ژنوتیپهای دیگر قرار می گیرند.

جدول شماره۲-تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی در ژنوتیپهای مورد مطالعه بر پایه طرح CRD (** اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ )

| منابع تغییرات | درجه آزادی | TL | LA | %LA | SA | %SA | L/S | CI | %TF |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ژنوتیپ | ۱۸ | ۰/٤۷** | ۰/۱٤** | ۱۰/۸٤** | ۰/۰۸** | ٦/۳۹** | ۰/۰٦** | ۰/۰۰۲۱** | ۲٤/۵۱** |
| خطا | ۳۸ | ۰/۰۵ | ۰/۰۱ | ۰/۰٦ | ۰/۰۱ | ۰/۰٦ | ۰/۰۱ | ۰/۰۰۰۳ | ۳/۳۰ |
| ضریب تغییرات(CV%) | | ۹/۱۸ | ۹/۰۷ | ۳/٤۰ | ۸/۹۷ | ٤/٤۳ | ۷/٤۹ | ٤/۰۷۳ | ٤/۲۵ |
| میانگین | | ۲/۳۱ | ۱/۲۸ | ۷/۳۱ | ۰/۹۸ | ۵/٦۱ | ۱/۳٤ | ۰/٤۲۹٤ | ٤۲/۷۲ |



Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۳- مقایسه میانگین ویژگیهای کاریوتیپی ژنوتیپهای مورد بررسی به روش دانکن در سطح ۵٪

| ژنوتیپ | TL | LA | SA | AR | CI | %TF |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *T.hybridum* (۲۷) | ۲/۱۹ cdefg | ۱/۲۹ cdef | ۰/۸۰ h | ۱/٦٥ a | ۰/٤۱ d | ۳٦/۳۷ d |
| *T.fragiferum* (۳۱٤) | ۲/۳۳ bcdef | ۱/۲٥ cdef | ۱/۰۷ bc | ۱/۱۷ c | ۰/٤٦ a | ٤٦/۱۹ a |
| *T.hybridum* (۱۲٥۰) | ۲/۲۲ cdefg | ۱/۲۳ cdef | ۰/۹۹ bcdef | ۱/۲٥ bc | ۰/٤٥ abc | ٤٤/۹۲ ab |
| *T.fragiferum* (۲۱۳۹) | ۲/۳۳ bcdef | ۱/۲۷ cdef | ۱/۰٦ bcd | ۱/۲۰ bc | ۰/٤٦ abc | ٤٥/٥٤ ab |
| *T.resupinatum* (۲۳٥۷) | ۲/۰۲ efg | ۱/۱۰ fg | ۰/۹۲ bcdefgh | ۱/۲۰ bc | ۰/٤٦ ab | ٤٥/۷۰ ab |
| *T.resupinatum* (۲۳٦۷) | ۲/۱۲ defg | ۱/۲۰ cdef | ۰/۹۲ cdefgh | ۱/۳۲ bc | ۰/٤۳ abc | ٤۳/۲۲ abc |
| *T.hirtum* (۳۷۰٤) | ۳/۳۷ a | ۱/۷٥ a | ۱/٤٤ a | ۱/۲۳ bc | ۰/٤۸ abc | ٤۲/۹۱ abc |
| *T.hirtum* (۳۷۲۰) | ۳/۱۲ a | ۱/۷۹ a | ۱/۳٤ a | ۱/۳۸ b | ۰/٤۳ bc | ٤۲/٦٦ abc |
| *T.alexandrinum* (٤۳۹۰) | ۱/۹۲ fg | ۱/۰۹ fg | ۰/۸٤ fgh | ۱/۲۹ bc | ۰/٤٤ abc | ٤۳/۷٤ abc |
| *T.badium* (٥۱٥٦) | ۲/٦٦ b | ۱/٥۱ b | ۰/۹۸ bcdefg | ۱/٦٦ a | ۰/٤۳ d | ۳٦/۷۱ d |
| *T.glomeratum* (٥۱٥۸) | ۱/۸۲ g | ۱/۰۰ g | ۰/۸۲ gh | ۱/۲۳ bc | ۰/٤٥ abc | ٤٥/۰۹ ab |
| *T.resupinatum* (٥۷۹۷) | ۲/٥۹ bc | ۱/۳۸ bcd | ۱/۰۹ b | ۱/۳۲ bc | ۰/٤٦ abc | ٤۲/۲٤ bc |
| *T.pratense* (۷۲٦۱) | ۲/۳۷ bcde | ۱/۳٥ bcde | ۱/۰۲ bcde | ۱/۳٤ bc | ۰/٤۳ abc | ٤۳/۲٤ abc |
| *T.pratense* (۷٥٥٤) | ۲/۱۳ defg | ۱/۲۲ cdef | ۰/۹۱ cdefgh | ۱/۳٥ bc | ۰/٤۳ bc | ٤۲/۷۰ abc |
| *T.subterraneum* (۷٥۸٥) | ۲/٤۸ bcd | ۱/٤۳ bc | ۰/۹٤ bcdefgh | ۱/٥۹ a | ۰/٤۳ d | ۳۸/۰۰ d |
| *T.subterraneum* (۷٥۹۳) | ۲/۱۲ defg | ۱/۱٤ efg | ۰/۹۰ cdefgh | ۱/۲۹ bc | ۰/٤٦ abc | ٤۲/٦۱ abc |
| *T.alexandrinum* (۸۳۱۳) | ۲/۰٦ defg | ۱/۱۰ fg | ۰/۸٦ efgh | ۱/۳۲ bc | ۰/٤٦ c | ٤۱/۸۳ c |
| | ۱/۹۹ efg | ۱/۱۰ fg | ۰/۸۹ defgh | ۱/۲٥ bc | ۰/٤٥ abc | ٤٤/۷٦ abc |
| *T.repens* (*Alice*) | ۲/۰۹ defg | ۱/۱۸ defg | ۰/۹۲ cdefgh | ۱/۳۰ bc | ۰/٤٤ abc | ٤۳/۸۳ abc |

جدول شماره٤- مقدار ویژه، درصد واریانس، درصد واریانس تجمعی و ضرایب بردارهای ویژه سه عامل اصلی حاصل از تجزیه به مؤلفه های اصلی براساس صفات کاریوتیپی

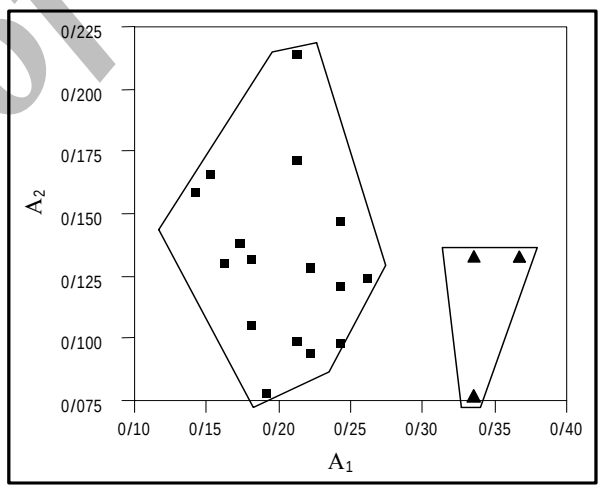
| صفت | مؤلفه۱ | مؤلفه۲ | مؤلفه۳ |
|---|---|---|---|
| | ۰/٤٥ | -۰/۰۳ | -۰/۲۹ |
| LA | ۰/٤٤ | -۰/۱۳ | -۰/۲۸ |
| %LA | ۰/٤۳ | -۰/۰۷ | ۰/۲٥ |
| SA | ۰/٤۲ | ۰/۱۹ | -۰/۳۳ |
| %SA | ۰/٤۲ | ۰/۱٤ | ۰/۲۳ |
| AR | ۰/۰۷ | -۰/٥۸ | ۰/۰۷ |
| CI | ۰/۰٥ | ۰/٥۱ | -۰/۰۷ |
| DRL | ۰/۲۳ | ۰/۱۷ | ۰/۷۷ |
| %TF | -۰/۱۱ | ۰/٥٤ | -۰/۱۰ |
| مقادیر ویژه | ٤/٤۸ | ۲/۸۱ | ۱/۰۱ |
| درصد از کل واریانس | ٤۹/۷٦ | ۳۱/۲۱ | ۱۱/۱۸ |
| درصد واریانس تجمعی | ٤۹/۷٦ | ۸۰/۹۷ | ۹۲/۱٥ |



Archive of SID

www.SID.ir

برای تعیین نقش هر یک از صفات کاریوتیپی مورد مطالعه در تنوع بین ژنوتیپها، تجزیه به مؤلفه های اصلی انجام که نتایج حاصل در جدول شماره ٤ درج شده است. بر این اساس ۳ مؤلفه اول در مجموع بیش از ۹۲ درصد از تنوع موجود بین ژنوتیپهای مورد مطالعه را شامل می شود. مقادیر ضرایب بردارهای ویژه در مؤلفه اول نشان می دهد که صفات طول کل کروموزوم (۰/٤٥)، طول بازوی بلند (۰/٤٤)، درصد نسبی طول بازوی بلند (۰/٤۳)، طول بازوی کوتاه (۰/٤۲) و درصد نسبی طول بازوی کوتاه (۰/٤۲) بیشترین نقش را در تشکیل این مؤلفه دارد. همچنین در مؤلفه دوم صفات شاخص سانترومری، نسبت بازوها و درصد شکل کلی بترتیب با مقادیر(۰/۵۱)، (۰/۵۸-) و (۰/٥٤) بیشترین سهم را در واریانس بین ژنوتیپها نشان می دهند.



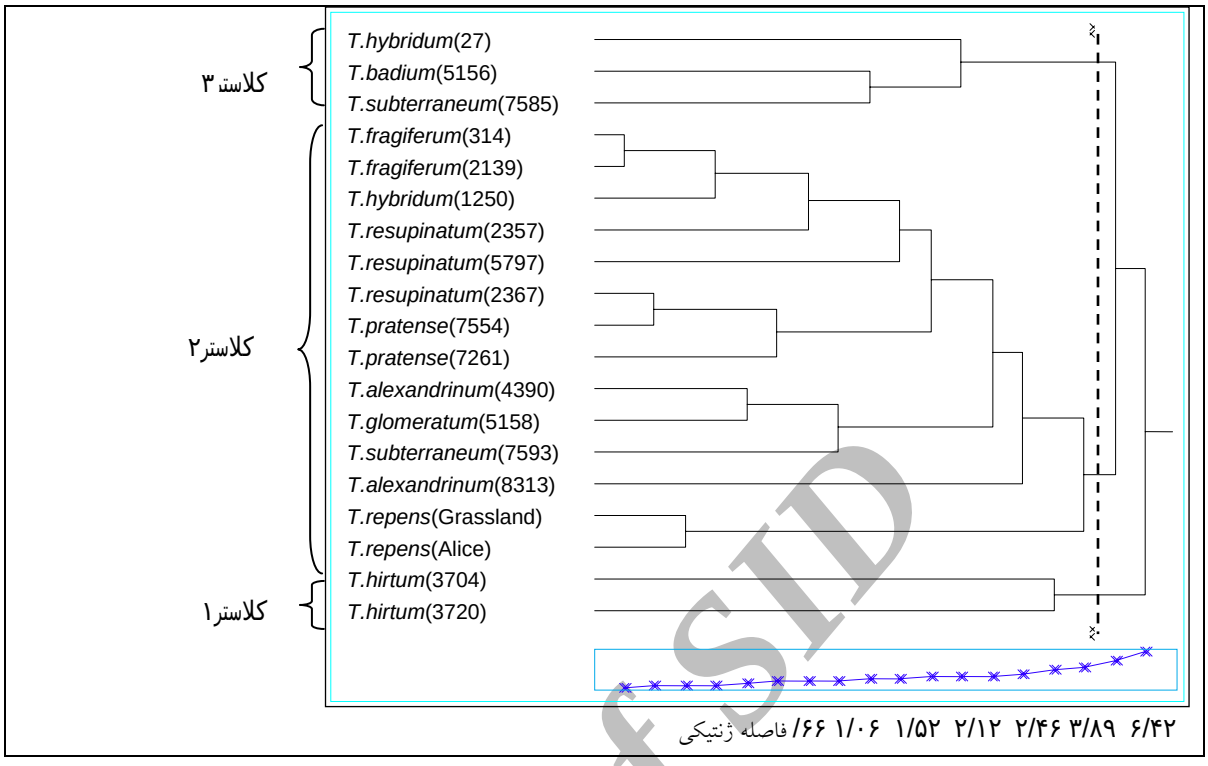

شکل شماره۵ -پراکنش ژنوتیپها و گونه ها براساس مقادیر $A_1$ و $A_2$ همراه با انواع تقارن پیشنهادی توسط استبینز: ▲- ژنوتیپهای متعلق به کلاس تقارن 1A و ■- ژنوتیپهای متعلق به کلاس تقارن 2A).

برای گروه بندی ژنوتیپها و گونه های مورد مطالعه براساس صفات کاریوتیپی، تجزیه کلاستر به روش UPGMA (شکل شماره٦) انجام شد که با برش دندروگرام در فاصله ژنتیکی ۳/۸۹، ژنوتیپها و گونه ها در سه کلاس مختلف قرار گرفتند. بر این اساس دو ژنوتیپ ۳۷۰٤ و ۳۷۲۰ از گونه *T.hirtum* با تعداد کروموزوم۲n=2x=۱۰ در کلاس۱ قرار گرفتند که این بیانگر اختلاف کاریوتیپی این دو ژنوتیپ با سایر ژنوتیپها است. با توجه به مواردی که قبلا ذکر شد می توان گفت تنها عاملی که سبب قرار گرفتن این دو ژنوتیپ در یک کلاس جداگانه می شود بالا بودن میانگینهای طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه آنها می باشد و همانطور که می دانیم این صفات بعنوان صفات مهم در مؤلفه اصلی اول می باشند و این دو ژنوتیپ بیشترین مقدار از این مؤلفه را دارا هستند. دو ژنوتیپ Grassland و Alice از گونه تتراپلوئید *T.repens* با تعداد کروموزوم ۲n=٤x=۳۲ نیر بهمراه گونه های *T.glomeratum, T.alexandrinum, T.resupinatum* *T.fragiferum, T.pratense* و دو ژنوتیپ *T.hybridum* (۱۲۵۰) و *T.subterraneum* (۷۵۹۳) در یک کلاس جداگانه (کلاس۲) قرار می گیرند. همچنین ژنوتیپهای *T.hybridum* (۲۷) و *T.subterraneum* (۷۵۸۵) با تعداد کروموزوم ۲n=2X=۱٦ و ژنوتیپ *T.badium* (٥۱٥٦) با تعداد کروموزوم ۲n=2X=۱٤ در کلاس ۳ قرار گرفتند. صفاتی که تشابه این سه ژنوتیپ را با یکدیگر و اختلاف اینها را با ژنوتیپهای دیگر نشان می دهند شامل نسبت بازوها، شاخص سانترومری و درصد شکل کلی است و با توجه به اینکه این سه صفت بیانگر تقارن درون کروموزومی و وضعیت تکاملی هستند بنابراین می توان نتیجه گرفت که این سه ژنوتیپ (۲۷ ، ٥۱٥٦ و ۷۵۸۵) از لحاظ تکامل کاریوتیپی شبیه یکدیگر بوده و تکامل یافته تر از سایر ژنوتیپها می باشند.

با توجه به اینکه یکی از کاربردهای تجزیه کلاستر تعیین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپها است نتایج حاصل از تجزیه کلاستر نشان می دهد که در بین ژنوتیپها و گونه های مورد مطالعه، کمترین فاصله ژنتیکی بین دو ژنوتیپ ۳۱٤ و۲۱۳۹ متعلق به گونه *T.fragiferum* است و دو ژنوتیپ ۲۷ از گونه *T.hybridum* و۳۷۰٤ از گونه *T.hirtum* بیشترین مقدار فاصله ژنتیکی را از یکدیگر دارند که نشان دهنده اختلاف کروموزومی دو گونه فوق است.

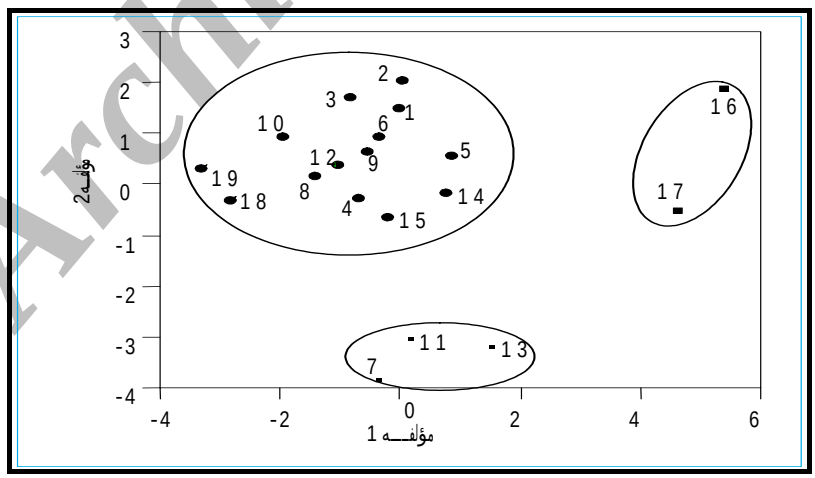


Archive of SID
www.SID.ir




شکل شماره٦ –دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش UPGMA براساس ۹ صفت کاریوتیپی جدول ٤

دیاگرام پراکنش ژنوتیپها براساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم در شکل شماره۷ نشان داده شده است. در این دیاگرام سه گروه متمایز قابل تشخیص هستند که این امر مؤید نتایج حاصل از تجزیه کلاستر است.



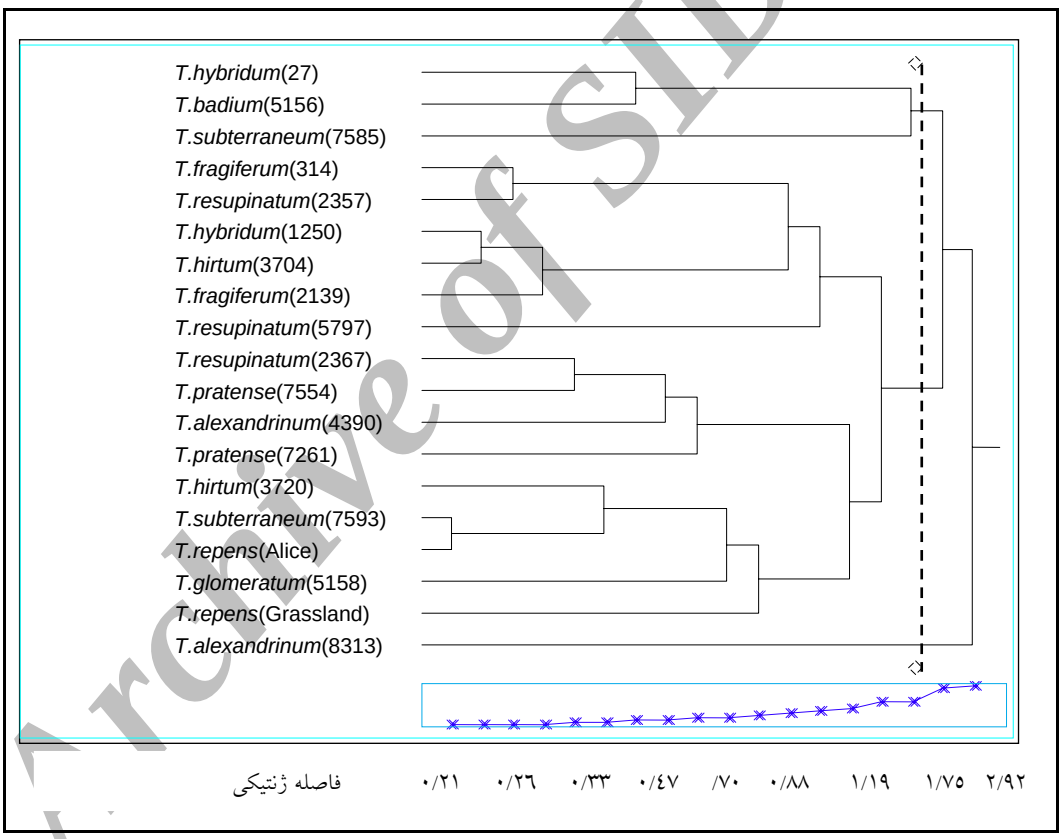

شکل شماره۷ –دیاگرام پراکنش ژنوتیپها براساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم

۱–(۲۱۳۹) *T.fragiferum* ۲–(۳۱٤) *T.fragiferum* ۳–(۲۳۵۷) *T.resupinatum* ٤–(۲۳٦۷) *T.resupinatum* ٥–(٥۷۹۷)
٦–(۱۲٥۰) *T.resupinatum* ۷–(۲۷) *T.hybridum* ۸–(٤۳۹۰) *T.hybridum* ۹–(۸۳۱۳) *T.alexandrinum* ۱۰–(٥۱٥۸)
۱۱–(۷٥۸٥) *T.glomeratum* ۱۲–(۷٥۹۳) *T.subterraneum* ۱۳–(٥۱٥٦) *T.subterraneum* ۱٤–(۷۲٦۱) *T.badium* ۱٥–
۱٦–(۳۷۰٤) *T.pratense* (۷٥٥٤) ۱۷–(۳۷۲۰) *T.hirtum* ۱۸–(Alice) *T.repens* ۱۹–(Grass) *T.repens*



Archive of SID
www.SID.ir

بمنظور گروه بندی ژنوتیپها از لحاظ تکاملی، تجزیه کلاستر (UPGMA) بر اساس دو پارامتر $A_1$ و $A_2$ (شکل شماره۸) انجام شد و بر این اساس با برش دندروگرام در فاصله ژنتیکی ۱/۷۵ ژنوتیپها از لحاظ تکاملی در سه گروه متمایز قرار می گیرند که دو ژنوتیپ *T.repens* (Alice) و *T.subterraneum* (۷۵۹۳) کمترین فاصله ژنتیکی را نشان می دهند و بیشترین مقدار فاصله ژنتیکی بین دو ژنوتیپ *T.hybridum* (۲۷) و *T.alexandrinum* (۸۳۱۳) مشاهده می شود. نتایج حاصل از تجزیه کلاستر براساس دو پارامتر $A_1$ و $A_2$، نتیجه بدست آمده را (شکلهای ۵ و۶ ) تایید می نماید با این تفاوت که در تجزیه کلاستر، ژنوتیپ *T.alexandrinum* (۸۳۱۳) در یک گروه مجزا قرار می گیرد که این امر را می توان به بالا بودن تغییرات بین کروموزومی و میزان بالای $A_2$ و DRL در ژنوتیپ مذکور نسبت داد.




شکل شماره۸ –دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش UPGMA براساس دو پارامتر $A_1$ و $A_2$

Archive of SID

## منابع:

1–Ansari, H.A., Ellison, N.W., Reader, S.M., Badaeva, E.D., Bernd Friebe, T.E. Miller and Williams, W.M. 1999. Molecular Cytogenetic Organization of 5S and 18S-26S rDNA Loci in White Clover (*Trifolium repens L.*) and Related Species. Annals of Botany. 83: 199-206.

2– Huziwara, Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of compositeae. VIII Further studies on the chromosome of Aster. Amer.J.Bot. 49: 116-119.

3–Issolah, R. and bdelguerfi, A.A. 1999. Chromosome numbers within some spontaneous



www.SID.ir

population of 10 *Trifolium* species in Algeria. Caryologia. 52: 151-154.

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

5–Löve, À., Löve, D. 1975**.** Plant Chromosomes. J.Cramer, in der A.R. Gantener verlag kommanditgesellschaft FL-9490 UADUZ.

6–Romero Zarco , C. 1986. A new method for estimating Karyotype asymmetry**.** Taxon. 36: 526-530.

7–Sheidai, M., Hamta, A., Jaffari Mofidabadi, A. and Noori Daloii, M.R. 1998. Karyotype study of *Trifolium* species and cultivars in Iran. J. Sci . I . R . Iran. 9: 215-222.

8–Stebbins, G.L.1971.Chromosomal evolution in higher plants. London ,Edward Arnold Publisher, Ltd.

9–Yuxi Agricultural College Annual Report, 1993. Karyotype analysis of *Trifolium pratense* and *T.repens*. Luoyang, Henan, China. Grassland-of - china. 3: 65-66.

Archive of SID



www.SID.ir

# Karyological Study on Some of Species of *Trifolium* genus in IRAN

**Hesamzadeh Hejazi, S.M., Ziaei Nasab, M.**

**Research Institute of Forests and Rangelands (gene bank), Tehran-IRAN**

## Abstract

The genus *Trifolium L.* ( Fabaceae ) an important member of forage plants comprises approximately 248 species. The germplasm used in this study containing 19 genotypes from 10 species of clover genus considered by Karyotypic studies. In this study, the Video Analysis System was used for karyotype analysis. The basic chromosome number was varied between X=5 (in two diploid genotypes), X=7 (in three diploid genotypes) and X=8 (in twelve diploid genotypes and two tetraploid genotypes). The genotypes number 7585, 27 and 5156 classified to symmetric class of 2A and others stand to 1A. The plot of genotypes, based on two parameters of $A_1$ and $A_2$, and symmetry types of Stebbins had the same results. The Results of analysis of variance based on completely randomized design(CRD) showed a significant differences among the genotypes for all traits (P<%1). Using principal component analysis, the first, second and the third component justify %92.15 of total variance. In the first component, the length of the long arm, long arm relative percentage, short arm, short arm relative percentage and the total length of chromosome which had the highest coefficients of eigen values also had the most significant role in total variance. In the second component the feature of the arm ratio, centromer index and total form percentage had the most important part in creating of total variance. By cutting dendrogram resulted from cluster analysis (UPGMA) based on 9 parameters (TL, LA, %LA, SA, %SA, AR, CI, DRL, %TF) in genetic distance 3.89, the genotypes classified to three classes which certainly the first and the second components had the most significant role in separated classes. In this study there was the highest distance between *T.hybridum* (27) and *T.hirtum*(3704) which imply the least affinity between them. There was the least karyotypic difference between two genotypes 314 & 2139 from the species of *T.fragiferum*. The diagram of the genotypes dispersion, based on two main components, classified the genotypes in three separated groups, supporting the results of cluster analysis. By cutting dendrogram produced from cluster analysis (UPGMA) based on 2 parameters ($A_1$ and $A_2$) in genetic distance 1.75, the genotypes classified to three classes.In this study there was the highest distance between *T.hybridum*(27) and *T.alexandrinum* (8313) which imply the least affinity between them. There was the least karyotypic difference between two genotypes *T.repens* (Alice) and *T. subterraneum*(7593) .

**Key words:** Cluster analysis, Cytogenetic, *Fabaceae*, Principal component analysis, *Trifolium,* Video Analysis System.

Archive of SID



www.SID.ir