مطالعه کاریوتیپی دو گونه *Lolium* و دورگهای بین گونه‌ای آنها

سیدعبدالسعید حسینی‌زاده[1]، حسین میرزایی ندوشن[2]، فرخ درویش[1] و شهین مهرپور[3]

۱- دانشگاه آزاد، واحد علوم تحقیقات تهران ۲- مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، E-mail: nodoushan2003@yahoo.com

۳- دانشگاه آزاد واحد قم

چکیده

در جنس *Lolium* گونه‌های مختلف ویژگیهای متفاوتی دارند. تولید دورگهای بین گونه‌ای این امکان را فراهم می‌سازد که صفات مطلوب هر دو گونه را در واریته‌ای از یک گونه این جنس وارد نموده و در نتیجه ترکیبی از صفات مطلوب را بدست آورد. در این راستا از طریق نجات جنین گیاهان دورگ بین دو گونه *L. perenne* و *L. rigidum* تولید شده که باید از حیث دورگ بودن یا نبودن مطالعه می‌شدند. به این منظور چهار ژنوتیپ دورگ (F_2 حاصل از چهار بوته دورگ F_1) به همراه والدین خود (گونه‌های *L. perenne* و *L. rigidum*) از نظر ویژگیهای کاریوتیپی و الکتروفورزی بررسی و مقایسه شدند. در مطالعه دورگها تنوع وسیعی از نظر تعداد کروموزوم و نیز سطح پلوئیدی مشاهده گردید. به منظور پی‌بردن به وجود اختلاف معنی‌دار میان ژنوتیپ‌ها و نیز بین کروموزومهای هر ژنوتیپ، داده‌های کاریوتیپی در قالب یک طرح فاکتوریل در طرح پایه کاملا تصادفی مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. تعداد کروموزومها در برخی از سلولهای مورد مطالعه در دورگها بسیار متغیر بود که ناشی از دورگ بودن این ژنوتیپ‌ها و عدم سازگاری مناسب ژنومی دو والد می‌باشد. از طرفی این پدیده در گونه *L. rigidum* که به‌عنوان یکی از والدین (والد پدری) به‌کار رفته است نیز در قبل مشاهده گردیده است و به نظر می‌رسد که این ویژگی از این والد نیز به‌جا مانده باشد. تعدادی از مؤلفه‌های‌های سنجش تقارن کاریوتیپی محاسبه گردید که از نظر TF%، P_1 دارای نامتقارن‌ترین کاریوتیپ و L_3 دارای متقارن‌ترین کاریوتیپ می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: *Lolium*، دورگ گیری بین گونه‌ای، سیتوژنتیک و میتوز.

مقدمه

یکی از روشهایی که در اصلاح نباتات مورد استفاده گسترده‌ای قرار گرفته است دورگ گیری بین گونه‌ای است. زمانی که مواد ژنتیکی لازم در طبیعت موجود نباشد و آنچه را که لازم است در ارقام بومی یافت نشود، بهترین وسیله متوسل شدن به دورگ‌گیری بین گونه‌ای است که به وسیله آن خواص مختلف دو گونه در یک گونه جمع می‌شود. گونه‌های متعلق به جنس *Lolium* به خوبی دورگ می‌شوند و دورگهای بین گونه‌ای متعددی از آنها گزارش شده است. گونه‌های *L. perenne*، *L. multiflorum* و *L. rigidum* به سادگی دورگ می‌شوند. دورگهای نسل اول آنها کاملا بارور هستند و جفت شدگی کروموزومی کاملی را نشان می‌دهند (میرجلیلی، ۱۳۸۱). گونه‌های مختلف *Lolium* از پررونق‌ترین گونه‌های گیاهی هستند که در مراتع با آب و هوای معتدل کشت می‌گردند. دلیل این رونق به‌طور عمده هضم پذیری بالا و کیفیت علوفه‌ای مناسب این گونه‌ها می‌باشد. یکی از راههای اصلاح و توسعه این گونه‌ها دورگ گیری است.

افزایش عملکرد علوفه، افزایش مقاومت به سرما، گرما، خشکی و بیماریها، از مهمترین اهداف اصلاحی *Lolium* و سایر گراسها می‌باشد. همچنین صفاتی از قبیل افزایش سرعت رشد در اوایل بهار و پاییز، دیرزیستی و توسعه فصل چرا، بهبود کیفیت علوفه و مقاومت به چرای دام جزو صفات مورد نظر اصلاحی گراسهای علوفه‌ای می‌باشند. بدیهی است که افزایش عملکرد علوفه در واحد سطح،

Archive of SID

www.SID.ir

همیشه از مهمترین اهداف در اصلاح نباتات بوده است. در جنس *Lolium* گونه‌های مختلف دارای ویژگیهای متفاوتی هستند که در صورت تجمع این صفات در واریته‌ای از یک گونه دائمی این جنس می‌تواند در افزایش سطح و دوره تولید مؤثر واقع شود. به‌همین دلیل انجام تلاقیهای بین گونه‌ای به‌منظور تولید دورگهای بین گونه‌ای می‌تواند در رسیدن به هدف مذکور مؤثر واقع شود.

Burner *et. al.* (1989)، مطالعات جامعی را درباره گونه‌های مختلف جنس *Lolium* و دورگهای بین آنها انجام دادند. آنها در مطالعاتشان دریافتند که بیشتر دورگهای بین گونه‌ای گرچه ارزش علوفه‌ای زیادی دارند، اما بی‌نظمی زیادی در فرایند تقسیم میوز آنها مشاهده می‌شود که با کاهش تشکیل بذر همراه است.

آمیزشهای بین گونه‌ای در هر دو سطح دیپلوئید و پلی پلوئید اهمیت دارند. به‌عنوان نمونه هیبریدهای تتراپلوئید گونه‌های *L. multiflorum* و *L. perenne* را می‌توان نام برد که توانایی مقاومت و پنجه‌زایی یک والد را با تولید زیاد و ارزش غذایی والد دیگر ترکیب می‌نماید. اینک با استفاده از ماده کلشیسین حتی آمیزشهای بین جنسی نیز امکان پذیر است. به‌عنوان مثال می‌توان صفات و مقاومت به سرمای گونه *Festuea arundinacea* (۲n=٦X=٤٢) را با صفت خوشخوراکی از گونه *L. multiflorum* (۲n=١٤) ترکیب نمود. در مورد برتری دورگهای حاصل از تلاقی بین گونه‌ای و بین جنسی گزارشهای متفاوتی داده شده است. از جمله در زمینه خوشخوراکی علوفه حاصل از دورگهای بین دو جنس *Lolium* و فستوکا و گونه‌های والدینی، میزان علوفه چرا شده از دورگ مذکور توسط دام بیش از علوفه چرا شده از گونه‌های والدینی بوده است (Hrivnak & Faber, 1990).

دو گونه *L. perenne* و *L. rigidum* از نظر تولید علوفه و نیز مقاومت به تنشهای محیطی با یکدیگر متفاوت عمل می‌کنند. گونه اول یک گونه علوفه‌ای است و بسیار خوشخوراک می‌باشد، ولی به کم آبی بسیار حساس است. در مقابل گونه دوم نسبت به کم آبی مقاومت بهتری از خود نشان می‌دهد، ولی از نظر علوفه اهمیت قابل توجهی ندارد. از این رو انتظار می‌رود که دورگهای بین این دو گونه دارای توانمندیهای خاصی باشند که ضمن افزایش تولید بتوانند در طرح‌های اصلاحی این گونه‌ها و جنس *Lolium* مؤثر واقع شوند. به‌همین دلیل دورگهای تولید شده باید از حیث دورگ بودن یا نبودن آزمون شوند. اخیرا توسط میرزایی ندوشن (۱۳۸۱)، دو رگهای بین گونه‌ای بین دو گونه مذکور ایجاد شده است. در مجموع چهار ژنوتیپ دورگ حاصل گردیده است که باید به‌همراه والدین خود از نظر ویژگیهای کاریوتیپی و قرابت ژنومی بررسی و مقایسه می‌شدند. به این منظور چهار ژنوتیپ دورگ حاصل که از طریق کشت جنین نارس و نجات جنین تولید شده‌اند باید به‌همراه والدین خود از نظر ویژگیهای کاریوتیپی بررسی و مقایسه شوند.

مواد و روشها

در این تحقیق در مجموع شش توده بذر مورد بررسی قرار گرفتند که دو نمونه مربوط به والدین و چهار نمونه دیگر بذرهای F_2 حاصل از چهار بوته دورگ F_1 می‌باشند. والدین شامل دوگونه *L. perenne* و *L. rigidum* می‌باشند که به‌ترتیب P_1 و R_4 نامگذاری گردیده‌اند. بوته‌های دورگ توسط میرزایی ندوشن (۱۳۸۱)، در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع و با استفاده از تکنیک نجات جنین تولید شده است که پس از بذرگیری از آنها در مجموع چهار توده بذر حاصل گردیده است. چهار نمونه بذر دورگ به‌ترتیب L_1، L_2، L_3 و L_4 نامگذاری گردیدند.

برای انجام مطالعات سیتوژنتیکی و مشاهده کروموزومها در مراحل مختلف تقسیم میتوز می‌بایست از بافتهای مریستمی که متشکل از سلولهای در حال تقسیم می‌باشند، استفاده شود. مناسب‌ترین مریستم، مریستم نوک ریشه است که به‌علت فقدان کلروفیل و سهولت تولید و

Archive of SID

www.SID.ir

تکثیر بر بافتهای مریستمی دیگر مزیت دارد. بدین منظور باید بهترین طول ریشه و مناسب‌ترین زمان جهت قطع آن تعیین شده و پس از دستیابی به بهترین روشها و موادی که در مورد گونه مورد نظر نتیجه مطلوب‌تری دارد، مناسب‌ترین شرایط برای مشاهده کروموزومها و انجام مطالعات سیتوژنتیکی فراهم آید.

تعداد ۱۰۰ عدد بذر، به‌مدت ۷-۵ دقیقه در داخل محلول قارچ کش بنومیل (۵۰٪ وزنی/حجمی) قرار داده شده و بعد بذرها روی دو لایه کاغذ صافی مرطوب و در داخل پتریدیش به‌طور یکنواخت توزیع شده و در شرایط مناسب حرارتی قرار گرفتند. بعد از ۳ تا ٤ روز بیشتر بذرها جوانه زده و تولید ریشه نمودند. وقتی طول ریشه‌ها به ۱/۵-۱ سانتیمتر رسید و در ساعات اولیه صبح به‌فاصلهٔ ۳۰ دقیقه یکبار، تعدادی از بذرهای ریشه‌دار شده در محلول پیش تیمار قرار داده شدند تا مناسب‌ترین زمان نمونه‌گیری تعیین شود. نتایج بعدی حاکی از آن بود که ساعت ۸ صبح مناسب‌ترین زمان جهت نمونه‌گیری بوده و سلولهای بیشتری در مرحله پرومتافاز و متافاز مشاهده گردیدند.

در این تحقیق از محلول α - برومونفتالین به‌مدت ۲/۵ ساعت در دمای ٤ درجه سانتیگراد به‌عنوان پیش تیمار استفاده شد. مدت زمان استفاده از محلول α-برومونفتالین با توجه به غلظت محلول و نوع گیاه متفاوت می‌باشد. جهت تثبیت مریستمها پس از خارج کردن از پیش تیمار کاملا با آب مقطر شستشو داده شده و پس از خشک نمودن، در داخل فیکساتیو فارمر (۱ به ۳ اسید استیک و الکل اتیلیک) به‌مدت ۲٤-۱۸ ساعت و در دمای ٤ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از عمل تثبیت برای نگهداری ریشه‌ها به‌مدت طولانی، آنها را از محلول تثبیت کننده بیرون آورده و پس از شستشوی کامل با آب مقطر، با کاغذ صافی خشک نموده و در الکل اتیلیک ۷۰٪ قرار داده شدند.

در این تحقیق از اسیدکلریدریک یک نرمال استفاده شد. ریشه‌ها پس از خارج شدن از الکل ۷۰٪ به‌خوبی با آب مقطر شسته و خشک شده و بعد به‌مدت ۵-۳ دقیقه در اسید کلریدریک یک نرمال که از قبل دمای آن با استفاده از حمام آب گرم به ٦۰ درجه سانتیگراد رسانده شده بود، قرار داده شدند. مدت هیدرولیز در مورد گیاهان مختلف متفاوت بوده و می‌بایست مورد آزمون قرار گیرد. پس از ۵-۳ دقیقه ریشه‌ها از اسید ٦۰ درجه سانتیگراد خارج شده و با آب مقطر به‌طور کامل شستشو گردیده و بعد از خشک نمودن توسط کاغذ خشک کن، برای رنگ آمیزی آماده شدند.

بعد از رنگ آمیزی ریشه‌ها توسط هماتوکسیلین به‌مدت ٤۵-۳۰ دقیقه و روی بخار آب ٦۰ درجه سانتیگراد، نمونه‌های میکروسکوپی از نوک ریشه تهیه گردیده و مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از رنگ آمیزی، ریشه را با پنس بر روی لام گذاشته و یک میلیمتر نوک آن را که منطقه مریستمی است با تیغ جدا کردیم. بعد با نوک سنجاق نوک ریشه جدا شده را له نموده و یک قطره اسید استیک ٤۵٪ بر روی آن ریخته و لامل را طوری که حباب هوا در زیر آن تشکیل نگردد، به آرامی بر روی آن قرار داده و توسط انتهای خودکار بیک و به‌طوری‌که لامل از جای خود حرکت نکند، چند ضربه آرام بر روی نمونه وارد نمودیم تا ضمن له شدن نوک ریشه، سلولها از یکدیگر جدا شده و حتی الامکان در یک سطح قرار گیرند. سلولهایی که در مرحله متافاز یا پرومتافاز بوده و کروموزومهای آن به‌خوبی پراکنده و حتی الامکان در یک سطح قرار داشتند با عدسی ۱۰۰ مشاهده و پس از تنظیم دقیق توسط فتومیکروسکوپ از آن عکسبرداری گردید. بعد به‌وسیله میکرومتر چشمی طول بازوهای بلند و کوتاه اندازه‌گیری شد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌های کاریوتیپی، از نرم افزار SAS استفاده شد. ابتدا داده‌ها به میکرون تبدیل شده و بعد بر اساس طول کل و همچنین طول بازوی بلند و طول

Archive of SID
www.SID.ir

بازوی کوتاه مرتب گردیده و کروموزومهای هومولوگ و ابعاد آنها تعیین گردیدند. تجزیه واریانس داده‌های کاریوتیپی صورت گرفت تا نشان دهد که میان نمونه‌های مورد مطالعه و همچنین میان کروموزومهای هر نمونه اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد یا خیر؟ همچنین وجود اثر متقابل میان ژنوتیپ‌ها و کروموزومها یا به‌عبارت دیگر وجود تفاوتهای ناهماهنگ میان اندازهٔ اجزاء کروموزومهای هم شماره در ژنوتیپ‌های مختلف مورد آزمون قرار گیرد.

در این تحقیق ژنوتیپ‌ها به‌عنوان فاکتور اول در ٦ سطح و کروموزومها به‌عنوان فاکتور دوم در ١٤ سطح در نظر گرفته شده و در قالب یک طرح فاکتوریل در طرح پایه کاملا تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. پس از مشاهده اختلاف معنی‌دار میان ٦ ژنوتیپ و همچنین میان کروموزومهای مختلف هر ژنوتیپ، با استفاده از روش دسته‌بندی دانکن، میانگین‌های مربوط به ابعاد کروموزومی در ٦ ژنوتیپ به‌طور جداگانه و همچنین میانگین هر یک از ١٤ کروموزوم هومولوگ بر اساس ابعاد کروموزومی در هر ٦ ژنوتیپ، دسته‌بندی شدند. تعدادی از مؤلفه‌های سنجش تقارن کاریوتیپی محاسبه گردید و با استفاده از آنها کاریوتیپ‌های نمونه‌های مورد مطالعه از نظر تقارن کاریوتیپی ارزیابی شدند.

نتایج و بحث

در مطالعه والدین مشخص گردید که هر دو والد دارای تعداد مساوی کروموزوم بوده و از نظر سطح پلوئیدی هر دو تتراپلوئید هستند. اگر چه در گونه *L. rigidum* سلولهایی با تعداد کروموزومهای متفاوت نیز در سطح محدودی مشاهده گردید. در دورگها همان‌طور که انتظار می‌رفت تنوع وسیعی از نظر تعداد کروموزوم و نیز سطح پلوئیدی مشاهده گردید. به‌عبارت دیگر سلولهای متعددی مشاهده گردیدند که حد واسط سطوح پلوئیدی دیپلوئید و تتراپلوئید بودند (شکلهای ١ – ٤). با این حال از آنجا که یکی از اهداف اجرای این بخش از مطالعات مقایسه کاریوتیپی والدین و نتاج از حیث ابعاد کروموزومی و سایر ویژگیهای کروموزومی بود، تعدادی از سلولهای متافازی دورگها که دارای تعداد مساوی کروموزوم با والدین بودند شناسایی شده و اندازه‌گیریهای مورد نظر روی کلیه کروموزومهای آنها صورت گرفت. از این رو ابعاد کروموزومی و مؤلفه‌های آماری ارائه شده در خصوص دورگها بر اساس سلولهایی است که تعداد کامل کروموزوم و برابر با والدین را دارا بودند. با توجه به وضعیت دورگها از نظر تعداد کروموزومهای متافازی دورگ بودن چهار ژنوتیپL1, L2, L3, L4 مورد تأیید قرار گرفت. به‌عبارت دیگر، بیشتر سلولها از نظر تعداد کروموزوم یک سطح مشخص پلوئیدی نداشتند و تعداد متفاوتی کروموزوم را دارا بودند که میان سطح هاپلوئیدی سلولهای والدینی و سطوح بالای پلوئیدی متغیر بود. ادامه مطالعات به‌نحو عمده جهت بررسی تفاوت میان دورگها و نیز میزان قرابت آنها با والدین مورد استفاده بود.

میان سطوح مختلف هر دو فاکتور (ژنوتیپ‌ها و کروموزومها) تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ١) که نشان می‌دهد ژنوتیپ‌ها و نمونه‌های مورد مطالعه از نظر اندازه کروموزومی با یکدیگر متفاوتند. همچنین کروموزومهای هر ژنوتیپ نیز از نظر اندازه با یکدیگر تفاوت دارند. این تفاوت در تمام ابعاد کروموزومی یعنی طول بازوی کوتاه، طول بازوی بلند و طول کل کروموزومها و همچنین در نسبت‌های میان بازوهای کوتاه و بلند در مورد ژنوتیپ‌ها و کروموزومهای هر ژنوتیپ، به‌طور معنی‌داری وجود دارد. اثر متقابل میان دو فاکتور نیز در مورد همهٔ مؤلفه‌های اندازه‌گیری شده، معنی‌دار می‌باشد. معنی‌دار شدن اثر متقابل این دو فاکتور بدان مفهوم است که تغییرات اندازه کروموزومها در ژنوتیپ‌های مختلف ثابت نبوده و به یک نسبت صورت نمی‌گیرد. به‌عبارت دیگر اندازهٔ اجزاء کروموزومهای هم شماره در ژنوتیپ‌های مختلف تغییراتی ناهماهنگ دارد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ابعاد کروموزومی والدین و دورگها.

منابع تغییرات	df	طول‌بازوی کوتاه (S)	طول‌بازوی بلند (L)	طول کل	S/L	L/S
ژنوتیپ	۵	۰/۳۲۲**	۲/٦۸۷**	۳/۱۲۱**	۰/۲٦۹**	۰/۸۰۹**
کروموزوم	۱۳	٤/۱۷۸**	۱۱/۵٦٦**	۲۹/٤۹۸**	۰/۰٦۳**	۰/۱۸۰**
اثرمتقابل	٦۵	۰/۱۷۲**	۰/۱٤٦**	۰/۲۲۳**	۰/۰٤۱**	۰/۱۵٤**
خطا	۳۳٦	۰/۰۵٤	۰/۰۵٦	۰/۰۹۰	۰/۰۱۲	۰/۰٤۳

** = معنی‌دار در سطح یک درصد * = معنی‌دار در سطح پنج درصد

هم والدین و هم در تعدادی از دورگها، سلولهای متافازی اندازه‌گیری شده ۲۸ کروموزوم مشاهده گردید که با توجه به اینکه پایه کروموزومی در جنس *Lolium* برابر ۷ است این سلولها و ژنوتیپ‌های والدینی تتراپلوئید محسوب می‌شوند. اندازه بازوهای کوتاه کروموزومهای والد P1 میان ۱/۳۲ تا ۳/۳۳ میکرون و والد دوم (R4) میان ۱/۳٦ تا ۲/۷۸، در دورگ شماره ۱ (L1) میان ۱/٤۳ تا ۲/۷۵، در دورگ شماره ۲ (L2) میان ۱/۵۷ تا ۳/۰۱، در دورگ شماره ۳ (L3) میان ۱/٦٤ تا ۲/۸۷ و در دورگ شماره ٤ (L4) میان ۱/۷۲ تا ۲/٤۵ میکرون متغیر است. به همین ترتیب دامنه تغییرات بازوی بلند کروموزومها و طول کل کروموزومها نیز محاسبه شده و در جدول ۲ ارائه گردیده است. دامنه تغییرات طول بازوهای کوتاه در ژنوتیپ L4 و دامنه تغییرات طول بازوی بلند در ژنوتیپ R4 و دامنه تغییرات طول کل کروموزوم نیز در ژنوتیپ R4 کمتر از بقیه ژنوتیپ‌ها می‌باشد. همچنین دامنه تغییرات طول بازوی کوتاه در P1 و دامنه تغییرات طول بازوی بلند در ژنوتیپ L1 و دامنه تغییرات طول کل کروموزوم نیز در ژنوتیپ P1 بیشتر از ژنوتیپ‌های دیگر است.

جدول ۲- خصوصیات کروموزمی ژنوتیپ‌ها

ژنوتیپ	دامنه تغییرات بازوهای کوتاه	دامنه تغییرات بازوهای بلند	طول کل کروموزوم
P_1	۱/ ۲	۲/٤۸	٤/٤۹
R_4	۱/٤۲	۱/۳۲	۲/٦۳
L_1	۱/۳۲	۲/٦٦	۳/۹٦
L_2	۱/٤٤	۱/۹٦	۳/۲
L_3	۱/۲۳	۱/۸۲	۳/۰۵
L_4	۰/۷۳	۱/۹۵	۲/٦۵

تعدادی از مؤلفه‌های سنجش تقارن کاریوتیپی شامل درصد شکل کلی $(TF\%)$، اختلاف دامنه طول نسبی (DRL)، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزم $(S\%)$، طول یکسری کامل کروموزومی بر حسب میکرون (TL) و نسبت طول کل کوتاه‌ترین کروموزم به طول بلندترین کروموزوم جهت سنجش تقارن کاریوتیپی نمونه‌های مورد بررسی محاسبه گردیده و در جدول ۳ ارائه شده است. براساس این جدول از نظر $TF\%$ والد شماره ۱ (P_1) کمترین مقدار و دورگ شماره ۳ (L_3) بیشترین مقدار را نشان می‌دهند. در نتیجه P_1 دارای نامتقارن‌ترین کاریوتیپ و L_3 دارای متقارن‌ترین کاریوتیپ می‌باشد. از آنجا که مقادیر $TF\%$ همگی به ۵۰ نزدیک است، کروموزومها بیشتر از نوع متاسانتریک می‌باشند. در مورد DRL، ژنوتیپ‌های P_1 و L_1 با مقدار ۵/۸ نامتقارن‌ترین و ژنوتیپ‌های R_4 و L_4 با مقدار ۳/۹ متقارن‌ترین کاریوتیپ را دارند. از نظر S% ژنوتیپ P_1 دارای کمترین مقدار و ژنوتیپ L_4 دارای بیشترین مقدار می‌باشد. مقادیر محاسبه شده TL و میانگین طول کل کروموزومها نشان می‌دهد که والد شماره ۱ (P_1) بیشترین مقدار و والد شماره ۲ (R_4) کمترین مقدار را به خود اختصاص داده‌اند. مقادیر مربوط به این دو مؤلفه در مورد کلیه ژنوتیپ‌های دورگ (L_4, L_3, L_2, L_1) حدواسط والدین قرار گرفته است.

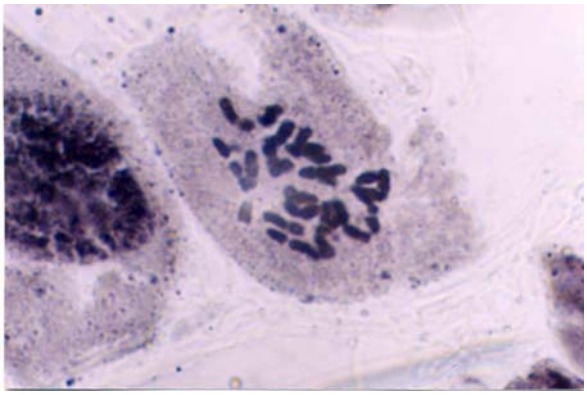
Archive of SID

www.SID.ir

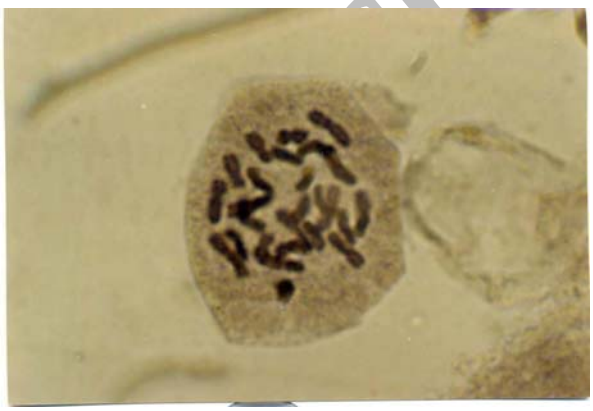
جدول ۳- مؤلفه‌های سنجش تقارن کاریوتیپی .*TF%*= درصد شکل کلی. *DRL*= اختلاف دامنه طول نسبی کروموزومها. *S%*= طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم. TL = طول یکسری کامل کروموزومی برحسب میکرون. *S/L*= نسبت طول کل کوتاه‌ترین کروموزوم به طول بلندترین کروموزوم. Sat. = تعداد کروموزومهای دارای ماهواره.

ژنوتیپ	TF%	DRL	S%	TL	S/L	میانگین کل	Sat.	فرمول کاریوتیپی
P_1	۳۹/۵	۵/۸	٤/۲	۷٦/۷۹	۰/٤۲	۵/٤۸	۲	۱۱m+۳Sm
R_4	٤۲/۳	۳/۹	۵/۳	٦٦/۵۳	۰/۵۷	٤/۷۵	۰	۱٤m
L_1	٤۳/۰	۵/۸	٤/۵	٦۸/٤۵	۰/٤٤	٤/۸۹	۱	۱٤m
L_2	٤٤/۰	٤/۸	۵/۰	٦۷/٦۹	۰/۵۲	٤/۸۳	۱	۱۳m+۱Sm
L_3	٤٤/۹	٤/٤	۵/۰	٦۹/۷۲	۰/۵٤	٤/۹۸	۰	۱٤m
L_4	٤٤/۰	۳/۹	۵/٤	٦۸/۰۳	۰/۵۸	٤/۸٦	۱	۱٤m

شکلهای ۱ تا ٤ کروموزومهای متافازی برخی از دورگها را نشان می‌دهند. تعداد کروموزومها در برخی از سلولهای مورد مطالعه بسیار متغیر بود که ناشی از دورگ بودن این ژنوتیپ‌ها و عدم سازگاری مناسب ژنومی دو والد می‌باشد. از طرفی این پدیده در گونه *L. rigidum* که به‌عنوان یکی از والدین (والد پدری) بکار رفته است نیز در قبل مشاهده گردیده است و به نظر می‌رسد که این ویژگی از این والد نیز به جا مانده باشد. تعداد کروموزمهای مشاهده شده در سلولهای متعدد ژنوتیپ‌های دورگ مشاهده گردید، تعداد کروموزوم در بسیاری از نمونه‌های مورد مطالعه در دورگها نه تنها مضربی از عدد ۷ نیست، بلکه بسیار متغیر بوده و از کمتر از ۱٤ عدد تا بیش از ٤۰ عدد کروموزوم در این سلولها مشاهده می‌شود که این پدیده ضمن تأیید دورگ بودن ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌تواند از عدم سازگاری کافی ژنوم دو والد ناشی شده باشد. به عبارت دیگر در آنافاز I تقسیم میوز جدا شدن کروموزومهای هومولوگ از یکدیگر و مهاجرت آنها به قطبین سلول با بی‌نظمی صورت گرفته و به پیدایش سلولهای جنسی با تعداد کمتر یا بیشتر از n=۱٤ کروموزوم در دورگها منجر گردیده است که پیامد آن علاوه بر تولید بذرهای با کاریوتیپ‌های متغیر کاهش باروری و افت تولید مثل بوته‌های دورگ نیز می‌باشد.



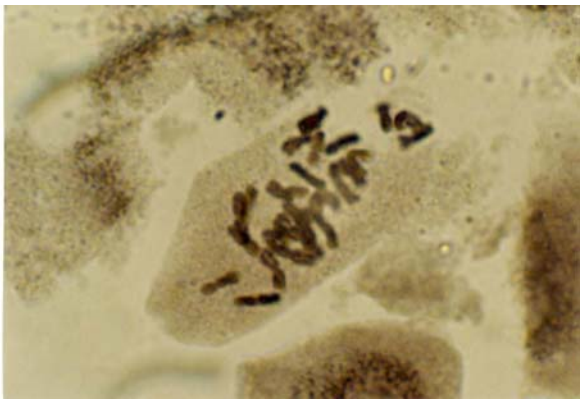
شکل ۱- کروموزومهای متافازی دورگ شماره ۱ (۲n=۲۷)



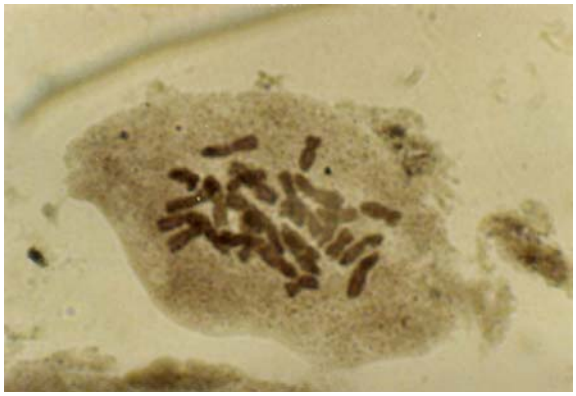
شکل ۲- کروموزومهای متافازی دورگ شماره ۲ (۲n=۲۵)

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳- کروموزومهای متافازی دورگ شماره ۲ (۲n=۲۵)



شکل ٤- کروموزومهای متافازی دورگ شماره ۳ (۲n=۲٦)

منابع مورد استفاده

میرجلیلی، ع.، ۱۳۸۱. بررسی تاکسونومی و سیتوتاکسونومی جنس *Lolium* در ایران. رساله دکتری، دانشگاه اصفهان.

میرزایی ندوشن، ح.، ۱۳۸۱. تلاقی میان گونه‌ای در جنس *Lolium* SPP. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۹: ۳۹-٤۸.

Burner, D.M., Eizenga, G.C., Buckner, R.C. and Burrus, P.B. 1989. Meioticinstability of tall fescue X giant fescue amphiploids. Crop Science, 29: 1484-1486.

Hrivnak, J., and Faber, M. 1990. Palatability and intake of herbage of some grass cultivars. Scientia Agriculturae Bohemoslovaca. 22:109-114.

Investigating karyotypic characteristics of two *Lolium* species and their interspecific hybrids

S.A. Hosseinizadeh[1], H. Mirzaie-Nodoushan[2], F. Darvish[1], Sh. Mehrpour[3]

1- Islamic Azad University

2- Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran. E-mail:nodoushan2003@yahoo.com

3- Islamic Azad University, Ghom

Abstract

Lolium species have different characteristics. Interspecific hybridization would facilitate the integration of valuable characteristics into one variety. In this regard several interspecific hybrid plants were produced between *Lolium perenne* and *L. rigidum* through embryo rescue. For verification of hybridization four interspecific hybrids along with their parents were investigated for their karyotypic characteristics. There was a vast variability in chromosome number in the hybrids. To detect the differences between the genotypes and their chromosomes the data were analyzed in a factorial statistical model with the base design of completely randomized design. The differences between the numbers of chromosomes in the hybrids indicated the incompatibility between the genomes of the two parents as well as confirming the hybridization. On the other hand, this phenomenon is common in *L. rigidum* which was used as the male parent. It seems this phenomenon was a heritage from the male parent. A number of parameters were estimated to investigate the karyotypic symmetric of the genotypes whose TF% indicated that one of the parents (P1) has the most asymmetric karyotype and one of the hybrid genotypes (L3) has the most symmetric karyotype.

Key words: *Lolium,* Interspecific hybridization, Cytogenetics and Mitosis.

Archive of SID

www.SID.ir