تولید ژنوتیپهای آتوتتراپلوئید در چچم و مقایسه آنها با چچم‌های دیپلوئید[1]

حسین میرزایی ندوشن[2]

چکیده

بذر و گیاهچه‌های جوان چند جمعیت از گونه‌ای از چچم، *Lolium rigidum*، در معرض محلول ۰/۲ درصد کلشیسین قرار گرفتند. پس از ۴ ساعت با آب مقطر شستشو داده شده و در گلدان کاشته شدند. پس از رشد کامل گیاهان مورد نظر و تولید بذر، از هر بوته بطور جداگانه بذرگیری شد. تعدادی از بذور تمامی تک بوته‌ها مورد مطالعات سیتوژنتیک قرار گرفته و از نظر تعداد کروموزوم و کاریوتیپ مورد مطالعه قرار گرفتند. تعدادی از بذور هر بوته نیز در سال بعد کاشته شده و مورد مطالعات مورفولوژیک و سیتوژنتیک قرار گرفتند. از بوته‌هایی که با توجه به مطالعات سیتوژنتیک و شمارش کروموزومی، پلی‌پلوئید بودنشان قطعی و مسجل بود بذرگیری شد. این بذور در سال سوم در کنار تعداد دیگری از جمعیتهای دیپلوئید و تتراپلوئید گونه‌های مختلف چچم از جمله جمعیت‌های والدینی در قالب یک طرح مزرعه‌ای بلوکهای کامل تصادفی کاشته شده و مورد مطالعات مورفولوژیکی قرار گرفتند.

بوته‌های مورد تاثیر کلشیسین، در زمان گلدهی واکنشهای متفاوتی از نظر صفات ظاهری از خود نشان دادند که عمده‌ترین آنها چند شاخه‌ای شدن گل آذین آنها می‌باشد.

۱- مقاله حاضر بخشی از نتیجه یک طرح تحقیقاتی ملی، مصوب و حمایت شده توسط دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد.

۲- عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، صندوق پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵

نتاج حاصل از تعدادی از این بوته‌ها، از نظر شمارش کروموزمی آتوتتراپلوئید بوده و تعدادی دیگر سطوح متفاوتی از آنیوپلوئیدی را از خود نشان دادند. از نظر صفات مورفولوژیکی بین نتاج تتراپلوئید و والدین دیپلوئید آنها تفاوتهای قابل توجهی مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: چچم *Lolium rigidum*، آتوتتراپلوئید، کلشیسین و سیتوژنتیک.

مقدمه و کلیات

گونه‌های مختلف جنس چچم از پر رونق‌ترین گونه‌های گیاهی هستند که در مراتع با آب و هوای معتدل کشت می‌گردند. دلیل این رونق بطور عمده هضم پذیری بالا و کیفیت علوفه‌ای مناسب این گونه‌ها می‌باشد. یکی از راههای اصلاح و توسعه این گونه‌ها، علاوه بر دورگ گیری و انتخاب از بین جمعیتهای متنوع طبیعی و مصنوعی موجود استفاده از امکان پلی‌پلوئید کردن ژنوتیپهای موجود است.

اهمیت پلی پلوئیدی

دلایل متعددی دال بر مزیت پلی‌پلوئیدها بر دیپلوئیدها وجود دارد. شاید مهمترین آنها این باشد که پلی‌پلوئیدها می‌توانند بیش از دیپلوئیدها هتروزیگوت باشد. هر تتراپلوئید می‌تواند دارای چهار آلل مختلف از یک ژن در یک مکان ژنی باشد. درجهٔ هتروزیگوسیتی می‌تواند یک عامل اساسی در رشد، عملکرد و سازگاری بهتر یک پلی‌پلوئید باشد. آلوپلی‌پلوئیدها می‌توانند دارای سطح به مراتب بیشتری از هتروزیگوسیتی باشند که به نوبهٔ خود می‌تواند در ایجاد هتروسیس مشارکت کند. نکتهٔ دیگر اینکه در آلوپلی‌پلوئیدها می‌توان هتروزیگوسیتی را تثبیت نمود. چرا که در تقسیم

میوزکروموزومهایی که از یک گونه خاص منشاء گرفته‌اند. همیشه تمایل به جفت شدن با همردیف خود که از همان گونه منشاء گرفته است دارند. در نتیجه آللهائی که از دو گونهٔ متفاوت در آلوپلی‌پلوئیدها جمع شده‌اند بطور مداوم در ژنوم این نوع پلی‌پلوئیدها حضور خواهند داشت.

اثر پلی پلوئیدی بر ویژگیهای مختلف چچم

پلی پلوئیدی تاثیر زیادی بر ویژگیهای مورفولوژیک، فنولوژیک و نیز عملکرد علوفه‌تر و خشک گیاهان مختلف می‌گذارد. تاثیر پلی پلوئیدی بر ویژگیهای گونه‌های مختلف چچم به تفصیل توسط میرزایی ندوشن و ندر خانی (۱۳۷۹) مورد بحث قرار گرفته است. اثرات مثبت و منفی آتو و آلوپلی پلوئیدی روی ویژگیهای مذکور توسط تعداد زیادی از محققین نیز مورد تایید قرار گرفته است (Francis و همکاران (۱۹۹۰)، Hassan و همکاران (۱۹۹۱)، Jones و همکاران (۱۹۹۱)، Hides و همکاران (۱۹۹۶)، Lantinga و همکاران (۱۹۹۶)).

کاربردهای ویژه پلی‌پلوئیدها

غلبه بر موانع دورگ گیری : در پاره‌ای از اوقات به دلیل تفاوت در سطح پلوئیدی دو گونهٔ مختلف، تلاقی بین آنها امکان پذیر نیست. در حالی که صفات مطلوبی در یکی از دو گونه وجود دارد که می‌تواند دیگری را تکمیل کرده و بهبود بخشد. اینگونه موانع از عدم تعادل در آندسپرم تخم حاصل از تلاقی ایجاد می‌گردد. در این چنین موارد، بذر حاصل فقط زمانی توسعه و تکامل پیدا می‌کند که نسبت ۲ به ۱ از ژنوم مادری به پدری در ریختهٔ ارثی آندسپرم وجود داشته باشد. این حالت، حالت نرمال در تلاقیهائی است که هر دو والد دیپلوئید هستند. بذوری که این نسبت نداشته باشند یا به صورت توسعه نیافته باقی می‌مانند و یا قبل از رسیدگی کامل سقط شده و از بین می‌روند (Sanford،

۱۹۸۳). در هر صورت گاهی با دستکاری کردن سطح پلوئیدی یکی از گونه‌هائی که دارای مانع پلوئیدی در تلاقی با گونه دیگری می‌باشد می‌توان مانع را از سر راه برداشت و دورگ زایا تولید نمود.

تولید دورگهای عقیم: تولید دورگهای عقیم کاربردهای زیادی در عالم گیاهی پیدا کرده است. از جمله اینکه گاهی اوقات وارد کردن یک گونهٔ خاص به یک منطقهٔ جدید جهت استفادهٔ محدود به هجوم آن در اکوسیستم جدید خواهد انجامید، در چنین مواردی تولید پایه‌های عقیم از گونهٔ مورد نظر می‌تواند مانع از گسترش آن گردد و بدون اینکه بذر قابل رویشی از آن تولید شود، در کاربردهائی نظیر منظر سازی و غیره بکار گرفته شود. روشهای مختلفی جهت تولید گیاهان عقیم که قادر به تولید بذر زایا نباشند وجود دارند. یکی از سریع‌ترین و ارزان ترین روشها تولید گیاهان پلی‌پلوئید می‌باشد. در بسیاری از حالتها گیاهان پلی‌پلوئید از جنبه‌های مختلف زیستی مشابه دیپلوئیدها عمل می‌کنند. در تولید مثل و هنگام تقسیم میوز، بسیاری از پلی‌پلوئیدها دارای نقایص زیادی هستند که موجب عقیمی آنها می‌گردد. این پدیده در آتو پلی‌پلوئیدها تشدید می‌شود چراکه در این گیاهان، چندین کروموزوم همولوگ از هر کروموزوم وجود دارند و چنانکه توضیح داده شد موجب پیچیدگی در تقسیم میوز می‌گردد و به همین دلیل گامت طبیعی نر و ماده یا تشکیل نمی‌شود و یا اگر تشکیل شوند فراوانی آنها بسیار ناچیز است. لازم به ذکر است که در یک گیاه آتو پلی‌پلوئید، فراوانی گامتهای طبیعی که دارای پایه کروموزومی n، ۲n یا ۳n باشند به تعداد کروموزومهای پایهٔ آن گیاه بستگی دارد. هر چه تعداد کروموزمهای پایه یک گونه بیشتر باشد احتمال تشکیل گامتهای طبیعی n، ۲n و ۳n کروموزومی کمتر می‌شود. از این گذشته، در صورتی که هر یک از گامتها با گامت ماده‌ای تلاقی یابد که حاصل آن یک گیاه پلی‌پلوئید باشد دوباره مشکل نازائی ایجاد می‌گردد. در این حالت، تنها در صورتی که گامت نر n کروموزومی با گامت مادهٔ n کروموزومی (که احتمال تشکیل هر دو بسیار ضعیف است) تلاقی یابند می‌توان انتظار

داشت که بذر دیپلوئیدی حاصل شود که زایا بوده و قادر به رویش و تولید گیاه کامل باشد. البته به رغم همهٔ این پیچیدگیها، در بعضی از گونه‌های گیاهی پایه‌های آتوتتراپلوئید می‌توانند تولید بذور زایا بنمایند که در این حالت نیز می‌توان با تلاقی آنها با پایه‌های دیپلوئید، پایه‌های تریپلوئیدی تولید نمود که عقیم باشند. تریپلوئیدها دارای مشکل تولید مثلی دیگری نیز می‌باشند و آن اینکه در تقسیم میوز، سه سری کروموزومی نمی‌توانند به طور تصادفی به صورتی تقسیم و به قطبین بروند که تشکیل گامتهائی با یک یا دو سری کامل کروموزومی را بدهند. در این صورت، سطوح مختلف آنیوپلوئیدی ایجاد می‌شود که بیشتر آنها در نوع خود عقیم هستند. حتی در حالتهای بسیار نادر، وقتی یک گیاه تریپلوئید بذر تولید می‌کند، بذور حاصل، قابل رویش نبوده و اگر رویش یابند نهالهای حاصل کمتر زنده می‌مانند. البته در بعضی از گونه‌های گیاهی به دلیل وجود مکانیسمی که مانع رشد و توسعه و تشکیل جنین تریپلوئید می‌گردد و اصولاً بذر تریپلوئیدی تشکیل نمی‌گردد ولی تکنیک نجات جنین که با کشت جنینهای نارس (قبل از سقط شدن) در محیط کشت مصنوعی و در شرایط ایزوله انجام می‌شود، امکان تولید جنین تریپلوئید را نیز منتفی نکرده است.

روش دیگری توسط Ranney (۲۰۰۱) در تولید پایه‌های تریپلوئید در گونه‌هائی که دارای موانع تشکیل تریپلوئید در روشهای رایج هستند پیشنهاد شده است. در این روش از آندسپرم بذور دیپلوئید استفاده شده و به طریق کشت بافت از این بخش از بذر که اغلب تریپلوئید است می‌توان کالوس و در نهایت گیاه تولید نمود. لازم به توضیح است که در بیشتر گونه‌های گیاهی، جنین بذر دیپلوئید است در حالی که آندسپرم که بخش ذخیرهٔ مواد غذائی بذر است از ترکیب سه هسته‌هاپلوئیدی به وجود می‌آید که در نهایت به یک بافت تریپلوئید ختم می‌گردد.

ایجاد باروری در دورگهای متباعد: همانگونه که پلی‌پلوئیدها گاهی به منظور ایجاد عقیمی و جلوگیری از تولید بذر توسط یک گونهٔ گیاهی بکار گرفته می‌شوند در پاره‌ای از

موارد، از پلی‌پلوئیدی جهت ایجاد باروری در دورگهای عقیم استفاده می‌شود. زمانی که بین دو گونهٔ دور از هم دورگ گیری شود در بسیاری از موارد دورگ حاصل نازا است. بدیهی است که نازایی، به دلیل عدم وجود کروموزوم‌های همولوگ می‌باشد. از این رو با دو برابر کردن تعداد کروموزومهای این دورگها، آلوپلی‌پلوئید حاصل می‌شود و هر کروموزوم دارای همولوگ شده و تقسیمات سلولی نیز در چنین حالتی قابل انجام می‌باشد و بدین صورت باروری به آن گیاه باز می‌گردد.

ایجاد مقاومت به آفات و تنشهای محیطی: راهکارهای متعددی وجود دارد که بوسیلهٔ آن می‌توان با استفاده از القای پلی‌پلوئیدی مقاومت به آفات را افزایش داد. افزایش تعداد کروموزومها و تکثیر ژنهای مربوطه در یک گونه گیاهی ممکن است به افزایش بروز صفات و نیز غلظت متابولیتهای ثانویه خاصی گردد که نقش دفاعی را در گیاه به عهده دارند. به عنوان مثال چچم آتوتتراپلوئید دارای مقاومت بهتری به بیماریهاست و کربوهیدراتهای ساختمانی بیشتری از دیپلوئیدهای مترادف خود دارد. البته این اتفاق عمومی نیست و ارتباط بین دو ژن و تظاهر متابولیتهای ثانویه هنوز به خوبی شناخته نشده است. یکی از ویژگیهای منحصر به فرد آلوپلی‌پلوئیدها این است که متابولیتهای ثانویه از گونه‌های والدینی اغلب افزایشی هستند. به این مفهوم که آلوپلی‌پلوئیدها اغلب همهٔ آنزیمها و متابولیتها از جمله مواد شیمیایی که جهت دفاع، گیاه از خود تولید می‌کند را از هر دو والد خود تولید می‌کنند و به این ترتیب به نحو مؤثری مقاومت به چندین آفت را با هم خواهند داشت و به طور بالقوه دارای مقاومت گسترده‌تر به آفات و امراضی گیاهی هستند. به عبارت دیگر مقاومت به آفات و امراض در آلوپلی‌پلوئیدها افقی‌تر است تا دیپلوئیدها. از همین مکانیسم نیز می‌توان جهت مقابله با تنشهای محیطی استفاده نمود (Ranney، ۲۰۰۱).

مواد و روشها

مواد گیاهی

ابتدا بخشی از بذور لازم از بانک ژن منابع طبیعی وابسته به مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع تهیه شد. این بذور عمدتا از گونه‌های *Lolium perenne*، *Lolium multiflorum*، *Lolium rigidum* بودند. مطالعات اولیه از قبیل اندازه گیری میزان قوه نامیه و درصد خلوص فیزیکی بذور انجام گردید. از آنجا که همه بذور یا اخیراً از عرصه‌های منابع طبیعی جمع آوری شده بودند و یا اینکه به تازگی احیا و تکثیر شده بودند قوه نامیه همه بذور فراهم شده بالای ۹۰ درصد بود. بذر هر گونه در ۲۰ عدد از گلدانهای مخصوص قابل انتقال مستقیم به مزرعه با نام تجاری Jiffy pot کاشته شد. پس از سبز شدن در صد سبز شدن بذور مورد اندازه گیری قرار گرفت. با توجه به اینکه قوه نامیه بذور بالا بود درصد سبز شدن آنها نیز بین ۸۰ تا ۹۰ درصد متغیر بود.

دو برابر نمودن ژنوم گیاه با استفاده از کلشیسین

الف - کاربرد کلشیسین روی بوته‌های تازه رسته

پنج گیاه با سن ۱۵ روز از هر گونه مورد تاثیر کلشیسین با غلظت ۰/۲ درصد قرار داده شد. جهت اعمال کلشیسین در این مرحله انتهای برگهای گیاهان با قیچی قطع شده و سپس گلدان حاوی گیاهچه‌ها بطور معکوس روی ظرف مملو از محلول کلشیسین قرار داده شد بطوریکه مریستم انتهایی نیز در محلول کلشیسین قرار گرفت. پس از ۴ ساعت گیاهچه‌ها از کلشیسین خارج شده و با آب مقطر شستشو گردیدند. در روش دیگر اعمال کلشیسین بر گیاهچه‌ها ابتدا گیاهچه‌ها از گلدان خارج شده و پس از شستشوی ریشه‌ها با آب، در پنبه مرطوب قرار داده شده و قسمت سبزینه گیاه بطور معکوس در ظرف محتوی محلول کلشیسین قرار داده شد و پس از ۴ ساعت پس از شستشوی کامل، گیاهچه‌ها به گلدانهای بزرگتر منتقل گردیدند.

ب - کاربرد کلشیسین روی بذور

پنجاه بذر خشک از هر گونه در محلول کلشیسین با غلظت ۰/۲ درصد خیسانده شد و پس از ۲۴ ساعت بذور خیس خورده بطور کامل با آب شستشو داده شده و در گلدان کاشته شدند. در ادامه مطالعات اثر کلشیسین روی این بذور نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مطالعه صفات مورفولوژیک بوته‌های پلی‌پلوئید

بوته‌هایی که به طرق مختلف تحت تاثیر کلشیسین قرار گرفته و زنده مانده بودند از گلدان به مزرعه منتقل گردیده و در یک فصل رویشی از نظر ویژگیهای مورفولوژیک نظیر طول و عرض برگ، تعداد پنجه، طول سنبله، عملکرد تر و خشک علوفه مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند. از پنجه‌ها و بوته‌هایی که بذر تولید نموده و احتمال پلی‌پلوئید بودن آنها می‌رفت بذرگیری شده و جهت تکثیر بذر، در سال بعد این بذور در گلدان و مزرعه کاشته شدند. در ادامه، یکی از این جمعیتها که دارای بذر کافی بود در کنار بذور سایر جمعیتهای دیپلوئید و پلی‌پلوئید و در یک طرح مزرعه‌ای (شکل شماره ۱)، مورد مطالعات مقایسه‌ای و سیتوژنتیکی قرار گرفت. در این بخش از بررسی تعداد چهار بوته از هر واحد آزمایشی مورد اندازه گیریهای مورد نظر قرار گرفتند و اطلاعات حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری نیز قرار گرفتند. همینطور از بوته‌هایی که پلی‌پلوئید یا میکسوپلوئید بودند بذرگیری شد تا در ادامه کار مورد مطالعات تکمیلی قرار گیرند.

جهت تجزیه داده‌های حاصل از مطالعه صفات مورفولوژیک از نرم‌افزار SAS استفاده شد. از آنجا که در هر واحد آزمایشی چندین بوته مورد یادداشت برداری قرار گرفته بود، واریانس درون پلات نیز حاصل می‌گردید. از این رو از اثر متقابل بین بلوک و ژنوتیپ به عنوان خطای آزمایشی استفاده گردید.

مطالعه سیتوژنتیک پلی‌پلوئیدها

جهت تائید پلی‌پلوئیدی در گیاهانی که به نحوی تحت تاثیر کلشیسین قرار گرفته بودند، علاوه بر بررسی ویژگیهای مورفولوژیک، با استفاده از بذر حاصل از این گیاهان و نیز ریشه دار کردن پنجه‌هایی از گیاهان، مورد شمارش و اندازه گیریهای کروموزومی نیز قرار گرفتند. به این منظور ابتدا تعدادی از بذور سالم حاصل از هر بوته که در پایان فصل رشد از آنها جمع آوری گردید در پتری دیش و روی کاغذ صافی مرطوب کاشته شده و در دمای اتاق قرار داده شدند. پس از جوانه زدن بذور و بعد از اینکه طول ریشه‌ها به ۱-۱/۵ سانتیمتر رسید ریشه‌ها به مدت ۲ ساعت تحت تاثیر محلول پیش تیمار قرار گرفتند. از محلول اشباع آلفا برومو نفتالین به عنوان پیش تیمار استفاده شد. پس از خروج ریشه‌ها از محلول پیش تیمار و شستشوی کامل آنها با آب مقطر، به مدت ۲۴ - ۱۷ ساعت در محلول فیکساتیو ۱ به ۳ اسید استیک گلاسیال و اتانول خالص قرار داده شدند. پس از این مرحله و بعد از شستشوی کامل با آب مقطر، نمونه‌ها تا زمان مطالعه میکروسکوپی در محلول الکل ۷۰٪ نگهداری گردیدند. جهت مطالعات میکروسکوپی، نمونه‌ها از الکل خارج شده و به مدت هفت دقیقه در اسید کلریدریک یک نرمال که به دمای ۶۰ درجه سانتیگراد رسیده بود قرار گرفتند. به منظور رنگ آمیزی نمونه‌ها از هماتوکسیلین استفاده گردید. پس از رنگ آمیزی مریستم انتهایی را روی لام و در یک قطره اسید استیک ۴۵٪ به عنوان فاز مایع لازم قرار داده و با گذاشتن لامل بر روی نمونه و با ضربات ملایم نمونه بطور کامل له گردیده و سلولها در زیر لامل پراکنده گردیدند. با استفاده از میکرسکوپ نوری تعداد سه تا پنج سلول متافازی از هر نمونه مورد مطالعه، شناسایی شده و مورد شمارش کروموزومی قرار گرفتند. از تعداد زیادی از بوته‌هایی که انتظار می‌رفت پلی پلوئید باشند و باید بدون از دست رفتن بوته، مورد شمارش کروموزمی قرار می‌گرفتند نیز از ناحیه طوقه قلمه‌هایی تهیه شده و در تانک ریشه زایی ریشه دار گردیدند (شکل شماره ۲). مریستم انتهایی این ریشه‌ها نیز برداشت شده و

مطابق روش گفته شده در بالا مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

چنانکه در بخش پیشین اشاره شد، در اثر تیمار کلشیسین، تعدادی بوته‌های میکسوپلوئید حاصل گردید سپس از پنجه‌های پلی‌پلوئید بذرگیری گردید. این بوته‌ها در نسل اول واکنشهای متفاوتی از خود نشان دادند. از جمله اینکه بسیاری از گل آذین‌ها چند شاخه‌ای یا متراکم شدند (شکل‌های شماره ۳ و ۴). تعداد زیادی از گل آذینها عقیم و فاقد بذر بارور مشاهده گردید. بسیاری از بذور حاصل از گل آذین‌های سالم تغییری از نظر سطح پلوئیدی از خود نشان ندادند. به عبارت دیگر بیشتر بوته‌هایی که تحت تاثیر کلشیسین قرار گرفته بودند حالتی از میکسوپلوئیدی از خود نشان دادند. بوته‌هایی با پنجه‌های دیپلوئید و تتراپلوئید توسط Hassan و همکارانش (۱۹۹۱) نیز گزارش شده است. جمعیت شماره سوم از گونه *L. rigidum* در جدول شماره ۲ جمعیت دیپلوئید والدینی و جمعیت شماره چهار از این گونه جمعیت تتراپلوئید تولید شده می‌باشد. شمارش کروموزومی در مراحل و دفعات مختلف، پلی پلوئید بودن ژنوتیپهای تولید شده را ثابت نمود. این ژنوتیپ دارای ۲۸ کروموزوم (۲n = ۴x = ۲۸) می‌باشد (شکل شماره ۵).

از نظر کلیه صفات مورد مطالعه، اختلاف معنی داری در سطح یک درصد بین جمعیتها و گونه‌های مورد نظر مشاهده گردید (جدول شماره ۱). نتیجه مقایسه و دسته بندی میانگینها در جدول شماره ۲ ارائه شده است. نکته قابل توجه اینکه جمعیت شماره پنج از گونه *L. multiflorum* که پلی‌پلوئید نیز می‌باشد از نظر همه صفات مورد مطالعه در دسته اول قرار گرفته است. جمعیت تتراپلوئید تولید شده (*L. rigidum*4) از نظر صفات طول و عرض برگ و نیز طول سنبله از جمعیت دیپلوئید والدینی (*L. rigidum*3) برتری نشان داده است ولی از نظر عملکرد تر و خشک و نیز تعداد

پنجه پائین‌تر از آن قرار گرفته است. تجربه سایر محققینی که در این زمینه مطالعاتی داشته‌اند نشان می‌دهد که این پدیده ثابت نیست و از ژنوتیپی به ژنوتیپ دیگر ممکن است تفاوتهای اساسی مشاهده گردد. از مطالعاتی که در این زمینه صورت گرفته است بررسی Hassan و همکارانش (۱۹۹۱) می‌باشد که با ایجاد پلی پلوئیدی وزن علوفه‌تر و خشک را افزایش دادند. در مقابل در مطالعه Jones و همکارانش (۱۹۹۱) ضمن کاهش عملکرد علوفه‌تر و خشک تعداد پنجه‌های رویشی نیز در بوته‌های پلی پلوئید کاهش یافت که از نظر کاهش عملکرد با این مطالعه همخوانی دارد. بدیهی است این ویژگیها پس ایجاد پایداری ژنتیکی کافی در جمعیت تتراپلوئید در نسلهای آتی ممکن است تغییر نموده و حتی بهبود یابد.

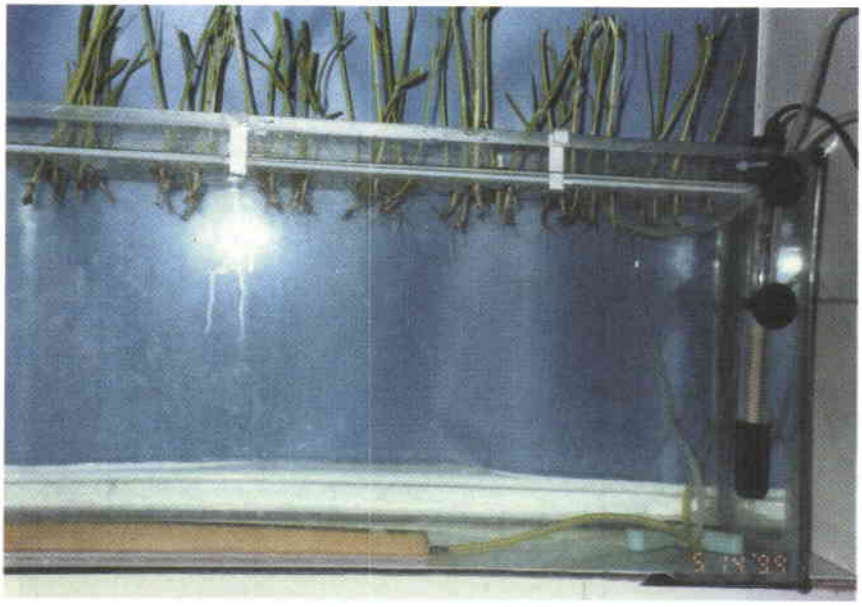
جدول ۱ : تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در تعدادی از جمعیتهای دیپلوئید و پلی‌پلوئید گونه‌های مختلف چچم.

منابع تغییر	df	تعداد پنجه	طول برگ	عرض برگ	طول گل‌آذین	عملکردتر	عملکرد خشک
تکرار	۲	۹۵/۹ns	۳/۹۱ns	۰/۸۳۵ns	۸۲/۵۹ns	۱۸/۶۳ns	۵/۸ns
جمعیتها	۱۱	۳۸۱۵/۵**	۱۵۴/۸۸**	۲۱/۱۹۰**	۶۲۳/۴۹**	۱۰۰۹۶/۲**	۱۵۱۳/۵**
خطا	۲۲	۴۲۹/۴	۳/۷۶	۰/۹۷۹	۴۳/۸۰	۲۶۶/۲۶	۲۵/۵

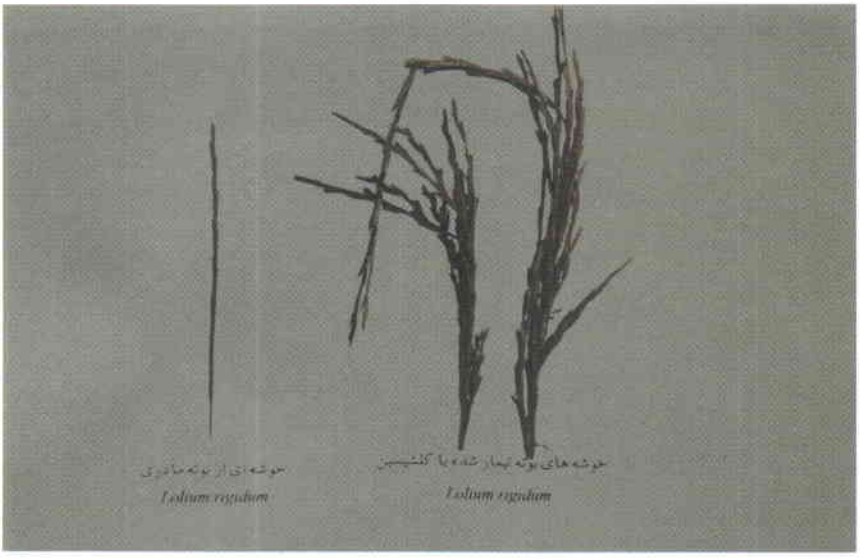
جدول ۲ : دسته بندی میانگین صفات مورد مطالعه با استفاده از روش دانکن.

گونه و سطح پلوئیدی	تعداد پنجه	طول برگ	عرض برگ	طول گل‌آذین	عملکرد تر	عملکردخشک
*L. prenne*۱ ۴X	۳۹/۶de	۱۳/۵۴b	۶/۰۰cde	۳۶/۷ed	۴۹/۶cebd	۱۶/۵cd
*L. prenne*۲ ۴X	۲۱/۱e	۹/۴۱c	۵/۳۷de	۲۶/۳f	۲۹/۳f	۱۲/۶d
*L. rigidum*۱ Mix	۶۱/۵bc	۷/۳۳d	۶/۲۰cd	۴۷/۷ba	۵۵/۴cbd	۲۰/۵cb
*L. rigidum*۲ Mix	۷۳/۰ba	۹/۳۳c	۵/۸۷cde	۳۷/۷ed	۶۵/۰b	۲۲/۷b
*L. rigidum*۳ ۲X	۶۰/۴bc	۶/۸۷d	۵/۰۸e	۴۴/۰bc	۵۲/۵cebd	۱۷/۴cd
*L. rigidum*۴ ۴X	۴۳/۶dc	۱۷/۱۲a	۸/۵۴a	۵۲/۶a	۴۸/۹ced	۱۶/۵cd
*L. rigidum*۵ ۴X	۶۱/۹bc	۱۴/۰۰b	۷/۲۵b	۴۲/۳bcd	۵۸/۹cb	۱۹/۱cb
*L. multiflorum*۱ Mix	۳۹/۴de	۱۳/۳۷b	۶/۷۹cb	۳۳/۷e	۴۱/۸efd	۱۵/۸cd
*L. multiflorum*۲ ۲X	۴۰/۴de	۶/۹۱d	۵/۹۱cde	۴۶/۶ba	۴۱/۰efd	۱۵/۸cd
*L. multiflorum*۳ ۲X	۳۷/۶de	۱۰/۵۰c	۵/۷۰de	۳۸/۳ecd	۳۸/۵ef	۱۸/۰c
*L. multiflorum*۴ ۴X	۴۸/۰dc	۱۱/۰۴c	۸/۳۳a	۴۴/۰bc	۵۸/۱cb	۱۹/۹cb
*L. multiflorum*۵ ۴X	۸۵/۵a	۱۶/۶۶a	۹/۰۸a	۴۷/۰ba	۱۴۳/۳a	۵۵/۵a

شکل شماره ۱: کشت جمعیتها و ژنوتیپهای دیپلوئید و تتراپلوئید در آزمایش مزرعه‌ای.

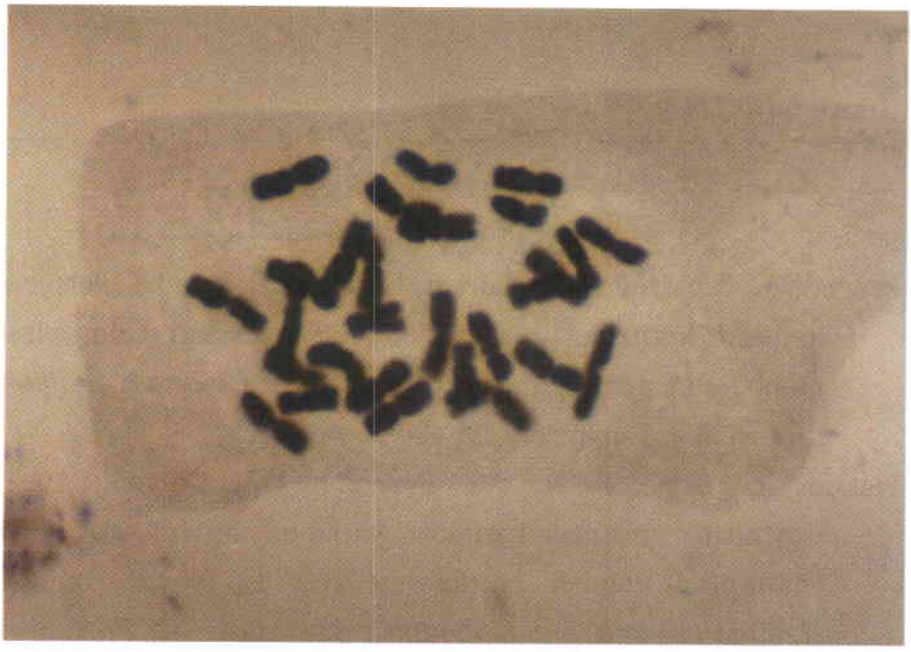


شکل شماره ۲: استفاده از تانک ریشه زائی جهت ریشه دار کرده قلمه‌های حاصل از بوته‌های چچم پلی پلوئید شده.



شکل شماره ۳: چند شاخه‌ای شدن بعضی از گل آذین‌های بوته‌هایی که تحت تاثیر کلشیسین قرار گرفتند.

شکل شماره ۴: تولید گل آذینهای متراکم در تعدادی از بوته‌هایی که تحت تاثیر کلشیسین قرار گرفتند.



شکل شماره ۵: یک سلول ۲۸ کروموزومی (۲n = ۴x = ۲۸) از ژنوتیپ تترا پلوئید تولید شده از گونه *Lolium rigidum*

منابع

میرزایی ندوشن، حسین، هاجر ندرخانی، ۱۳۷۹. مطالعه کاریوتیپی جمعیتهای تتراپلوئید لولیوم. در: تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران (۴)، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، ۴: ۱۱۶-۸۷.

Francis, A., R.N. Jones, J.S. Parker, U.K. Posselt, 1990. Colchicine induced heritable variation in cell size and chloroplast numbers in leaf mesophyll cells of diploid ryegrass (*Lolium perenne* L.). Euphytica, 49: 49-55.

Hassan, L., R.N. Jones, J.S. Parker, U.K. Posselt, 1991. Colchicine induced heritable variation in cell size and chloroplast number in the leaf cells of inbred ryegrass (*Lolium perenne, L. multiflorum*). Euphytica, 52: 39-45.

Hides, D.H., A.H. Marshall, M.H. Jones, 1996. Influence of spring defoliation on the potential seed yield of tetraploid hybrid ryegrasses (*Lolium X boucheanum* Kunth). Plant Varieties and Seeds, 9: 77-85.

Jones, R.N., F. Veronesi, S. Bullitta, S. Caredda, 1991. Induction of artificial polyploids or artificial diploids in forages?: results and perspectives. In: Ploidy and chromosome manipulation in forage breeding. Proceedings of the 17th meeting of the Fodder Crops Section of EUCARPIA, Alghero, Italy, 29-36.

Kehr, A.E. 1996. Woody plant polyploidy. Am. Nursery Man. 183: 38-47.

Lantinga, E.A., J.C.J. Groot, J.van. Bruchem, 1996. Optimization of grassland production and herbage feed quality in an

ecological context. In: Groen, A.F. Utilization of local feed resources by dairy cattle: perspectives of environmentally balanced production systems. Proceedings of a symposium of the Wageningen Institute of Animal Sciences, Wageningen. Netherlands.

Ranney, T.G. 2000. Polyploidy: From evolution to Landscape plant improvement. In: Proceedings of the eleventh conference of the metropolitan tree improvement Alliance. Gresham.

Sanford, J.C. 1983. Ploidy manipulations, In: Moore, J.N. and J. Janick, Methods in fruit breeding. Purdue Univ. Press, West. Lafaytte, Ind. P. 100-123.

تشکر و قدر دانی

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس که امکان اجرای این تحقیق را فراهم نموده و از هر گونه حمایتی دریغ نکردند قدردانی و تشکر می‌شود. همچنین از مسئولین محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع که با در اختیار گذاشتن امکانات مزرعه‌ای و حمایتهای فنی اجرای به موقع و آسان‌تر طرح را فراهم نمودند صمیمانه قدردانی می‌گردد.

Producing autotetraploid genotypes in *Lolium rigidum* and comparing them to diploid populations

Mirzaie-Nodoushan, H.[1]

Abstract

Seed and seedlings of several populations of *Lolium rigidum* were treated by 0.2% colchicine solution for 4 hours. The treated seeds and seedlings were washed by distilled water and transplanted in Jiffy pots. Some seeds were sown and studied cytogeneticaly and morphologicaly during second year. Seed was collected from the individual plants after completing the growing period. A number of seeds from the individual plants were cytogeneticaly investigated for the number of chromosomes and karyotypic characteristics. Seed was collected from the definitely proved polyploid genotypes. A number of seeds from each of the mentioned plants were sown in a randomized complete block design along with several other diploid and polyploid populations of *Lolium* species for studing morphological characteristics. The treated plants showed various effects for morphological characters, in which, multi-branchness of inflorescences was the main one. Progenies of several plants were proved to be autotetraploid. Several forms of anioploidies were also observed. The tetraploids were morphologicaly different from their parental diploid population.

Keywords: *Lolium rigidum*, Autotetraploid, Colchicine, Cytogenetics.

1- Research Institute of Fortests and Rangelands, Tehran, P.O. Box 13185-116