

تنوع کاریوتیپی در گونه‌های مختلف جنس بروموس (*Bromus spp.*)

حسین میرزابی ندوشن^۱ و آناهیتا شریعت^۲

چکیده

بروموس یکی از جنس‌های مهم مرتعی است که گونه‌های مختلف آن سطح وسیعی از عرصه‌های طبیعی ایران را زیر پوشش قرار داده است. گونه‌های مختلف این جنس از نظر تنوع ژنتیکی و سیتوژنتیکی در کشور کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند درحالی که شناخت ویژگیهای کاریوتیپی و سطوح پلوئیدی از نیازهای اولیه برنامه‌های اصلاحی هر گونه گیاهی می‌باشد. از این رو در این تحقیق به منظور ارزیابی کاریوتیپی گونه‌های مختلف این جنس اقدام به مطالعه سلولهای متافازی تقسیم می‌توز در آنها گردید. به منظور فراهم کردن سلولهای متافازی از مربیستم انتهایی ریشه از بذر تازه جوانه زده استفاده گردید. از آلفا برومونفتالین، محلول فارمر و هماتوکسیلین به ترتیب جهت پیش تیمار، ثبیت و رنگ‌آمیزی استفاده گردید. شش گونه از این جنس در این تحقیق مورد بررسیهای کاریوتیپی قرار گرفتند.

براساس مطالعات انجام شده سطوح مختلف پلوئیدی در میان جمعیتها و گونه‌های مختلف این جنس مشاهده گردید که به طور عمده مضری از هفت بودند. این تنوع در سطح پلوئیدی، به خصوص در میان جمعیتهای مختلف یک گونه ضمن اینکه می‌تواند مسبب تنوع مورفولوژیکی و به تبع آن پایداری بهتر این گونه‌ها باشد، زمینه مناسبی را نیز جهت بکارگیری این تنوع در اصلاح و توسعه ارقام اصلاح شده این گونه‌ها در کشور ایجاد نموده است. در مطالعات آتی باید جمعیتهای مورد نظر را از حیث سایر

۱- عضو هیات علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، صندوق پستی: ۱۳۱۸۵-۱۱۶

۲- مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، ص.پ. ۱۳۱۸۵-۱۱۶

ویژگیهای کاریوتیپی از قبیل تقارن کاریوتیپی مورد مطالعه و مقایسه قرار داد تا قرابت و خویشاوندی آنها را جهت استفاده در طرحهای اصلاحی بدست آورد.
واژه‌های کلیدی: بروموس، کاریوتیپ، پلی پلوئید، سیتوژنتیک و میتوز.

مقدمه

تعداد زیادی از گونه‌های مرتعی موجود در ایران خاص این کشور بوده و یا تنها در این کشور به صورت اقتصادی و فرآگیر عرصه‌های گسترده‌ای را زیر پوشش دارند. از این رو مطالعات ژنتیکی، سیتوژنتیکی و اصلاحی زیادی در سطح بین‌المللی در مورد این گونه‌ها صورت نگرفته است. گونه‌های مختلف جنس بروموس از جمله این گونه‌ها هستند که باید در کشور مورد مطالعات گسترده ژنتیکی و سیتوژنتیکی قرار گیرند. پیشتر مطالعات پراکنده‌ای در تعیین سطح پلوئیدی و شمارش کروموزومی تعدادی از گونه‌های موجود این جنس در کشور توسط میرزایی ندوشن و همکاران (۱۳۸۰)، Mirzaie Nodoushan و همکاران (۲۰۰۰) و نیز برهان (۱۳۷۰) صورت گرفته است. در سطح بین‌المللی نیز مطالعاتی توسط Barnett (۱۹۵۵)، Hill (۱۹۶۵)، Dunn (۱۹۹۳) و نیز Yang (۱۹۹۷) درخصوص سطح پلوئیدی، ارتباط و خویشاوندی گونه‌های این جنس از طریق شbahتهای کاریوتیپی و نیز تعیین فاصله ژنتیکی این گونه‌ها صورت گرفته است. تنوع ژنتیکی و فتوتیپی موجود در میان جمعیتهای مختلف گونه‌های بروموس می‌تواند حاکی از تفاوت‌های اساسی در ساختار کاریوتیپی نیز باشد (زبرجدی و همکاران ۱۳۸۰).

به تازگی به منظور بررسی امکان تلاقيهای بین گونه‌ای با هدف ایجاد تنوع ژنتیکی و تولید دورگهای بین گونه‌ای، مطالعاتی در زمینه وضعیت کاریوتیپی و شbahتهای گونه‌های مختلف جنس بروموس از نظر تقارن کاریوتیپی صورت گرفته است که مقاله حاضر خلاصه‌ای از این مطالعات می‌باشد.

مواد و روشها

شش گونه از فراگیرترین و مهمترین گونه‌های جنس بروموس موجود در کشور شامل، *B. B. cappadocicus*, *B. persicus*, *B. tomentellus*, *Bromus hankegnus*, *B. sterilis* و *B. inermis* انتخاب و نسبت به مطالعات کاریوتیپی آنها اقدام شد. بذرهای مورد نظر با قارچ کش بنو میل آغشته و برروی کاغذ صافی مرطوب در داخل پتری دیش قرار داده شدند. پس از جوانه‌دار شدن و برداشت یک سانتیمتر انتهایی ریشه‌های در حال رشد، آنها را به مدت ۳ ساعت در محلول آلفا برومونفتالین (به عنوان پیش‌تیمار) قرار داده و پس از شستشوی کامل به مدت ۲۰ تا ۲۴ ساعت در محلول ثبیت کننده (محلول فارمر) قرار داده شدند. در ادامه پس از هیدرولیز ریشه‌ها با اسید کلریدریک یک نرمال در دمای شصت درجه سانتیگراد، با هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی گردیدند. با جدا کردن مریستم انتهایی نمونه‌های میکروسکوپی تهیه و مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از یافتن سلولهای متافازی مناسب، از حیث سطوح پلوئیدی بررسی شده و به وسیله فنومیکروسکوپ عکسبرداری از این سلولها انجام شد. حداقل پنج سلول مناسب متافازی از هر گونه مورد مطالعات و اندازه‌گیریهای لازم قرار گرفتند.

طول بازوهای بزرگ و کوچک کلیه کروموزومها در تمامی سلولهای مورد مطالعه به وسیله میکرومتر چشمی اندازه‌گیری شد. با استفاده از این ابعاد طول کل کروموزومها، نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه و به عکس مورد محاسبه قرار گرفتند. با استفاده از این اطلاعات تعدادی از مؤلفه‌های سنجش تقارن کاریوتیپی مورد محاسبه قرار گرفت. با استفاده از این مؤلفه‌ها و نیز سایر اطلاعات بدست آمده می‌توان قرابت و خویشاوندی گونه‌ها و جمعیتهای مورد نظر را ارزیابی نمود.

با داشتن میانگین ابعاد کروموزومی ایدیوگرام هر یک از گونه‌های مورد مطالعه رسم شد. از آنجا که مراد از این مطالعات سنجش قرابت بین گونه‌ها و جمعیتهای مورد مطالعه جهت بررسی امکان تلاقی بین گونه‌ای بوده است، با استفاده از اطلاعات

حاصل، از جمله سطح پلوئیدی و نیز شباهت کاریوتیپها از نظر تقارن کاریوتیپی محتمل‌ترین گونه‌ها جهت انجام تلاقيهای موفق بین گونه‌ای مشخص گردیدند.

نتایج

گونه‌های مورد مطالعه دارای سطوح مختلف پلوئیدی بودند. بیشترین سطح پلوئیدی به جمعیتهایی از گونه‌های *B. tomentellus* *Bromus hankegnus* و *B. persicus* تعلق داشت ($2n = 42$) (شکل‌های شماره ۵ و ۶). کمترین سطح پلوئیدی به جمعیتهایی از گونه‌های *B. sterilis* و *B. cappadocicus* *B. inermis* تعلق داشت ($2n = 14$) (شکل‌های شماره ۱ و ۲). جمعیتهای مختلف گونه‌های *B. cappadocicus* و *B. inermis* هر دو سطح دیپلوئیدی و تراپلوئیدی را از خود نشان دادند (۲۸ و $2n = 14$). در حالی که گونه *B. persicus* هر دو سطح ترا و هگزاپلوئیدی را از خود نشان داد (۴۲ و $2n = 28$). علاوه بر سطوح مختلف پلوئیدی، در بعضی از گونه‌های مورد مطالعه، تعدادی سلول با سطوح آنیوپلوئیدی نیز مشاهده گردید (شکل‌های شماره ۱، ۲ و ۴). جمعیتهای مختلف گونه *B. tomentellus* به رغم ثبات در تعداد کروموزومها دارای تفاوت‌هایی از نظر ابعاد کروموزومها و مؤلفه‌های تقارن کاریوتیپی بودند.

از نظر مؤلفه‌های تقارن کاریوتیپی تفاوت‌های آشکاری بین گونه‌ها و جمعیتهای مختلف گونه‌های مورد بررسی مشاهده گردید. بیشترین عدم تقارن کاریوتیپی بین جمعیتهای دیپلوئید و پلی‌پلوئید مشاهده گردید. نمونه‌هایی از کاریوتیپهای مورد مشاهده در شکل‌های شماره ۱ تا ۶ ارائه شده‌اند.

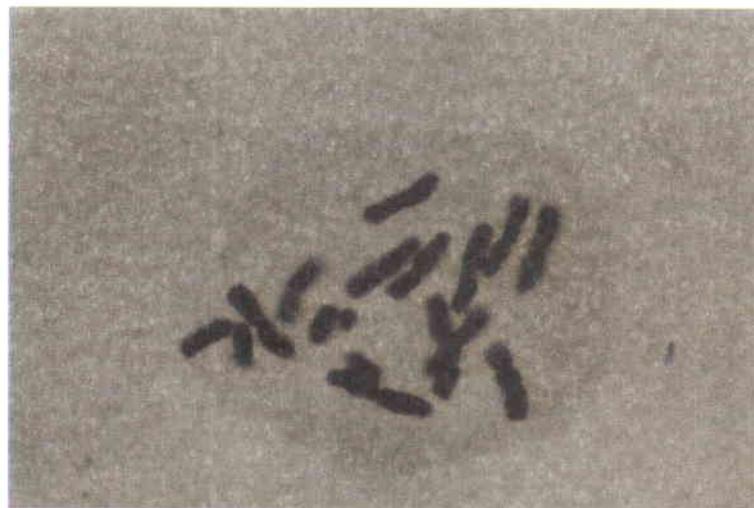
بحث و نتیجه‌گیری

تنوع زیادی که در سطح پلوئیدی و ویژگیهای کاریوپتیپی گونه‌ها و جمعیتهای مختلف بروموس مشاهده گردیده، آنها را قادر به پایداری و حضور در شرایط متنوع محیطی نموده است. به طوری که گونه‌های مختلف این جنس در عرصه وسیعی از مناطق رویشی کشور و در ارتفاعات و اقالیم مختلف حیاتی آن حضوری موثر از خود نشان می‌دهند.

تفاوت گونه‌های این جنس از نظر سطح پلوئیدی، انجام تلاقیهای بین گونه‌ای با اهداف اصلاحی را با مشکل مواجه نموده (تجربه شخصی) و این نوع تلاقیها را به جمعیتهای خاصی محدود نماید. توعی که از حیث ویژگیهای کاریوپتیپی، از جمله مؤلفه‌های سنجش تقارن کاریوپتیپی بین گونه‌های مختلف مشاهده می‌شود حاکی از این امر است که گونه‌های مختلف جنس بروموس در مراحل متفاوتی از نظر فرایند تکاملی به سر می‌برند. تعدد حضور آنیوپلوئیدی در میان جمعیتهای مختلف گونه‌های بروموس امکان استفاده از این جمعیتها را در مطالعات علمی ژنتیکی و اصلاح فراهم نموده است. بخشی از تنوع مورفولوژیکی موجود در درون جمعیتهای مختلف از گونه‌های بروموس می‌تواند ناشی از این تنوع کاریوپتیپی به ویژه مرتبط با آنیوپلوئیدی باشد. مطالعه مورفولوژیکی تک بوته‌های مختلف توأم با بررسیهای کاریوپتیپی جهت بررسی اثر سطوح پلوئیدی و آنیوپلوئیدی بر ویژگیهای مورفولوژیکی در این گونه‌ها ضروری است.



شکل شماره ۱: کروموزومهای متافازی گونه ($2n = 2x + 1 = 15$) *Bromus sterilis*



شکل شماره ۲: کروموزومهای متافازی گونه ($2n = 2x + 1 = 15$) *Bromus cappadocicus*

$(2n = 2x + 1 = 15)$

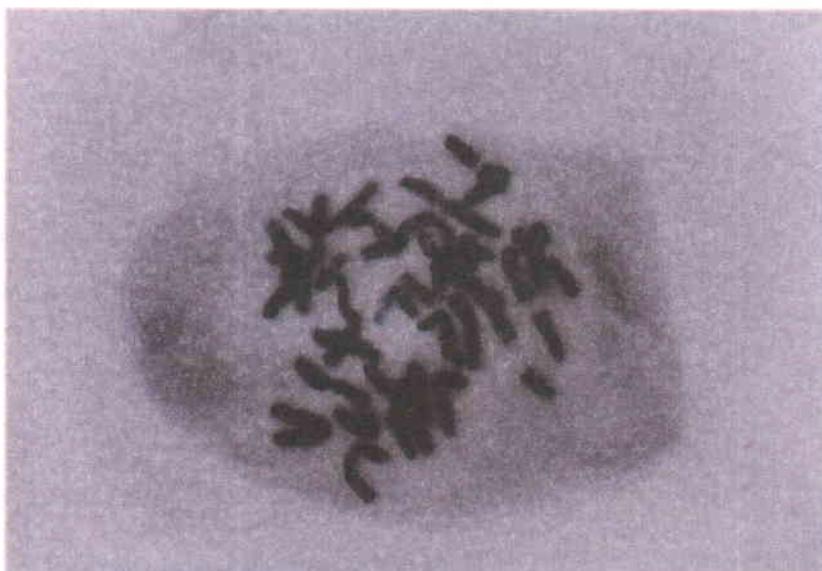


شکل شماره ۳: کروموزومهای متافازی گونه *Bromus inermis* ($2n=4x=28$)

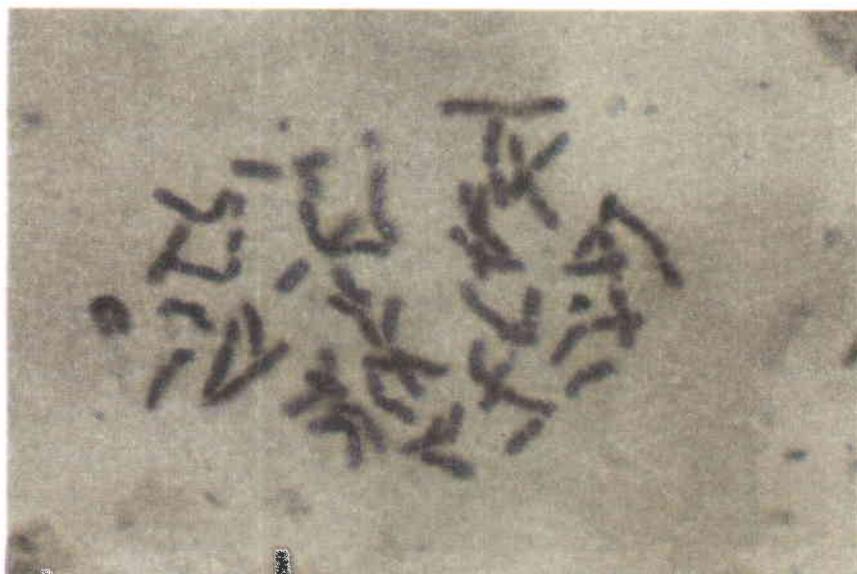


شکل شماره ۴: کروموزومهای متافازی گونه *Bromus hankegnus*

$$(2n = 6x+2 = 44)$$



شکل شماره ۵: کروموزومهای متافازی گونه *Bromus persicus* ($2n = 6x = 42$)



شکل شماره ۶: کروموزومهای متافازی گونه *Bromus hankegnus*

($2n = 6x = 42$)

منابع

برهان، م.ح.، ۱۳۷۰. بررسی سیتوولوژیک بروموسهای چند ساله البرز مرکزی. پایان نامه فرقه لیسانس، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

زیرجدی، ع، میرزایی ندوشن، ح. و کریم زاده، ق. ۱۳۸۰. بررسی تنوع ژنتیکی گونه مرتعمی *Bromus tomentellus* با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره. پژوهش و سازندگی، شماره ۵۱: ۷ - ۲. میرزایی ندوشن، ح. زیرجدی، ع. ر. و کریم زاده، ق. ۱۳۸۰. مطالعه کاریوتیپی و مورفوولوژیکی جمعیت‌هایی از گیاه مرتعمی بروموس (*Bromus tomentellus*). پژوهش و سازندگی، ۵۴: ۲۷ - ۲۲.

Barnett, F.L., 1955. A karyological survey of several *Bromus* species. *Agronomy Journal*, 47: 88-91.

Hill, H.D. 1965. Karyology of species of *Bromus*, *Festuca* and *Arrhenatherum* (Gramineae). *Bull. Theorey, Bot. Club*, 92: 192-197.

Naganowaska, B. 1993. Karyotypes of five *Bromus* species of genera section. *Genetica Polonica*. 34: 197-213.

Mirzaie-Nodoushan, H., Zebarjadi, A.R. and Karimzadeh, Gh. 2000. Karyotypic investigations of some (*Bromus tomentellus*) populations and their karyotypic correlations. *Iran. Journ. Bot.* 8: 287-298.

Yang, G. and Dunn, G.M. 1997. Mitotic instabilities in tetraploid, hexaploid and octaploid *Bromus inermis*. *Can. J. Genetics and Cytology*, 19:550-553.

