DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2017.109823

دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۵، شماره ۱، صفحه ۹۶-۸۲ (۱۳۹۶)

ارزیابی روابط کاریوتیپی برخی گونه‌های بخش‌های *Bromus* و *Genea* از جنس بروموس

هوشمند صفری[۱]، علیرضا زبرجدی*[۲و۳]، دانیال کهریزی[۲و۳] و علی‌اشرف جعفری[۴]

۱- دانشجوی دکترای اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

۲*- نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

پست الکترونیکی: zebarjadiali@yahoo.com

۳- دانشیار، عضو گروه پژوهشی بیوتکنولوژی مقاومت به خشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

۴- استاد پژوهشی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

*: نویسنده‌های ردیف دوم و سوم در تدوین و پذیرش مقاله از مشارکت یکسان برخوردارند.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۱

چکیده

جنس بروموس از مهمترین گیاهان مرتعی می‌باشد که در سطح وسیعی از عرصه‌های طبیعی کشور پراکنش دارد. روابط بین گونه‌ای ۴۵ جمعیت دیپلوئید از ۹ گونه متعلق به دو بخش *Genea* و *Bromus* به‌همراه ۵ جمعیت از گونه چچم یکساله بر اساس خصوصیات کاریوتیپی بررسی شد. در هر جمعیت ۵ سلول متافازی از مریستم انتهایی ریشه بذرهای جوانه‌زده تهیه شد. طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و کوتاه اندازه‌گیری شد. شاخص سانترومری و نسبت بازوها، محتوای نسبی کروماتین، شاخص نامتقارن بودن درون و بین کروموزومی و درصد شکل کلی کروموزوم محاسبه شد. تقارن کاریوتیپی تعیین و نوع کروموزوم‌ها مشخص شد. تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری را در سطح یک‌درصد در خصوصیات کاریوتیپی در بین گونه‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داد. جمعیت‌ها کاریوتیپ متقارنی داشتند و بر اساس جدول دوطرفه استبینز در کلاس ۱A و ۲A قرار گرفتند و دارای کروموزوم‌های متاسنتریک و تعداد کمی کروموزوم ساب متاسنتریک بودند. گونه‌های دو بخش براساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای تفکیک شدند. تکامل کاریوتیپی گونه‌های بخش *Bromus* بیشتر از طریق مقدار کروماتین و بخش *Genea* بیشتر از طریق افزایش عدم تقارن درون و بین کروموزومی بود. در بخش *Bromus* دو گونه *Bromus briziformis* و *B. squarrosus* بیشترین و دو گونه *B. scoparius* و *B. danthoniae* کمترین تکامل کاریوتیپی را داشتند. از طرف دیگر دو گونه *B. rechingeri* و *B. japonicus* در بین این دو گروه قرار گرفتند. برای بخش *Genea* نیز گونه *B. tectorum* تکامل کاریوتیپی بیشتری نسبت به دو گونه *B. sterilis* و *B. sericeus* نشان داد.

واژه‌های کلیدی: بروموس، تکامل، کاریوتیپ، کروموزوم، کروماتین.

مقدمه

جنس بروموس یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های فستوکوئید[1] گراس‌هاست که بحث‌های زیادی در مورد حد و مرزهای رده‌بندی آن وجود دارد (Verloove, 2012). گیاه‌شناسان بین ۱۰۰ تا ۴۰۰ گونه برای این جنس با توجه به تعیین حد و مرزهای متفاوت بین گونه‌ها تخمین زده‌اند (Pavlick & Anderton, 2007). گونه‌های جنس بروموس در مناطق معتدل کوهستانی دنیای قدیم و جدید پراکنش دارند و با گونه‌های همراه مرتعی همواره حضور پیدا می‌کنند (Verloove, 2012). این جنس شامل گیاهان یکساله، دو ساله و چند ساله با سطوح پلوئیدی مختلف و تیپ‌های گوناگون رشدی می‌باشد (Sanderson *et al*., 2002). به‌طور کلی تاکنون ۱۵۰ گونه یک یا چند ساله از این جنس گزارش شده است و در ایران نیز طبق آخرین گزارش رده‌بندی انجام شده تعداد ۳۹ گونه گزارش شده است، که در ۶ بخش *Bromus*، *Boissiera*، *Genea*، *Pnigma*، *Nevskiella* و *Ceratochloa* قرار گرفته‌اند (Naderi & Rahiminejad, 2015). بخش *Bromus* شامل ۳۰ تا ۴۰ گونه دیپلوئید و تتراپلوئید یکساله است، که بومی اروپا و آسیا می‌باشند. گونه‌های این بخش از نظر مورفولوژیکی شباهت بالایی دارند (Oja *et al*., 2003)، اما چندین زیربخش برای این بخش پیشنهاد شد (Smith, 1972). اعتقاد بر این است که گونه‌های تتراپلوئید از طریق آلوپلوئیدی بوجود آمدند (Stebbins, 1981). بخش *Genea* شامل گونه‌های یکساله دیپلوئید، تتراپلوئید، هگزاپلوئید و اکتاپلوئید می‌باشند که بومی مدیترانه، آسیای جنوب‌غربی و شمال اروپا هستند. دارای چندین گونه مهاجم شامل گونه‌های *B. diandrus* Roth. ،*B. madritensis* L. ssp. *Rubens* و *B. tectorum* L. هستند، که در دامنه وسیعی در محدوده منشأ جغرافیایی خودشان پراکنده هستند (Pavlick, 1995). گونه‌های این بخش دارای تنوع مورفولوژیکی بالایی هستند و در هر گونه تاکسون‌های زیادی پیشنهاد شده است. بخش *Genea* گسترده‌ترین بخش جنس بروموس از نظر پراکنش جغرافیایی است (Sales, 1994). مطالعات آیزوزایم‌ها نشان داد که سه گونه دیپلوئید مشهور جنس *Genea* بخشنده ژنوم به گونه‌های پلی‌پلوئید در این بخش بودند (Oja, 2002). در مجموع گونه‌های این جنس مقاوم به تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌باشند و برای احیاء اراضی بایر کوهستانی به‌ویژه به‌منظور ایجاد چراگاه مناسب می‌باشد (Jangali *et al*., 2012).

انجام مطالعات کاریولوژیکی در گیاهان وحشی دارای اهمیت ویژه‌ای است و به‌منظور طبقه‌بندی گیاهان و کمک به حل مسائل و مشکلات تاکسونومی کلاسیک مفید می‌باشد (Maassoumi & Khosravi, 1994). پژوهش‌های سیتوژنتیکی نقش مهمی در تعیین قرابت گونه‌ها به‌ویژه گیاهان وحشی و بومی ایفا می‌کند و به‌عنوان اولین قدم در تجزیه فیلوژنی و تکامل گونه‌های خویشاوند مطرح است (Hosseini *et al*., 2013). بررسی فیلوژنتیکی روابط بین گونه‌های جنس بروموس و تاکسون‌های زیرجنسی بر اساس داده‌های مورفولوژیکی (Aryavand, 2002; Saarela *et al*., 2014; Scholz, 2008; Verloove, 2012)، کاریولوژی کروموزوم از قبیل تعداد، فرم و اندازه کروموزوم و مقدار DNA و آزمایش‌های سیتوژنتیکی مرتبط با تلاقی و جفت شدن کروموزوم‌ها (Stebbins, 1981; Ainouche & bayer, 1997; Joachimiak *et al*., 2001; Klos *et al*., 2009; Mirzaie-Nodoushan *et al*., 2006; Sheidai *et al*., 2008; Sadeghian *et al*., 2010) گزارش شده است. در بیشتر مطالعات سیتوژنتیکی انجام شده برای بررسی روابط بین گونه‌ها از جمعیت‌های دارای سطوح پلوئیدی متفاوت استفاده شده است و این مسئله سبب شده که درک کاملی از روابط بین گونه‌ای بر اساس کاریولوژی گونه‌ها به‌دست نیاید. بر همین اساس در این تحقیق خصوصیات کاریوتیپی تعداد ۴۵ جمعیت دیپلوئید از ۹ گونه متعلق به

1 -Festucoid

دو بخش *Bromus* و *Genea* از جنس برومـوس و ۵ جمعیت دیپلوئید از گونه چچم یکساله[1] به‌عنوان برون گروه[2]، به‌منظور ارزیابی روابط بین گونه‌ای در سطح دیپلوئیدی گونه‌های جنس بروموس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ژرم‌پلاسم مورد استفاده در این تحقیق شامل ۴۵ جمعیت از ۹ گونه جنس بروموس به‌همراه ۵ جمعیت از گونه چچم یکساله بود، که از بانک ژن مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تهیه شد و بعضی از جمعیت‌ها از عرصه‌های مرتعی جمع‌آوری شد. در جدول شماره ۱ فهرست جمعیت‌ها به‌همراه منشأ و کد بانک ژن ارائه شده است.

بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰ درصد ضدعفونی شده و در شرایط سترون، داخل پتری‌دیش و روی کاغذ صافی کشت شدند. سپس بذرها در دمای اتاق جوانه‌دار شدند و از ریشه‌چه‌هایی با طول ۱-۰/۵ سانتی‌متر برای مطالعه استفاده شد. برای تهیه سلول‌های متافازی عمل پیش‌تیمار (به مدت ۴ ساعت و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با محلول ۰/۵ درصد آلفا-برمونفتالین)، عمل تثبیت (با محلول لویتسکی[3] به‌مدت ۱۶ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد)، عمل هیدرولیز (با سود یک نرمال در دمای ۶۰ درجه و به‌مدت ۸ دقیقه) و در ادامه رنگ‌آمیزی با استفاده از هماتوکسیلین انجام شد (Safari *et al.*, 2008).

پس از تهیه اسلاید از منطقه مریستمی ریشه تصاویر سلول‌های متافازی با استفاده از سیستم آنالیز تصویری و با بزرگنمایی ۲۷۷۵ برابر تهیه شد. پنج سلول متافازی انتخاب شد و صفات طول کل کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA) شاخص سانترومری (CI) و نسبت بازوها (AR) با نرم‌افزار Micro-measure اندازه‌گیری شد. محتوای نسبی کروماتین (VRC) محاسبه شد و در ادامه به‌منظور مطالعه تقارن کاریوتیپی از جدول دوطرفه استبینز استفاده شد (Stebbins, 1971). همچنین عامل اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم (DRL)، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A_1)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A_2) (Romero-Zarco, 1986) و درصد شکل کلی کروموزوم (TF%) (Huziwara, 1962) محاسبه شد. برای تعیین نوع کروموزوم‌ها نیز از روش لوان[4] استفاده شد (Levan *et al.*, 1964).

به‌منظور تجزیه آماری داده‌ها، تجزیه واریانس آشیانه‌ای برای صفات کاریوتیپی جمعیت‌های داخل گونه‌ها با ۵ تکرار، به‌عمل آمد. مقایسه میانگین بین گونه‌ها نیز با روش توکی در سطح ۵ درصد و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای خصوصیات کاریوتیپی گونه‌ها و رسم بای‌پلات با استفاده از نرم‌افزار $SPSS_{18}$ انجام شد. لازم به‌ذکر است از اطلاعات گونه چچم یکساله در تجزیه واریانس، مقایسه میانگین و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی به‌منظور تفسیر بهتر ساختار تنوع موجود در بین گونه‌های جنس بروموس استفاده نشد. در نهایت تجزیه خوشه‌ای با روش UPGMA بر اساس فاصله اقلیدوسی برای گونه‌های مورد مطالعه به‌همراه گونه چچم یکساله به‌عنوان برون گروه با توجه به خصوصیات کاریوتیپی با نرم‌افزار $Minitab_{16}$ انجام شد. تهیه تصویر سلول‌های متافازی با نرم‌افزار فتوشاپ و رسم آیدیوگرام با نرم‌افزار Microsoft office 2013 و در محیط Excel انجام شد.

1- *Lolium multiflorum Lam.*
2- *Out group*
3-Levitsky
4- Levan

جدول ۱- جمعیت‌ها، منشأ، کد بانک ژن و کد جمعیت‌های گونه‌های جنس بروموس و گونه چچم یکساله

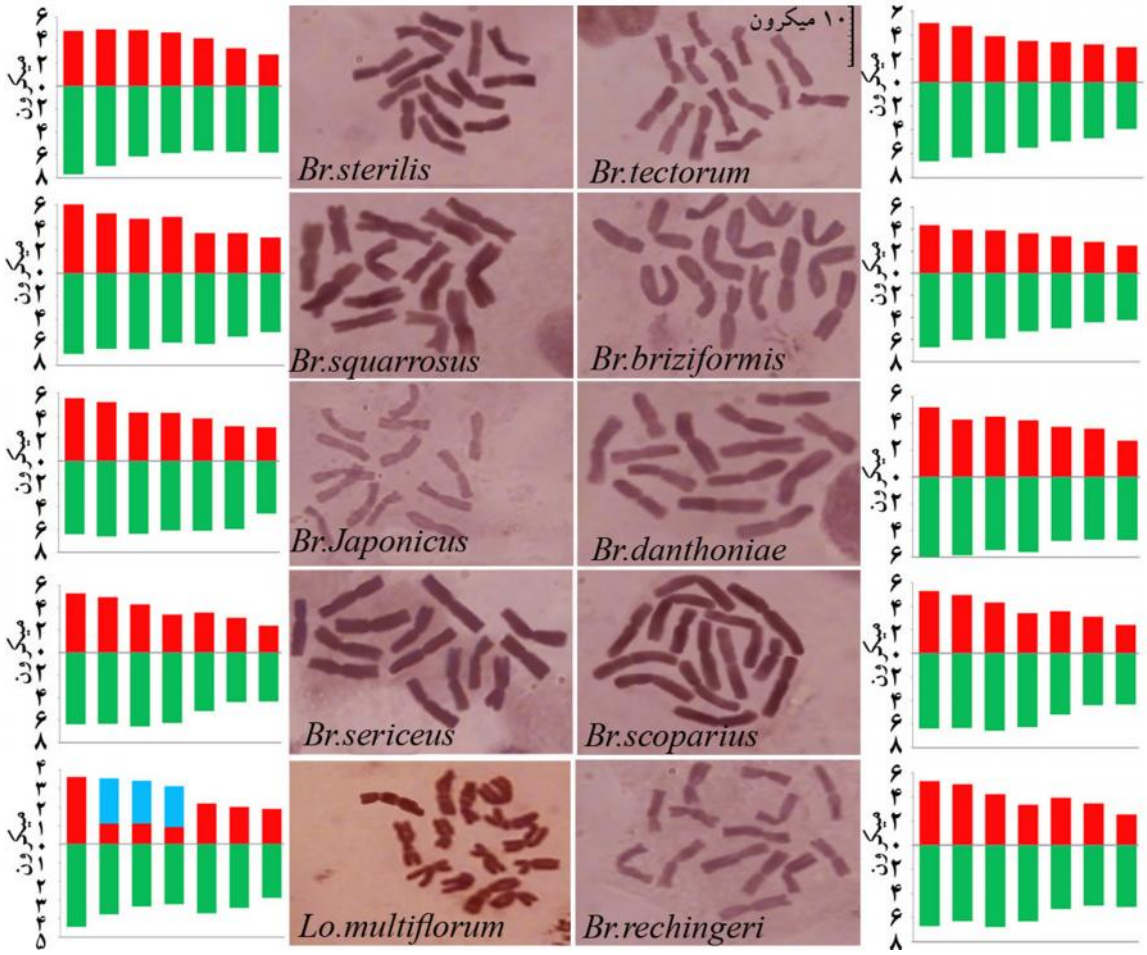
کد جمعیت	گونه	منشأ	کد بانک ژن	کد جمعیت	گونه	منشأ	کد بانک ژن
Te_1	*B. tectorum* L.	زنجان	2312	Br_1	*B. briziformis* Fisch. & C. A. May.	مازندران	3246
Te_2		کرج	3463	Br_2		مازندران	3246'
Te_3		کرج	3468	Br_3		کرج	3444
Te_4		کرج	3488	Br_4		کرج	3444'
Te_5		لرستان	4104	Br_5		مازندران	16485
St_1	*B. sterilis* L.	قزوین	40389	Sq_1	*B. squarrosus* L.	شهرکرد	16867
St_2		کرج	G	Sq_2		کرج	G
St_3		کرج	G	Sq_3		کرج	G
St_4		کرج	G	Sq_4		کرج	G
St_5		کرج	G	Sq_5		کرج	G
Se_1	*B. sericeus* Drobow	تفت	16202	Da_1	*B. danthoniae* Trin. ex C. A. Mey.	سمنان	3808
Se_2		مهریز	16231	Da_2		سمنان	4921
Se_3		لرستان	27863	Da_3		کرمان	26585
Se_4		تهران	40155	Da_4		لرستان	27901
Se_5		یزد	16237	Da_5		لرستان	27901'
Re_1	*B. rechingeri* Melderis	مهریز	20940	Ja_1	*B. japonicus* Thunb	زابل	3301
Re_2		بافق	20942	Ja_2		رودسر	27349
Re_3		تفت	38996	Ja_3		لنگرود	27354
Re_4		تفت	38997	Ja_4		سیستان و بلوچستان	28497
Re_5		تفت	38998	Ja_5		گلستان	16506
Mu_1	*L. multiflorum* Lam	ایتالیا	390	Sc_1	*B. scoparius* L.	کهگیلویه و بویراحمد	38465
Mu_2		نامشخص	1151	Sc_2		تالش	5984
Mu_3		روسیه	1551	Sc_3		رامهرمز	2403
Mu_4		ایتالیا	393	Sc_4		آستارا	5981
Mu_5		فرانسه	1268	Sc_5		گلستان	16417

G-اکسشن‌های جمع آوری شده از عرصه می‌باشند.

نتایج

باتوجه به اینکه ارزیابی روابط بین گونه‌ای بر اساس خصوصیات کاریوتیپی جمعیت‌های دیپلوئید گونه‌های جنس بروموس مورد بررسی قرار گرفت، سطح پلوئیدی تمام جمعیت‌های گونه‌ها یکسان و $2n=2x=14$ بود. همچنین، برای گونه *Lo. multiflorum* که به‌عنوان گونه برون گروه در رسم نمودار خوشه‌ای استفاده شد، نیز سطح پلوئیدی $2n=2x=14$ بود. در شکل شماره ۱ نمونه‌ای از سلول‌های

متافازی و آیدیوگرام هر گونه ارائه شده است. در هیچ‌یک از گونه‌های جنس بروموس ساتلیت مشاهده نشد. برای جمعیت‌های گونه *Lo. multiflorum* تعداد ۳ ماهواره مشاهده شد که این سه ماهواره در بین جمعیت‌ها به‌صورت متغیر بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳ و یا ۴ قرار داشتند. برخی از خصوصیات کاریوتیپی برای جمعیت‌های مورد بررسی در گونه‌ها در جدول شماره ۲ ارائه شده است. فرمول کاریوتیپی متفاوتی در جمعیت‌های مختلف هر گونه برای جنس بروموس مشاهده شد. در یازده جمعیت فرمول کاریوتیپی ۷m، در هجده جمعیت فرمول کاریوتیپی ۶m+۱sm، در ده جمعیت فرمول کاریوتیپی ۵m+۲sm، در چهار جمعیت فرمول کاریوتیپی ۴m+۳sm و تنها در دو جمعیت فرمول کاریوتیپی ۲m+۵sm مشاهده شد. برای جمعیت‌های گونه چچم یکساله نیز فرمول کاریوتیپی متفاوتی مشاهده شد. براساس عامل تقارن کاریوتیپی استبینز نیز مشاهده شد که درون جمعیت‌های گونه‌ها نیز تنوع وجود داشت. به هر حال جمعیت‌های مورد بررسی در جنس بروموس دارای کلاس ۱A و ۲A بودند.



شکل ۱- سلول متافازی و آیدیوگرام مربوط به گونه‌های مورد بررسی

جدول ۲- عامل‌های تقارن کاریوتیپی جمعیت‌های مورد بررسی

گونه	کد جمعیت	فرمول کاریوتیپی	کلاس تقارن استبینز	VRC	DRL	TF%	A_1	A_2
B. tectorum	Te_1	7m	1A	۹/۱۱	۷/۴۲	۴۱/۱۵	۰/۳۰۱	۰/۱۸۷
	Te_2	6m+1sm	1A	۹/۵۰	۸/۸۸	۴۰/۷۱	۰/۳۱۷	۰/۲۲۴
	Te_3	4m+3sm	1A	۹/۱۰	۸/۷۴	۳۸/۳۶	۰/۳۷۶	۰/۲۱۱
	Te_4	6m+1sm	1A	۱۰/۲۳	۷/۶۹	۴۰/۳۹	۰/۳۲۸	۰/۱۸۲
	Te_5	6m+1sm	1A	۹/۹۰	۸/۷۵	۴۰/۵۲	۰/۳۲۶	۰/۲۱۱
B. sterilis	St_1	6m+1sm	1A	۸/۷۶	۶/۹۷	۳۹/۳۵	۰/۳۵۳	۰/۱۷۵
	St_2	4m+3sm	1A	۷/۲۴	۶/۹۹	۳۹/۱۹	۰/۳۶۴	۰/۱۷۶
	St_3	5m+2sm	2A	۸/۱۲	۶/۴۵	۴۰/۴۰	۰/۳۲۸	۰/۱۶۲
	St_4	4m+3sm	1A	۸/۷۸	۶/۱۲	۳۹/۵۷	۰/۳۵۲	۰/۱۵۹
	St_5	5m+2sm	2A	۸/۹۴	۶/۵۶	۳۹/۰۶	۰/۳۶۴	۰/۱۶۶
B. briziformis	Br_1	5m+2sm	2A	۱۰/۳۹	۵/۴۵	۴۰/۲۴	۰/۳۲۷	۰/۱۴۱
	Br_2	5m+2sm	2A	۱۰/۳۲	۶/۱۹	۴۰/۹۵	۰/۳۱۳	۰/۱۶۴
	Br_3	5m+2sm	1A	۱۱/۱۱	۶/۶۷	۴۰/۰۳	۰/۲۸۲	۰/۱۶۶
	Br_4	6m+1sm	1A	۱۱/۴۷	۶/۷۰	۴۱/۹۱	۰/۲۷۷	۰/۱۶۷
	Br_5	5m+2sm	2A	۱۱/۲۳	۶/۵۰	۴۱/۰۳	۰/۳۱۰	۰/۱۵۹
B. squarrosus	Sq_1	6m+1sm	1A	۱۰/۴۶	۶/۵۱	۴۰/۸۷	۰/۲۸۷	۰/۱۶۰
	Sq_2	6m+1sm	1A	۱۰/۸۷	۶/۴۹	۴۰/۶۴	۰/۳۱۸	۰/۱۷۲
	Sq_3	6m+1sm	1A	۱۰/۵۴	۵/۷۲	۴۰/۱۱	۰/۳۳۴	۰/۱۵۴
	Sq_4	6m+1sm	1A	۱۰/۸۲	۵/۴۹	۴۰/۰۹	۰/۳۳۵	۰/۱۵۲
	Sq_5	6m+1sm	1A	۱۱/۳۱	۵/۵۲	۴۰/۱۱	۰/۳۳۵	۰/۱۴۷
Br. danthoniae	Da_1	6m+1sm	1A	۹/۲۶	۵/۷۳	۴۳/۲۱	۰/۲۴۳	۰/۱۳۹
	Da_2	7m	1A	۹/۵۱	۵/۲۴	۴۳/۶۱	۰/۲۲۶	۰/۱۳۲
	Da_3	7m	1A	۹/۷۲	۶/۲۲	۴۱/۴۴	۰/۲۹۴	۰/۱۵۰
	Da_4	6m+1sm	1A	۹/۸۵	۵/۶۸	۴۰/۳۳	۰/۳۲۴	۰/۱۳۴
	Da_5	6m+1sm	1A	۹/۵۰	۶/۵۶	۴۲/۴۰	۰/۲۷۰	۰/۱۵۴
B. japonicus	Ja_1	6m+1sm	2A	۱۰/۰۴	۶/۳۹	۴۰/۶۵	۰/۳۲۲	۰/۱۵۶
	Ja_2	2m+5sm	1A	۱۰/۰۹	۶/۲۱	۳۷/۸۳	۰/۳۹۴	۰/۱۵۴
	Ja_3	2m+5sm	2A	۱۰/۱۵	۵/۸۹	۳۷/۲۱	۰/۴۰۴	۰/۱۴۸
	Ja_4	7m	1A	۹/۹۸	۶/۱۶	۴۲/۱۴	۰/۲۶۷	۰/۱۵۲
	Ja_5	7m	1A	۱۰/۹۳	۶/۷۸	۴۱/۶۳	۰/۲۸۹	۰/۱۵۲

ادامه جدول ۲- عامل‌های تقارن ...

گونه	کد جمعیت	فرمول کاریوتیپی	کلاس تقارن استبینز	VRC	DRL	TF%	A۱	A۲
Br. scoparius	$Sc_{۱}$	6m+1sm	۱A	۹/۶۴	۵/۵۶	۴۱/۲۳	۰/۳۰۳	۰/۱۴۴
	$Sc_{۲}$	7m	۱A	۹/۵۵	۵/۲۵	۴۲/۴۵	۰/۲۶۴	۰/۱۴۰
	$Sc_{۳}$	7m	۱A	۱۰/۲۸	۵/۷۹	۴۱/۰۶	۰/۳۰۶	۰/۱۵۲
	$Sc_{۴}$	7m	۱A	۱۰/۲۳	۵/۵۶	۴۰/۱۲	۰/۳۳۱	۰/۱۴۱
	$Sc_{۵}$	6m+1sm	۱A	۹/۹۳	۶/۵۳	۴۱/۶۵	۰/۲۹۲	۰/۱۷۱
B. sericeus	$Se_{۱}$	5m+2sm	۱A	۹/۳۹	۷/۴۵	۴۰/۵۲	۰/۳۲۴	۰/۲۰۳
	$Se_{۲}$	7m	۱A	۹/۰۰	۷/۷۹	۳۹/۷۱	۰/۳۴۱	۰/۲۰۷
	$Se_{۳}$	7m	۱A	۸/۶۰	۴/۷۴	۳۹/۷۱	۰/۳۴۵	۰/۱۲۷
	$Se_{۴}$	5m+2sm	۱A	۷/۹۷	۸/۶۴	۴۰/۵۰	۰/۳۲۹	۰/۲۳۹
	$Se_{۵}$	5m+2sm	۲A	۸/۲۰	۶/۹۱	۳۸/۰۰	۰/۳۳۹	۰/۱۷۷
B. rechingeri	$Re_{۱}$	5m+2sm	۲A	۹/۸۰	۶/۳۳	۴۰/۰۶	۰/۳۳۵	۰/۱۶۳
	$Re_{۲}$	6m+1sm	۱A	۹/۵۶	۵/۲۲	۴۱/۶۲	۰/۲۹۳	۰/۱۳۵
	$Re_{۳}$	6m+1sm	۲A	۱۰/۴۸	۵/۷۵	۴۰/۴۵	۰/۳۲۵	۰/۱۵۶
	$Re_{۴}$	4m+3sm	۲A	۹/۱۰	۵/۸۷	۳۶/۷۹	۰/۴۲۰	۰/۱۵۴
	$Re_{۵}$	6m+1sm	۱A	۹/۶۶	۶/۰۵	۳۹/۸۹	۰/۳۴۲	۰/۱۵۵
L. multiflorum	$Mu_{۱}$	3m+1sm+3st	۲A	۶/۹۳	۷/۱۵	۲۶/۰۵	۰/۵۲۹	۰/۱۷۹
	$Mu_{۲}$	2m+2sm+3st	۲A	۶/۳۵	۶/۷۸	۲۸/۷۶	۰/۴۹۴	۰/۱۷۴
	$Mu_{۳}$	3m+3sm+1st	۲A	۷/۱۱	۶/۶۹	۲۹/۲۰	۰/۴۶۶	۰/۱۷۵
	$Mu_{۴}$	3m+4sm	۲A	۷/۱۴	۶/۹۲	۳۰/۱۲	۰/۴۴۵	۰/۱۷۵
	$Mu_{۵}$	3m+4sm	۲A	۵/۹۸	۵/۷۰	۲۹/۲۲	۰/۴۷۷	۰/۱۵۵

$A_{۱}$: شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی؛ $A_{۲}$: شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی

جدول ۳- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس آشیانه‌ای صفات کاریوتیپی

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول کل کروموزوم	طول بازوی بلند	طول بازوی کوتاه	شاخص سانترومری	نسبت بازوی بلند به کوتاه
گونه	۸	۱۷/۰۱**	۵/۴۷۹**	۳/۳۰۹**	۰/۰۰۱۱**	۰/۰۵۷۴**
جمعیت/گونه	۳۶	۱/۴۵۵**	۰/۵۲۵**	۰/۳۷۸**	۰/۰۰۱۰**	۰/۰۴۱۵**
خطا	۱۸۰	۰/۲۰۸	۰/۰۸۳	۰/۰۷۴	۰/۰۰۰۳	۰/۰۱۳۵
ضریب تغییرات (CV%)		۴/۶۸	۴/۹۸	/۸۶	۴/۳۰	۷/۶۶

**: معنی‌دار در سطح ۱٪

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که در بین گونه‌های مورد بررسی جنس بروموس، برای خصوصیات کاریوتیپی طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و کوتاه کروموزوم، شاخص سانترومری و نسبت بازوها اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ وجود داشت. همچنین در بین جمعیت‌های درون گونه‌ها اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ برای تمام خصوصیات کاریوتیپی مشاهده شد. ضریب تغییرات به‌دست آمده بین ۴/۳۰ تا ۷/۶۶ درصد متغیر بود.

نتایج مقایسه میانگین با روش توکی در سطح ۵٪ برای خصوصیات کاریوتیپی در بین گونه‌های مورد بررسی جنس بروموس نشان داد که بیشترین طول کل کروموزوم را گونه *B. briziformis* با طول ۱۰/۹۰ میکرون داشت و تنها با گونه *B. squarrosus* (۱۰/۸۰ میکرون) اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ براساس آزمون توکی نشان نداد (جدول ۴). گونه *B. scoparius* با طول ۱۰/۲۴ میکرون در گروه B قرار گرفت و تنها با گونه *B. japonicus* (۹/۹۱ میکرون) اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ نداشت. کمترین طول کل کروموزوم به گونه *B. sterilis* اختصاص داشت (۸/۳۷ میکرون) و دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با سایر گونه‌ها بود. در رده بعدی گونه *B. sericeus* دارای کوتاه‌ترین طول کل کروموزوم به‌مقدار ۹/۳۵ میکرون بود و تنها با گونه‌های *B. tectorum* (۹/۵۷ میکرون) و *B. rechingeri* (۹/۶۴ میکرون) اختلاف معنی‌دار نشان نداد. گونه *B. danthoniae* با داشتن کروموزوم‌های کوتاه (۸/۹۵ میکرون) نسبت به بیشتر گونه‌ها در گروه E قرار داشت که اختلاف معنی‌داری با دیگر گونه‌ها داشت.

برای طول بازوی بلند گونه *B. squarrosus* بیشترین مقدار را داشت (۶/۴۲ میکرون) و تنها با گونه *B. briziformis* (۶/۴۱ میکرون) اختلاف معنی‌دار نشان نداد و در گروه بعدی گونه *B. scoparius* با طول ۶/۱۳ میکرون قرار گرفت که دارای اختلاف معنی‌دار با تمام گونه‌ها در سطح ۵٪ بود. کمترین طول بازوی بلند به گونه *B. sterilis* به‌مقدار ۵/۰۶ میکرون اختصاص داشت و با دیگر گونه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بود. در مرحله بعد دو گونه *B. danthoniae* و *B. sericeus* با داشتن کمترین مقدار طول بازوی بلند به‌ترتیب با میانگین‌های ۵/۳۴ و ۵/۴۶ میکرون در یک گروه قرار داشتند و با دیگر گونه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ براساس آزمون توکی بودند. گونه‌های *B. tectorum*، *B. japonicus* و *B. rechingeri* با داشتن طول بازوی بلند نسبتاً متوسطی در یک گروه قرار گرفتند و با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند. گونه *B. briziformis* بیشترین طول بازوی کوتاه به‌مقدار ۴/۵۰ میکرون را داشت و تنها با گونه *B. squarrosus* اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ نشان نداد. در گروه بعدی گونه *B. scoparius* با طول ۴/۰۸ میکرون قرار گرفت که با گونه‌های *B. japonicus* (۴/۰۶ میکرون)، *B. rechingeri* (۳/۹۰ میکرون) و *B. sericeus* (۳/۸۹ میکرون) اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ نداشت. کمترین طول بازوی کوتاه به‌گونه *B. sterilis* به‌مقدار ۳/۳۱ میکرون اختصاص داشت و با دیگر گونه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بود. گونه *B. danthoniae* از لحاظ کمترین مقدار طول بازوی کوتاه در رده بعدی قرار داشت (۳/۶۲ میکرون) و با دیگر گونه‌ها دارای اختلاف معنی‌دار بود. گونه *B. tectorum* با داشتن طول بازوی کوتاه به‌مقدار ۳/۸۵ میکرون با گونه‌های *B. japonicus* و *B. rechingeri* در یک گروه قرار گرفتند و با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند.

کمترین شاخص سانترومری به گونه *B. sterilis* به‌مقدار ۰/۳۹۱ اختصاص داشت و تنها با گونه‌های *B. briziformis*، *B. japonicus* و *B. sericeus* اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ نشان داد. از طرف دیگر بیشترین مقدار شاخص سانترومری به گونه *B. sericeus* به‌مقدار ۰/۴۱۳ اختصاص داشت و تنها با گونه‌های *B. sterilis* و *B. scoparius* اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ نشان داد.

بیشترین مقدار نسبت بازوی بلند به کوتاه به گونه *B. sterilis* به‌مقدار ۱/۶۰ اختصاص داشت و تنها با گونه‌های *B. japonicus* و *B.sericeus* اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ نشان داد. کمترین مقدار نسبت بازوی بلند به کوتاه به گونه *B. sericeus* به‌مقدار ۱/۴۴ اختصاص داشت و تنها با گونه‌های *B. sterilis* و *B. scoparius* اختلاف معنی‌دار

در سطح ۵٪ نشان داد. گونه‌های *B. tectorum*، *B. danthoniae*، *B. briziformis*، *B. squrrosus* و *B. rechingeri* با داشتن نسبت بازوی بلند به کوتاه متوسطی نسبت به سایر گونه‌ها در یک گروه قرار داشتند و با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند.

جدول ۴- مقایسه میانگین خصوصیات کاریوتیپی گونه‌های جنس بروموس با روش توکی در سطح ۵٪

گونه	نسبت بازوها		شاخص سانترومری		طول بازوی کوتاه (میکرون)		طول بازوی بلند (میکرون)		طول کل کروموزوم (میکرون)	
B. tectorum	۱/۵۲	**abc**	۰/۴۰۰	**abc**	۳/۸۵	**c**	۵/۷۲	**c**	۹/۵۷	**cd**
B. sterilis	۱/۶۰	**a**	۰/۳۹۱	**c**	۳/۳۱	**e**	۵/۰۶	**e**	۸/۳۷	**f**
B. briziformis	۱/۵۲	**abc**	۰/۴۰۸	**ab**	۴/۵۰	**a**	۶/۴۱	**a**	۱۰/۹۰	**a**
B. squarrosus	۱/۵۲	**abc**	۰/۴۰۳	**abc**	۴/۳۸	**a**	۶/۴۲	**a**	۱۰/۸۰	**a**
B. danthoniae	۱/۵۳	**abc**	۰/۴۰۰	**abc**	۳/۶۲	**d**	۵/۳۴	**d**	۸/۹۵	**e**
B. japonicus	۱/۴۶	**bc**	۰/۴۰۹	**ab**	۴/۰۶	**bc**	۵/۸۴	**c**	۹/۹۱	**bc**
B. scoparius	۱/۵۵	**ab**	۰/۳۹۷	**bc**	۴/۰۸	**b**	۶/۱۳	**b**	۱۰/۲۴	**b**
B. sericeus	۱/۴۴	**c**	۰/۴۱۳	**a**	۳/۸۹	**bc**	۵/۴۶	**d**	۹/۳۵	**d**
B. rechingeri	۱/۵۳	**abc**	۰/۴۰۱	**abc**	۳/۹۰	**bc**	۵/۷۴	**c**	۹/۶۴	**cd**

*: اعداد دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون باهم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد ندارند.

بر مبنای نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی براساس خصوصیات کاریوتیپی برای گونه‌های جنس بروموس، سه مؤلفه استخراج شد (جدول ۵) که در مجموع ۹۸/۹۱ درصد از واریانس با این سه مؤلفه بیان شد. مؤلفه اول ۶۰/۶۵ درصد از واریانس موجود را توجیه کرد و تمام صفات در این مؤلفه دارای سهم بالا بودند. صفات اختلاف طول نسبی، شاخص‌های عدم تقارن بین و درون کروموزومی و نسبت بازوها دارای سهم منفی و دیگر صفات دارای سهم مثبت در مؤلفه اول بودند. بر این اساس این مؤلفه را می‌توان به‌عنوان مؤلفه افزایش طول کروموزوم و کاهش عدم تقارن درون و بین کروموزومی نامگذاری کرد. مؤلفه دوم ۲۴/۸۲ درصد از واریانس موجود را توجیه کرد، به‌طوری‌که تنها صفات اختلاف طول نسبی، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی و طول بازوی کوتاه در این مؤلفه سهم نداشتند و باتوجه به اینکه خصوصیات درصد شکل کلی کروموزوم و شاخص سانترومری دارای سهم منفی و دیگر خصوصیات دارای سهم مثبت در مؤلفه دوم بودند، بر این اساس این مؤلفه به‌عنوان مؤلفه افزایش طول کروموزوم و عدم تقارن درون کروموزومی نامگذاری شد. مؤلفه سوم نیز ۱۳/۵۳ درصد از واریانس موجود را توجیه کرد و در این مؤلفه دو صفت اختلاف طول نسبی و شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی دارای بیشترین سهم مثبت بودند، که بر این اساس این مؤلفه به‌عنوان مؤلفه افزایش عدم تقارن بین کروموزومی نامگذاری شد.

جدول ۵- بردار ویژه، مقدار ویژه، درصد از واریانس و واریانس تجمعی حاصل از سه مؤلفه اول تجزیه به مؤلفه‌های اصلی خصوصیات کاریوتیپی در بین گونه‌های جنس بروموس

خصوصیات کاریوتیپی	مؤلفه اول	مؤلفه دوم	مؤلفه سوم
مقدار نسبی کروماتین (VRC)	۰/۸۰۹	۰/۵۶۸	۰/۱۵۲
اختلاف طول نسبی (DRL)	-۰/۵۸۳	-۰/۰۳۴	۰/۷۹۸
درصد شکل کلی (TF%)	۰/۸۲۸	-۰/۵۳۳	۰/۱۳۷
شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A_1)	-۰/۸۳۷	۰/۵۲۴	-۰/۱۲۸
شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A_2)	-۰/۶۵۸	۰/۰۰۳	۰/۷۳۷
طول کل کروموزوم (TL)	۰/۸۰۹	۰/۵۶۸	۰/۱۵۲
طول بازوی بلند (LA)	۰/۷۱۴	۰/۶۸۶	۰/۱۴۰
طول بازوی کوتاه (SA)	۰/۹۰۲	۰/۳۹۷	۰/۱۶۵
شاخص سانترومری (CI)	۰/۸۱۹	-۰/۵۵۵	۰/۱۴۲
نسبت بازوها (AR)	-۰/۷۷۱	۰/۵۸۴	-۰/۱۵۴
مقدار ویژه	۶/۰۶	۲/۴۸	۱/۳۵
درصد از واریانس	۶۰/۶۵	۲۴/۸۲	۱۳/۵۳
واریانس تجمعی	۶۰/۶۵	۸۵/۳۹	۹۸/۹۱

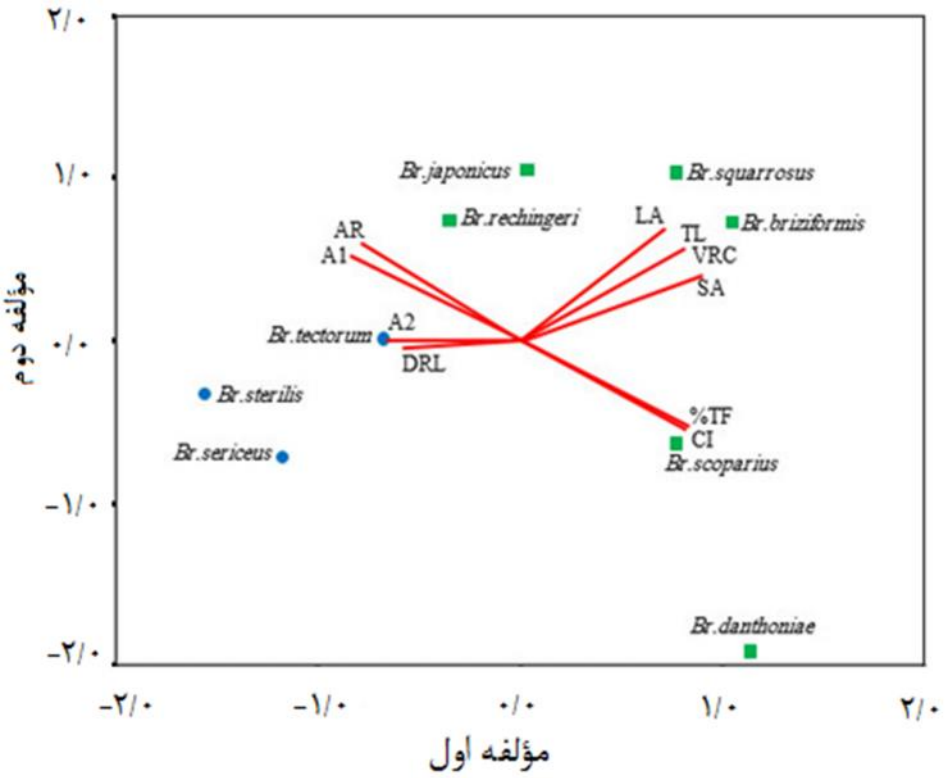
مقادیر مؤلفه خصوصیاتی که زیر آنها خط کشیده شده دارای بیشترین سهم در مؤلفه مورد نظر می‌باشند.

بر اساس بای‌پلات حاصل از مؤلفه اول و دوم (شکل ۲) ملاحظه شد که خصوصیات طول کل، طول بازوی بلند و کوتاه کروموزوم و مقدار نسبی کروماتین یک روند داشتند و از طرف دیگر با توجه به اینکه هرچقدر مقدار درصد شکل کلی کروموزوم و شاخص سانترومری کمتر و مقدار نسبت بازوها و شاخص عدم تقارن درون کروموزومی بیشتر باشند عدم تقارن درون کروموزومی بیشتر است، بر این اساس خصوصیات درصد شکل کروموزومی و شاخص سانترومری به‌همراه خصوصیات عدم تقارن درون کروموزومی و نسبت بازوها باتوجه به نمودار دارای یک روند بودند و در نهایت خصوصیات شاخص عدم تقارن بین کروموزومی و اختلاف طول نسبی نیز روند جداگانه‌ای به خود اختصاص دادند.

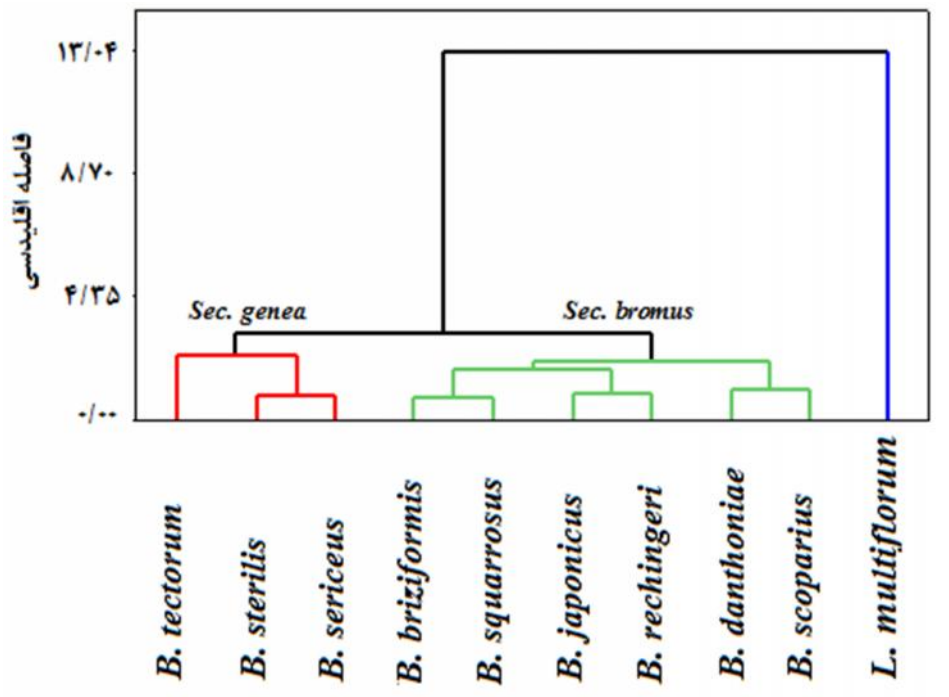
از طرف دیگر ملاحظه شد که گونه‌های *B. squarrosus* و *B. briziformis* باتوجه به نمودار بیشترین مقدار طول کروموزوم و عدم تقارن درون کروموزومی متوسطی داشتند، همچنین دارای عدم تقارن بین کروموزومی پایینی نسبت به سایر گونه‌ها بودند. دو گونه *B. scoparius* و *B. danthoniae* کمترین عدم تقارن درون کروموزومی را داشتند و طول کروموزوم‌های کوتاه‌تری نسبت به گروه قبل داشتند و از طرف دیگر برای عدم تقارن بین کروموزومی نیز مقدار پایینی باتوجه به نمودار به خود اختصاص دادند. دو گونه *B. japonicus* و *B. rechingeri* عدم تقارن درون و بین کروموزومی و طول کل کروموزومی متوسطی نسبت به سایر گونه‌ها نشان دادند و در نهایت گونه‌های *B. tectorum*، *B. sterilis* و *B. sericeus* دارای بیشترین عدم تقارن بین کروموزومی و کمترین طول کروموزوم بودند و برای عدم تقارن درون کروموزوم نیز مقدار متوسطی داشتند.

براساس خصوصیات کاریوتیپی گونه *Lolium multiflorum* به‌همراه خصوصیات کاریوتیپی گونه‌های مورد بررسی در

جنس بروموس، به‌منظور بهتر مشخص کردن روابط بین گونه‌ای تجزیه خوشه‌ای با روش UPGMA و بر اساس فاصله اقلیدوسی انجام شد (شکل ۳). نتایج حاصل از این تجزیه، گونه چچم یکساله را از گونه‌های جنس بروموس تفکیک کرد و در یک گروه قرار داد. از طرف دیگر برای گونه‌های جنس بروموس نیز مشاهده شد که دو بخش *Genea* و *Bromus* کاملا از همدیگر تفکیک شدند و در دو گروه جداگانه قرار گرفتند. در بخش *Genea* کاریوتیپ دو گونه *B. sterilis* و *B. sericeus* شباهت بیشتری با همدیگر داشتند و در مرحله بعد با گونه *B. tectorum* هم گروه شدند. در بخش *Bromus* دو گونه *B. scoparius* و *B. danthoniae* براساس خصوصیات کاریوتیپی فاصله بیشتری با چهار گونه دیگر این بخش داشتند و با هم در یک گروه قرار گرفتند. از طرف دیگر دو گونه *B. rechingeri* و *B. japonicus* و دو گونه *B. briziformis* و *B. squarrosus* با داشتن شباهت بالا با همدیگر بر اساس خصوصیات کاریوتیپی در کمترین فاصله از همدیگر تفکیک شدند.



شکل ۲- نمودار بای‌پلات مؤلفه اول و دوم حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی گونه‌ها بر اساس خصوصیات کاریوتیپی



شکل ۳- نمودار خوشه‌ای حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌های مورد بررسی جنس بروموس و گونه چچم یکساله بر اساس خصوصیات کاریوتیپی با روش UPGMA

بحث

براساس مطالعات انجام شده سطوح پلوئیدی متفاوتی در میان جمعیت‌ها و گونه‌های مختلف جنس بروموس مشاهده شد که به‌طور عمده مضربی از هفت هستند. این تنوع در سطح پلوئیدی، به‌ویژه در میان جمعیت‌های مختلف یک گونه می‌تواند سبب تنوع مورفولوژیکی و در ادامه پایداری بهتر گونه و ایجاد زمینه مناسب برای انجام برنامه‌های اصلاحی شود (Mirzaie-Nodoushan & Shariat, 2003)، اما در این تحقیق جمعیت‌های دیپلوئید در گونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند، که این امر سبب شد روابط بین گونه‌ای به‌دست آمده براساس خصوصیات کاریوتیپی در سطح پایه کروموزومی ارزیابی شود. سطح دیپلوئیدی برای گونه‌های مورد بررسی در تحقیقات متعددی گزارش شده است (Mirzaie-Nodoushan *et al*., 2006; Sheidai *et al*., 2008; Sadeghian *et al*., 2010).

البته نتایج به‌دست آمده از این تحقیق برای خصوصیات مرتبط با طول کروموزوم با گزارش Sadeghian و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت بیشتری داشت. از طرف دیگر نتایج به‌دست آمده برای خصوصیات مرتبط با عدم تقارن کاریوتیپی درون و بین کروموزومی با گزارش Sheidai و همکاران (۲۰۰۸) تطابق بیشتری داشت. به هرحال می‌توان کاریوتیپ نسبتاً متقارنی برای گونه‌های مختلف مورد بررسی گزارش کرد، زیرا براساس جدول دوطرفه استبینز از ۴۵ جمعیت مورد بررسی تعداد ۳۴ جمعیت کلاس تقارن ۱A و ۱۱ جمعیت دیگر نیز کلاس تقارن ۲A داشتند. همچنین با توجه به فرمول کاریوتیپی تعیین شده برای جمعیت‌ها ملاحظه شد که در بیشتر جمعیت‌ها تعداد زیادی کروموزوم متاسنتریک و تعداد کمی کروموزوم ساب متاسنتریک وجود داشت.

وجود تنوع معنی‌دار درون و بین گونه‌ای برای خصوصیات کاریوتیپی بیانگر تنوع ژنتیکی بالا برای این خصوصیات بود، مقایسه میانگین گونه‌ها نیز وجود این تنوع را کاملا تأیید کرد. تنوع در خصوصیات کاریوتیپی باعث ایجاد توانایی در پایداری و حضور گونه‌های مختلف جنس

بروموس در شرایط متنوع محیطی شده است. آن چنان که گونه‌های مختلف این جنس در عرصه وسیعی از مناطق رویشی کشور و در ارتفاعات و اقلیم‌های مختلف حیاتی آن حضوری مؤثراز خود نشان می‌دهند (Mirzaie-Nodoushan & Shariat, 2003).

نتایج تجزیه به مؤلفه‌ها به‌خوبی نشان داد که گونه‌های مورد بررسی در دو بخش براساس خصوصیات کاریوتیپی کاملا از همدیگر تفکیک شدند و عامل تفکیک بین دو بخش نیز از طریق تمام خصوصیات مورد بررسی بود (خصوصیات مرتبط با طول کروموزوم و عامل‌های عدم تقارن درون و بین کروموزومی). زیرا مؤلفه اول نقش بیشتری در تفکیک گونه‌های دو بخش از همدیگر داشت. اما از طرف دیگر مؤلفه دوم نقش بیشتری در تفکیک گونه‌های درون بخش‌ها داشت، به‌ویژه برای بخش *Bromus* این نقش بیشتر قابل توجه بود. بنابراین می‌توان بیان کرد که عامل تنوع درون بخشی ناشی از خصوصیات کاریوتیپی بیشتر بر اساس خصوصیات مرتبط با طول کروموزوم و عدم تقارن درون کروموزومی بود، که این خصوصیات باعث شدند در بخش *Bromus* گونه‌های *B. scoparius* و *B. danthoniae* از چهار گونه دیگر کاملا تفکیک شوند. با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی سهم صفات کاریوتیپی در ایجاد تنوع بین سه گونه از جنس تلخ بیان مشخص شد (Safari *et al*., 2008). استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در بررسی تنوع کاریوتیپی جمعیت‌های گونه *B. tomentellus* نشان داد که سهم عمده‌ای از تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌ها با دو مؤلفه اول بیان شد (Mirzaie-Nodoushan *et al*., 2000). دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به‌خوبی نتایج تجزیه به مؤلفه‌ها را تأیید کرد و از طرف دیگر فاصله بالای گونه شاهد (چچم یکساله) نسبت به گونه‌های مورد بررسی بر اساس خصوصیات کاریوتیپی بیانگر نقش بالای این خصوصیات در ایجاد تنوع زیستی بین گونه‌ها و جنس‌های مختلف بود. البته تفکیک گونه‌های دو بخش از همدیگر به‌خوبی در نمودار خوشه‌ای مشخص بود. در نهایت با توجه به نتایج می‌توان بیان کرد که مطالعات کاریوتیپی در تفکیک دو بخش مورد مطالعه در جنس بروموس و گونه‌های مورد بررسی مناسب ارزیابی شد و تکامل کاریوتیپی گونه‌های بخش *Bromus* بیشتر از طریق مقدار کروماتین بود، در حالیکه در مقابل تکامل کاریوتیپی گونه‌های مورد بررسی در بخش *Genea* بیشتر از طریق افزایش عدم تقارن درون و بین کروموزومی بود. در بین گونه‌های بخش *Bromus* دو گونه *B. briziformis* و *B. squarrosus* بیشترین و دو گونه *B. scoparius* و *B. danthoniae* کمترین تکامل کاریوتیپی را داشتند، از طرف دیگر دو گونه *B. rechingeri* و *B. japonicus* در بین این دو گروه قرار گرفتند. برای بخش *Genea* نیز گونه *B. tectorum* تکامل کاریوتیپی بیشتری نسبت به دو گونه دیگر نشان داد.

منابع مورد استفاده

- Ainouche, M. L. and Bayer, R. J., 1997. On the origins of the tetraploid Bromus species (section Bromus, Poaceae): insights from internal transcribed spcer sequences of nuclear ribosomal DNA. Genome, 40: 730-743.
- Aryavand, A., 2002. Phenetic analysis of the Iranian species of the *Bromus* sections *Genea*, *Neobromus* and *Nevskiella*. Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran 13 (1): 3-13.
- Hosseini, F., Aghaei, M. J., Vaezi, Sh. and Shahli, M. K., 2013. Karyotypic diversity in *Aegilops umbellulata* collection of Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 21 (1): 140-149.
- Huziwara, Y., 1962. Karyotype analysis in some genera of Compositeae, VIII. Further studies on the chromosomes of *Aster*. American Journal of Botany, 49: 116–119.
- Jangali, Kh., Salehi, P. and Jafari, A. A., 2012. Genetic variation study of yield, morphological traits and seed germination in *Bromus* L. populations. Plant and Ecosystem, 8 (1-31): 14-29.
- Joachimiak, A., Sutkowska, A. and Mitka, J., 2001. RAPD studies in *Bromus* (Poaceae) from the Old and New worlds—preliminary results. Acta Biological Academic Scienceof Hungarian, 43: 79–86.
- Klos, J., Sliwinska, E., Kula, A., Golczyk, H., Grabowska-Joachimiak, A., Ilnicki, T., Szostek, K., Stewart, A. and Joachimiak, A. J., 2009. Karyotype and nuclear DNA content of hexa-, octo-, and

- Romero-Zarco, C., 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon, 35: 526-530.
- Saarela, J. M., Peterson, P. and Valdés-Reyna, J., 2014. A taxonomic revision of Bromus (Poaceae: Pooideae: Bromeae) in México and Central America.Phytotaxa, 185 (1): 1–147.
- Sadeghian, S., Jafari, E. and Hatami, A., 2010. Cytogenetic studies in some species of *Bromus* L. in Iran. Asian Journal of Biological Sciences, 3 (4): 188-194.
- Safari, H., Hesamzadeh Hejazi, S. M., Jalilian, N. and Ziaeinasab, M., 2008. Study of karyotypic variation on six different populations in three *Sophora* L. species. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 16 (1): 27-36.
- Sales, F., 1994. Evolutionary tendencies in some annual species of *Bromus* (*Bromus* L. sect. *Genea* Dum. (Poaceae)). Botanical Journal ofthe Linnean Society, 115: 197–210.
- Sanderson, M. A., Skinner, R. H. and Elwinger, G. F., 2002. Seedling development and field performance of prairiegrass, grazing brome- grass, and orchardgrass. Crop Science, 42:224–230.
- Scholz, H., 2008. Some comments on the genus *Bromus* (Poaceae)and three new species. Willdenowia, 38: 411-422.
- Sheidai, M., Saeidi, S. and Atri, M., 2008. Taxonomic applications of seed proteins in the genus Bromus L. (Poaceae). Iranian Journal of Botany, 14 (2): 126-131.
- Smith, P., 1972. Serology and species relationships in annual bromes (*Bromus* L. sect. *Bromus*). Annals of Botany(Oxford), 36: 1–30.
- Stebbins, G. L., 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edward Arnold, London.
- Stebbins, G. L., 1981. Chromosomes and evolution in the genus *Bromus* (Gramineae). Botanischa Jahrbucher fur Systematik,102: 359–379.
- Verloove, F., 2012. A revision of *Bromus* section *Ceratochloa* (Pooideae, Poaceae) in Belgium.Dumortiera, 101: 30-45.

duodecaploid lines of Bromus subgen *Ceratochloa*. Genetics and Molecular Biology, 32 (3): 528-537.

- Levan, A. K., Fredga, K. and Sandberg, A. A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201–220
- Maassoumi, A.A. and Khosravi, A.R., 1994. Chromosomal evolution in higher plants, contemporary biology fundamental principles of modern taxonomy. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran, 259 P.
- Mirzaie-Nodoushan, H., Zebarjadi, A. R. and Karimzadeh, Gh., 2000. Karyotypic investigations of some *Bromus tomentellus* populations and their karyotypic correlations. The Iranian Journal of Botany, 8 (2):287-298.
- Mirzaie-Nodoushan, H., Dehghanshoar, M., Maddah-Arefi, H. and Asadi-Corom, F., 2006. Karyotypic characteristics of several *Bromus* species. International Journal of Agriculture & Biology, 8 (6): 717–720.
- Mirzaie-Nodoushan, H. and Shariat, A., 2003. Karyotipic variation in different *Bromus* species. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 11 (1): 53-61.
- Naderi, R. and Rahiminejad, M.R., 2015. A taxonomic revision of the genus *Bromus* (Poaceae) and a new key to the tribe Bromeae in Iran. Annales Botanici Fennici, 52: 233-248.
- Oja, T., 2002. Genetic divergence and interspecific differentiation in the *Bromus madritensis* complex (Poaceae) based on isozyme data. Biochemical Systematics and Ecology, 30: 433–449.
- Oja, T., Jaaska, V. and Vislap, V., 2003. Breeding system, evolution and taxonomy of *Bromus arvensis*, *B. japonicus* and *B. squarrosus* (Poaceae). Plant Systematics and Evolution, 242: 101–117.
- Pavlick, L. E., 1995. *Bromus* L. of North America. Royal British Columbia Museum, Victoria, British Columbia, Canada. 161 p.
- Pavlick, L. E. and Anderton, L. K., 2007. Bromus. In: Barkworth M.E. & al. (eds.), Flora of North America north of Mexico, vol. 24: 193-237. Oxford University Press, New York-Oxford.

Evaluation of karyotypic relationship of several species of *Bromus* and *Genea* sections from *Bromus* genus

H. Safari[1], A. R. Zebarjadi[*2,3], D. Kahrizi[2,3] and A. A. Jafari[4]

1- Ph.D student of Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, Razi University, I.R.Iran.
2-Associate Prof., Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, Razi University, I.R. Iran.
Email: zebarjadiali@yahoo.com
3- Associate Prof., Biotechnology for Drought Tolerance Research Department, Razi University, I.R. Iran.
4- Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R.Iran

Received: 18.08.2016 Accepted: 21.12.2016

Abstract

Bromus genus is one of the most important rangeland plants which have distributed in wide range of natural areas in our country. The interspecific relationship were evaluated in 45 diploid populations of two sections of *Bromus* and *Genea*, with 5 populations of *Lolium multiflorum* species based on karyotype characteristics. For each population five mitotic cells in metaphase stage were prepared from meristematic cells of root tips in newly germinated seeds. The total length, short arm and long arm length of chromosomes were measured. The centromer index, arm ratio, relative chromatin value, intrachromosomal and interchromosomal asymmetry index and total form percentage of chromosomes were calculated. The karyotypic asymmetry and types of chromosomes were determined. Variance analysis were showed a significant variation ($P<0.01$) between species and among populations. The populations had a symmetric karyotype which, were placed in A1 and A2 Stebbins's classes and had a metacentric chromosomes and a few sub-metacentric chromosomes. The species of two sections were separated based on principal component and cluster analysis. The Karyotypic evolution for *Bromus* section was more from the chromatin value and for *Genea* section was further by increasing the asymmetry within and between chromosomes. *B. briziformis* Fisch. & C. A. Mey and *B. squarrosus* L. had the most karyotypic evolution and *B. scoparius* L. and *B. danthoniae* Trin. ex C. A. Mey. had the least karyotypic evolution in *Bromus* section. *B. japonicus* Thunb and *B. rechingeri* Melderis were placed between the two previous groups. *B. tectorum* L. were showed a karyotypic evolution more than *B. sterilis* L. and *B. sericeus* Drobow. in *Genea* section.

Key words: Bromus, Chromatin, Chromosome, Evolution, Karyotype