مطالعه کاریوتیپی جمعیت‌های تترا پلوئید لولیوم

حسین میرزایی ندوشن [1] و هاجر ندرخانی [2]

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

۲ - دانشجوی دانشگاه پیام نور، تهران

چکیده

از آنجا که سطوح مختلف پلوئیدی می توانند در افزایش عملکرد گیاهان علوفه نقش به سزایی داشته باشند، تعدادی از جمعیت‌های طبیعی گونه‌هایی از لولیوم از نظر سطح پلوئیدی و نیز سایر ویژگیهای کاریوتیپی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند.

در هر جمعیت از گونه‌های سلول متافازی مورد *Lolium perenne* و *L. rigidum* تعداد پنج مطالعه و اندازه گیریهای کروموزومی قرار گرفتند و ضمن شمارش تعداد کروموزومها، اندازه بازوهای بلند و کوتاه مورد مطالعه و اندازه گیری قرار گرفتند.

در میان جمعیت‌های مورد مطالعه چندین جمعیت پلی‌پلوئید مشاهده گردید. دو دارای ۲۸ کروموزوم و جمعیت از) بودند که میانگین کلیه کروموزومهای *L. perenne* و یک جمعیت از *L. rigidum* تترا پلوئید (سلولها همراه انحراف معیار مربوطه و نیز فرمول $2n = 2x = 28$ اندازه‌گیری شده در کاریوتیپی هریک از جمعیت‌ها ارائه گردیده است.

تقارن کاریوتیپی با توجه به مقادیر TF%، در هر سه جمعیت یکسان است، ولی از نظر DRL، با توجه به اینکه مقادیر کمتر این پارامتر حاکی از تقارن بیشتر کاریوتیپ می‌باشد، یکی از جمعیتهای *L. Perenne* نسبت به دو جمعیت دیگر، متقارن‌تر است و جمعیت متعلق به گونه *L. rigidum* از این نظر نامتقارنترین کاریوتیپ محسوب می‌شود.

واژه‌های کلیدی: لولیوم، پلی‌پلوئیدی، کاریوتایپ، سیتوژنتیک و میتوز

مقدمه و کلیات:

گونه‌های مختلف جنس لولیوم به دلایل متعددی اهمیت زیادی در تولید علوفه مورد نیاز در سیستمهای متمرکز و غیر متمرکز دامداری دارند. این گونه‌های گیاهی ضمن خوشخوراک بودن برای دام می‌توانند به گونه‌ای در مراتع بکار گرفته شوند و ضمن تأمین علوفه مورد نیاز، در فصولی از سال که سایر گونه‌های مرتعی قادر به تولید نیستند، رشد نموده و علوفه مناسبی نیز تولید کنند. به عنوان مثال یکی از موفقترین روشهای مورد استفاده در مراتع مناطق گرمسیری کشت ارقام مختلف گونه‌ای از لولیوم می‌باشد که می‌تواند با مقادیر زیادی بذر (۳۰ - ۴۰ کیلوگرم در هکتار) و با بکارگیری کود ازت (۴۰۰ کیلوگرم در هکتار) علوفه مناسبی را در طول سال تولید نماید. این سیستم کاشت در طول دوره بحرانی زمستان تا بهار که بیشتر گونه‌ها قادر به رویش نیستند نیز می‌تواند و همکاران، ۱۹۹۳). بکارگیری مقادیر مناسبی علوفه تولید نماید (ارقام مختلف لولیوم با ویژگیهای متفاوت از جمله Lowe گونه‌ها و سطوح مختلف پلوئیدی می‌تواند ضمن گسترش دامنه کشت آنها در افزایش تولید در واحد سطح نیز مؤثر باشد.

گونه یکساله‌ای از لولیوم با نام *Lolium multiflorum* که به لولیوم ایتالیایی معروف است، به دلیل قابلیت رشد در خلال دوره‌های سرد زمستان می‌تواند حتی در مناطق سردی که در بخشی از سال از برف پوشیده شده اند مورد کشت و کار قرار گرفته و به دلیل مقاومت زیاد به سرما علوفه زیادی نیز تولید (Tase و Kobayashi، ۱۹۹۳).

اثر پلی‌پلوئیدی بر صفات مورفولوژیک در لولیوم:

پلی‌پلوئیدی تغییرات محسوسی بر صفات مورفولوژیک می‌گذارد که اغلب به وسیله این تغییرات می‌توان بدون بررسیهای کروموزومی و یا مولکولی به پلی‌پلوئید بودن بوته پی برد. بر اساس گزارشهایی که در این مورد وجود دارد واریته دورگی است که در زلاند نو تولید شده و ضمن دورگ بودن پلی‌پلوئیدی القایی ($2n=4x=۲۸$) به شمار می‌رود

که از واریته "گراسلند آریکی" حاصل شده است. دورگ جدید دارای برگهایی دراز با رنگ سبز تیره است. این واریته از نظر فرم رویشی به دلیل تعداد کمتری پنجه نسبت به واریته‌های قبلی تاج پوشش بازتری دارد و نیز در حدود هفت روز زود رس‌تر از آنهاست. این واریته همچنین نسبت به واریته‌های اجدادی خود تعداد کمتری خوشه زایا و گلچه در خوشه دارد. البته وزن هزار دانه بذر آن نیز در مقایسه با واریته‌های اجدادی بیشتر است. این واریته برای خاکهای حاصلخیز مناطق معتدل یا معتدل سرد پیشنهاد شده است (Anonymus، ۱۹۹۰).

Jones، (۱۹۸۹) نیز با استفاده از کلشیسین به دو برابر کردن کروموزومهای گونه *L. perenne* اقدام نمود. او ارقام دیپلوئید و تتراپلوئید حاصل از کاربرد کلشیسین و نیز دیپلوئیدهای تحت اثر کلشیسین را از نظر تعدادی از صفات زراعی مورد مقایسه قرار داد. بیشتر صفات مورد مطالعه وی تحت تاثیر دو برابر شدن کروموزومها قرار گرفتند.

Hassan و همکاران، (۱۹۸۹) گیاهان حاصل از ده لاین از دو گونه *L. perenne* و *L. multiflorum* را با کلشیسین ۰/۲ درصد به مدت سه ساعت تیمار نموده و نشاءهای میکسو پلوئیدی با پنجه‌های 2x و 4x بدست آوردند. بذرهای حاصل از این پنجه‌ها را کاشته و تغییراتی را که در ظرفیت پنجه دهی، رشد رویشی و تاریخ گلدهی لاینهای خالص دیپلوئید دو گونه مذکور حاصل شد وراثت پذیر ارزیابی نمودند که حداقل در یک نسل قابل انتقال می‌باشد. محققان مذکور در بعضی از لاینهای مورد مطالعه تعداد پنجه‌های رویشی تا دو برابر افزایش یافت. در بیشتر موارد پلی‌پلوئیدی به کاهش تعداد پنجه‌ها منجر می‌گردد (Neuteboom و همکاران، ۱۹۸۸).

Hassan و همکاران، (۱۹۹۱) در گزارش دیگری گیاهچه‌های یک هفته‌ای سه لاین خالص از گونه *L. perenne* و چهار لاین از گونه *L. multiflorum* را به مدت سه ساعت تحت تاثیر محلول ۰/۲ در صد کلشیسین قرار داده و گیاهانی را که زنده ماندند خودگشن نمودند. در نسل بعد بذرهای حاصل رشد داده شده و بدون اینکه تیمار

دیگری در مورد آنها اعمال شود از نظر سیتولوژیکی مورد بررسی قرار گرفته و گیاهان دیپلوئید از تتراپلوئید جدا شدند. این گیاهان دیپلوئید با دیپلوئیدهای معمولی از نظر ویژگیهای متعددی مورد مقایسه قرار گرفتند و اندازه سلولها و تعداد کلروپلاست در هر سلول در گیاهان مورد تاثیر کلشیسین بیشتر از گیاهان دیپلوئید معمولی بود و افزایش کلروپلاست ارتباطی با افزایش اندازه سلول نداشت. تعدادی از مطالعات نیز نشان دادند که پلی‌پلوئیدی اثری بر کم و کیف صفات مورفولوژیک ندارد (Berardo و همکاران، ۱۹۸۹).

اثر پلی‌پلوئیدی بر عملکرد علوفه در لولیوم:

مطالعات زیادی در زمینه اثر پلی‌پلوئیدی بر عملکرد گراسهای علوفه‌ای و غیر علوفه‌ای صورت گرفته و اغلب این مطالعات نشان می‌دهند که پلی‌پلوئیدی اثرات معنی داری بر عملکرد دارد (Casler، ۱۹۹۰). در مطالعه‌ای که به وسیله Hassan و همکاران، (۱۹۸۹)، در باره دو گونه *L. perenne* و *L. multiflorum* صورت گرفت تولید ماده خشک و تر علوفه تا دو برابر افزایش نشان داد.

مطالعه دیگری در باره لولیوم توسط Sliesaravicius و Bilis، (۱۹۹۷) صورت گرفته است. این محققان چندین دسته تلاقی بین گونه‌ای از جمله:

۱ - تلاقی بین *L. perenne* (تتراپلوئید) و *Festuca pratensis* (تتراپلوئید).

۲ - تلاقی بین *L. multiflorum* (تتراپلوئید) و *F. pratensis* (تتراپلوئید).

۳ - تلاقی متقابل *F. pratensis* (تتراپلوئید) با *L. multiflorum* (تتراپلوئید)

۴ - تلاقی بین *Lolium perenne* (دیپلوئید) و *L. multiflorum* (دیپلوئید)

ایجاد نموده و عملکرد نتاج این تلاقیها را در نسلهای مختلف مورد بررسی قرار دادند. آنان بیشترین عملکرد ماده خشک در سال اول را از نتاج حاصل از دورگ دوم که در آن دو تتراپلوئید مورد استفاده قرار گرفته بودند بدست آوردند. بیشترین میانگین عملکرد

در طول دو سال بررسی نیز به همین دورگ تعلق داشت. البته مطالعاتی نیز وجود دارد که تفاوتی بین عملکرد ماده خشک ارقام دیپلوئید و تترا پلو ئید در آنها مشاهده نشده است (Neuteboom و همکاران ، ۱۹۸۸). دورگ بین جنسی و تتراپلوئید حاصل از مطالعات Sliesaravicius و Bilis (۱۹۹۷)، دارای عملکردی بیش از سه برابر عملکرد لولیوم دیپلوئید بود.

اثر پلی‌پلوئیدی بر صفات کیفی در لولیوم:

امکان اصلاح لولیوم به منظور بهبود منابع کربوهیدراتی آن از طریق افزایش هضم پذیری دیواره سلولی یا از طریق افزایش نسبت کربوهیدراتهای محلول در آب توسط Lantinga و همکارانش (۱۹۹۵)، مورد بررسی قرار گرفت. با آزمایش چرای مستقیم دام در مزرعه‌ای از لولیوم تترا پلوئید (*L. perenne*) ثابت شد که نخست تغذیه دام و شیر تولیدی آنها از این ارقام از ارقام دیپلوئید بیشتر است. در آزمایشی که رقم دیپلوئید Wendy با رقم تتراپلوئید Condesa مورد مقایسه قرار گرفته بود مشخص شد که کربوهیدراتهای محلول در آب رقم تترا پلوئید بیش از رقم دیپلوئید است. در همین آزمایش رقم تترا پلوئید Madera دارای دیواره‌های سلولی هضم پذیرتر از ارقام دیپلوئید بودند.

پلی‌پلوئیدی به میزان قابل توجهی مقاومت به شوری را کاهش می‌دهد. در آزمایشی که توسط Lee و همکارانش (۱۹۹۵) در باره ارقام مختلف دیپلوئید و تتراپلوئید لولیوم صورت گرفت درصد کاهش جوانه زنی بذرهای ارقام تترا پلوئید بیش از ارقام دیپلوئید بود. در این آزمایش تخمین زده شد که ماده خشک ساقه و ریشه به ترتیب در شوری ۱۶۶ و ۱۴۸ mM ۵۰٪ کاهش می‌یابد و همبستگی معنی داری بین میزان ماده خشک ساقه و ریشه مشاهده گردید. همین طور با افزایش میزان شوری میزان کل کلروفیل و غلظت پرولین آزاد افزایش می‌یافت.

پلی‌پلوئیدی اثر معنی داری بر میزان مقاومت به سرما نیز دارد. در این مورد آزمایشی توسط Yamashita و Shimamoto (۱۹۹۵) در باره ۱۲ رقم دیپلوئید و ۷ رقم تتراپلوئید صورت گرفت که به تبع آن مشخص گردید که تتراپلوئیدها میزان زنده مانیشان در زمستان بیش از دیپلوئیدهاست، ولی میزان مقاومت به یخبندان آنها کمتر از دیپلوئیدهاست.

اثر پلی‌پلوئیدی بر تولید بذر در لولیوم:

بیشتر مطالعات موجود نشان می‌دهند که پلی‌پلوئیدی اثر نامطلوبی بر کمیت تولید بذر دارد. البته ممکن است از نظر وزن هزار دانه اثر پلی‌پلوئیدی مثبت باشد، ولی اغلب تشکیل بذر راکاهش می‌دهد. لازم به ذکر است که در مورد گیاهان مرتعی و علوفه‌ای این ویژگی قابل چشم پوشی است. بر اساس مطالعات Sliesaravicius و Bilis، (۱۹۹۷)، در تلاقیهای بین دو گونه تتراپلوئید (*F. pratensis* × *L. multiflorum*) مقدار تشکیل بذر چیزی حدود ۵۲ در صد بود. در تلاقی متقابل این دو گونه هیچ گونه بذری تشکیل نشد. در آمفی دیپلوئیدهای حاصل از تلاقی فوق میزان تشکیل بذر چیزی حدود ۲۲ درصد بود. مطالعات دیگری نیز در این زمینه صورت گرفته است که حاکی از کاهش باروری گیاهان تتراپلوئید و میزان تولید بذر می‌باشد (Clarke، ۱۹۸۵، Fearon و همکاران، ۱۹۸۴، b و c).

اثر پلی‌پلوئیدی بر رفتارهای کروموزومی و تقسیم سلولی در لولیوم:

به طور کلی افزایش سطح پلوئیدی به ناهنجاری در رفتارهای کروموزومی منجر می‌گردد و همین ناهنجاریها موجب تمایل به بازگشت پلی‌پلوئیدها به دیپلوئیدی می‌شوند (Kleijer، ۱۹۸۷، Evans و Aung، ۱۹۸۵، Aung و Evans، ۱۹۸۵). Ahloowalia، (۱۹۸۳)، پدیده‌های متفاوتی نظیر جابه جاییهای متقابل

کروموزومی[۱]، حذف کروموزومی[۲]، معکوس شدن قطعاتی از کروموزوم[۳] جدا شدن و حذف قطعات کروموزومی[۴] را در مطالعاتش در مورد دورگهای بین گونه‌ای و نیز آلوپلی‌پلوئیدی گزارش نموده است. Burner و همکاران (۱۹۸۹) مطالعات جامعی را در باره گونه‌های مختلف، دورگهای بین آنها و نیز سطوح پلوئیدی بالای آنها از نظر ویژگیهای متعدد از جمله روند از دست رفتن کروموزومها طی چندین نسل، رنگ پذیری گرده‌ها و غیره انجام دادند. آنها در مطالعاتشان در یافتند که بیشتر دورگهای بین گونه‌ای گرچه ارزش علوفه‌ای زیادی دارند، ولی بی نظمی زیادی در فرایند تقسیم میوز آنها مشاهده می‌شود که با کاهش تشکیل بذر نیز همراه است. این محققان با انجام تلاقیهای متقابل[۵] و پیشبرد دورگها به نسلهای چهارم و پنجم اثر نسلهای پیشرفته و سیتوپلاسم را در مورد رفتارهای کروموزومی در میوز دورگها بررسی نمودند. به طور کلی مطالعات آنها نشان داد که با پیشبرد نسلها ، ضمن از دست رفتن تعدادی از کروموزومها، میزان بی نظمی میوزی[۶] نیز افزایش می‌یابد. همین طور در این بررسی فراوانی یونی والنتها و تری‌والنتها و نیز میکرو نوکلئوسها از نسل اول تا پنجم به طور خطی افزایش یافت. به طور متقابل بیوالنتهای حلقوی، فراوانی کیاسما و درصد سلولهای دختری بدون میکرونوکلئوس کاهش یافت. به رغم از دست رفتن کروموزومها طی چند نسل متوالی، رنگ پذیری گرده‌ها ثابت بود و اثر سیتوپلاسم نیز قابل چشم پوشی ارزیابی گردید.

در دو رگهای بین جنسی تریپلوئیدی که توسط Morgan (۱۹۹۰)، تولید شده بود رفتارهای کروموزومی تتراپلوئیدهای آمفی‌دیپلوئید به نحو بهتری قابل بررسی و پیش بینی بود تا در دورگهای دیپلوئید. در این دو رگها بیشتر کروموزومهای همولوگ با هم جفت شدند تا غیر همولوگها. Evans و Davies، (۱۹۸۵)، نحوه جفت شدن

1- Reciprocal translocations
2- Deletions
3- Inversions
4- Chromosomal fragmentation and elimination
5- Reciprocal crosses
6- Meiotic irregularity

کـــروموزومها را در دو رگـــهای بـــین *L. perenne* (دیـــپلوئید) و *L. multiflorum* (دیپلوئید) مورد مطالعه قرار دادند. آنها در این مطالعه همبستگی بین فراوانی بیوالنتها در اولین متافاز میوز دورگ تتراپلوئید و درجه جفت شدن ترجیحی[1] محاسبه شـده در تفرق آللهای آیزوزایمی را در تست کراسها زیاد توصیف نمودند. در مطالعات دیگری که به همین منظور در رفتارهای کروموزومی دورگها بین گونه‌ای لولیومها یا دورگهای آنها صورت گرفته است نیز فراوانی مولتی‌والنتها کمتر از حد مورد انتظار ارزیابی شده است (Clarke، ۱۹۸۵).

به وسیله Eizenga و همکارانش، (۱۹۹۱) و به منظور افزایش هضم پذیری و ارزش غـذائـی تـال‌فسکیو (*Festuca arundinacea*)، تـلاقیهای مـتعددی بـین فسـتوکا و گونه‌هایی از لولیوم صورت گرفت. یکی از اهداف عمده این تحقیق ارزیـابی پـایداری میوزی بخشی از ژرم‌پلاسم فستوکا در سطح اکتاپلوئیدی بود. رفتارهای کروموزومی در میوز، تعداد میکرو نوکلئوسها، رنگ پذیری گرده و نیز میزان تشکیل بذر نیز در هشت گیاه والد، هفت گیاه نسل اول و سی و پنج گیاه نسل دوم که در تشکیل یک واریته تجاری مورد استفاده قرار گرفته بودند مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق فراوانـی یـونی والنتها طی نسلهای مورد بررسی و نیز کوادریوالنتهای زنـجیری کـاهش یـافت. تـعداد کوادریوالنتهای زنجیری در نسلهای مختلف بعضی از خانواده‌ها با هم تفاوت داشتند. در سایر پدیده‌های مورد بررسی در تقسیم میوز تفاوتی بین گیاهان مورد مطالعه مشاهده نشد. عملکرد بذر اثرات خطی و غیر خطی با نسل از خود نشان داد. همین طور اثرات متقابل معنی داری بین نسل و فامیل والدینی نیز مشاهده شد. هیچ گونه اثر متقابلی بین عملکرد بذر و سایر عوامل مورد مطالعه مشاهده نشد که حاکی از اثر سایر عوامـل از جمله عامل محیط روی تشکیل بذر می‌باشد.

1- Preferential pairng

Deniz (۱۹۹۷)، مطالعات جامعی را در باره رفتارهای کروموزومی *Lolium perenne L.* و *Festuca pratensis Huds* و دورگ تریپلوئید آنها انجام داد. نتایج مطالعات وی به طور مختصر به شرح زیر می‌باشد: جفت شدن کروموزومها در متافاز یک (MI) و تفرق در آنافاز یک (AI) در والدین و دورگ آنها مطالعه شد. لولیوم دیپلوئید دارای رفتارهای میوزی بسیار منظمی بود که به طور عمده در MI دارای بیوالتهای حلقوی بود و تفرق کروموزومی در AI به طور عمده دارای توازن مناسب بود. فستوکای تتراپلوئید دارای میوزی به نسبت نامنظم با یونیوالنت و مولتیوالنت در MI بود که بیوالنت نیز در آن دیده می‌شد. تفرق در AI به طور معمول دارای توازن بوده و قدری عدم توازن نیز در آن دیده می‌شد. دورگهای تریپلوئید بین جنسی همبستگی کروموزومی خوبی از خود نشان دادند. بیشتر کروموزومها بی‌والنت تشکیل دادند، در حالی که یونی‌والنت و کوادری‌والنت نیز به ندرت دیده شد. با این حال تمامی دورگها همان طور که انتظار می‌رفت تفرق کروموزومی نابرابر از خود نشان دادند و سایر تفکیکهای غیر طبیعی نیز در AI مشاهده گردید. به طور کلی دورگی با رفتارهای میوزی منظم و پایدار مشاهده نگردید. Deniz و Tufan (۱۹۹۷)، با بررسی سیتوژنتیک دورگ بین *Lolium multiflorum* و *Lolium perenne* نیز رفتارهای کروموزومی را مورد مطالعه قرار دادند و به نتایج مشابهی دست یافتند. در این مطالعه نیز عدم ثبات ژنتیکی دورگ در نسلهای متوالی مشاهده گردید و دو برابر شدن کروموزومهای آن، جهت تولید آلو تتراپلوئید و رفع مشکل پیشنهاد گردید.

Humphreys و همکارانش (۱۹۹۸)، با بررسی گیاهان آندروژنیک[1] به این نتیجه رسیدند که زنده‌مانی گامتهای گیاهان دورگ به حضور یک سری کامل از ژنوم لولیوم بستگی دارد.

1- Androgenic plants

اثر پلی‌پلوئیدی بر اندازه سلول و گرده در لولیوم:

به طور معمول اندازه سلولها در گیاهان پلی‌پلوئید بزرگتر از اندازه سلولها در گیاهان دیپلوئید می‌باشد. در مطالعه‌ای که توسط Wilkins و Sabanci (۱۹۹۰)، صورت گرفت شش جمعیت دیپلوئید، دو جمعیت دورگ و یک رقم تتراپلوئید در شرایط گلخانه مورد مقایسه قرار گرفته و طول و عرض سلولهای اپیدرمی برگهای جوان مورد مقایسه قرار گرفتند. سلولهای رقم تتراپلوئید ۲۵٪ درازتر و ۱۲٪ عریض‌تر از بزرگترین دیپلوئیدهای مورد مطالعه بود. در همین مطالعه اثر تیمارهای مختلف کودی و مدیریتهای مختلف مزرعه‌ای بر اندازه سلول مورد بررسی قرار گرفت و این نتیجه حاصل شد که اندازه سلولها بیشتر تابع ژنوتیپ است تا محیط و از این رو انتخاب بر مبنای اندازه سلول جهت افزایش عملکرد پیشنهاد گردید. گیاهان تتراپلوئید گرده‌های ناهمگنی تولید می‌کنند که ناشی از تفاوت ژنوتیپ گرده‌هاست (Sala و همکاران، ۱۹۸۹).

اثر پلی‌پلوئیدی بر استقرار گیاه در لولیوم

بیشتر گزارشهایی که در این مورد ارائه شده است حکایت می‌کند که گیاهان پلی‌پلوئید در رقابت با گیاهان دیپلوئید لولیوم دارای قدرت کمتری در استقرار هستند. Roegiers و همکارانش (۱۹۸۸) در مقایسه دو جمعیت تتراپلوئید و دو جمعیت دیپلوئید در آزمایشهای جداگانه به این نتیجه رسیدند که در یکی از موارد نسبت تتراپلوئیدها به دیپلوئیدها پس از یک دوره شش ساله از ۵۳٪ به ۳۶٪ کاهش یافته است.

اثر پلی‌پلوئیدی بر ناسازگاری درون گونه‌ای در لولیوم:

بدیهی است که تفاوت سطح پلوئیدی منجر به ناسازگاری بین دو سطح مختلف پلوئیدی خواهد گردید. ولی گاهی نشان داده شده است که این عدم وجود سازگاری تنها

به دلیل اختلاف در سطح پلوئیدی نیست، بلکه ژن یا ژنهایی این پدیده را کنترل می‌نمایند (Hayward و همکاران، ۱۹۸۵). خود ناسازگاری در دورگهای حاصل از تلاقیهایی از چند گونه لولیوم در بعضی از مطالعات گامتوفیتیک تشخیص داده شده است (Fearon و همکاران، ۱۹۸۴ a، b و c).

در این تحقیق با جمع آوری بذرهای گونه‌های مختلف لولیوم از عرصه‌های طبیعی و نیز دریافت تعدادی نمونه از بانک ژن گیاهان مرتعی و جنگلی و مطالعه میکروسکوپی آنها سعی در مطالعه ویژگیهای کروموزومی و کاریوتیپی از جمله بررسی سطح پلوئیدی آنها بوده است تا در صورتی که جمعیت‌های پلی‌پلوئیدی مشاهده گردیدند در اصلاح این گونه‌ها مورد استفاده قرار گیرند.

مواد و روشها:

چند نمونه (Accession) از گونه‌های *Lolium rigidum* و *L. perenne* از بانک ژن منابع طبیعی وابسته به مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع ایران دریافت گردید. از آنجا که جهت مطالعات کروموزومهای هر گونه گیاهی باید سلولهای در حال تقسیم میتوزی که در مرحله متافاز می‌باشند تهیه گردند، ابتدا بذرهای جمعیت‌های مذکور پس از آغشته شدن با قارچکش بنومیل در داخل پتری دیش و بر روی کاغذ صافی مرطوب کاشته شدند و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از جوانه زدن و رشد ریشه چه‌ها به طول تقریبی یک سانتیمتر در ساعتهای اولیه صبح مریستم انتهایی ریشه قطع شده و به مدت ۲/۵ ساعت در محلول اشباع آلفا برومونفتالین قرار داده شدند. پس از این مدت نمونه‌ها از محلول پیش تیمار مذکور خارج شده و چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. در ادامه، این نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محلول تثبیت کننده الکل اتیلیک و اسید استیک خالص به نسبت سه به یک قرار داده شدند. پس از تثبیت و بعد از شستشوی کامل نمونه‌ها با آب مقطر، در الکل ۷۰٪ نگهداری شدند. از اسید

کلریدریک یک نرمال در درجه حرارت ۶۰ درجه سانتیگراد و به مدت ۵ دقیقه به عنوان محلول هیدرولیز کننده استفاده گردید. با محلول رنگ هماتوکسیلین کروموزومها رنگ آمیزی شده و با له کردن به روش معمول، نمونه‌های میکروسکوپی تهیه گردیدند. نمونه‌های تهیه شده توسط میکروسکوپ دوربین دار مورد بررسی قرارگرفته و حد اقل ۵ عدد از بهترین سلولهای متافازی مورد شمارش کروموزومی، رسم کروموزومها به وسیله لوله ترسیمی میکروسکوپ و عکسبرداری قرار گرفتند. پس از عکسبرداری و ترسیم کروموزومها، بازوهای بلند و کوتاه آنها اندازه گیری شده و تعداد فرورفتگیهای ثانویه و طول ماهواره‌های احتمالی نیز اندازه گیری و ثبت گردید. ضمن محاسبه میانگین، طول بازوهای کوتاه و بلند و طول کل تمامی کروموزومهای نمونه‌های مورد مطالعه، نسبت طول بازوی بلند به کوتاه و بازوی کوتاه به بلند نیز برای تمامی کروموزومها محاسبه گردید. نظر به اینکه حداقل پنج سلول در شمارش و اندازه گیریهای انجام شده مورد مطالعه قرار گرفتند، برای میانگین تمامی اندازه گیریهای یاد شده انحراف معیار نیز محاسبه گردید.

با استفاده از مدل آماری آزمایش فاکتوریل در طرح پایه کاملا تصادفی، جمعیت‌ها به عنوان عامل اول با ۳ سطح و کروموزومها به عنوان عامل دوم با ۱۴ سطح (چهارده جفت کروموزوم همولوگ) و نیز تعداد سلولهای مورد مطالعه به عنوان تعداد تکرار، داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند تا تفاوت جمعیت‌ها و کروموزومها از نظر کلیه ویژگیهای مورد مطالعه و نیز اثرات احتمالی متقابل موجود بین این دو عامل مورد آزمون قرار گیرند.

تعدادی از پارامترهای مورد نیاز جهت سنجش تقارن کاریوتیپی نمونه‌های مورد بررسی نیز مورد محاسبه قرار گرفتند. از جمله این پارامترها می‌توان به موارد زیر اشاره نمود:

۱ - درصد شکل کلی (TF%)[1]، = نسبت مجموع طول کل بازوهای کوتاه کروموزومهای یک جمعیت به مجموع طول کل کروموزومهای آن.

۲ - اختلاف دامنه طول نسبی کروموزومها(DRL)[2]، = اختلاف بین حداقل و حد اکثر طول نسبی کروموزومها. طول نسبی هر کروموزوم از تقسیم طول آن به مجموع طول کل کروموزومها ضرب در صد حاصل می‌شود.

۳ - S% = طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم.

۴ - TL = طول کل یک سری کروموزومی بر حسب میکرون.

۵ - S/L = نسبت طول کل کوتاه‌ترین کروموزوم به طول بلندترین کروموزوم جمعیت.

۶ - میانگین کل کلیه کروموزومهای هر جمعیت بر حسب میکرون

۷ - با استفاده از روش ارائه شده توسط Levan و همکاران (۱۹۶۴) و بر اساس نسبت اندازه بازوی بلند به بازوی کوتاه کروموزومها (L/S) همه کروموزومها نامگذاری گردیدند.

اطلاعات حاصله توسط نرم افزارهای SAS (میرزایی ندوشن، ۱۳۷۸) و MSTATC (میرزایی ندوشن، ۱۳۷۵) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

با بررسیهای کروموزومی جمعیت‌های مورد نظر سه جمعیت با شماره‌های ثبت ۳۰۹، ۱۷۶۴ و ۱۵۵۱ که به ترتیب LP1، LP2 و LR نامیده شدند پلی‌پلوئید بودند که در مرحله اول شمارش کروموزومی در مورد آنها انجام شده و سطح آنها تترا پلوئید تشخیص داده شد. مطابق روش تحقیق ارائه شده اندازه گیریهای کروموزومی در مورد کلیه کروموزومهای ۵ سلول از هر جمعیت انجام شده و اطلاعات حاصل مورد تجزیه و

1- Total Form percentage
2- Difference of Range of Relative Length

تحلیل قرار گرفتند. نتیجه تجزیه واریانس نشان داد که جمعیت‌ها از نظر طول بازوی بلند و کوتاه و نیز طول کل کروموزوم با یکدیگر تفاوت دارند (جدول شماره ۱). با معنی دار شدن اختلاف بین تعدادی از ویژگیهای کاریوتیپی اندازه‌گیری شده سایر مطالعات و اندازه گیریها در مورد این ویژگیها ضروری می‌نماید. از این رو ابتدا میانگین کل کروموزومهای هر جمعیت مورد دسته بندی قرار گرفتند (جدول شماره۲). در ادامه پارامترهای سنجش تقارن کاریوتیپی نیز مورد محاسبه قرار گرفتند که نتایج آنها در جدول شماره ۳ ارائه گردیده است. همین طور ابعاد مختلف کلیه کروموزومهای مورد اندازه‌گیری از جمله طول بازوهای بلند و کوتاه و طول کل کروموزوم، نسبت طول بازوهای بلند به کوتاه و بازوهای کوتاه به بلند و انحراف معیارهای لازم جهت سنجش دقت اندازه گیریها در جداول شماره ۴ الی ۶ ارائه گردیده‌اند.

از تعدادی از سلولهای تتراپلوئید مورد مطالعه عکسبرداری شد که در شکلهای شماره ۱ تا ۳ ارائه گردیده‌اند. با استفاده از میانگین ابعاد کروموزومها ایدیوگرام هر یک از جمعیت‌های تتراپلوئید رسم گردید که در اشکال شماره ۴ تا ۶ ارائه شده‌اند.

جدول شماره ۱: میانگین مربعات جداول تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده از روی کروموزومها در جمعیت‌های مورد مطالعه. S/L نسبت طول بازوی کوتاه به طول بازوی بلند و L/S نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه می‌باشد.

منابع تغییر	درجه آزادی	طول بازوی‌کوتاه	طول بازوی بلند	طول کل	S/L	L/S
ژنوتیپ	۲	۳/۵۹**	۱۳/۰۳**	۲۹/۸۸**	۰/۰۱ns	۰/۰۱ns
کروموزوم	۱۳	۴/۱۲**	۵/۶۶**	۱۹/۲۱**	۰/۰۳ns	۰/۳۷ns
اثر متقابل	۲۶	۰/۱۴ns	۰/۱۶ns	۰/۱۶ns	۰/۰۴ns	۰/۳۶ns
خطا	۱۶۸	۰/۲۳	۰/۳۹	۰/۷۰	۰/۰۳	۰/۳۰
کل	۲۰۹					

**= معنی دار در سطح یک درصد ns= غیر معنی دار

جدول شماره ۲: دسته بندی جمعیت‌های مورد مطالعه بر مبنای میانگین کل کروموزومها. میانگینهایی که دارای حروف مشابه هستند در یک دسته قرار می‌گیرند.

جمعیت	بازوی کوتاه	بازوی بلند	طول کل	S/L	L/S
LP1	۲/۱۶ a	۳/۳۲a	۵/۴۸a	۰/۶۸a	۱/۶۱a
LP2	۲/۰۸ a	۳/۱۴a	۵/۲۲a	۰/۶۸a	۱/۶۱a
LR	۱/۷۳ b	۲/۵۰b	۴/۲۴b	۰/۷۰a	۱/۵۹a

جدول شماره ۳: پارامترهای سنجش تقارن کاریوتیپی. TF% = درصد شکل کلی، DRL = اختلاف دامنه طول نسبی کروموزومها، S% = طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم. TL = طول کل یک سری کروموزومی بر حسب میکرون. S/L = نسبت طول کل کوتاه‌ترین کروموزوم به طول بلندترین کروموزوم

جمعیت	TF%	DRL	S%	TL	S/L	میانگین کل	فرمول کاریوتیپی
LP1	۰/۴۰	۶/۰۰	۴/۰۰	۷۶/۸۰	۰/۴۱	۵/۴۹	۱۰m+۴Sm
LP2	۰/۴۰	۵/۲۶	۴/۶۵	۷۳/۰۶	۰/۴۷	۵/۲۲	۱۱m+۳Sm
LR	۰/۴۱	۶/۳۳	۴/۵۴	۵۹/۴۲	۰/۴۲	۴/۲۴	۹m+۵Sm

جدول شماره ۴ : مشخصات کروموزومی گونه *Lolium perenne* نمونه شماره یک (LP1). SD= خطای معیار

کروموزوم	S	SD	L	SD	TL	SD	SL	SD	LS	SD
۱	۳/۳۶	۱/۱۵	۴/۳۶	۱/۰۴	۷/۷۴	۱/۹۹	۰/۷۶	۰/۱۶	۱/۳۸	۰/۳۷
۲	۲/۷۲	۰/۶۵	۴/۲۶	۱/۱۳	۶/۹۶	۱/۲۹	۰/۶۸	۰/۲۱	۱/۷۰	۰/۷۰
۳	۲/۸۸	۰/۲۶	۳/۹۰	۱/۰۷	۶/۷۸	۱/۳۳	۰/۷۸	۰/۱۰	۱/۳۴	۰/۲۱
۴	۲/۶۲	۰/۶۹	۳/۹۴	۰/۸۷	۶/۵۶	۱/۲۶	۰/۶۶	۰/۲۰	۱/۵۸	۰/۴۷
۵	۲/۴۰	۰/۶۲	۳/۷۶	۱/۲۸	۶/۱۸	۱/۱۷	۰/۷۰	۰/۳۰	۱/۷۰	۰/۸۵
۶	۲/۴۸	۰/۶۳	۳/۳۸	۰/۵۸	۵/۸۸	۱/۱۳	۰/۷۴	۰/۱۵	۱/۴۴	۰/۳۴
۷	۲/۳۸	۰/۳۱	۳/۲۲	۰/۸۶	۵/۵۶	۱/۱۰	۰/۷۸	۰/۱۰	۱/۳۴	۰/۲۷
۸	۲/۱۲	۰/۲۶	۳/۳۰	۰/۹۸	۵/۴۴	۱/۱۳	۰/۷۰	۰/۱۵	۱/۵۲	۰/۳۸
۹	۱/۸۴	۰/۱۵	۳/۳۶	۱/۰۱	۵/۱۸	۰/۹۵	۰/۶۰	۰/۲۱	۱/۸۴	۰/۷۰
۱۰	۱/۶۲	۰/۳۱	۳/۱۸	۰/۹۰	۴/۷۸	۰/۸۴	۰/۵۴	۰/۱۵	۲/۰۴	۰/۸۴
۱۱	۱/۷۰	۰/۵۸	۲/۸۰	۰/۳۷	۴/۵۲	۰/۸۱	۰/۶۲	۰/۱۶	۱/۷۴	۰/۳۷
۱۲	۱/۴۶	۰/۳۲	۲/۷۲	۰/۶۷	۴/۱۶	۰/۶۸	۰/۶۰	۰/۲۰	۱/۹۴	۰/۷۵
۱۳	۱/۴۴	۰/۲۹	۲/۴۲	۰/۶۷	۳/۸۸	۰/۹۰	۰/۶۲	۰/۱۳	۱/۷۰	۰/۳۳
۱۴	۱/۳۲	۰/۲۴	۱/۸۸	۰/۵۲	۳/۱۸	۰/۷۲	۰/۷۴	۰/۰۸	۱/۴۰	۰/۱۴

جدول شماره ۵ : مشخصات کروموزومی گونه *Lolium perrene* نمونه شماره ۲، (LP2). SD = خطای معیار

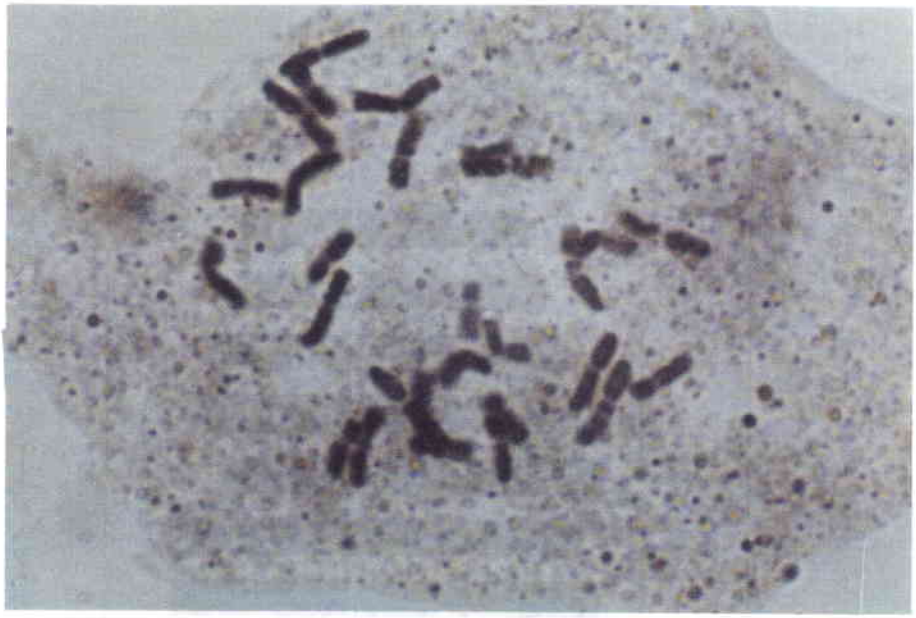
کروموزوم	S	SD	L	SD	TL	SD	SL	SD	LS	SD
۱	۲/۹۸	۰/۷۱	۴/۲۸	۰/۶۶	۷/۲۶	۱/۱۱	۰/۷۰	۰/۱۴	۱/۴۸	۰/۳۸
۲	۲/۶۲	۰/۵۳	۴/۰۶	۰/۸۹	۶/۶۶	۰/۹۶	۰/۶۸	۰/۱۷	۱/۶۸	۰/۶۶
۳	۲/۳۲	۰/۷۴	۳/۹۲	۰/۵۴	۶/۲۲	۱/۰۵	۰/۵۸	۰/۱۹	۱/۸۲	۰/۷۰
۴	۲/۳۴	۰/۶۵	۳/۴۴	۰/۳۱	۵/۷۸	۰/۹۲	۰/۶۶	۰/۱۳	۱/۵۸	۰/۳۲
۵	۲/۲۰	۰/۵۸	۳/۴۰	۰/۷۶	۵/۶۰	۰/۸۶	۰/۶۸	۰/۲۵	۱/۶۶	۰/۶۲
۶	۲/۲۰	۰/۳۷	۳/۲۸	۰/۸۰	۵/۴۶	۰/۸۹	۰/۷۲	۰/۱۹	۱/۵۲	۰/۳۹
۷	۲/۱۴	۰/۳۷	۳/۱۴	۰/۵۴	۵/۲۸	۰/۸۰	۰/۷۲	۰/۱۴	۱/۴۸	۰/۳۳
۸	۲/۱۸	۰/۵۲	۳/۰۲	۰/۵۶	۵/۲۰	۰/۸۹	۰/۷۶	۰/۲۱	۱/۴۲	۰/۵۲
۹	۲/۲۴	۰/۴۸	۲/۸۲	۰/۲۶	۵/۰۲	۰/۷۵	۰/۸۰	۰/۱۲	۱/۲۶	۰/۲۰
۱۰	۱/۵۴	۰/۳۹	۳/۰۸	۰/۵۳	۴/۶۲	۰/۶۹	۰/۵۲	۰/۱۹	۲/۱۰	۰/۶۴
۱۱	۱/۸۴	۰/۵۱	۲/۶۸	۰/۲۴	۴/۵۰	۰/۷۰	۰/۶۸	۰/۱۴	۱/۵۲	۰/۳۲
۱۲	۱/۶۰	۰/۳۰	۲/۵۲	۰/۵۰	۴/۱۴	۰/۵۴	۰/۶۶	۰/۱۸	۱/۶۴	۰/۴۰
۱۳	۱/۶۰	۰/۷۰	۲/۳۴	۰/۳۵	۳/۹۲	۰/۶۹	۰/۷۲	۰/۳۴	۱/۸۸	۱/۳۰
۱۴	۱/۳۲	۰/۲۴	۲/۰۸	۰/۵۳	۳/۴۰	۰/۷۶	۰/۶۸	۰/۰۸	۱/۵۶	۰/۱۹

جدول شماره ۶ : مشخصات کروموزومی گونه *Lolium rigidum* (LR). SD = خطای معیار

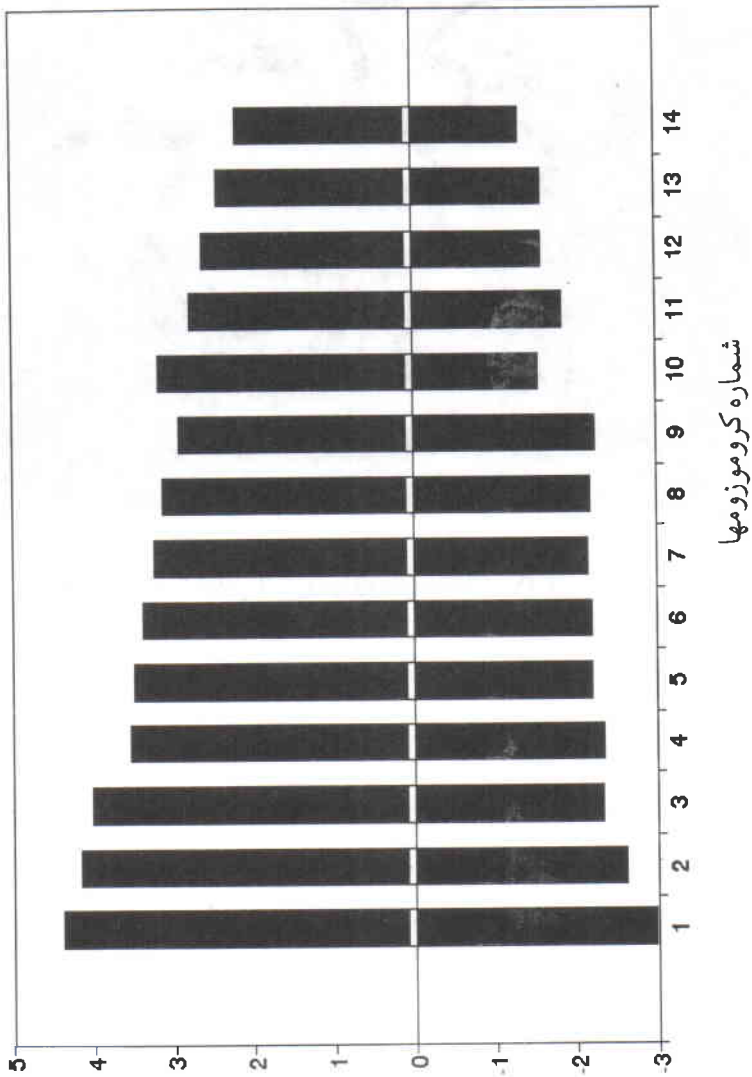
کروموزوم	S	SD	L	SD	TL	SD	SL	SD	LS	SD
۱	۲/۸۴	۰/۶۸	۳/۶۴	۰/۴۳	۶/۴۶	۰/۵۰	۰/۸۰	۰/۲۳	۱/۴۲	۰/۶۶
۲	۲/۵۰	۰/۳۳	۳/۰۲	۰/۱۷	۵/۵۴	۰/۲۱	۰/۸۴	۰/۱۵	۱/۲۴	۰/۲۷
۳	۱/۹۶	۰/۴۷	۳/۱۰	۰/۲۷	۵/۱۰	۰/۲۵	۰/۶۴	۰/۲۰	۱/۷۰	۰/۵۷
۴	۲/۲۴	۰/۱۳	۲/۷۰	۰/۰۰	۴/۹۴	۰/۱۳	۰/۸۸	۰/۰۴	۱/۱۴	۰/۰۸
۵	۱/۷۴	۰/۲۸	۲/۹۰	۰/۳۰	۴/۶۶	۰/۰۸	۰/۶۴	۰/۱۶	۱/۷۴	۰/۴۹
۶	۲/۰۰	۰/۱۴	۲/۴۲	۰/۱۷	۴/۴۲	۰/۱۷	۰/۸۴	۰/۰۸	۱/۲۴	۰/۱۱
۷	۱/۶۰	۰/۴۴	۲/۶۸	۰/۲۹	۴/۲۸	۰/۲۵	۰/۶۲	۰/۲۳	۱/۸۲	۰/۷۵
۸	۱/۸۸	۰/۱۶	۲/۳۲	۰/۳۵	۴/۱۶	۰/۱۵	۰/۸۲	۰/۲۰	۱/۲۶	۰/۳۱
۹	۱/۳۰	۰/۰۰	۲/۴۶	۰/۲۱	۳/۸۲	۰/۱۶	۰/۵۶	۰/۰۵	۱/۸۸	۰/۱۰
۱۰	۱/۵۲	۰/۳۱	۲/۰۶	۰/۱۹	۳/۶۰	۰/۲۶	۰/۷۶	۰/۱۸	۱/۴۰	۰/۳۳
۱۱	۱/۴۰	۰/۳۰	۲/۰۲	۰/۱۷	۳/۴۴	۰/۲۹	۰/۷۰	۰/۱۵	۱/۵۲	۰/۳۸
۱۲	۱/۳۲	۰/۲۴	۱/۹۸	۰/۴۲	۳/۳۰	۰/۲۵	۰/۷۲	۰/۲۱	۱/۵۸	۰/۶۵
۱۳	۱/۱۴	۰/۴۳	۱/۸۸	۰/۱۶	۳/۰۰	۰/۵۳	۰/۶۰	۰/۲۳	۱/۹۰	۰/۸۰
۱۴	۰/۹۰	۰/۴۴	۱/۸۴	۰/۳۱	۲/۷۰	۰/۴۶	۰/۴۸	۰/۲۹	۲/۴۶	۰/۹۳

شکل شماره ۱: نمایی از کروموزومهای متافازی LP1

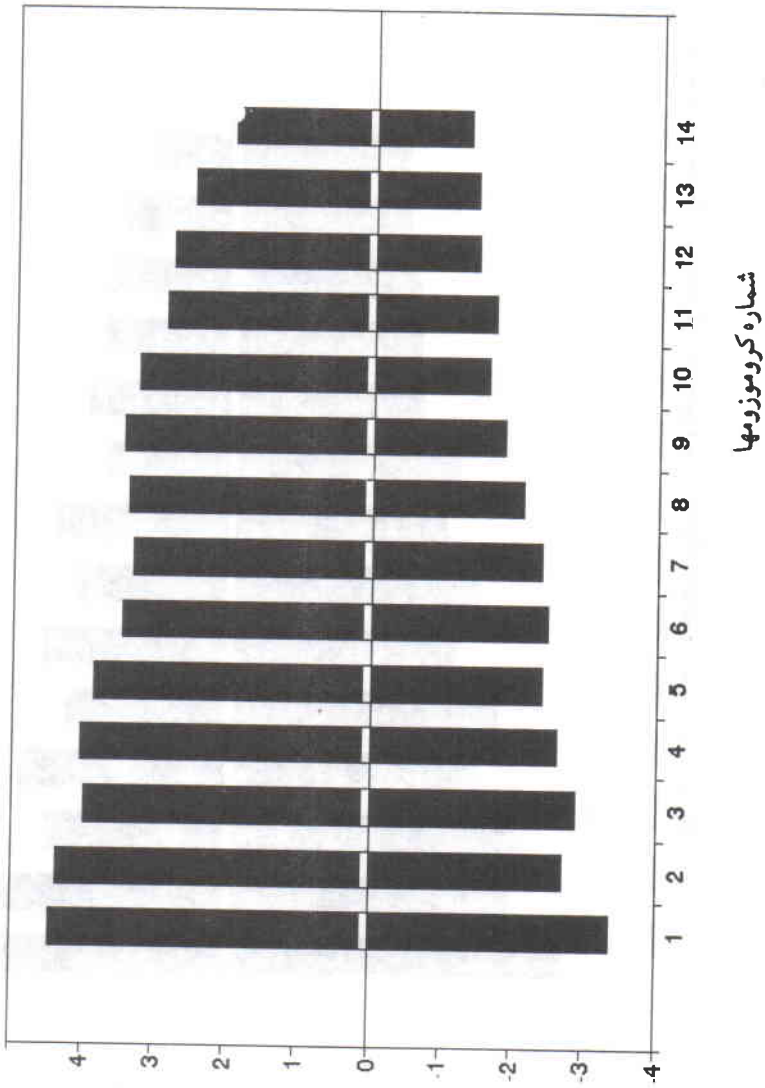
شکل شماره ۲: نمایی از کروموزومهای متافازی LP2



شکل شماره ۳: نمایی از کروموزومهای متافازی LR

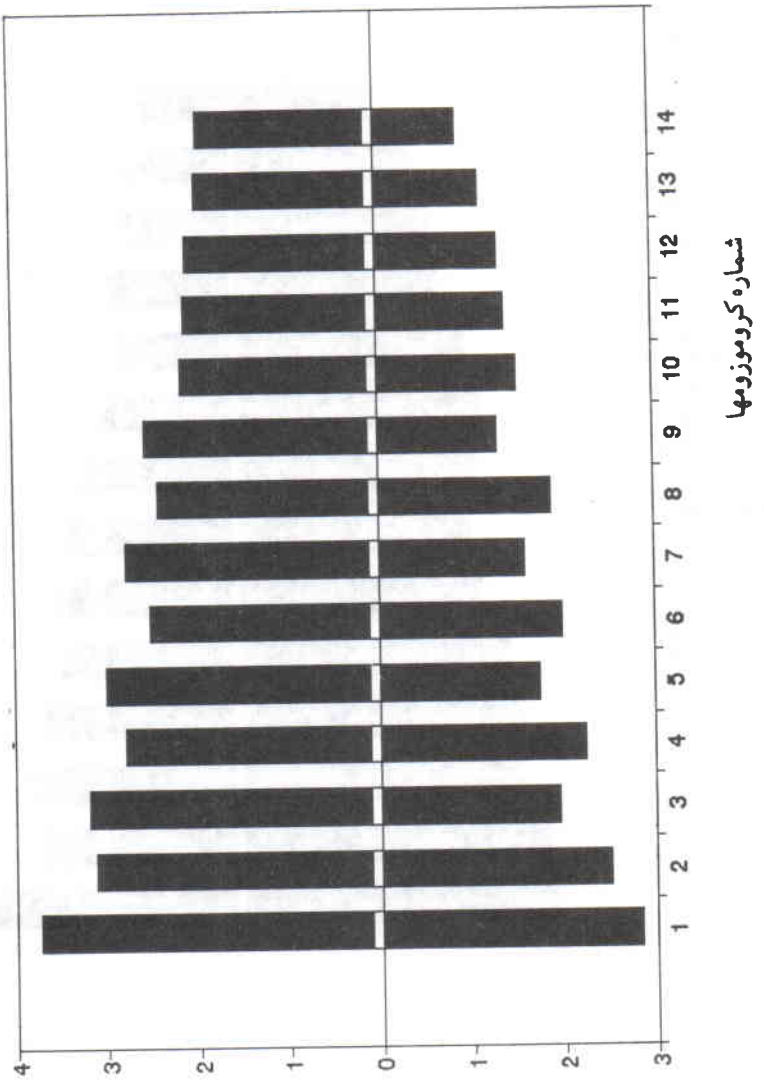


شکل شماره ۴: ایدیوگرام جمعیت گیاهی تتراپلوئید از گونه *Lolium perenne* نمونه اول (LP2).



شکل شماره ۵: ایدیوگرام جمعیت گیاهی تتراپلوئید از گونه *Lolium Perenne* نمونه اول (LP1).

شکل شماره ۶: ایدیوگرام جمعیت گیاهی تتراپلوئید از گونه *Lolium rigudum* نمونه اول (LR).



بحث و نتیجه‌گیری:

همان طور که در جدول شماره یک مشاهده می‌شود سه جمعیت مورد مطالعه که از دو گونه متفاوت گرفته شده بودند از نظر ویژگیهای مختلف کروموزومی از جمله طول بازوها و نیز طول کل با یکدیگر تفاوت داشتند. نتیجه دسته بندی میانگینها نشان می‌دهد که همیشه جمعیت‌های گونه *L. perenne* در یک دسته واحد قرار گرفتند. جمعیت تتراپلوئید گونه *L. rigidum* از نظر اندازه بازوهای کوتاه و بلند در دسته سوم قرار گرفته است مگر از جهت نسبت بازوهای بلند به بازوهای کوتاه و به‌عکس که با *L. perenne* در یک دسته مشترک قرار گرفت. همان طور که ملاحظه می‌گردد، کروموزومهای گونه *L. rigidum* به طور متوسط چیزی حدود یک میکرون از کروموزومهای گونه *L. perenne* کوتاه‌تر بود.

از نظر پارامترهای سنجش تقارن کاریوتیپی نظیر TF%، هر سه جمعیت دارای مقادیر به نسبت برابری بودند ولی از نظر DRL، با توجه به اینکه مقادیر کمتر این پارامتر حاکی از تقارن بیشتر کاریوتیپ می‌باشد، جمعیت LP2 با مقدار ۵/۲۶ نسبت دو جمعیت دیگر، LR و LP1 با مقادیر ۶/۳۳ و ۶، متقارن‌تر بود و جمعیت LR از این نظر نامتقارن‌ترین کاریوتیپ را داشت (جدول شماره ۳).

اندازه بازوهای کوتاه و بلند و کل کروموزم و انحراف معیار لازم جهت سنجش دقت که در جداول شماره ۴ الی ۶ ارایه گردیده است جزئیات بیشتری از کروموزمهای جمعیت‌های مورد بررسی را ارائه می‌دهد. بازوهای کوتاه کروموزومهای جمعیت‌های مورد بررسی در جمعیت LP1 بین ۱/۳۲ تا ۳/۳۳ متغیر بود. در جمعیت LP2 بین ۱/۳۲ تا ۲/۹۸ و در نهایت در جمعیت LR این دامنه بین ۰/۹ تا ۲/۸۴ متغیر بود. به طوری که این دامنه بین LP1، LP2 و LR به ترتیب ۲/۰۱، ۱/۶۶ و ۱/۹۴ بود. تفاوت دامنه‌های مذکور در بین بازوهای بلند کروموزومهای جمعیت‌های LP1، LP2 و LR به ترتیب ۲/۴۸، ۲/۲ و ۱/۸ و در بین طول کل کروموزوم به ترتیب ۴/۵۶، ۳/۸۶ و ۳/۷۶

بود. به طوری که مشاهده می‌شود به طور عام جمعیت تتراپلوئید گونه *L. rigidum* دامنه تغییرات بین طول بازوی بلند و طول کل کروموزمها کمتر بوده است. به طور کلی گفته می‌شود هرچه این تفاوتها و دامنه تغییرات بین کروموزمها کمتر باشد گونه یا جمعیت کمتر دستخوش تحول و تغییرات ناشی از عوامل مختلف از جمله موتاسیون و نقل و انتقالات قطعات کروموزومی گشته است. به عبارت دیگر دامنه بیشتر این تنوع‌ها و همین طور عدم تقارن بیشتر می‌تواند مؤید تکامل بیشتر گونه یا جمعیت مورد بررسی باشد.

تشکر و قدر دانی:

بدین وسیله از همکاران محترم بخش بانک ژن گیاهان جنگلی و مرتعی وابسته به مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، به ویژه از جناب آقای دکتر عارفی مسئول محترم بخش که بذر و نمونه‌های موجود بانک ژن را جهت مطالعه فوق در اختیار ما قرار داده‌اند صمیمانه قدردانی می‌نماییم.

منابع:

میرزایی ندوشن، حسین، ۱۳۷۵. MSTATC، داده پردازی و تجزیه و تحلیل آماری. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، شماره انتشار ۱۹۹۷-۱۶۴.

میرزایی ندوشن، حسین، ۱۳۷۸. مقدمه‌ای بر کاربرد SAS در تجزیه و تحلیل طرحهای آماری. انتشارات نیک پندار، تهران

Ahloowalia, B. S. 1983. Spectrum of variation in somaclones of triploid ryegrass. Crop Science, 23: 1141-1147. Anonymous, 1996. Variety: 'Nevis' syn LP22. Plant Varieties Journal, 9: 42-43.

Anonymus, 1990. Perennial ryegrass (*Lolium perenne* x *multiflorum*). Variety: 'Grasslands Greenstone'. Plant Variety Journal, 3: 20-22.

Aung, T., and G. M. Evans, 1985. The potencial for diploidizing *Lolium multiflorum* x *L. perenne* tetraploids. Canadian Journal of Genetics and Cytology, 27: 506-509.

Berardo, N., C. Locatelli, R. Paoletti, L. Valdicelli, and M. Odoardi, 1989. Bio-agronomic traits and nutritional value in italian ryegrass varieties. In: Proceedings of the XVI International Grassland Congress, Nice, France: 845-846.

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

Casler, M. D., 1990. Cultivar and cultivar x environment effects on relative feed value of temperate perennial grasses. Crop Science, 30: 722-728.

Clarke, J., 1985. Meiotic behaviour in autotetraploid ryegrass (cultivar Sabalan). In: Report, Welsh Plant Breeding

Station. Aberystwyth, UK.

Deniz, B., and A. Tufan, 1997. Cytogenetic studies on diploid hybrids between annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) and perennial ryegrass (*Lolium perenne L.*). Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 21: 585-592.

Deniz, B., 1997. Meiotic behaviour in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds.) and their triploid hybrids. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 21: 557-563.

Eizenga, G. C., P. B. Burrus, J. F. Pedersen, and P. L. Cornelius, 1991. Meiotic stability of 56-chromosome tall fescue hybrid derivatives. Crop Science, 31: 1532-1535.

Evans, G. M. and T. Aung, 1985. Identification of a diploidizing genotype of *Lolium multiflorum*. Canadian Journal of Genetics and Cytology, 27: 498-505.

Evans, G. M., and E. W. Davies, 1985. The genetics of meiotic chromosome pairing in *Lolium temulentum* x *Lolium perenne* tetraploids. Theoretical and Applied Genetics, 71: 185-192.

Fearon, C. H., M. D. Hayward, and M. J. Lawrence, 1984a. Self-incompatibility in ryegrass VII. The determination of incompatibility genotypes in autotetraploid families of *Lolium perenne* L. Heredity, 53: 403-413.

Fearon, C. H., M. D. Hayward, and M. J. Lawrence, 1984b. Self-incompatibility in ryegrass VIII. The mode of action of S and Z allels in the pollen of autotetraploids of *Lolium perenne* L. Heredity, 53: 415-422.

Fearon, C. H., M. D. Hayward, and M. J. Lawrence, 1984c. Self-incompatibility in ryegrass IX. Cross-compatibility and seed-set in autotetraploid *Lolium perenne* L. Heredity, 53:

423-434.

Hassan, L., R. N. Jones, J. S. Parker, and 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.

Hassan, L., R. N. Jones, and U. K. Posselt, 1989. A novel source of genetic variation in ryegrass (*Lolium multiflorum* and *L. perenne*). Heredity, 3: 339-342.

Hayward, M. D., C. H. F. Fearon, and M. J. Lawrence, 1985. Incompatibility in autotetraploid Lolium. In: Report, Welsh Plant Breeding Station. Aberystwyth, UK.

Humphreys, M.W., A.G. Zare, I. Pasakinskiene, H. Thomas, W.J. Rogers, and H.A. Collin, 1998. Interspecific genomic rearrangements in androgenic plants derived from a *Lolium multiflorum* x *Festuca arundinacea* (2n = 5x = 35) hybrid. . Heredity, 80: 78-82.

Jansone, B., and H. Bilis, 1997. Breeding achievements of forage grasses and legumes in Latvia. IN: Ruzgas, V., E. Lemezis, M. Apanaviciene. Plant breeding: Theories, achievements and problems. Proceedings of the international conference. Kedainiai, Lithuania: Dotnuva Akademija, pp: 106-109.

Jones, R. N., 1989. Novel genetic variation in ryegrass. Journal of the Agricultural Society, 70: 53-66.

Kleijer, G., 1987. Cytogenetic studies of crosses between *Lolium multiflorum* Lam. and *Festuca arundinacea* Schreb. III. The generations C1, C2 and C3. Plant Breeding, 99: 144-150.

Lantinga, E. A., J. C. J. Groot, J. van Bruchem, 1995. 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.

Lee, K. S., SunYoung Choi, CholWon Choi, K. S. Lee, S. Y. Choi, C. W. Choi, 1995. Effect of NaCl concentration on germination and seedling growth of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.). Korean Journal of Crop Science, 40: 340-350.

Levan, A. K., K. Fredga, and A. A. Sandberg, 1964. Nomenclature for centromeric position on cromosomes. Hereditas, 52: 201-220.

Lowe, K.F., T.M. Bowdler, G.K. Reason and R.J. Moss, 1993. The value of adapted annual ryegrasses for subtropical dairy production. XVII International Grassland Congress, Vol. 1: 407-408.

Morgan, W. G., 1990. Chromosome pairing in triploid hybrids and amphiploids involving *Lolium* and diploid *Festuca* species. Genome, 33: 472-477.

Neuteboom, J. H., E. A. Lantinga, K. Wind, 1988. Tillering characteristics of diploid and tetraploid perennial ryegrass. In: Proceedings of the 12th General Meeting of the European Grassland Federation, Dublin, Irland, Irish Grassland Association: 498-503.

Roegiers, P., D. Reheul, G. Van Bogaert, G. Van-Bogaert, 1988. The persistence of tetraploid perennial ryegrass in a mixture with diploid perennial ryegrass. Journal of Agronomy and Crop Science, 161: 40-44.

Sala, C. A., E. L. Camadro, M. T. Salaberry, A. O. Mendiburu, 1989. Cytological mechanism of 2n pollen formation and unilateral sexual polyploidization in Lolium. Euphytica, 43:

1-6.

Sliesaravicius, A., J. Bilis, 1997. Methods and results of changing genome composition and number in grasses. In: Ruzgas, V., E. Lemezis, M. Apanaviciene, A. Basiulis, Plant Breeding: Theories, Achievements and Problems. Proceedings of the international conference, Kedainiai, Lithuania, 149-152.

Tase, K. and M. Kobayashi, 1993. Assessment of freezing tolerance and changes of protein pattern in Italian ryegrass after cold hardening. XVII International Grassland Congress, Vol. 1: 433-434.

Wilkins, P. W., C. O. Sabanci, 1990. Genetic variation in leaf epidermal cell size and shape in *Lolium perenne*. Euphytica, 47: 233-239.

Yamashita, M., and Y. Shimamoto, 1995. Relation of freezing hardiness with winter survival in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Grassland Science, 41: 240-245.

Karytypic investigation of tetraploid populations of *Lolium* sp.

H. Mirzaie-Nodoushan and H. Nadarkhani

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

2- Payam Noor University graduate student, Tehran, Iran.

Abstract

Since a high level of polyploidy may play an important role in increasing forage dry matter yield, a number of natural populations of *Lolium* species were investigated for their ploidy level and other kariotype characteristics. In each population of *Lolium perenne* and *L. rigidum*, chromosome characteristics were studied and measured at metaphase stage in five cells. The short and long arms of the chromosomes were measured and analysed.

Three polyploid populations were detected within the studied populations. Two populations of *L. perenne* and one population of *L. rigidum* were tetraploid with 28 chromosomes. Means of short and long arms of chromosomes, their relative standard errors and the populations karyotypic formula were determined.

The three populations were in the same situations based on TF%. Regarding DRL values, since smaler value of this parameter indicates more chromosome asymmetry, one of the *L. prenne* populations was more symmetric than the other two popultions. Based on this parameter *L. rigidum* population had the most asymmetric karyotype.

Keywords: *Lolium perenne*, *L. rigidum*, Polyploidy, Karyotype, Cytogenetics and Mitosis.