ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٥
صفحه ٦٢٧ - ٦٢٣

بررسی تنوع ژنتیکی اکسشن‌های *Agropyron intermedium* با استفاده از نشانگرهای سیتوژنتیکی و مورفولوژیکی

Assessment of genetic variation in *Agropyron intermedium* accessions using cytogenetical and morphological traits

هوشمند صفری*[1]، هومن شیروانی[2]، علیرضا اطمینان[3]

۱- مربی، بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران
۲- مربی، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور
۳- استادیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

Safari H*[1], Shirvani H[2], Etminan AR[3]

1- Instructor, Research Department of Forests and Rangelands, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center
2- Instructor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Iran
3- Assistant Professor, Department of Plant breeding, College of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Hooshmandsafari@gmail.com

(تاریخ دریافت: ٩٤/٨/٩ - تاریخ پذیرش: ٩٥/١٠/٢٦)

چکیده

در این تحقیق، تنوع ژنتیکی ۱۱ اکسشن از گونه مرتعی *Ag. intermedium* با استفاده از نشانگرهای سیتوژنتیکی و مورفولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس مطالعات سیتوژنتیکی تعداد کروموزوم پایه در تمامی اکسشن‌های مورد مطالعه هفت بود و از نظر فرم کروموزومی (K.F) تنوع در درون اکسشن‌ها مشاهده شد. با توجه به جدول تجزیه واریانس در بین اکسشن‌ها از نظر تمامی صفات کروموزومی، به‌جز صفت طول بازوی کوتاه (SA)، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت، هم‌چنین تجزیه کلاستر بر اساس داده‌های سیتوژنتیکی نیز اکسشن‌ها را در سه گروه دسته‌بندی نمود. نتایج تجزیه واریانس برای صفات موفولوژیک تفاوت معنی‌داری را بین تمامی اکسشن‌های مورد بررسی نشان داد. با توجه به مقایسه میانگین، اکسشن‌های ٤-٨٩٠ و ١٣-٨٩٠ بیش‌ترین مقدار تولید علوفه خشک را داشتند، نتیجه حاصل از تجزیه کلاستر بر اساس صفات مورفولوژیک اکسشن‌ها را در سه گروه دسته‌بندی نمود.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی
سیتوژنتیک
مورفولوژیک
Agropyron intermedium

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.15.4]

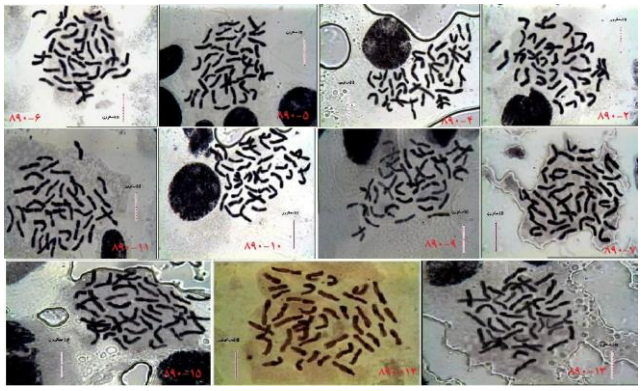
جنس آگروپایرون از گیاهان مهم مرتعی ایران است که موضوع تحقیقات وسیعی در زمینه ژنتیکی، سیتوژنتیکی و بیوسیتماتیک بوده و تقریباً در تمام مراتع ایران وجود دارد. (Farshadfar and Farshadfar 2004). وجود تنوع ژنتیکی شرط لازم برای رسیدن به محصول بیش‌تر و پایداری عملکرد است. بررسی تنوع ژنتیکی، منابع ژنتیکی مفید برای برنامه‌های اصلاحی را شناسایی کرده و به حفظ آن‌ها کمک می‌کند (Gepts and Papa 2003). به‌نژادگران برای معرفی ارقام جدید از گیاهان زراعی نیازمند دسترسی به ژرم پلاسم‌های متنوع و فراوان هستند. که ممکن است برخی از این ژرم پلاسم‌ها در حال انقراض و یا حتی انقراض یافته باشند (Ford-Lloyd 2001). بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت‌ها از روش‌های مختلفی امکان‌پذیر است. به‌همین منظور به‌نژادگران در برنامه‌های اصلاحی از نشانگرهای مختلفی مانند نشانگرهای مورفولوژیکی، سیتوژنتیکی و ملکولی استفاده می‌کنند (Brummer et al. 1991; Kalo et al. 2000). نشانگرهای مورفولوژیکی مبتنی بر خصوصیات ظاهری هستند. این نشانگرها مربوط به ژن‌های کنترل کننده صفات فنوتیپی بوده و جز نخستین نشانگرها به شمار می‌روند (Naghavi et al. 2005). استفاده از مطالعات کروموزومی به عنوان یکی از ابزارهای بررسی تنوع، می‌تواند بسیار مفید باشد. در بیان اهمیت مطالعات کاریوتیپی یادآوری می‌شود که مورفولوژی کروموزوم می‌تواند به‌عنوان یکی از مفیدترین معیارها جهت بررسی روابط تاکسونومیکی مورد استفاده قرار گیرد. اختلاف‌ها در اندازه کروموزوم‌ها می‌تواند نشان دهنده اختلاف‌ها در انواع محصولات ژنی یا پروتئینی باشد (Stebbins 1971). لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی تنوع ژنتیکی در سطح صفات موفولوژیکی و سیتوژنتیکی در اکسشن‌های مختلف *Ag. intermedium* و شناسایی توده‌های برتر از نظر صفات موفولوژیکی و سیتوژنتیکی انجام شد. تعداد ۱۱ اکسشن از گونه مرتعی *Ag. intermedium* تهیه شده از بانک ژن منابع طبیعی کشور که از مناطق مختلف مراتع سبلان استان اردبیل جمع‌آوری شده بود، با استفاده از مطالعات سیتوژنتیکی و موفولوژیکی در سال ۱۳۹۱ مورد بررسی گرفت. جهت مطالعات سیتوژنتیکی پس از کشت بذور و جوانه‌زنی در شرایط ژرمیناتور، عمل پیش‌تیمار با محلول آلفا برومونفتالین ۰/۵ درصد، تثبیت با محلول لویتسکی، هیدرولیز با NaOH یک نرمال و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین انجام شد. تصاویر کروموزومی از طریق Color Video Camera که بر روی میکروسکوپ نوری مدل المپیوس BH2 نصب شده بود ذخیره شدند. کروموزوم‌های پنج سلول متافازی عکس‌برداری شده از هر اکسشن در نرم‌افزار Photoshop برش زده و در یک فایل جداگانه، مرتب شد. با استفاده از نرم‌افزار MicroMeasure 3.3 ویژگی‌های کروموزومی نظیر طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، طول کل کروموزوم، نسبت بازوها، شاخص سانترومری و همچنین پارامترهای تکامل کاریوتیپی شامل درصد شکل کلی کروموزوم (%TF)[1] (Huziwara 1962)، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1)[2]، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A2)[3] و اختلاف طول نسبی کروموزوم (DRL)[4] (Romero-Zarco 1986) محاسبه و در محیط Excel ذخیره شدند. همچنین نوع کروموزوم‌ها (K.F) بر اساس روش Levan تعیین شد (Levan et al. 1964). مطالعات مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعهٔ تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه در سال زراعی ۹۰-۹۱ انجام گرفت. کشت به صورت خطی در اسفند ماه انجام شد به این ترتیب که هر کرت آزمایشی دارای شش خط با فاصله ۵۰ سانتی‌متر از یکدیگر بوده و طول هر کرت شش متر انتخاب شد. صفات مرفولوژیک شامل، ارتفاع بوته، طول میانگره، تعداد سنبلچه در سنبله، طول برگ پرچم، طول خوشه، تعداد ساقه در بوته و وزن خشک علوفه برای هر اکسشن اندازه‌گیری شد. با استفاده از نرم‌افزارهای Minitab و MSTATC تجزیه واریانس، آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد و تجزیه کلاستر انجام شد.

در شکل ۱ تصاویر سلول‌های متافازی ۱۱ اکسشن از گونه *Ag. intermedium* ارائه شده‌است. برای هر کاریوتیپ سطح پلوئیدی، تعداد کل کروموزوم، تعداد کروموزوم پایه (X) و فرمول کاریوتیپی تعیین شد. نتایج نشان داد گونه *Ag. intermedium* هگزاپلوئید بوده و تعداد کروموزوم پایه در تمامی اکسشن‌های

[1] Total form percentage
[2] Intrachromosomal Asymmetry Index
[3] Interchromosomal Asymmetry Index
[4] Difference of range relative length

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.15.4]

مورد مطالعه هفت می‌باشد که از نظر تعداد کروموزوم پایه تنوع بین اکسشن‌ها مشاهده نشد. هم‌چنین فرمول کاریوتیپی (K.F) برای تمام اکسشن‌ها متفاوت بود. Rafezi et al. (2009) و Farshadfar and Farshadfar (2003) نتایج مشابهی را در تحقیقات خود گزارش کرده‌اند. اکسشن ۱۳-۸۹۰ با توجه به جدول دو طرفه Stebbins و پارامترهای نامتقارن بودن درون-کروموزومی (A1) و درصد شکل کلی کروموزوم (TF%) از نظر تکامل کاریوتیپی در درجه پایین‌تری نسبت به سایر اکسشن‌ها قرار داشت. اکسشن ۱۴-۸۹۰ کروموزوم‌های نامتقارن‌تری نسبت به بقیهٔ اکسشن‌ها داشت و از نظر تکاملی در درجهٔ بالاتری قرار گرفت. با توجه به شاخص نامتقارن بودن بین‌کروموزوم (A2) در اکسشن ٤-۸۹۰ بیش‌ترین عدم تقارن بین‌کروموزمی مشاهده شد و در اکسشن ۵-۸۹۰ کمترین عدم تقارن بین کروموزمی بدست آمد. بیش‌ترین مقدار اختلاف طول نسبی بزرگ‌ترین کروموزوم و کوچک‌ترین کروموزوم (DRL)، برای اکسشن ۵-۸۹۰ و کم‌ترین مقدار برای اکسشن ۲-۸۹۰ محاسبه شد. با توجه به ارزش نسبی کروماتین (VRC) بیش‌ترین میزان کروماتین به اکسشن ۱۳-۸۹۰ و کم‌ترین مقدار آن به اکسشن ۵-۸۹۰ اختصاص یافت. به‌منظور تعیین وجود یا عدم وجود تفاوت بین اکسشن‌ها از تجزیه واریانس بر پایه طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار استفاده شد که نتایج نشان داد، در بین اکسشن‌ها از نظر تمامی صفات کروموزومی، به استثناء صفت طول بازوی کوتاه (SA) اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود دارد (جدول ۱). با توجه به مقایسه میانگین‌ها برای صفت طول کروموزوم (TL) و طول بازوی بلند (LA)، اکسشن ۱۳-۸۹۰ در گروه a قرار گرفت و اکسشن‌های ۵-۸۹۰، ۷-۸۹۰، ۹-۸۹۰ و ۱٤-۸۹۰ دارای کم‌ترین مقادیر بودند. برای طول بازوی کوتاه (SA)، همه اکسشن‌ها در یک گروه قرار گرفتند. در مورد صفت شاخص سانترومری (CI) اکسشن ۱٤-۸۹۰ در گروه a و اکسشن ۱۳-۸۹۰ در گروه e قرار گرفت، هم‌چنین برای صفت نسبت بازوها (AR) نیز اکسشن‌های ٤-۸۹۰ و ۱۳-۸۹۰ در گروه a و اکسشن‌های ۲-۸۹۰، ۵-۸۹۰، ۷-۸۹۰، ۹-۸۹۰، ۱۰-۸۹۰، ۱٤-۸۹۰ و ۱۵-۸۹۰ در گروه c قرار گرفتند (Rafezi et al. (2009)، Farshadfar and Farshadfar (2003) و Farshadfar (2012) با بررسی گونه‌های مختلف *Agropyron* تنوع ژنتیکی بالایی را بر اساس صفات کاریوتیپی مشاهده و گزارش کردند. تجزیه کلاستر اکسشن‌ها به روش Ward نشان داد که اکسشن‌ها در سه خوشه قرار گرفتند. خوشه اول شامل دو اکسشن ۱۳-۸۹۰ و ۱۱-۸۹۰، خوشه دوم شامل سه اکسشن ۱۰-۸۹۰ و ۱۵-۸۹۰ و ٤-۸۹۰ و خوشه سوم شامل شش اکسشن ٦-۸۹۰، ۷-۸۹۰، ۲-۸۹۰، ۱٤-۸۹۰، ۵-۸۹۰ و ۹-۸۹۰ بود (شکل ۲).



شکل ۱- سلول‌های متافازی اکسشن‌های *Ag. intermedium* با بزرگ‌نمایی ۲۷۷۵

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی برای اکسشن‌های *Ag. intermedium*

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات مورد بررسی				
		Total length (طول کل کروموزوم)	Long arm (طول بازوی بلند)	Short arm (طول بازوی کوتاه)	Arm ratio (نسبت بازوها)	Centromer index (شاخص سانترومری)
اکسشن	10	1.406**	1.136**	0.117^{ns}	0.128**	0.002**
خطا	44	0.471	0.216	0.081	0.018	0.0001
ضریب تغییرات		7.19%	8.25%	7.88%	7.71%	2.63%
میانگین		9.54	5.63	3.61	1.74	0.38

**،*- اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد

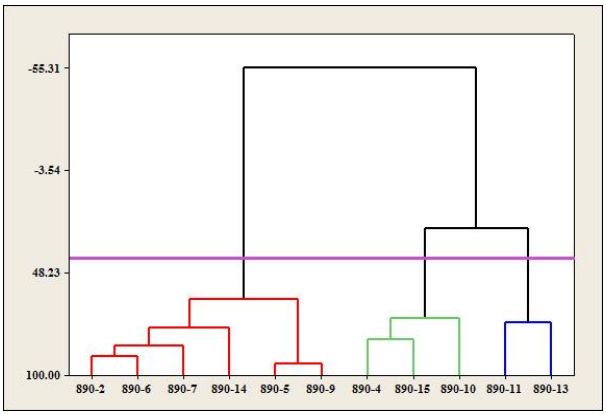
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.15.4]

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک در اکسشن‌های *Ag. intermedium*

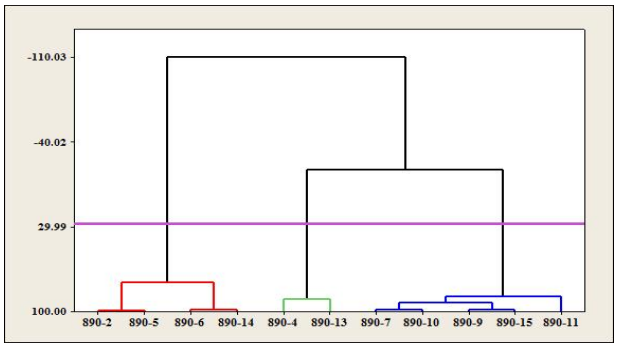
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات مورفولوژیک						
		Plh (ارتفاع بوته)	Inl (طول میانگره)	Nss (تعداد سنبلچه در سنبله)	Fll (طول برگ پرچم)	Spl (طول خوشه)	Nsb (تعداد ساقه در بوته)	DW (عملکرد علوفه)
تکرار	2	1.105^{ns}	0.108^{ns}	0.281^{ns}	0.329^{ns}	0.660^{ns}	38.415^{ns}	458083^{ns}
اکسشن	10	38.415**	1.555**	2.204**	1.684*	3.291*	179.947**	1580637**
خطا	20	6.456	0.206	0.647	0.678	1.014	14.591	476615
ضریب تغییرات		4.31%	4.78%	6.94%	6.21%	6.19%	6.01%	12.30%
میانگین		59.01	9.49	11.59	13.25	16.27	63.58	291945.45

**،* - اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد

Farshadfar (2012) در بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های آگروپیرون با استفاده از نشانگرهای موفولوژیکی و کاریوتیپی بر اساس صفات سیتوژنتیکی اقدام به گروه‌بندی اکسشن‌های هر گونه نمود. با توجه به نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک در بین اکسشن‌ها برای تمام صفات اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲). Mohammadi et al. (2006) برای ۱۰ صفت مورفولوژیک از ۲۳ جمعیت گونه *A. elongatum* تنوع معنی‌داری در بین صفات مشاهده کردند. مقایسه میانگین برای صفات مورد مطالعه به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد نشان داد که اکسشن‌های ۸۹۰-۱۱ و ۸۹۰-٤ بیش‌ترین ارتفاع بوته را داشتند. اکسشن ۸۹۰-٤ بلندترین طول میانگره و اکسشن ۸۹۰-٥ کوتاه‌ترین طول میانگره را داشت. اکسشن ۸۹۰-٤ بیش‌ترین تعداد سنبلچه در سنبله را داشت و اکسشن‌های ۸۹۰-۲ و ۸۹۰-۷ کم‌ترین تعداد سنبلچه در سنبله را داشتند. اکسشن‌های ۸۹۰-۹ و ۸۹۰-۱۱ بیش‌ترین طول برگ پرچم را به خود اختصاص دادند. اکسشن ۸۹۰-٤ بیش‌ترین و اکسشن ۸۹۰-۲ کمترین طول خوشه را به خود اختصاص دادند. اکسشن ۸۹۰-۱۳ بیش‌ترین تعداد ساقه در بوته و اکسشن ۸۹۰-٦ کم‌ترین تعداد ساقه را به خود اختصاص دادند. اکسشن‌های ۸۹۰-٤ و ۸۹۰-۱۳ بیش‌ترین مقدار تولید علوفه خشک را داشتند و در گروه A قرار گرفتند. هم‌چنین اکسشن‌های ۸۹۰-۲، ۸۹۰-٥، ۸۹۰-٦ و ۸۹۰-۱٤ با کم‌ترین میزان علوفه خشک در گروه B قرار گرفتند (Jafari et al. (2007)، Rahmani et al. (2005)، Mohammadi et al. (2006) و Farshadfar and Farshadfar (2004)) در گونه‌های مختلف جنس آگروپیرون ژنوتیپ‌های برتر را با توجه به مقایسه میانگین برای صفات مورفولوژیک معرفی نمودند.



شکل ۲- دندروگرام تجزیه کلاستر صفات کاریوتیپی برای اکسشن‌های مورد مطالعه با استفاده از روش Ward



شکل ۳- دندروگرام تجزیه کلاستر صفات موفولوژیک برای اکسشن‌های مورد مطالعه با استفاده از روش ward

بر اساس تجزیه کلاستر با روش Ward اکسشن‌های مورد بررسی در سه گروه قرار گرفتند. گروه اول شامل اکسشن‌های ۸۹۰-۲، ۸۹۰-٥، ۸۹۰-٦ و ۸۹۰-۱٤ بود که از نظر اکثر صفات در رده ضعیف‌ترین اکسشن‌ها قرار گرفته و کم‌ترین میزان علوفه خشک را تولید نمودند، گروه دوم اکسشن‌های ۸۹۰-٤ و ۸۹۰-۱۳ می‌باشند که در مقایسه میانگین نیز از نظر صفت عملکرد در رده برترین اکسشن‌ها بودند و بالاترین میزان علوفه خشک را داشتند

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.15.4]

و گروه سوم شامل اکسشن‌های ۷-۸۹۰، ۹-۱۰،۸۹۰-۸۹۰، ۱۱-۸۹۰ و ۱۵-۸۹۰ بودند که بعد از گروه دوم قرار گرفته و در حد متوسطی بودند (شکل ۳). Rahmani et al. (2009) و Shirvani et al. (2014) در بررسی تنوع ژنتیکی اکسشن‌های آگروپیرون با استفاده از تجزیه کلاستر اقدام به گروه‌بندی اکسشن‌ها نمودند و در بین گروه‌ها از نظر عملکرد اختلاف معنی‌داری را گزارش کردند.

منابع

Brummer EC (1999) Capturing hetrosis in forage crop cultivar development. Crop Scicence 939- 943.

Farshadfar M (2012) Genetic variability and Karyotype analysis of some *Agropyron* species. Annals of Biological Research, 3: 1515-1523.

Farshadfar M, Farshadfar E (2003) The study of Cytogenetic variation *Agropyron* Species in Iran. Pajouhesh and sazandegi, 15:14-18. (In Farsi).

Farshadfar M, Farshadfar E (2004) Genetic Variation Among Different *Agropyron* Species Based on Morphological and Chemical Indices. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science, 8: 243-251. (In Farsi).

Ford Lloyd BV (2001) Genotyping in plant genetic resources. Pp.59-83. in Henry, RJ. (ed). Plant Genotyping: the DNA Fingerprinting of Plants. CAB International, USA.

Gepts P, Papa R (2003) Possible effects of (trans) gene flow from crops on the genetic diversity from landraces and wild relatives. Environmental Biosafety Research 2: 89-103.

Huziwara Y (1962) Karyotype analysis in some genera of Composite. VIII. Further studies on the chromosome of aster. American Journal of Botany 49: 116-119.

Jafari AA, Seydemohammadi AR, Abdi N, Areffi HM (2007) Seed and hay production in 31 accessions of desert wheatgrass (*Agropyron desertorum*) using drought tolerance indices. Iranian journal of Range and Desert Reseach, 15: 114-128. (In Farsi).

Kalo P, Endre G, Zimanyi L, Sandi GC, Kiss GB (2000) Construction of an improved linkage map of diploid alfalfa (M. sativa). Journal of Theoritical and Applied Genetics 100: 641-657.

Levan A, Fedga K, Sandberg AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.

Mohammadi R, Khayyam Nekouei M, Mirlohi AF, Razmjoo Kh (2006) Investigation of genetic variation in tall wheat grass (*Agropyron elongatum*) populations. Iranian Journal of Rangelands and Forest Plant Breeding and Genetic Research, 14:15-24. (In Farsi).

Naghavi M, Ghareyazie B, hoseini salkadeh GH (2005) Molecular marker. Tehran University press, 340 p.

Rafezi A, Farshadfar M, Farshadfar E (2009) Determination of intra-specific karyotypic variation in 17 accessions of *Agropyron elongatum* L. Iranian Journal of Rangelands and Forest Plant Breeding and Genetic Research, 17: 60-69. (In Farsi).

Rahmani E, Jafari A, Torkaman M (2005) Study of Yield and quality triats on 18 ecotypes of crestecd wheatgrass *Agropyron cristatum* L. for pasture and rangelands improvement in Lorestan province. Iranian journal of Range and Desert Reseach, 13: 53-61. (In Farsi).

Rahmani E, Jafari AA, Ghalanader I (2009) Seed and hay production in 18 ecotypes of Crested wheatgrass *Agropyron cristatumin* cold-temperate territory of northern Lorestan. Iranian journal of Range and Desert Reseach, 16: 65-78. (In Farsi).

Romero-Zarco C (1986) A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxonomy 35: 526-530.

Shirvani H, Etminan A, Safari H (2014) Evaluation of variability and genetic parameters in morphological traits *Agropyron trichophorum* using multivariate statistical analysis. International Journal of Biosciences, 4: 125-132.

Stebbins G L (1971) Chromosome Evolution in Higher Plants. Edward Arnold Publisher. LTD. London, pp.216.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.15.4]