

مطالعه کاربوتیپ جنس *Vulpia* Gmel. (Poaceae) در ایران

آمنه فرامرزی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
حجت‌اله سعیدی*، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

بر اساس بررسی صفات ریخت‌شناختی، جنس *Vulpia* در ایران واجد پنج گونه و چهار زیرگونه است. در این پژوهش، مریستم نوک ریشه ۸ جمعیت از گونه‌های *V. myuros*، *V. ciliata*، *V. unilateralis*، *V. persica* و *V. hirtiglumis* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران، مورد بررسی سیتولوژیک قرار گرفت. پس از مراحل تثبیت، هیدرولیز و رنگ‌آمیزی، نمونه میکروسکوپی تهیه و ریخت‌شناسی کروموزوم‌ها مطالعه شد. بررسی‌ها نشان داد که عدد پایه کروموزومی این جنس برابر با ۷ و سطوح پلوئیدی دیپلو، تتر، پنتا و هگزاپلوئید در آن وجود دارد. عدد دیپلوئید در این تاکسون‌ها در ایران برابر با ۱۴، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ است. سطح پنتاپلوئید ۳۵ در گونه‌های *V. ciliata*، *V. hirtiglumis* و *V. persica* برای نخستین بار گزارش می‌گردد. ویژگی‌های کاربوتیپی، از قبیل: طول بازوهای کوتاه و بلند کروموزوم‌ها و وجود و عدم ماهواره مطالعه شد و شاخص‌های مختلف کاربوتیپی (L/S، TL، S، L) و S% و TF% و فرمول کاربوتیپی محاسبه گردید. برای گونه‌های این جنس کاربوتیپ تقریباً نامتقارن تشخیص داده شد. از نظر شاخص‌های کاربوتیپ تفاوت‌های معنی‌داری بین گونه‌ها مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: سیتوتاکسونومی، ایران، *Vulpia*، Poaceae

مقدمه

Krecz. & Bobrov نیز از جنس *Nardurus* Boiss. and Buhse به آن وارد شده است. دو گونه دیگر شامل *V. hirtiglumis* Boiss. & *V. ciliata*. Dumort. و Hausskn. به طور مستقیم در خود این جنس توصیف گردید.

در حالی که Bor (۱۹۷۰) گونه *V. megalura* را به عنوان گونه‌ای مستقل معرفی نمود، مؤلفان دیگر مانند Stace (۱۹۸۰) آن را فرمی از *V. myuros* در نظر

جنس *Vulpia* Gmel. متعلق به طایفه Poeae R. Br. است که برای نخستین بار توسط Gmelin (۱۸۰۵) بر اساس نام پایه *Festuca myuros* L. معرفی گردید. این جنس در فلورا ایرانیکا (Bor, 1970) با ۵ گونه معرفی شده که دو گونه آن: *V. myuros* (L.) Gmel. و *V. megalura* (Nutt.) Rydb. از جنس *Festuca* L. یک گونه *V. persica* (Boiss. & Buhse) V. I.

مواد و روش‌ها

تهیه پهنه میتوزی

تهیه اسلایدهای کروموزومی ۸ جمعیت از گونه‌های مختلف جنس *Vulpia* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف پراکنش آن در ایران (جدول ۲) با روش Agayev (۱۹۹۶) انجام شد. انتخاب بذر برای انجام مراحل سیتوتاکسونومی به صورت تصادفی انجام شد. برای مطالعه میتوز از بافت مرستمی انتهایی ریشه استفاده شد که به روش له کردن صورت گرفت. از هر جمعیت مورد مطالعه، تعدادی بذر به طور تصادفی انتخاب گردید و درون پتری‌دیش حاوی کاغذ صافی مرطوب در درون انکوباتور قرار گرفت. پس از گذشت تقریباً ۳ روز بذرهایی که طول ریشه آنها ۱/۵-۲ سانتی‌متر بود، انتخاب و از ریشه جدا شد. در این مطالعه از پیش‌تیمار آلفابرومونتالین ۱۰٪ استفاده گردید که ریشه‌ها پس از جدا شدن به مدت ۴-۶ ساعت در این محلول قرار داده شد. آلفابرومونتالین فعالیت ریشه‌های دوک را مختل می‌کند و از حرکت کروموزوم‌ها به طرف دو قطب سلول جلوگیری می‌کند.

نخستین مرحله پس از پیش‌تیمار، مرحله تثبیت است. برای نمونه‌ها، از محلول تثبیت کننده لیوتسکی حاوی کرومیک اسید ۱٪ و فرمالدئید ۱۰٪ به نسبت مساوی استفاده شد. ریشه‌ها پس از شستشو به مدت ۲۴ تا ۳۶ ساعت برای تثبیت در محلول لیوتسکی در یخچال نگهداری شدند (Sharma and Sharma, 1999). سپس، نمونه‌ها به مدت ۳ ساعت با آب جاری شستشو و پس از خشک کردن با کاغذ صافی، بلافاصله در اتانول ۷۰٪ نگهداری شدند. برای جداسازی سلول‌ها

گرفتند. بزرگترین منطقه از لحاظ تنوع ژنتیکی جنس *Vulpia* (و جنس‌های یک‌ساله خویشاوند آن) منطقه مدیترانه غربی، یعنی ایتالیا و شبه جزیره ایبری و بخش‌های همجوار شمال آفریقا است. بیشترین گستره پراکنش این جنس متعلق به بخش *Vulpia* شامل گونه‌های *V. ambigua*, *V. longiseta* (Brot.) Hack (*V. ambigua*، *V. bromoides* (L.) S. F. Gray، (Le Gall) More و *V. myuros*, *V. membranacea* (L.) Dumort. در اروپا، شمال آفریقا و غرب آسیاست که از این تعداد، دو گونه *V. myuros* و *V. ciliate* در ایران می‌روید (Stace and Cotton, 1975). پراکنش گونه‌های این جنس در ایران در خوزستان، فارس، گرگان، مازندران، گیلان، کردستان، آذربایجان، لرستان، کرمان، خراسان و قزوین گزارش شده است (Bor, 1970). به علت وجود تنوع وسیع ریخت‌شناختی و دورگه‌گیری‌های فراوان بین تاکسون‌های این جنس در طبیعت، طبقه‌بندی تاکسونومیک این جنس همواره با مشکل روبه‌رو بوده است. به منظور حل مشکلات تاکسونومیک مبتلا به جنس *Vulpia* در ایران، مطالعات سیتوتاکسونومی آن ضروری به نظر می‌رسد، که در این پژوهش انجام شده است. عدد پایه کروموزومی این جنس بر اساس گزارش‌های موجود در منابع مختلف (جدول ۱) برابر با ۷ است و سه سطح پلوئیدی دیپلو، تترا و هگزا در آن وجود دارد که تا به حال هیچ گزارش کروموزومی از ایران برای تاکسون‌های *Vulpia* ارائه نشده است.

شد. طول کلی کروموزوم (TL, Total haploid chromosome Length)، طول بازوی بلند (L, Long arm)، طول بازوی کوتاه (S, Short arm)، تعداد ماهواره و همچنین، نوع کروموزوم‌ها بر اساس طرح Levan و همکاران (۱۹۶۵) برای ۸ جمعیت مذکور اندازه‌گیری و تعیین گردید. پس از تهیه پهنه میتوزی با نرم‌افزار فتوشاپ کاربوتیپ هر کدام از پهنه‌ها و با نرم‌افزار Excel ایدیوگرام هر کدام از آنها تهیه گردید.

مشاهدات

تصاویر متافاز میتوزی تاکسون‌های مورد مطالعه به همراه کاربوتیپ آنها در شکل ۱ و نتایج حاصل از تجزیه کاربوتیپی در جدول‌های ۲ و ۳ آمده است. بر اساس جدول ۲، تاکسون‌های مورد مطالعه دارای عدد پایه کروموزومی ۷ بود و همچنین، سطوح پلوئیدی دیپلو، تترا، پنتا و هگزاپلوئید در تاکسون‌های جنس *Vulpia* در ایران وجود دارد. در شکل ۱ پهنه‌های کروموزومی و کاربوتیپ مربوط به ۸ جمعیت از ۵ گونه *Vulpia* ارائه شده است. نتایج مربوط به تحلیل کاربوتیپی اندازه‌گیری‌های انجام شده بر روی پهنه‌های کروموزومی مطالعه شده در جدول ۳ ارائه شده است.

(maceration) به منظور دستیابی به سلول‌های منفرد و بهبود عمل رنگ‌آمیزی، ریشه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد در محلول سود ۱ نرمال نگهداری شد. برای مطالعه میکروسکوپی شکل و ساختمان کروموزوم‌ها، از محلول هماتوکسیلین برای رنگ‌آمیزی استفاده شد، بدین منظور، ریشه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در این محلول نگهداری شدند. برای بهبود مطالعات میکروسکوپی از روش له کردن آنزیمی استفاده شد. در این روش، ریشه‌ها به مدت ۲۰-۲۵ دقیقه در آنزیم سلولاز-پکتیناز قرار داده شد. سپس، بالای کلاهک ریشه‌ها (سلول‌های مریستمی) جدا و همراه یک قطره استیک اسید ۴۵٪ به روی لام منتقل شد. در این مرحله سعی شد تا حد امکان سلول‌های مریستمی از هم جدا شود. سپس با گذاشتن لام بر روی سلول‌ها و حرارت دادن ملایم همراه با فشار ملایم انگشت شست، عمل له کردن سلول‌ها صورت گرفت و سپس سلول‌ها با عدسی 100x در زیر میکروسکوپ Olympus BX40 مطالعه و عکس تهیه گردید.

تحلیل داده‌ها

دسته‌بندی کروموزوم‌ها بر اساس طرح Levan و همکاران (۱۹۶۵) انجام شد (Stace, 1989). اندازه‌گیری هر یک از بازوهای کروموزومی، با استفاده از نرم‌افزار Image tool صورت گرفت. همچنین (Total TF% Form Percent) یا شکل کلی کاربوتیپ و S% (Similarity Percent) (Huziwar, 1962) به عنوان شاخص تقارن برای جمعیت‌های مورد مطالعه محاسبه

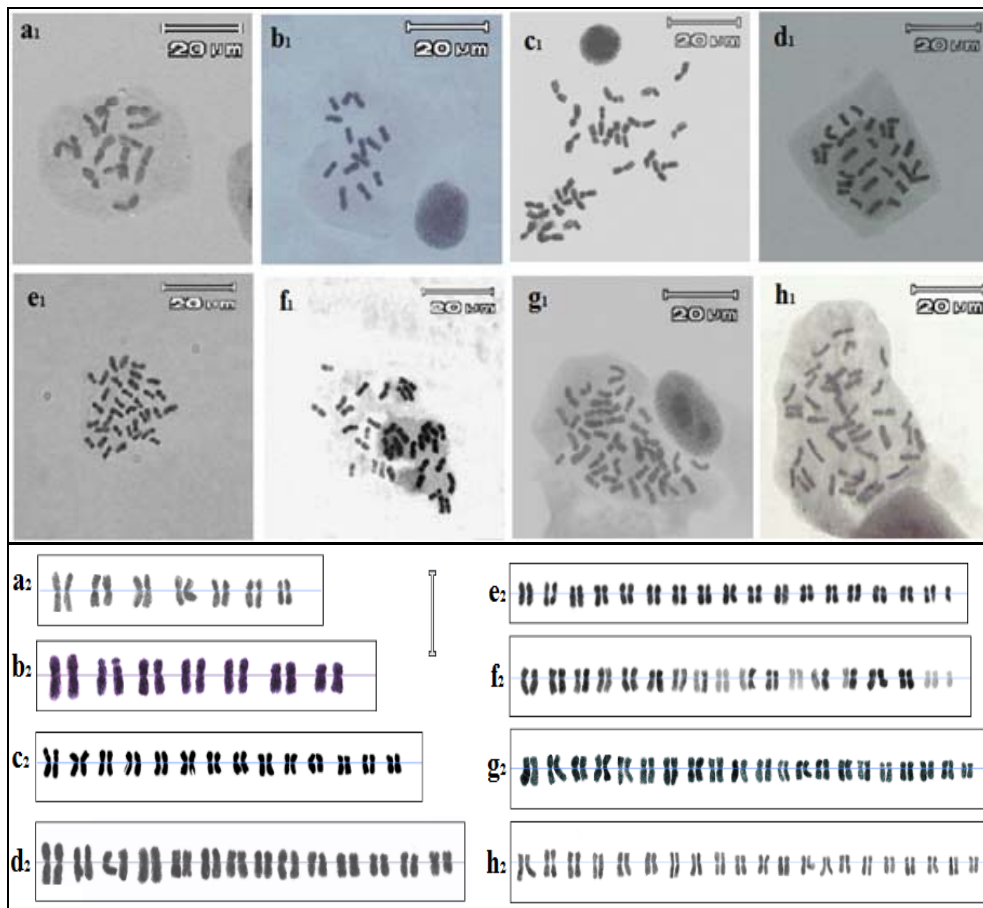
جدول ۱- خلاصه‌ای از وضعیت کروموزمی تاکسون‌های جنس *Vulpia* در جهان بر اساس ICPN (Goldblatt and Johnson, 1979)

ردیف	تاکسون	گامتوفیت	اسپوروفیت	ICPN	منبع
۱	<i>V. myuros</i>	-	42	79-81	Mizianti and Mirek (1981)
۲		-	28	79-81	Ghorai and Sharma (1981)
۳		-	42	80-83	Kirschner and Stepankova (1980)
۴		-	42	80-83	Mizianti and Mirek (1981)
۵		-	28	80-83	Probatova and Sokolovskaya (1983)
۶		-	42	80-83	Barker and Stace (1980)
۷		-	42	84-85	Sokolovskaya and Rudyka (1985)
۸		-	42	84-85	Barker and Stace (1984)
۹		7+2B	-	88-89	Spies and Voqes (1988)
۱۰		-	42	88-89	Ghorai and Sharma (1981)
۱۱		-	42	90-91	Duskert-Henriod (1991)
۱۲		-	42	92-93	Kozuharov and Petrova (1991)
۱۳		21	-	96-97	Spies and Liebenberg (1997)
۱۴		7+0-1B	-	98-99	Spies and Van Wyk (1999)
۱۵		-	42	98-99	Goukasian and Nazarova (1998)
۱۶		-	42	98-99	Albers and Pröbsting (1998)
۱۷	<i>V. myuros</i> var. <i>hirsuta</i>	7	-	90-91	Devesa <i>et al.</i> (1991)
۱۸	<i>V. myuros</i> fo. <i>megalura</i>	-	42	84-85	Bailey and Stace (1984)
۱۹		-	42	88-89	Bailey and Stace (1989)
۲۰	<i>V. myuros</i> var. <i>myuros</i>	21	-	90-91	Devesa <i>et al.</i> (1991)
۲۱	<i>V. myuros</i> fo. <i>myuros</i>	-	42	88-89	Bailey and Stace (1989)
۲۲	<i>V. myuros</i> var. <i>sciuroides</i>	7	-	90-91	Devesa <i>et al.</i> (1991)
۲۳	<i>V. myuros</i> subsp. <i>sciuroides</i>	-	14	96-97	Valdés and Parra (1997)
۲۴	<i>V. myuros</i> var. <i>tenella</i>	7	-	88-89	Devesa and Luque (1988)
۲۵		7	-	90-91	Devesa <i>et al.</i> (1991)
۲۶	<i>V. persica</i>	-	42	98-99	Goukasian and Nazarova (1998)
۲۷	<i>V. ciliata</i>	14	-	90-91	Faruqi <i>et al.</i> (1987)
۲۸	<i>V. ciliata</i> subsp. <i>ambigua</i>	-	28	88-89	Bailey and Stace (1989)
۲۹	<i>V. ciliata</i> subsp. <i>ciliata</i>	-	28	88-89	Bailey and Stace (1989)
۳۰	<i>V. hirtiglumis</i> *	-	42	-	Cotton and Stace (1975)
۳۱	<i>V. unilateralis</i> *	7	-	79-81	Devesa and Romero (1981)
۳۲		-	14	84-85	Stace (1984)
۳۳		-	14	84-85	Bailey and Stace (1984)
۳۴		-	14	88-89	Bailey and Stace (1989)

* گونه *V. hirtiglumis* در ICPN گزارش نشده است.

جدول ۲- نمونه‌های جمعیتی جمع‌آوری شده و مطالعه شده از جنس *Vulpia* Gmel. از مناطق مختلف در ایران

شماره جمعیت	نام تاکسون	تعداد کروموزوم	عدد پلوئیدی	تعداد ماهواره	محل جمع‌آوری نمونه
۱۹	<i>V. myuros</i>	۲۸	۴۲، ۲۸	۰	۲۰ km گچساران به اهواز
۲۵	<i>V. persica</i>	۳۵	۴۲، ۳۵	۱	کردستان- ۱۵ km کامیاران
۳۱	<i>V. hirtiglumis</i>	۴۲	۴۲، ۳۵	۱	مرکزی- اراک- کمربند جنوبی
۳۹	<i>V. myuros</i>	۴۲	۴۲	۰	جاده اسلام به خلخال
۴۵	<i>V. ciliata</i>	۲۸	۳۵، ۲۸	۰	مرکزی- اراک- کمربند جنوبی
۴۹	<i>V. hirtiglumis</i>	۳۵	۴۲، ۳۵	۰	مرکزی- بزرگراه ساوه
۷۰	<i>V. unilateralis</i>	۱۴	۱۴	۰	کردستان- ۲۰ km سنندج از کامیاران
۷۴	<i>V. unilateralis</i>	۱۴	۱۴	۰	فارس- سد سیوند- کوه چاه سیاه



شکل ۱- پهنه میتوزی و کاربوتیپ جمعیت‌های: ۷۰ (a1 و a2؛ *V. unilateralis* 2n=14)، ۷۴ (b1 و b2؛ *V. unilateralis* 2n=14)، ۱۹ (c1 و c2؛ *V. myuros* 2n=28)، ۴۵ (d1 و d2؛ *V. ciliata* 2n=28)، ۲۵ (e1 و e2؛ *V. persica* 2n=35)، ۴۹ (f1 و f2؛ *V. hirtiglumis* 2n=35)، ۳۱ (g1 و g2؛ *V. hirtiglumis* 2n=42)، ۳۹ (h1 و h2؛ *V. myuros* 2n=42) و .Scale bar=20μm

جدول ۳- مشخصات کاربوتیپی تاکسون‌های جنس *Vulpia* در ایران

شماره جمعیت	نام تاکسون	میانگین طول کل کروموزوم‌ها	2n	S%	TF%	K. F. (فرمول کاربوتیپی)	میانگین طول بازوی بلند	میانگین طول بازوی کوتاه
۱۹	<i>V. myuros</i>	۳۱/۰۶	۲۸	٪۵۹	٪۴۰	sm + ۱m۶	۱۸/۳۸	۱۲/۶۸
۲۵	<i>V. persica</i>	۳۷/۲	۳۵	٪۶۸	٪۴۱	sm + ۲m۵	۲۱/۹	۱۵/۲۹
۳۱	<i>V. hirtiglumis</i>	۴۲/۱۹	۴۲	٪۵۱	٪۳۹	sm + ۳m۴	۲۵/۱۹	۱۶/۷۲
۳۹	<i>V. myuros</i>	۳۵/۸	۴۲	٪۶۳	٪۳۶	sm + ۵m۲	۲۳/۰۳	۱۳/۰۵
۴۵	<i>V. ciliata</i>	۵۹/۰۱	۲۸	٪۵۰	٪۴۱	sm + ۱m۶	۳۴/۵۷	۲۵/۰۸
۴۹	<i>V. hirtiglumis</i>	۴۲/۸۷	۳۵	٪۶۶	٪۳۷	sm + ۳m۴	۲۶/۶	۱۶/۲۷
۷۰	<i>V. unilateralis</i>	۵۷/۵۵	۱۴	٪۵۹	٪۴۳	m۷	۳۲/۷۳	۲۴/۸۱
۷۴	<i>V. unilateralis</i>	۵۷/۷۰	۱۴	٪۶۴	٪۴۵	m۷	۳۱/۵۵	۲۶/۱۴

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از شمارش کروموزوم‌های ۸ جمعیت مورد مطالعه از جنس *Vulpia* نشان داد که عدد پایه کروموزومی در گونه‌های این جنس در ایران، همانند سایر گونه‌های آن در جهان (پایگاه داده‌ای IPCN) برابر با ۷ است. مشاهده اعداد دیپلوئید برابر با ۱۴، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ نشان می‌دهد که نوعی دو رگ‌گیری منجر به ایجاد یک کمپلکس پلی‌پلوئید پیلار (Polyploid Pillar Complex) بر پایه $x=7$ در میان تاکسون‌های متعلق به جنس *Vulpia* در این کشور رخ داده است. با توجه به مخدوش بودن حدود گونه‌ها و واحدهای فروگونه‌ای این جنس در مطالعات ریخت‌شناسی (مشاهدات منتشر نشده) احتمال وقوع دورگ‌گیری بین گونه‌ها تقویت می‌شود.

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، سطح پلوئیدی فرد $5x$ در برخی از جمعیت‌ها به صورت مخلوط با سطوح پلوئیدی زوج دیده شد. در جمعیت شماره ۴۵ تشخیص داده شده با عنوان *V. ciliata* عدد پلوئیدی ۲۸ و ۳۵ مشاهده شد. در منابع (Bailey and Stace, 1989) عدد دیپلوئید گزارش شده در این گونه برابر با

۲۸ است (جدول ۱). شمارش میتوز ۳۵ در این گونه نشان‌دهنده وقوع دو رگ‌گیری احتمالی بین این تتراپلوئید و یک گونه هگزاپلوئید است. از آنجا که در این گونه تا به حال عدد پلوئیدی ۴۲ دیده نشده است بنابراین، به احتمال زیاد می‌توان نتیجه گرفت که این گونه بر اثر برخورد میان دانه‌های گرده‌گونه *V. hirtiglumis* - که شبیه‌ترین گونه به *V. ciliata* است - و محل رویش جمعیت شماره ۳۱ از گونه *V. hirtiglumis* با جمعیت ۴۵ از گونه *V. ciliata* - که عدد پنتاپلوئید در آن دیده شد، بسیار نزدیک است - (جدول ۱) ایجاد شده است. همچنین، عدد کروموزومی ۳۵ در *V. persica* می‌تواند از وقوع دورگ‌گیری بین سیتوتیپ هگزاپلوئید این گونه و گونه تتراپلوئید نزدیک آن (*V. myuros*) ناشی شده باشد. در مجموع مشاهده عدد کروموزومی ۳۵ در تعدادی از گونه‌ها بیان‌کننده وقوع بالای دورگ‌گیری بین گونه‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید است.

موقعیت سانترومر در کروموزوم‌های بررسی شده (جدول ۳) نشان می‌دهد که نوع کروموزوم‌ها متاساتریک (m) تا ساب‌متاساتریک (sm) است. این

S% که حداقل آن برابر با ۵۰٪ و حداکثر آن ۶۸٪ بود، می‌توان نتیجه گرفت که کاربوتیپ در این تاکسون بر اساس این معیار، تقریباً نامتقارن است. از نظر طول کروموزوم در این جنس تنوع وجود دارد، اما با توجه به پایین بودن تعداد پهنه‌های کروموزومی مطالعه شده نمی‌توان به طور قطعی اظهار نظر کرد.

مشاهدات با گزارش Stace و Cotton (۱۹۷۵) هماهنگی دارد. بر اساس جدول ۳ مقدار TF% در میان جمعیت‌ها از حداقل ۳۶٪ تا حداکثر ۴۵٪ متغیر است. مقادیر TF% به ۵۰٪ نزدیک، و در نتیجه، نوع کروموزوم‌ها متاسانتریک (m) تا ساب‌متاسانتریک (sm) است. همچنین، با توجه به مقادیر به دست آمده از

منابع

- Agayev, Y. M. (1996) Advanced squash method for investigation of plant chromosomes. Institute of Genetics and Selection. Baku.
- Bailey, J. P. and Stace, C. A. (1989) IOPB chromosome data 1. International Organization of Plant Biosystematics Newsletter 13: 15-21.
- Bor, N. L. (1970) *Vulpia* Gmel. In: Flora Iranica (ed. Rechinger, K. H.) 70: 88-91. Akademische Druck- u. Verlagsantalt Graz-Austria. Wien.
- Faruqi, S. A., Quraish, H. B. and Inamuddin, M. (1987) Studies in Libyan grasses X. Chromosome number and some interesting features. Annali di Botanica 45:75-102.
- Gmelin, C. C. (1805) *Vulpia myuros*. In: Flora Badensis Alsatica (ed. Gmelin, C. C.) 1: 8-9, Carlsruhae.
- Goldblatt, P. and Johnson, D. E. (1979) Retrieved from <http://www.tropicos.org/Project/PCN> On: December 2010.
- Huziwara, Y. (1962) Karyotype analysis in some genera of Compositae VIII. Further studies on the chromosomes of *Aster*. American Journal of Botany 49:116-119.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. A. (1965) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.
- Sharma, A. K. and Sharma, A. (1990) Plant chromosomes. Harwood Academic Publishers, Australia.
- Stace, C. A. (1980) *Vulpia* Gmel. In: Flora Europaea (eds. Tutin, T. G. Heywood, V. H., Burges, N. A. Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M. and Webb, D. A.) 5: 203-204. Cambridge University Press, Cambridge.
- Stace, C. A. (1989) Plant taxonomy and biosystematics. 2nd Ed. Edward Arnold, London.
- Stace, C. A. and Cotton, R. (1975) Taxonomy of the genus *Vulpia* (Gramineae). I Chromosome numbers and geographical distribution of the old world species. Genetica 46: 235-255.

A karyotypic study of the genus *Vulpia* Gmel. (Poaceae) in Iran

Amene Faramarzi and Hojatollah Saeidi *

Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Abstract

Based on the morphological investigations, 5 species of the genus *Vulpia* grow in Iran. This study concerns the cytotaxonomy of the genus *Vulpia* Gmel. in Iran. A total of 8 accessions belonging to *V. unilateralis*, *V. myuros*, *V. persica*, *V. ciliata* and *V. hirtiglumis* were examined. Mitosis were counted from three root tips of each accession. Diploid numbers counted were $2n=14$, 28, 35, 42 with basic chromosome number $x=7$. The pentaploidy ($2n=5x=35$) was observed in *V. persica*, *V. ciliate* and *V. hirtiglumis* and thus are reported for the first time. The karyotypes and the chromosomal parameters showed an approximately asymmetrical profiles for the species studied. The measured karyotypic parameters revealed significant differences among species studied.

Key words: Cytotaxonomy, Iran, *Vulpia*, Poaceae