SID

فیلم‌های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه‌های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

ابزارهای پژوهش

سامانه ویراستاری (ویرایش متون فارسی، انگلیسی، عربی)

۴۰ درصد تخفیف نوروزی ویژه کارگاه‌ها و فیلم‌های آموزشی

روش تحقیق کمی

آموزش مهارت‌های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI

آموزش نرم‌افزار Word برای پژوهشگران

چهارمين همايش ملي بيوتكنولوژي جمهوري اسلامي ايران
كرمان مردادماه ۱۳۸٤
International Center For Science & high Technology and Environmental Sciences
The 4th National Biotechnology congress
Islamic Republic of Iran
Kerman august 2005

بررسي رفتار سيتوژنتيكي در چند رقم يونجه (Medicago sativa)

گلناز رفيعي, منصور اميدي, مصطفي وليزاده, بهرام باغبان, محمود خسروشاهلي.
به ترتيب: دانشجوي كارشناسي ارشد دانشگاه تبريز, استاديار دانشگاه تهران, استاد و استاديار و دانشيار دانشگاه تبريز.

مقدمه

استفاده از كروموزمها به منظور طبقه بندي گياهان و كمك به حل مسائل و مشكلات تاكسونومي حتي كلاسيك مي تواند مفيد واقع شود. به نژاد گر با اطلاعاتي كه ازمطالعات سيتوژنتيكي به دست مي آورد به راحتي تصميم مي گيرد كه دريك برنامه تلافي بين گونه اي از كدام گونه ها استفاده نمايد تا نتايج بارور توليد كند ويا اينكه كدام كروموزم گياه واجد ژن دلخواه است (2).نقش عمومي سيتوژنتيك عبارت است از فراهم كردن اطلاعات كمي روي تاريخچه تكاملي گياه. بررسي هاي سيتوژنتيكي و تعيين مشخصات آن قرابت هاي گونه اي و غيره مطالعات سيتوژنتيكي اطلاعات وسيعي را در مورد ساختاز ژنتيكي گياهان زراعي براي تحقيقات آتي در اصلاح نباتات مفيد واقع مي گردند وجود اختلاف در شكل و اندازه كروموزمها ونيز رفتار آنها طي مراحل تقسيم ميوز مي تواند بيانگر وجود اختلافات ژنتيكي باشد (2).مطالعات كاريوتيپي به منظور مقايسه اختلاف موجود بين افراد يك گروه و آشكار شدن سير تكاملي تغييرات در كروموزمهاي تشكيل دهنده ژنوم انجام مي گيرد (2)..به منظور بررسي رفتار سيتوژنتيكي ، ويژگيهاي كاريوتيپي و ريخت شناسي كروموزومي، كروموزومها مورد مطالعه قرار گرفت و كاريوتيپ استاندارد گونه ها تهيه شد. گزارشهاي متفاوت در مورد تعداد كروموزومها در گونه هاي مختلف جنس مديكاگو وجود دارد. اين اختلاف نظر ها بيشتر به علت عدم تشخيص صحيح نمونه ها و يا شمارش ماهواره هاي بزرگ به عنوان كروموزومهاي جداگانه بوجود آمده است . كلمنت [1] شباهت ظاهري ماهواره هاي بزرگ به كروموزومها را نشان داده است (3).احتمال دارد كه وجود B كروموزومها نيز باعث چنين اختلاف نظرهايي باشد(6). تا آنجا كه مشهود است *M. murex* تنها گونه اي است كه جوامعي با 2n=14 و 2n=16 دارد (9).گاهي اوقات گياهان پلي پلوئيد در جوامع ديپلوئيد يافت مي شوند. احتمالاً مضاعف شدن خود به خود كروموزومها تحت شرايط طبيعي اتفاق مي افتد و پلي پلوئيدهاي حاصل زنده مي مانند آگاهي از سطح پلوئيدي در برنامه هاي دو رگ گيري داراي اهميت فراواني است معمولاً چنانچه رده ها در يك سطح پلوئيدي باشند. با سهولت بيشتري آميزش مي پذيرند . موارد استثنائي نيز ديده شده است كه آميزش پذيري در سطوح نا برابر پلوئيدي موفقيت آميز تر بوده است (8).

مواد و روش‌ها:

به منظور بررسي كروموزومهاي ميتوزي ازنوك ريشه [2] بذر تازه جوانه زده ارقام يو نجه استفاده شد . با توجه به اينكه واكنش گونه هاي مختلف گياهي به تكنيكهاو مواد سيتو لوژيكي متفاوت است, جهت دستيابي به سلولهاي متافازي , انجام آزمايشهاي مختلف جهت شناسايي بهترين تكنيك سيتولوژيكي ضرورت دارد, دراين بررسي جهت دستيابي به سلولهاي متافازي , تكنيكها و روشهاي زير آزمايش و اجرا شدند كه به ترتيب ذكر مي گردند.

جهت سبز شدن بذر ارقام مختلف، بذرها ابتدا به مدت 15 دقيقه در محلول 10 در صد هيپوكلريت سديم ضد عفوني شدند و پس از شستشوي كامل آنها با آب مقطر در پتري ديش محتوي كاغذ صافي مرطوب تا زمان سبز شدن قرار داده شدند .

2-1-پيش تيمار

دراين تحقيق از تركيبات كلشي سين، پارا دي كلرو بنزن و 8 هيدروكسي كينولئين مناسب تشخيص داده شد.

3-3-تثبيت

. دراين بررسي, جوانه هاي ريشه دوراز خارج شدن از مواد پيش تيماري, كاملاً با آب مقطر بمدت پنج دقيقه شستشو داده شده و سپس در محلول كارنوي به مدت 24 ساعت قراردا ده شدند .

2-3- نگهداري

, ريشه ها راپس از خروج ازمحلول تثبيت كننده با آب مقطر كاملا شسته وآب اضافه را با كاغذ خشك كن گرفته سپس بلافاصله در الكل 70 در صد قرار داده شد و در دماي چهارتا پنج درجه سانتيگراد در يخچال تا زمان استفاده نگهداري شدند. درصورتي كه نيازي به نگهداري كروموزومها نباشد مي توان اين مرحله را حذف و بلافاصله پس از مرحله تثبيت كروموزومها را مطالعه كرد .

3-4- هيدرو ليز

. پس ازخارج كردن ريشه ها از محلول الكل70 درصد يا محلول تثبيت كننده و پنج بار ششتشو با آب در ماده هيدروليز كننده اسيد كلريدريك نرمال و در دماى 60 درجه سانتيگراد به مدت يك دقيقه قرار داده شدند.

3-5- رنگ آميزي

مطالعه شكل و ساختمان كروموزومها از طريق مشاهده ميكروسكوپي و با استفاده از محلولها و روشهاي خاص رنگ آميزي امكان پذير است. براي اين منظور جوانه ها بعداز هيدروليز از اسيد كلريدريك خارج شده و به طور كامل

---

[1] - Clement
[2] -Root Tip

شستشو داده شده و بعد از آبگيري توسط كاغذ خشك كن, جهت رنگ آميزي و تهيه اسلايد آماده مي شوند. رنگ آميزي با اورسئين استيك مناسب تشخيص داده شد.

3-6- له كردن

انتهاي مريسمتي ريشه روي لام قرار گرفتند و بعداز اضافه كردن يك قطره رنگ, بافت توسط سوزن خرد شد. سپس يك لامل روي آن قرار شد و توسط شيئي مانند انتهاي خودكار, چند ضربه آهسته (بطوريكه لامل حركت نكند) روي لامل وارد شد. اين عمل باعث جدا شدن سلولها از يكديگر شده و سلولهاي كاملاً در يك سطح قرار مي گيرند. علاوه برآن لازم است كه , زمينه لام كاملاً تهيه شده و نمونه تهيه شد.

نتايج وبحث:

در بررسيهاي كاريوتيپي كه بر روي سه رقم يونجه شامل رقمهاي قره يونجه ، رنجر و واريته سنتتيك صورت گرفت مشاهده شد كه سطح پلوئيدي در تمام اين ارقام تتراپلوئيد 2n=4x=32 و عدد پايه كروموزومي x=8 بود. اين نتايج با يافته هاي لدينهام و ژولن دال (7) بر تتراپلوئيد بودن يونجه مطابقت داشت. در تمام ارقام مورد مطالعه يک سری هميولوگ كروموزوم ماهواره دار مشاهده گرديد. همچنين در تمام ارقام مورد مطالعه كروموزومهاي ماهواره دار بزرگترين كروموزومها يعني كروموزوم سری يك بود (البته با احتساب طول ماهواره). محل قرار گرفتن ماهواره ها در تمام ارقام روي بازوي كوچك كروموزومهاي مذكور بود.طول ماهواره ها بين 0/5 تا 0/53 ميكرون در ارقام مختلف متفاوت بود..مشاهده مي شود كه طول كوتاهترين كروموزوم 2/45 ميكرون مربوط به رقم رنجر و طول بلندترين كروموزوم 4/3 ميكرون بود كه متعلق به رقم قره يونجه بود. همچنين بيشترين ميانگين طول براي كروموزومها 3/59 ميكرون مربوط به رقم رنجر و كمترين ميانگين 3/36 ميكرون متعلق به رقم قره يونجه بود. بنابراين متوسط اختلاف بين كوتاهترين و بلندترين كروموزوم براي تمام ارقام در حدود 0/23 ميكرون بود.اين نتايج با نتايج فرير،هيمن، سيمون و لسينز (7،6،5،4و 10) مبني بر اينكه ميانگين طول كروموزومها در اكثر يافته هابزرگتر از سه ميكرون بود، مطابقت داشت.بخش ديگري از بررسيهاي كاريوتيپي مربوط به آناليز واريانس مي باشد كه بر روي دو فاكتور كروموزوم و ژنوتيپ در يك آزمايش فاكتوريل در قالب طرح كاملا تصادفي انجام شد. نتايج اين بررسيها در جدول 2-1 آورده شده اند. همانطور كه در اين جدول ملاحظه مي شود بين ارقام مختلف و كروموزومهاي مختلف و همچنين اثر متقابل كروموزوم × رقم تفاوتهای معني دار در سطح 1% مشاهده مي شود يعني در ارقام مختلف افزايش يا كاهش در طول كروموزومها صورت گرفته است.همچنين در جداول3-1و 4-1 خلاصه نتايج مقايسه ميانگين بين ژنوتيپها ومقايسه ميانگين بين كروموزومها در سطح 1% آمده اند. كاريوتيپ مربوط به رقم رنجر داراي بيشترين طول كروماتين بود و در گروه a قرار گرفت و ارقام سنتتيك و قره يونجه هر دو در گروه b قرار گرفتند. همچنين ملاحظه شد تفاوت در اندازه كروموزوم معني دار بود.در ارقام مورد مطالعه به غير از كروموزوم 1 در هر رقم كه از نوع ماهواره دار و ساب تلوسانتريك بود سايركروموزومها از نوع متاسانتريك و ساب متاسانتريك بودند.

جدول1-1- خلاصه نتايج كاريوتيپي

رقم	طول كوتاهترين كروموزوم	طول بلندترين كروموزوم	ميانگين طول كروموزوم در رقم	ميانگين طول ماهواره
رنجر	2/49	4/16	3/59	0/ 5
قره يونجه	2/45	4/3	3/36	0/5
سنتتيك	2/62	4/27	3/37	0/53

جدول 2-1- تجزيه واريانس بررسي سيتوژنتيكي

منابع تغيير	درجه آزادي	مجموع مربعات	ميانگين مربعات	F
كروموزوم	7	18/706	2/672	44/3387 **
رقم	2	0/935	0/467	7/7556 **
كروموزوم × رقم	14	2/580	0/184	3/0581 **
خطا	46	2/772	0/060	

* معني دار در سطح احتمال 5 درصد
n.s اختلاف غيرمعني دار

جدول 3-1- جدول مقايسه ميانگين بين ارقام مختلف يونجه از نظر طول كروموزوم بر حسب ميكرون

ارقام	ميانگين	
رنجر	3/588	a
قره يونجه	3/370	b
سنتتيك	3/327	b

S_x= 0/00499583 LSD=0/013988324

جدول 4-1 – جدول مقايسه ميانگين بين كروموزومها از نظر طول بر حسب ميكرون

كروموزوم	ميانگين	
1	4/244	a
2	3/876	b
3	3/734	bc
4	3/476	cd
5	3/417	cd
6	3/231	de
7	2/930	e
8	2/518	f

منابع:

1- رضايي .ع (1372). به نژادي يونجه. مركز نشر دانشگاه تهران.
2- شيدايي .م (1374).جزوه درسي سيتوژنتيك.دانشگاه شهيد بهشتي.
3-Atwood,S.S., and P.Gurn .(1951). Cytogeneticsof alfalfa. Bibliogr. Genet.14:133-188.
4-Feryer,J.P.(1930).Cytological studies in *Medicago Mellilotus* and *Tigonena*.Amer.J.Bot. 33: 465-492.
5-Giliies,C.B (1970). Alfalfa chromosome.I. Pachytene karyotype of a diploid *Medicago falcata L.* and its relationship to *M.sativa L.*Crop Sci.10:169-171.
6-Heyn,C.(1965).Some chromosome counts in the genus Medicago.Carylogia 9:160-165.
7. Lee,M and R.L.Phillips.(1977). Genetic variation in progeny of regenerated maiz plants. Genome 29: 834-835.
8. Lesiens,k., and I.Lesiens (1961).Some little-known medicago species and their chromosome complements. Can.J.Genet.Cytol. 3:7-9.
9.-Lesins,K., and I.Lesins(1979).Genus Medicago (Legominosae): A taxogenetic study.W.Junk Publishers,The Hague,Netherlands,P.228.10. Wenzel. G.L. and D.C.W Brown.. 1991.
10-Simon,J.P.(1965). Some aspects of the relationship in annual species of Medicago. Can.J.Genet.Cytol. 16: 51-60.

SID

فیلم‌های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه‌های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

ابزارهای پژوهش

سامانه ویراستاری (ویرایش متون فارسی، انگلیسی، عربی)

۴۰ درصد تخفیف نوروزی ویژه کارگاه‌ها و فیلم‌های آموزشی

روش تحقیق کمی

آموزش مهارت‌های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI

آموزش نرم‌افزار Word برای پژوهشگران