

مطالعه میتوزی برخی از گونه‌های بخش *Hymenobrychis* DC. از جنس اسپرس (*Onobrychis* Miller) در ایران

مسعود رنجبر^۱، فاطمه حاج مرادی، رؤیا کریمیان^۱
^۱ دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران*

چکیده

جنس *Onobrychis* یکی از جنس‌های بزرگ تیره Fabaceae است که از ۹ بخش تشکیل شده است. گیاهان این جنس اساساً در نواحی معتدل شمالی پراکنش دارند، لیکن مرکز اصلی تنوع آنها نواحی شرق مدیترانه و جنوب غربی آسیاست. بسیاری از گونه‌های این جنس به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا و نیز ارزش زینتی خود بسیار مورد توجه هستند. بخش *Hymenobrychis* DC. با حدود ۱۵ گونه، یکی از مهمترین بخش‌های این جنس است. در این مطالعه عدد کروموزومی پنج گونه از این بخش، *Onobrychis sintenisii* Bornm.، *Onobrychis subnitens* Bornm.، *Onobrychis hohneckiana* C. A. Mey. و *Onobrychis chorassanica* Bunge. مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه، اولین گزارش کروموزومی در مورد این تاکسون‌ها در ایران است. همه گونه‌های مورد مطالعه دیپلوئید بوده، عدد کروموزومی $2n = 2x = 14$ را نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: عدد کروموزومی، *Hymenobrychis*، میتوز، *Onobrychis*

مقدمه

Onobrychis از بقولات علوفه‌ای با ارزشی است که قرن‌هاست در سطوح وسیعی از ممالک مختلف، به ویژه مناطق معتدل آسیا و از جمله ایران کشت می‌شود؛ اگر چه در رویشگاه‌های مناطق سرد کوهستانی نیز به طور خودرو دیده می‌شود. جنس *Onobrychis* شامل گیاهانی یک‌ساله یا دائمی، اغلب ایستاده و به ندرت به صورت بوته‌های تیغ‌دار بوده که اغلب دارای کرک‌های ساده و گاهی بدون

جنس اسپرس (*Onobrychis* Miller) یکی از جنس‌های بزرگ تیره Fabaceae است که از ۱۳۰ گونه و ۹ بخش تشکیل شده است. گیاهان این جنس اساساً در نواحی معتدل شمالی پراکنش دارند، لیکن مرکز اصلی تنوع آنها نواحی شرق مدیترانه و جنوب غربی آسیاست. بسیاری از گونه‌های این جنس به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا و نیز ارزش زینتی خود بسیار مورد توجه هستند. جنس

1955; Darlington and Wylie, 1955; Cao,)
(1984; Goldblatt and Johnson, 1998).

اکثر مطالعات صورت گرفته بر روی این جنس تنها محدود به گزارش عدد کروموزومی است و اغلب به گونه‌های متعلق به سایر بخش‌ها، به ویژه بخش *Onobrychis* (گونه‌های *O. viciaefolia* و *altissima* *O.*) مربوط می‌شود. (Ornduff, 1966; Baltisberger,)
(1991; Karshibaev, 1992; Abou-El-Enain, 2002). نتایج حاصل از این مطالعات اعداد کروموزومی $2n = 2x = 14$ و $2n = 4x = 28$ ، $2n = 8x = 56$ ، $2n = 16x = 112$ را برای گونه‌های موجود در این جنس نشان می‌دهد (Fedorov, 1969; Romano *et al.*,)
(1987; Goldblatt and Johnson, 1991; Diaz-Lifante *et al.*, 1996; Ranjbar *et al.*, 2009b).
حسام‌زاده حجازی و ضیایی‌نسب، (۱۳۸۸).

انجام مطالعات سیتولوژیکی در سطح جمعیت‌های گیاهی، به ویژه گیاهان وحشی و بومی، به دلیل فراهم نمودن اطلاعات کمی در مورد تاریخچه تکاملی گیاه، تعیین قرابت‌های بین گونه‌ای، تعیین مشخصات کارپولوژیک و غیره از اهمیت بسیاری برخوردار است. عدد کروموزومی، خود ویژگی سیستماتیک مفیدی است. اعداد کروموزومی مشابه می‌توانند نشانه خویشاوندی نزدیک باشند و اعداد کروموزومی متفاوت اغلب با کاهش زادآوری دورگه‌ها، جدایی تولیدمثلی ایجاد می‌کنند. برخی ویژگی‌های کروموزومی، مانند تعداد کروموزوم‌ها، اندازه کروموزوم‌ها، ریخت‌شناسی کروموزوم‌ها و رفتار آنها در میوز از اهمیت تاکسونومیکی زیادی برخوردارند (Stebbins, 1971; Sharma, 2004).

مطالعه حاضر به منظور افزایش اطلاعات و داده‌ها در مورد عدد پایه کروموزومی در برخی گونه‌های بخش *Hymenobrychis* از جنس *Onobrychis* انجام شده

کرک هستند (Rechinger, 1984; Lock and Simpson, 1991; Mabberley, 1997).

در سال‌های اخیر گونه‌های جدید متعددی از بخش‌های مختلف این جنس برای فلور ایران گزارش شده است (Ranjbar *et al.*, 2004, 2007, 2009a, 2009b).

بخش *Hymenobrychis* DC. با حدود ۱۵ گونه در دنیا و تقریباً ۱۲ گونه در ایران، یکی از مهمترین بخش‌های این جنس است. گونه *O. sintenisii* از بخش *Hymenobrychis* یکی از بقولات مناطق نیمه‌خشک کشور است که با پراکنندگی نسبتاً محدود به عنوان یک گیاه همراه در ترکیب تیپ‌های مرتعی دیده می‌شود. گونه *O. sintenisii* گیاهی دگرگشن است که عامل اصلی باروری و تلقیح گل‌های آن زنبورهای *Bombus* هستند و در صنعت زنبورداری از اهمیت در خور توجهی برخوردار است. این گیاه بسیار خوش‌خوراک بوده، با توجه به طولانی بودن دوره رشد و گلدهی، علوفه زیادی تولید می‌کند که مورد چرای انواع دام قرار می‌گیرد. همچنین از این گونه برای تقویت خاک و به عنوان کود سبز نیز استفاده می‌شود. چنین ویژگی‌هایی، این گونه را به عنوان گیاهی ارزشمند برای اصلاح و توسعه مراتع و نیز تبدیل دیم‌زارهای کم‌بازده به مراتع دست‌کاشت، به ویژه در کشت مخلوط، در اقلیم نیمه‌خشک و مدیترانه‌ای معتدل و سرد معرفی می‌نماید (مقیم، ۱۳۸۴).

سایر گونه‌های این بخش مانند *O. subnitens* نیز واجد فرم رویشی بزرگ و قابل توجه و محتوای پروتئینی بالا هستند. اولین مطالعه کروموزومی از جنس *Onobrychis* بر روی گونه *O. cristagalli* انجام گرفت و عدد کروموزومی $2n = 2x = 14$ برای این گونه گزارش شد. در تحقیقات بعدی انجام شده بر روی این گونه، اعداد کروموزومی $2n = 2x = 14$ و $2n = 4x = 28$ گزارش شد

ظهر) قطع و در محلول ۸- هیدروکسی کینولین ۰/۰۰۲ مولار به مدت ۳ ساعت پیش تیمار شدند. سپس ریشه‌ها به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه در آب مقطر قرار گرفته، آن گاه به مدت ۲۴ ساعت در محلول تثبیت کننده فارمر (۳ حجم اتانول و ۱ حجم اسیداسستیک گلاسیال) تثبیت شدند (Fukui and Nakayama, 1996).

ریشه‌ها پس از خارج شدن از محلول تثبیت کننده در اتانول ۷۰٪ در یخچال نگهداری شدند (Wilson, 1945). هنگام مطالعه ریشه‌ها پس از هیدرولیز اسیدی با رنگ استوارسین ۲٪ رنگ آمیزی شدند. در نهایت، سلول‌های متافازی توسط میکروسکوپ نوری Olympus BX-41 و لنز ۱۰۰X بررسی گردیدند. عکس برداری توسط دوربین دیجیتال Olympus انجام شد. اطلاعات مربوط به گونه های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه و نمونه‌های آنها در هرباریوم دانشگاه بوعلی سینا نگهداری شده است.

است. ارایه این گونه گزارش‌ها برای سایر گونه‌های جنس *Onobrychis* و در نهایت، آنالیز فیلوژنتیک بعدی می‌تواند در تعیین روابط بین گونه‌ای در این جنس بسیار مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه میتوزی

مطالعه میتوزی سلول‌های مریستمی انتهایی ریشه در پنج گونه *O. hohenackeriana*, *O. michauxii* (13626)، *O.* (13630)، *O. chorassanica* (13639)، *O. subnitens* (13631) و *O. sintenisii* (13638) انجام گرفت. بذور نمونه‌های مورد مطالعه پس از تیمار کوتاه ۱ دقیقه‌ای با اسیدسولفوریک و شستشو با آب مقطر (۳-۵ بار)، در محیط کشت آب- آگار کشت و در انکوباتور در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از جوانه‌زنی و رشد ریشه به طول ۲-۱ سانتی‌متر، قسمت انتهایی ریشه‌ها در ساعات مختلف روز (۹ صبح تا ۲ بعد از

جدول ۱- مشخصات تاکسون‌های مورد مطالعه از بخش *Hymenobrychis*

شماره هرباریومی	ارتفاع (متر)	تاریخ جمع آوری	جمع آوری کننده	محل جمع آوری	گونه مورد مطالعه
BASU13626	۱۷۷۰	۱۳۸۶/۴/۱۹	رنجبر و حاج‌مرادی	اردبیل: سراب به اردبیل، بعد از گردنه صائین	<i>O. michauxii</i>
BASU13630	۱۲۸۰	۱۳۸۶/۳/۲۰	رنجبر و حاج‌مرادی	اردبیل: مشکین شهر به اهر، ۲۰ کیلومتر به اهر	<i>O. hohenackeriana</i>
BASU13639	۱۵۴۰	۱۳۸۶/۳/۲۲	رنجبر و حاج‌مرادی	خراسان: مشهد به چناران، روستای فریزی بعد از آب قد	<i>O. chorassanica</i>
BASU13631	۱۷۱۷	۱۳۸۶/۳/۱۸	رنجبر و حاج‌مرادی	زنجان: قیدار به ابهر، ۵ کیلومتر به ابهر	<i>O. subnitens</i>
BASU13638	۹۲۵	۱۳۸۶/۳/۲۱	رنجبر و حاج‌مرادی	سمنان: شاهرود به بجنورد، ۸۵ کیلومتری آسخانه، بعد از پارک جنگلی	<i>O. sintenisii</i>

نتایج و بحث

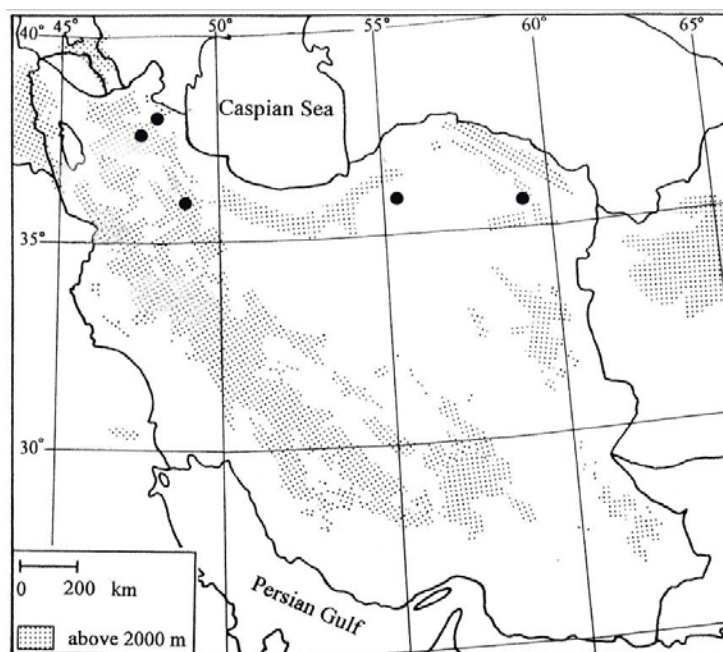
O. sintensis (13638) و *subnitens* (13631) انجام

گرفت. نقشه پراکنش گونه‌های مورد مطالعه در ایران در شکل ۱ ارائه شده است.

مطالعه میتوزی سلول‌های مریستمی انتهایی ریشه در پنج

گونه *O. hohenackeriana*، *O. michauxii* (13626)

O. chorassanica (13639)، (13630)



شکل ۱- نقشه پراکنش گونه‌های مورد مطالعه از بخش *Hymenobrychis* در ایران

نتایج حاصل از مطالعه کروموزومی در سلول‌های مریستمی انتهایی ریشه یک جمعیت از این گونه نشان داد که مجموعه کروموزومی در این گونه $2n = 14$ است (شکل C-2A).

گونه *O. subnitens* (13631)

این گونه اندمیک غرب و شمال ایران است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی این گونه عبارتند از: گیاهی چندساله. برگچه‌ها ۵ تا ۸ جفت، سطح فوقانی و تحتانی برگ فاقد کرک. گل‌ها کرم‌رنگ با خطوط مشخص، نیام واژگون، فاقد خارچه و پوشیده از کرک‌های سفیدرنگ.

گونه *O. chorassanica* (13639)

این گونه اندمیک شرق و شمال شرق ایران است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی این گونه عبارتند از: گیاهی چندساله، علفی اغلب در قاعده چوبی. برگچه‌ها ۴ تا ۵ جفت، بیضوی تا سر نیزه‌ای به ندرت دایره‌ای تا تخم‌مرغی، سطح فوقانی فاقد کرک تا پوشیده از کرک‌های بسیار پراکنده و سطح تحتانی پوشیده از کرک‌های کمابیش متراکم. گل‌ها کرم‌رنگ با رگه‌های ارغوانی (بنفش). نیام واژگون و پوشیده از کرک‌های سفیدرنگ، دارای تزیینات و تا حدودی دایره‌ای، حاشیه دیسکی با حجره‌های چهار گوش و دارای خارچه.

گونه *O. hohenackeriana* (13630)

این گونه اندمیک شمال و شمال غرب ایران است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی این گونه عبارتند از:

گیاهی چندساله، علفی، برگچه‌ها ۶ تا ۷ جفت، بیضوی به ندرت گرد، سطح فوقانی برگ فاقد کرک و دور تا دور برگ دارای کرک، سطح تحتانی برگ پوشیده از کرک، گل‌ها کرم‌رنگ، نیام دارای کرک‌های سفیدرنگ و خارچه.

نتایج حاصل از مطالعه کروموزومی در سلول‌های مریستمی انتهایی ریشه یک جمعیت از این گونه نشان داد که مجموعه کروموزومی در این گونه $2n = 14$ است (شکل ۲L).

در مجموع، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که گونه‌های مورد مطالعه از نظر سطح پلوئیدی، دیپلوئید بوده، تعداد کروموزوم‌ها در آنها $2n = 14$ و عدد پایه کروموزومی $x = 7$ است. اغلب مطالعات انجام شده در این جنس تنها محدود به گزارش عدد کروموزومی است و اغلب به گونه‌های متعلق به سایر بخش‌ها، به ویژه بخش *Onobrychis* مربوط می‌شود (Baltisberger, 1991; Karshibaev, 1992; Abou-El-Enain, 2002).

مطالعه حاضر و سایر مطالعات انجام شده، اعداد پایه کروموزومی ($x = 8$ و $x = 7$) و سطوح پلوئیدی ($2x = 14$) و $2n = 28$ ، $2n = 4x = 28$ ، $2n = 8x = 56$ ، $2n = 2x = 14$ و $2n = 4x = 32$) را برای گونه‌های موجود در این جنس نشان می‌دهد (Fedorov, 1969; Romano et al., 1987; Goldblatt and Johnson, 1991; Diaz-Lifante et al., 1996; Ranjbar et al., 2009b). حسام‌زاده حجازی و ضیایی نسب، (۱۳۸۸).

مطالعات تکاملی محدودی بر مبنای عدد کروموزومی در جنس *Onobrychis* وجود دارد. Goldblatt (۱۹۸۱)

نتایج حاصل از مطالعه کروموزومی در سلول‌های مریستمی انتهایی ریشه یک جمعیت از این گونه نشان داد که مجموعه کروموزومی در این گونه $2n = 14$ است (شکل ۲D-F).

گونه *O. sintenisii* (13638)

این گونه اندمیک شرق و شمال ایران است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی این گونه عبارتند از:

گیاهی چندساله، علفی با ساقه راست. برگچه‌ها ۹ تا ۱۱ جفت، بیضوی تا سر نیزه‌ای، سطح فوقانی برگ پوشیده از کرک‌های بسیار پراکنده و سطح تحتانی برگ پوشیده از کرک‌های تقریباً متراکم و بلند. گل‌ها کرم‌رنگ با رگه‌های ارغوانی (بنفش)، نیام واژگون، پوشیده از کرک، دارای خارچه‌های بسیار کوچک.

نتایج حاصل از مطالعه کروموزومی در سلول‌های مریستمی انتهایی ریشه یک جمعیت از این گونه نشان داد که مجموعه کروموزومی در این گونه $2n = 14$ است (شکل ۲G-I).

گونه *O. michauxii* (13626)

این گونه اندمیک شمال و شمال غرب ایران است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی این گونه عبارتند از:

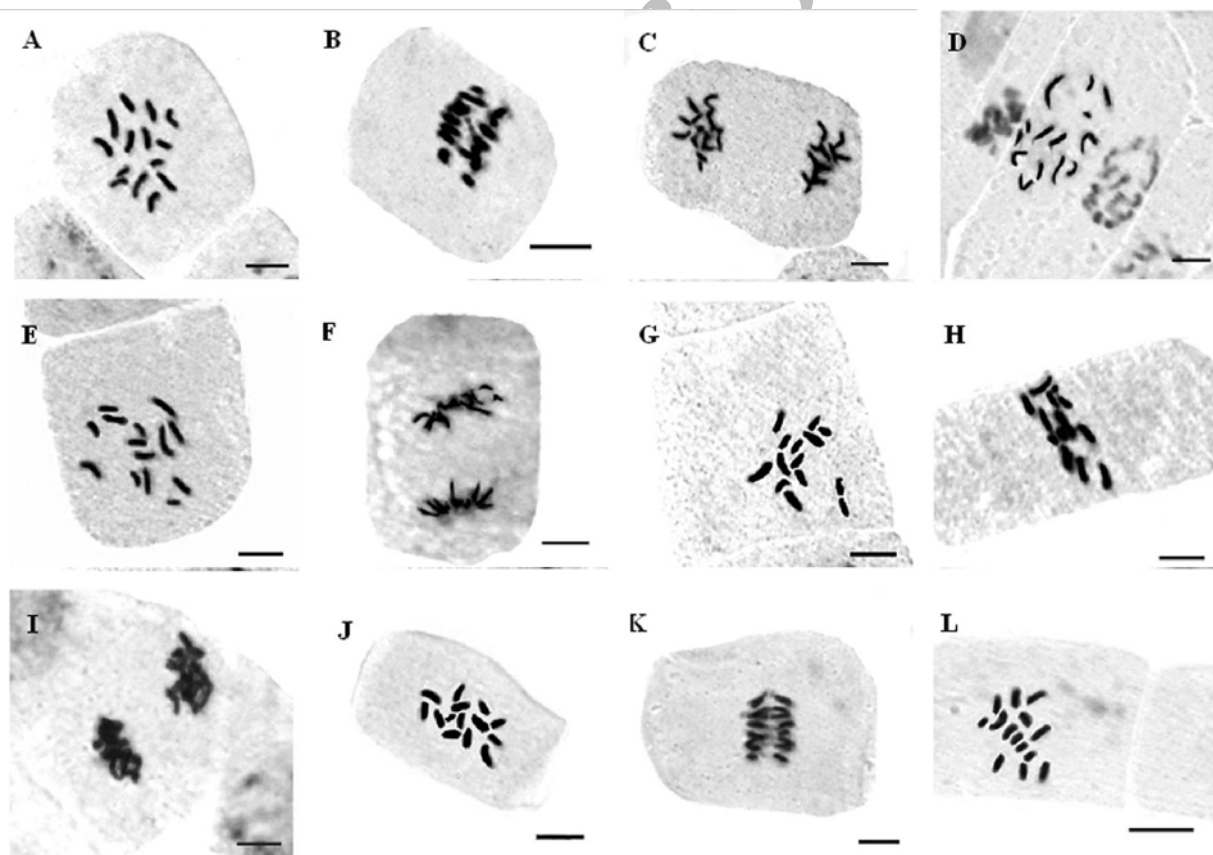
گیاهی چندساله، علفی. برگچه‌ها ۶ تا ۷ جفت، بیضوی، تخم‌مرغی تا سر نیزه‌ای، سطح فوقانی برگچه‌ها فاقد کرک و سطح تحتانی پوشیده از کرک‌های کمابیش متراکم، گل‌ها کرم‌رنگ با رگه‌های ارغوانی (بنفش)، نیام واژگون و پوشیده از کرک‌های سفید رنگ و دارای خارچه.

مطالعه میتوزی روی یک جمعیت از این گونه نشان داد که مجموعه کروموزومی در این گونه $2n = 14$ است (شکل ۲J-K).

Hymenobrychis بر خلاف *Onobrychis* مشاهده نمی‌شود. اعضای پلی‌پلوئید جنس *Onobrychis* اساساً در جنوب غربی آسیا، به ویژه آناتولی، ایران، ترکیه، ترکمنستان و ازبکستان و گونه‌های دیپلوئید در سرتاسر مناطق معتدل آسیا و مدیترانه پراکنش دارند. بر اساس داده‌های حاصل از مطالعات فیلوژنتیک به نظر می‌رسد، مرکز تنوع ژنتیکی *Onobrychis* ناحیه مدیترانه بوده، تفکیک اکولوژیک این ناحیه به بخش‌های غربی و شرقی، مهمترین عامل در روتد تکامل این جنس است (Ashurmetov and Normatov, 1998).

عدد پایه کروموزومی $x=8$ را در این جنس اجدادی دانسته، معتقد است که گونه‌های دارای عدد پایه کروموزومی $x=7$ در اثر کاهش آنیوپلوئیدها به وجود آمده‌اند. در حالی که Falistocco (۱۹۹۱) و Gomurgen (۱۹۹۶) معتقدند که تکامل در این جنس، با افزایش عدد پایه کروموزومی از $x=7$ به $x=8$ صورت پذیرفته است.

نتایج حاصل از این مطالعه و نیز داده‌های موجود در مورد عدد کروموزومی در این جنس نشان می‌دهد که از میان ۵۰ گونه مورد مطالعه، تقریباً ۴۰ درصد دیپلوئید و ۶۰ درصد بقیه پلی‌پلوئید هستند. حالت پلی‌پلوئیدی در بخش



شکل ۱- مراحل میتوز در گونه‌های مورد مطالعه از بخش *Hymenobrychis*: A-C *O. chorassanica* (13639): D-F *O. subnitens* (13631): G-I *O. sintenisii* (13638): J-K *O. hohenackeriana* (13630): L *O. michauxii* (13626): M مقیاس = ۳ میکرومتر).

منابع

- and Raven, P. H. (eds.), Advances in legume systematics. Part 2. Kew: Royal Botanic Gardens 427-463.
- Goldblatt, P. and Johnson, D. E. (1991) Index to plant chromosome numbers 1988-89. Monographs in Systematic Botany. V. 40. Saint Louis: Missouri Botanical Garden.
- Gomurgen, A. N. (1996) Meiotic analysis of selected material of sainfoin and its progeny with branched and unbranched peduncles. Turkish Journal of Botany 20: 399- 411.
- IPCN. Index to plant chromosome numbers data base. Missouri Botanical Garden. <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/ipcn.htm> 1.
- Karshibaev, H. K. (1992) Chromosome numbers of some Fabaceae in Uzbekistan. Tezisy 3 Soveshchanie Po Kariologii Rastenii 27: 1-2.
- Lock, J. M. and Simpson, K. (1991). Legumes of West Asia. Kew: Royal Botanic Gardens.
- Mabberley, D. J. (1997) The plant book: a portable dictionary of the vascular plants, 2nd edn. Cambridge: Cambridge University Press.
- Ornduff, R. (1966) Index to plant chromosomes. J. Cramer, In: der A. R. Gantener verlag kommanditagesellschaft FL-9490 UADUZ.
- Ranjbar, M., Amirabadizadeh, H., Karamian, R. and Ghahremani, M. A. (2004) Notes on *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Fabaceae) in Iran. Willdenowia 34: 187-190.
- Ranjbar, M., Karamian, R., Tolui, Z. and Amirabadizadeh, H. (2007) *Onobrychis assadii* (Fabaceae), a new species from Iran. Annales Botanici Fennici 44: 481-484.
- Ranjbar, M., Karamian, R. and Hajmoradi, F. (2009a) Taxonomic Notes on *Onobrychis* sect. *Hymenobrychis* (Fabaceae, Hedysareae) in Iran. Novon 19: 215-218.
- Ranjbar, M., Karamian, R. and Hadadi, A. (2009b) Biosystematic study of *Onobrychis vicifolia* Scop. and *Onobrychis altissima* Grossh. (Fabaceae) in Iran. Iranian Journal of Botany 15 (1): 85-95.
- مقیمی، ج. (۱۳۸۴) معرفی برخی گونه‌های مهم مرتعی. انتشارات آرون.
- حسام‌زاده حجازی، م. و ضیایی نسب، م. (۱۳۸۸) بررسی کاربولوژیکی بعضی از جمعیت‌های گونه‌های تتراپلوئید جنس اسپرس (*Onobrychis*) موجود در بانک منابع طبیعی ایران، مجله زیست‌شناسی. ۳۲۱-۳۳۲: ۲۲.
- Abou-El-Enian, M. M. (2002) Chromosomal criteria and their phylogenetic implications in the genus *Onobrychis* Mill, Sect. *Lophobrychis* (Leguminosae), with species reference to Egyptian species. Botanical Journal of the Linnean Society 139 (4): 409-414.
- Ashurmetov, O. A. and Normatov, B. A. (1998) Embryology of annual species of the genus *Onobrychis* Mill. Flora 193: 259-267.
- Baltisberger, M. (1991) IOPB chromosome data 3. International Organization of Plant Biosystematists Newsletter 17: 5-7.
- Cao, Z. (1984) Study of the karyotype of *Onobrychis viciaefolia*. Zhongguo Caoyuan Grassland of China, No. 1, 54-55.
- Diaz-Lifante, Z., Luque, T. and Santa-Barbara, C. (1992) Chromosome numbers of plants collected during Iter Mediterraneum II in Israel. Bocconea 3: 229-250.
- Darlington, C. D. and Wylie, A. P. (1955) Chromosome atlas of flowering plants. George Alien and Uuwin. Ltd.
- Falisticco, E. (1991) Chromosome study and genome relationships in perennial species of *Onobrychis*. Genetics and Breeding 45: 25-31.
- Fedorov, A. A. (1969) Chromosome numbers of flowering plants. Leningrad: Komarov, V. L., Botanical Institute.
- Fukui, K. and Nakayama, S. (1996) Plant chromosomes. (eds.), Laboratory methods. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Goldblatt, P. (1981) Cytology and the phylogeny of Leguminosae. In: Polhill, R. M.

- Rechinger, K. H. (1984) *Flora Iranica*.157 (2):449-459, Graz.
- Romano, S., Mazzola, P. and Raimondo, F. M. (1987) Numeri cromosomici perla flora Italiana. *Informatore Botanico Italiano* 19: 173-180.
- Sharma, O. P. (2004) *Plant taxonomy*. 12th Edition, Tat MC Graw-Hill.
- Stebbins, G. L. (1971) *Chromosomal evolution in higher plants*. Edward Arnold Publisher, London, Ltd.
- Wilson, G. B. (1945) The ventian turpentine mounting medium. *Stain Technology* 20: 133-135.

Archive of SID