

## مطالعه کاریوتیپ دو گونه شبیله از ایران (Trigonella L.)

\*لیلا غفارزاده نمازی<sup>۱</sup>، رسول اصغری زکریا<sup>۲</sup>، نادعلی باباییان<sup>۳</sup> و مکاییل بدرزاده<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی دکتری رشته اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، <sup>۲</sup>عضو هیات علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه محقق اردبیلی، <sup>۳</sup>دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

### چکیده

در این مطالعه بذور دو گونه شبیله به نام‌های *T. foenum-graecum* و *T. caerulea* در اردبیل مورد بررسی قرار گرفت. ویژگی‌های کاریولوژیکی *T. caerulea* برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود. ویژگی‌های کاریولوژیکی براساس میانگین ۷ سلول متفاوت اندازه‌گیری شدند. با استفاده از مدل طرح آماری فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی اختلاف بین گونه‌ها و نیز کروموزوم‌ها مورد آزمون قرار گرفت. نتایج نشان داد که این گونه‌ها از لحاظ فرمول کاریوتیپی متفاوت هستند. از نظر ویژگی‌های کاریولوژیکی، بین گونه‌ها و نیز بین کروموزوم‌های هر گونه تفاوت آماری وجود دارد. همچنین از لحاظ سنجش تقارن کاریوتیپی بر اساس جدول دو طرفه استیبنز گونه *T. caerulea* دارای متقارن‌ترین کاریوتیپ بود.

واژه‌های کلیدی: رنگ آمیزی استو، فریک، هماتوکسیلین، شبیله، کاریوتیپ، تقارن کاریوتیپی

### مقدمه

جنس شبیله (*Trigonella*) از خانواده پروانه‌آسا (*Papilionacea*) می‌باشد که براساس فلور ایرانیکا، ۲۵ گونه آن در نقاط مختلف ایران پراکنش دارد (رشینگر، ۱۹۸۴). در فلور ایرانیکا ثبت نشده بود و برای اولین بار از استان اردبیل گزارش شد (بدرزاده و غفارزاده نمازی،

\*مسئول مکاتبه: namazi83@yahoo.com

). ویژگی‌های کاریولوژیکی این گونه برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود. شمارش کروموزومی *T. foenum-graecum* در چند مورد گزارش شده است (داس و همکاران، ۲۰۰۱؛ داس و همکاران، ۲۰۰۲؛ ریاست و همکاران، ۲۰۰۳؛ مارتین و همکاران، ۱۱). ریاست و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی کاریوتیپ برخی گونه‌های جنس *Trigonella* از استان فارس به این نتیجه رسیدند که گونه‌ای دیپلوئید با عدد پایه  $x=8$  و فرمول کاریوتیپی  $2m + 14sm$  می‌باشد. مطالعات کاریولوژیکی در حل کردن مشکلات تاکسونومی نقش مهمی ایفا می‌کند (گودای و پیمپنلی، *T. foenum-graecum* و *T. caerulea*). در این مطالعه ویژگی‌های کاریولوژیکی دو گونه *T. foenum-graecum* و *T. caerulea* با استفاده از روش رنگ‌آمیزی استو-فریک-هماتوکسیلین مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

بذور دو گونه شبیله به نام‌های *T. foenum-graecum* و *T. caerulea* از سطح استان اردبیل جمع‌آوری گردید. این بذور بر روی کاغذ صافی خیس و در ظروف پتی برای جوانهزنی و ظهور ریشه‌ها قرار داده شدند. هنگامی که طول ریشه‌ها به ۲ سانتی‌متر رسیدند، جهت تهیه کاریوتیپ از طریق رنگ‌آمیزی استو-فریک-هماتوکسیلین مورد بررسی قرار گرفتند. جزئیات مراحل تهیه لام قبلًا منتشر شده است (اصغری زکریا و همکاران، ۲۰۰۲). سلول‌های متافازی با میکروسکوپ لایکا مدل **Gallen** مشاهده شد و از آنها عکس‌برداری به عمل آمد. ویژگی‌های کاریولوژیکی شامل طول بازوی کوچک و بزرگ، طول کروموزوم، شاخص نسبت بازو و طول نسبی کروموزوم در دو گونه مورد مطالعه براساس میانگین ۷ سلول مختلف اندازه‌گیری شد. نرمافزار **Micromeasure**<sup>1</sup> برای اندازه‌گیری صفات مورد استفاده قرار گرفت. شناسایی کروموزوم‌های همتا براساس محل سانترومر، شاخص نسبت بازو و وجود یا عدم وجود ساتلاتیت انجام گرفت. جهت تهیه یک کاریوگرام، کروموزوم‌های مربوط یک متافاز بهتریب بزرگی (از بزرگ به کوچک) در کنار هم چیده شدند و شکل آنها نیز بر طبق روش لوان و همکاران (۱۹۶۴) تعیین شد. با استفاده از مدل طرح آماری فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی اختلاف بین گونه‌ها و نیز کروموزوم‌ها مورد آزمون قرار گرفت.

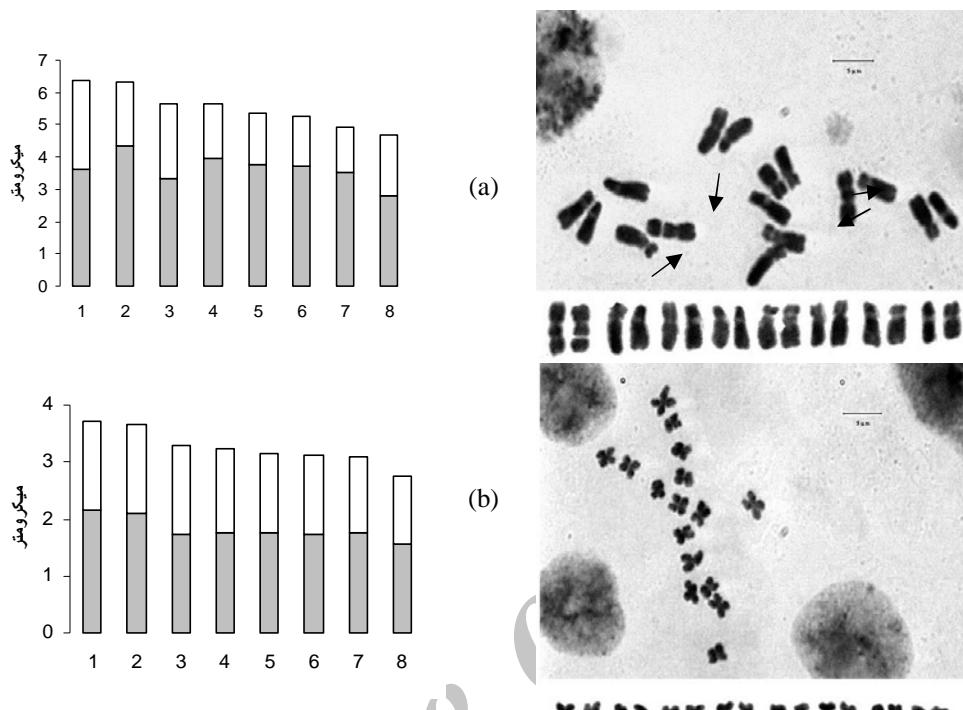
1. <http://www.colostate.edu/Depts/Biology/Micromeasure>

## نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری کروموزوم‌ها نشان داد که از نظر ویژگی‌های کاریولوژیکی اندازه‌گیری شده، بین گونه‌ها و نیز بین کروموزوم‌های هر گونه تفاوت آماری وجود دارد (جدول ۱). کروموزوم‌های میتوزی و ایدیوگرام گونه‌ها در شکل ۱ آمده است.

این گونه دارای ۱۶ کروموزوم می‌باشد ( $2n=16$ ). طول کروموزوم این گونه از  $6/36$  میکرومتر در کروموزوم ۱ تا  $4/69$  میکرومتر در کروموزوم ۸ متغیر بود. مجموع طول کروموزوم‌ها در یک دسته هاپلوئیدی  $44/24$  میکرومتر برآورد گردید. کاریوتیپ این گونه از سه جفت کروموزوم متاسانتریک و پنج جفت کروموزوم ساب متاسانتریک تشکیل یافته است. در مجموعه کروموزومی این گونه دو جفت کروموزوم با فرورفتگی ثانویه و ماهواره وجود داشت (کروموزوم ۱ و ۵). مارتین و همکاران (۲۰۱۱) با آنالیز کاریوتیپ ۱۹ گونه شبیله، عدد کروموزومی این گونه را به صورت  $2n=16$  گزارش کردند. مارتین و همکاران (۲۰۱۱) از روش رنگ‌آمیزی استواورسیئن جهت تهیه کاریوتیپ استفاده کردند. ریاست و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که کاریوتیپ این گونه از یک جفت کروموزوم متاسانتریک، هفت جفت کروموزوم ساب متا سانتریک تشکیل شده است. نتایج ارایه شده توسط ریاست و همکاران (۲۰۰۳) با توجه به اینکه از روش لوان و همکاران (۱۹۶۴) برای نام‌گذاری کروموزوم‌ها استفاده کردند، با نتایج این مطالعه مغایرت دارد. داس و همکاران (۲۰۰۱)، نشان دادند که تعداد کروموزوم‌های همه رقم‌های مورد مطالعه  $2n=16$  می‌باشد. داس و همکاران از روشی به غیر از روش لوان و همکاران (۱۹۶۴) برای نام‌گذاری کروموزوم‌ها استفاده کردند. آماره درصد شکل کلی  $34/33$  درصد محاسبه گردید. براساس جدول دو طرفه استیبنز (۱۹۷۱) کاریوتیپ این گونه در گروه ۳A قرار می‌گیرد (جدول ۲).

این گونه دارای ۱۶ کروموزوم می‌باشد ( $2n=16$ ). طول کروموزوم‌های این گونه از  $3/72$  میکرومتر در کروموزوم شماره ۱ تا  $2/76$  میکرومتر در کروموزوم شماره ۸ متغیر بود. مجموع طول کروموزوم‌ها در یک دسته هاپلوئیدی  $26/02$  میکرومتر برآورد گردید. کاریوتیپ این گونه از هشت جفت کروموزوم متاسانتریک تشکیل یافته است. آماره درصد شکل کلی  $44/04$  درصد محاسبه گردید. براساس جدول دوطرفه استیبنز (۱۹۷۱) کاریوتیپ این گونه در گروه ۱A قرار می‌گیرد (جدول ۲) و کاریوتیپ متفاوتی دارد.



شکل ۱- کاریوتیپ گستره متابازی و ایدیوگرام کروموزوم‌های میتوزی شبیله، علامت فلش فرورفتگی ثانویه را نشان می‌دهد.

( $2n = 2x = 16$ ) *T. caerulea* (b)

( $2n = 2x=16$ ) *T. foenum-graecum* (a)

جدول ۱- تجزیه وايانس(ميanganin مربعت) ويزگي هاي کروموزومي در دو گونه مورد مطالعه، فاكتور A گونهها، فاكتور B کروموزومها مي باشد.

| منابع تغييرات | درجه آزادی | طول کل              | بازوی بلند | بازوی کوتاه | شاخص نسبت بازو |
|---------------|------------|---------------------|------------|-------------|----------------|
| فاكتور A      | ۱          | ۱۰۳/۷۲۰**           | ۶۵/۶۲۷**   | ۴/۳۴۶**     | ۱۱/۲۰۴**       |
| فاكتور B      | ۷          | ۲/۰۴۴**             | ۰/۹۳۲**    | ۰/۶۹۶**     | ۰/۶۳۸**        |
| اثر مقابل     | ۷          | ۰/۲۳۷ <sup>ns</sup> | ۰/۳۲۴*     | ۰/۳۷۸**     | ۰/۶۷۳**        |
| خطا           | ۶۴         | ۰/۲۴۱               | ۰/۱۳۰      | ۰/۰۵۶       | ۰/۰۷۶          |
| % CV          |            | ۱۱/۱۹               | ۱۳/۲۲      | ۱۴/۲۲       | ۱۶/۶۰          |

جدول ۲- ویژگی‌های کلی کاربوبیپ گونه‌های مورد مطالعه.

| سطح      | تقارن          | TF%   | طول کل | فرمول  | تعداد | گونه               |
|----------|----------------|-------|--------|--------|-------|--------------------|
| دیپلوئید | A <sub>r</sub> | ۳۴/۳۳ | ۴۴/۲۴  | ۵s.m + | ۱۶    | <i>T. foenum-</i>  |
| دیپلوئید | A <sub>s</sub> | ۴۴/۰۴ | ۲۶/۰۲  | ۸m     | ۱۶    | <i>T. caerulea</i> |

متاسانتریک = sm ساب متاسانتریک = TF% درصد شکل کلی = m

\* \*\* اختلاف معنی دار بهترتب در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۱٪ ns اختلاف غیرمعنی دار در سطح ۰/۵٪

#### منابع

- Asghari-Zakaria, R., Kazemi, H., Aghayev, Y.M., Valizadeh, M. and Moghaddam, M. 2002. Karyotype and C-banding patterns of mitotic chromosomes in *Henrardia persica*. Caryol. 57:4.289-293.
- Badrzadeh, M. and Ghafarzadeh-namazi, L. 2009. *Trigonella caerulea* (Fabaceae), an aromatic plant from Ardabil province, Iran. Iran. J. Bot. 15:1.82-84.
- Das, A. B., Mohanty, S. and Das, P. 2001. Cytophotometric estimation of 4C DNA and karyotype analysis in ten cultivars of *Trigonella foenum-graecum*. Iran. J. Bot. 9:1.1-9.
- Das, A. B., Mohanty, S. and Das, P. 2002. Cytophotometric estimation of 4C DNA and Karyotype analysis in ten cultivars of *Trigonella foenum-graecum*-II. Iran. J. Bot. 9:2.151-159.
- Goday, C., and Pimpinelli, S. 1986. Cytological analysis of chromosomes in the two species *Parascaris univalens* and *P. equorum*. Chromosoma. 94: 1-10.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Heredity. 52: 201-220.
- Martin, E., Akan, H., Ekici, M. and Aytac, Z. 2011. Karyotype analyses of ten sections of *Trigonella* (Fabaceae). Comp Cytogen 5: 105–121.
- Reasat, M., Karapetyan, J. and Nasirzadeh, A. 2003. Karyotypic analysis of *Trigonella* genus of Fars Province. Iran. J. Range. For. Plant Breed Gene. Res. 11: 127-143
- Rechinger, K.H. 1984. *Trigonella* P: 200-z53 In K.H. Rechinger Flora Iranica Graz: Akadem.
- Stebbins, G.L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. London: Edward Arnold Publisher LTD, London. 216p.



Gorgan University of Agricultural  
Sciences and Natural Resources  
*J. of Plant Production*, Vol. 19(4), 2012  
<http://jopp.gau.ac.ir>

## Study on the karyotype of two *Trigonella* species from Iran

\***L. Gaffarzadeh-Namazi<sup>1</sup>, R. Asghari-Zakaria<sup>2</sup>, N. Babaeian<sup>3</sup>  
and M. Badrzadeh<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ph.D student, Genetics Plant Breeding, Sari University, <sup>2</sup>Faculty member of Agricultural College, University of Mohaghegh Ardebili, <sup>3</sup>Faculty member of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

### Abstract

The karyotype of two *Trigonella* species from Ardabil was investigated. Chromosome characteristics of *Trigonella caerulea* was reported for the first time in Iran. AcetoChromosome characteristics including number, long arm, short arm lengths, total length of chromosome set, arm ratio index and relative chromosome length were made from 7 enlarged well-spread metaphases. The difference between the species and chromosomes were tested using factorial statistical model, based on completely randomized design. Results showed that these species were different in karyotype formula and karyotype characteristics. In the view point of stebbin's symmetry class, *Trigonella caerulea* showed the most symmetric karyotype.

**Keywords:** Aceto-Iron-hematoxilin staining; Karyotype; *Trigonella*; Symmetry

---

\* Corresponding Author; Email: namazi83@yahoo.com