مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۶ ، شماره ۴، سال ۱۳۸۹

مطالعه کاریوتیپی بخش Hymenobrychis از جنس اسپرس(Onobrychis) درایران

Karyotypic Study of Sect. Hymenobrychis of Onobrychis in Iran

فرنگیس قنواتی[۱]، حسن اسکندری[۲]، غلامرضا بخشی‌خانیکی[۳]، بهزادسرخی‌لله‌لو[۱] و حسن امیرآبادی‌زاده[۴]

۱- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
۲و۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی و استاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه پیام نور، تهران
۴- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۳/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۸/۶

چکیده

قنواتی، ف.، اسکندری، ح.، بخشی خانیکی، غ.، سرخی لله لو، ب.، و امیرآبادی زاده، ح. ۱۳۸۹ مطالعه کاریوتیپی بخش Hymenobrychis از جنس اسپرس(Onobrychis) درایران. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۶:** ۵۶۰ - ۵۴۵.

در این تحقیق یازده جمعیت از بخش Hymenobrychis جنس Onobrychis (اسپرس)، جمع‌آوری شده از مناطق طبیعی ایران، با استفاده از مریستم انتهایی ریشه مورد مطالعه قرار گرفت و تعداد و ابعاد کروموزم‌ها درتقسیم میتوز اندازه‌گیری و فرمول کاریوتیپی هر گونه تعیین شد. تعداد کروموزوم پایه در گونه‌ها بین x=۷ و x =۸ و نوع کروموزوم‌ها نیز از نوع متاسنتریک(m) تا ساب متاسنتریک (sm) بود. بیشترین میانگین طول ژنوم متعلق به گونه*O. chorassanica* (۲۲/۱میکرومتر) و کمترین آن متعلق به گونه *O. amoana* subsp. *meshhedensis* (۱۴/۴ میکرومتر) بود. نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی نشان داد که بین گونه‌های مورد مطالعه اسپرس از نظر اکثر صفات در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت. بر خلاف سایر گونه‌ها که در کلاس A استبینز بودند، گونه *O. michauxii* 2 در کلاس B قرار گرفت و دارای کاریوتیپ نسبتاً نامتقارن‌تر بود. گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* با داشتن فرمول کاریوتیپی 14m، قرار گرفتن در کلاس 1A، بیشترین طول نسبی کروموزوم (۶۸/۲۶ میکرومتر)، کمترین دامنه طول نسبی کروموزوم (۵/۳۱ میکرومتر)، کمترین عدم تقارن بین کروموزومی (۰/۱۲) و درصد فرم کلی بالا به عنوان متقارن‌ترین گونه بود که نشان‌دهنده ابتدایی‌تر بودن این گونه است. در تجزیه به مولفه‌های اصلی، سه مولفه اول بیش از۹۵/۴ درصد از تنوع بین داده‌ها را توجیه کردند. با توجه به گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس پارامترهای کروموزومی بیشترین شباهت بین جمعیت‌های گونه *O. mazanderanica* و کمترین قرابت و نزدیکی بین گونه‌های *O. mazanderanica* و *O. michauxii* وجود داشت.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، بخش Hymenobrychis ، تکامل، تعداد کروموزوم ،کاریوتیپ.

نویسنده مسئول: f_ghanavati83@yahoo.com تلفن: ۰۲۶۱-۲۷۰۱۲۶۰

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

جنس اسپرس (Onobrychis) با دارا بودن بیش از ۱۳۰ گونه یک ساله و چندساله در نواحی معتدله شمالی کره زمین گسترش دارد و مرکز تنوع آن شرق مدیترانه و غرب آسیا است. رشینگر (Rechinger, 1984)، هفتاد و هفت گونه اسپرس ناحیه ایرانیکا را در قالب دو زیرجنس و نه بخش معرفی کرد. زیر جنس Sisyrosema شامل پنج بخش Afghanica، Anthyllium، Heliobrychis، Hymenobrychis و Insignes و زیر جنس Onobrychis دارای چهار بخش Laxiflora، Dendrobrychis، Onobrychis و Lophobrychis است. رنجبر و همکاران (Ranjbar *et al.*, 2004, 2006, 2007) و امیرآبادی زاده و همکاران (Amirabadizadeh *et al.*, 2006, 2009) نیز چند گونه از جنس Onobrychis را به عنوان گونه‌های جدید از ایران معرفی کردند. در ایران جنس Onobrychis دارای ۶۳ گونه‌ی (۱۳ گونه یک ساله و ۵۰ گونه چند ساله) است که ۱۱ گونه آن به بخش Hymenobrychis تعلق دارد و در بین آن‌ها ۴ گونه، زیرگونه و واریته فقط از ایران گزارش شده‌اند. تعدادی از گونه‌های این بخش دارای ارزش علوفه‌ای بوده و برای کنترل فرسایش و یا به عنوان گیاهان جلب‌کننده زنبور عسل مورد استفاده قرار می‌گیرند (Lock and Simpson, 1991؛ Yakovlev *et al.*, 1996؛ Mabberley, 1997). این گونه‌ها تنوع ژنتیکی بالایی داشته و به عنوان ذخیره ژنتیکی غنی و ارزشمند می توان از آن ها برای اصلاح گونه های زراعی استفاده کرد.

ذخیره ژنی این جنس دارای سطوح پلوئیدی متفاوت دیپلوئید و تتراپلوئید با عدد پایه کروموزمی متفاوت ۷، ۸ و ۹ است. میرزایی ندوشن و فیاضی (Mirzaie-Nodoushan and Fayazi, 1998) ده جمعیت از گونه *O. sativa* را از نظر تقارن کاریوتیپی مورد مطالعه قرار دادند. با بررسی کاریوتیپ چهار گونه اسپرس نشان داده شد که گونه *O. aucheri* ssp. *tehranica* و *O. scrobiculata*, *O. melanotricha* و *O. oxyptera* دارای ۱۶ کروموزوم هستند و براساس عدد پایه کروموزومی x = ۸ گونه‌های دیپلوئید محسوب می‌شوند (Ansari Asl *et al.*, 2000). حاتمی و نصیرزاده (Hatami and Nasirzadeh, 2006) پس از مطالعه در مورد دو زیر گونه *Onobrychis aucheri* subsp. *tehranica* و *O. aucheri* subsp. *psammophila* گزارش کردند که با توجه به خصوصیات ریخت‌شناسی و صفات کروموزومی در هر دو تاکسون مشخص می‌شود که این دو زیرگونه با یکدیگر دارای اختلاف ظاهری و کروموزومی بوده بنابراین نمی‌توان آن‌ها را به عنوان دو زیرگونه از یک گونه تلقی کرد. حسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب (Hesamzadeh Hejazi and Ziaei Nasab, 2009)

Archive of SID

www.SID.ir

ضمن بررسی ۲۱ جمعیت از ۱۴ گونه اسپرس دریافتند که گونه *O. crista-galli* با فرمول کاریوتیپی ۲m+۶sm و گونه *O. aucheri* با فرمول کاریوتیپی۸m به ترتیب نامتقارن‌ترین و متقارن‌ترین کاریوتیپ هستند. در بررسی آن‌ها، گونه *O. hohenackeriana* با داشتن بیشترین تغییرات بین کروموزومی نامتقارن‌ترین کاریوتیپ را داشت. قنواتی و همکاران (Ghanavati *et al.*, 2010) گونه‌های بخش Heliobrychis را مورد ارزیابی قرار دادند و دریافتند که گونه *O. oxyptera* نامتقارن‌ترین و گونه‌های *O. lunata* و *O. heliocarpa* متقارن‌ترین گونه‌های این بخش هستند. در پژوهش حاضر با شمارش و اندازه‌گیری کروموزم‌های مرحله متافازی میتوز گونه‌های بخش Hymenobrychis که بسیاری از آن‌ها مخصوص ایران هستند و تاکنون مطالعات کروموزومی آن‌ها به‌طور کامل انجام نشده است، ضمن تعیین کاریوتیپ تاکسون‌ها به منظور تعیین عدد کروموزومی، مطالعه شکل و اندازه کروموزوم‌ها و تکامل کاریوتیپی، گونه‌های نزدیک به یکدیگر نیز برای انجام تلاقی بین گونه‌ای با استفاده از روش‌های تجزیه آماری چند متغیره تعیین شدند.

مواد و روش‌ها

یازده تاکسون اسپرس مربوط به Sect. Hymenobrychis از نظر مشخصات کروموزومی مورد مطالعه قرار گرفتند. ریشه‌چه‌های گیاهان مورد بررسی با توسط محلول پیش تیمار ۸- هیدروکسی کینولئین، تثبیت‌کننده لویتسکی و رنگ هماتوکسیلین و بر اساس روش قنواتی و همکاران (۲۰۱۰) آماده سازی شدند. و ۱۰-۵ پهنه متافازی میتوز سلول‌های مریستم نوک ریشه برای هر گونه مطالعه شد.

در تمام نمونه‌های مورد مطالعه ابتدا تعداد کروموزم در هسته سلول شمارش شد و پارامترهای کاریوتیپی نظیر طول کل کروموزوم (TL)، مجموع طول بازوی بلند (L) و مجموع طول بازوی کوتاه (S) توسط نرم‌افزار Micromeasure **3.3** بر حسب میکرون اندازه‌گیری شد و براساس نسبت بازوی بلند به کوتاه (AR) و شاخص ضریب سانترومری (CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است،محاسبه شد. دیگر پارامترهای کاریوتیپی مانند درصد شکل کلی (TF%)، اختلاف درصد طول نسبی بزرگ‌ترین و کوچک ترین کروموزوم (DRL%) ، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S%)، ضریب نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1) و بین کروموزومی (A2) محاسبه شدند. در این بررسی برای تعیین وضعیت تکاملی و مطالعه تقارن کاریوتیپی جمعیت‌ها از جدول دو طرفه استبینز استفاده شد (Stebbins, 1971). به منظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس انجام شد. همبستگی و مقایسه میانگین

Archive of SID

www.SID.ir

صفات نیز با استفاده ازآزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال۱٪) انجام شد. برای تعیین سهم هر یک از صفات اندازه‌گیری شده در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها، تجزیه به مولفه اصلی و برای گروه‌بندی آن‌ها تجزیه کلاستر (UPGMA) انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS9،SPSS 16 و NTSYS 2.02 انجام شد.

نتایج و بحث

نام و رویشگاه گونه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. گونه‌های *O. subnitens*، *O. mazanderanica* و *O. amoena* subsp. *meshhedensis* انحصاری ایران هستند و برای اولین‌بار دراین تحقیق مطالعات کاریوتیپی آن‌ها انجام شد. تصاویر صفحه متافازی و کاریوگرام گونه‌های مورد مطالعه در شکل ۱ و ایدیوگرام مربوط به آن‌ها در شکل ۲ ارائه شده است. از نظرتعداد کروموزوم پایه، بین گونه‌ها عدد پایه کروموزومی ۷ و ۸ مشاهده شد. گونه *O. michauxii* با عدد پایه کروموزومی **x=۸** دارای **۲n=۲x=۱۶** کروموزوم و سایرگونه‌ها با عدد پایه کروموزومی **x=۷** تعداد **۲n=۲x=۱۴** کروموزوم داشتند و همگی دیپلوئید بودند. نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققین در مورد این جنس نیز موید نتایج این تحقیق است (Hesamzadeh Hejazi and Ziaei Nasab, 2009؛ Ansari Asl *et al.*, 2000, 2001؛ Goldblatt, 1992-1993؛ Cao, 1984؛ Zohary, 1972). از نظر تعداد ماهواره‌ها، نیز همه گونه‌ها دو ماهواره داشتند. همچنین این مطالعه نشان داد که هرچند گونه‌ها و جمعیت‌های مختلف اسپرس دارای تعداد متفاوتی کروموزم پایه هستند ولی همگی در داشتن کروموزم‌های کوچک مشترک هستند، به عبارت دیگر در مقایسه با بسیاری از گونه‌ها و جنس‌های دیگر گیاهی میانگین طول کروموزم‌های اسپرس کوچک تر است. مقایسه میانگین طول ژنوم گونه‌های اسپرس نیز نشان داد که بیشترین میانگین طول ژنوم متعلق به گونه *O. chorassanica* (۲۲/۱۴۴میکرومتر) و کمترین آن متعلق به گونه *O. amoana* subsp. *meshhedensis* (۱۴/۴۰۹میکرومتر) بود.

با استفاده از نسبت اندازه طول بازوی بلند بر بازوی کوتاه کروموزم‌ها و براساس نظر لوان و همکاران (Levan *et al.*, 1964) فرمول کاریوتیپی گونه‌های مورد بررسی تعیین شد. ویژگی‌های کاریوتیپی گونه‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. گونه‌های این جنس دارای تیپ کروموزومی متاسنتریک تا ساب‌متاسنتریک بودند. به طوری که تمام کروموزوم‌های گونه‌های *O. michauxii*، *O. schahuensis* 1 و *O. amoena* subsp. *meshhedensis* از نوع متاسنتریک و سایر گونه‌ها تلفیقی از متا سنتریک تا ساب‌متاسنتریک تعیین شد که موید

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- گونه‌های مورد مطالعه بخش Hymenobrychis و رویشگاه های آن‌ها در ایران

Table 1. Studied species of sect. Hymenobrychis and their habitats in Iran

Species	**Habitate**
*O. mazanderanica*1Rech.f.	Mazandaran: Noshahr, Zaloos, Dalam, 571†
O. mazanderanica 2 Rech.f.	Mazandaran: Sari, Narmabdos, Saidabad, 171†
O. amoena M. Pop. et Vved. subsp. *amoena*	Bojnord, Shoghan, 2000m
O. amoena subsp. *meshhedensis* Širj. & Rech.f.	Fariman, Arrehkamar, 1900m
O. subnitens 1 Bornm.	East Azarbaijan: Sarab, 278†
O. subnitens 2 Bornm.	East Azarbaijan: Hashtroud, Zolbin, 318†
O. schahuensis 1 Bornm.	Kermanshah, Eslamabad-e- Gharb, Govareh, 419†
O. schahuensis 2 Bornm.	Kermanshah: Javanroud, 413†
O. chorassanica Bunge.	Khorasan Razavi: Mashhad, Kalat road to Dargaz, 588†
O. michauxii 1 DC.	East Azarbaijan: Mianeh, 291†
O. michauxii 2 DC	East Azarbaijan: Kaleibar, 280†

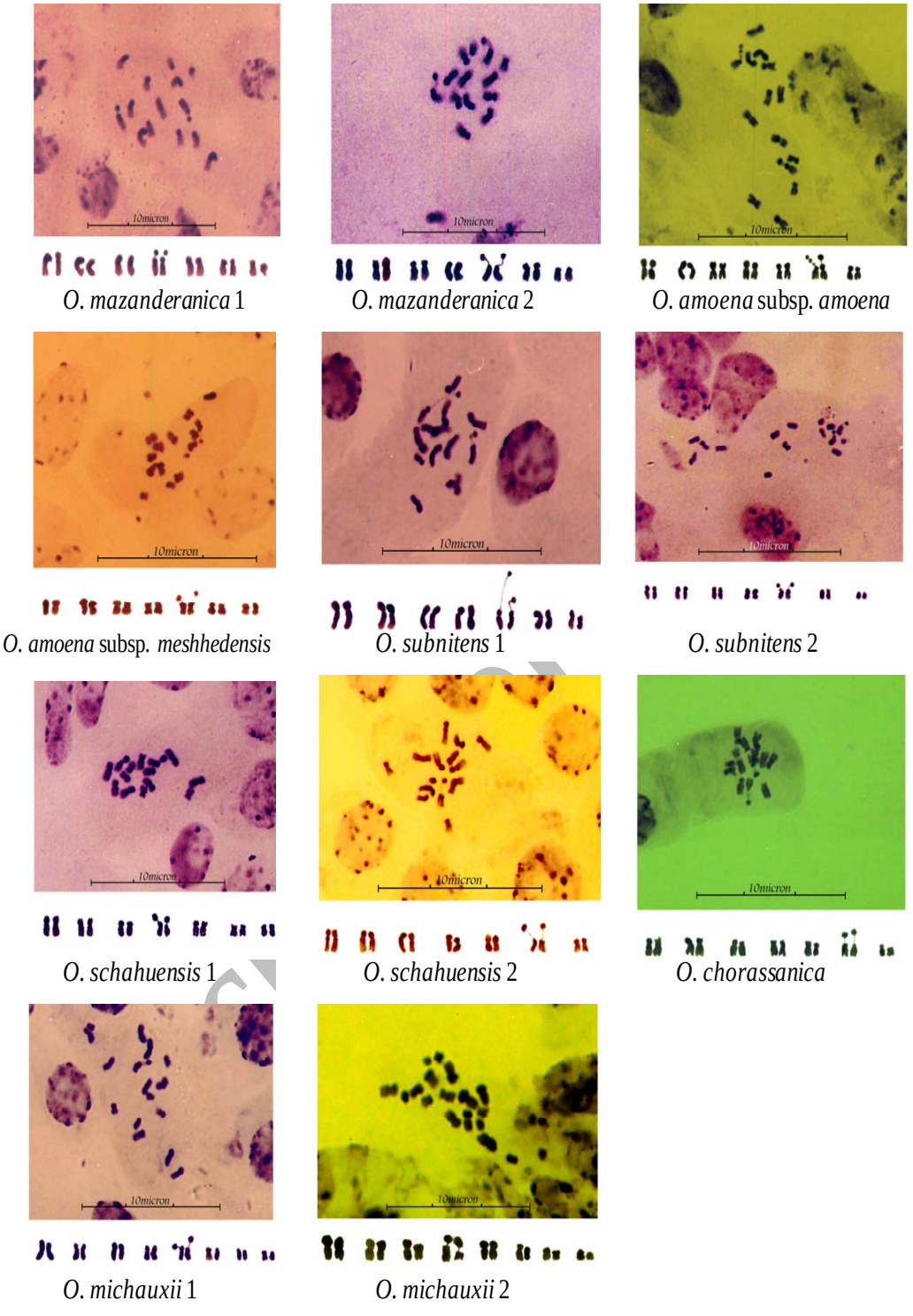
† شماره TN نمونه در بانک ژن گیاهی ملی ایران.

†Number of TN in National Plant Genebank of Iran.

نظر محققین قبلی از جمله جسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب (۲۰۰۹) و Abou-El-Enain (2002) است. گونه *O. michauxii* 1 با فرمول کاریوتیپی **۱۶m** از بیشترین درصد شکل کلی (۴۳/۹۶۶) و کمترین مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (۰/۲۰۴) برخوردار بود و گونه *O. chorassanica* با فرمول کاریوتیپی **۶m+۸sm** کمترین درصد شکل کلی (۳۵/۶۸۲) و بیشترین شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (۰/۴۳۲)را نشان داد. نتایج تجزیه واریانس صفات مربوط به کروموزوم‌ها نشان داد که بین گونه‌های مختلف اسپرس از نظر صفات مجموع طول بازوهای کوتاه (S)، شاخص سانترومری (CI) و نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند (r-value) در سطح یک درصد و در مورد صفات طول کل کروموزوم (TL)، نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه (AR) درسطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت و برای صفت مجموع طول بازوهای بلند کروموزوم (L) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳). معنی‌دار بودن صفات کروموزومی بیانگر تنوع کاریوتیپی در بین گونه‌های مورد مطالعه است که این امر

Archive of SID

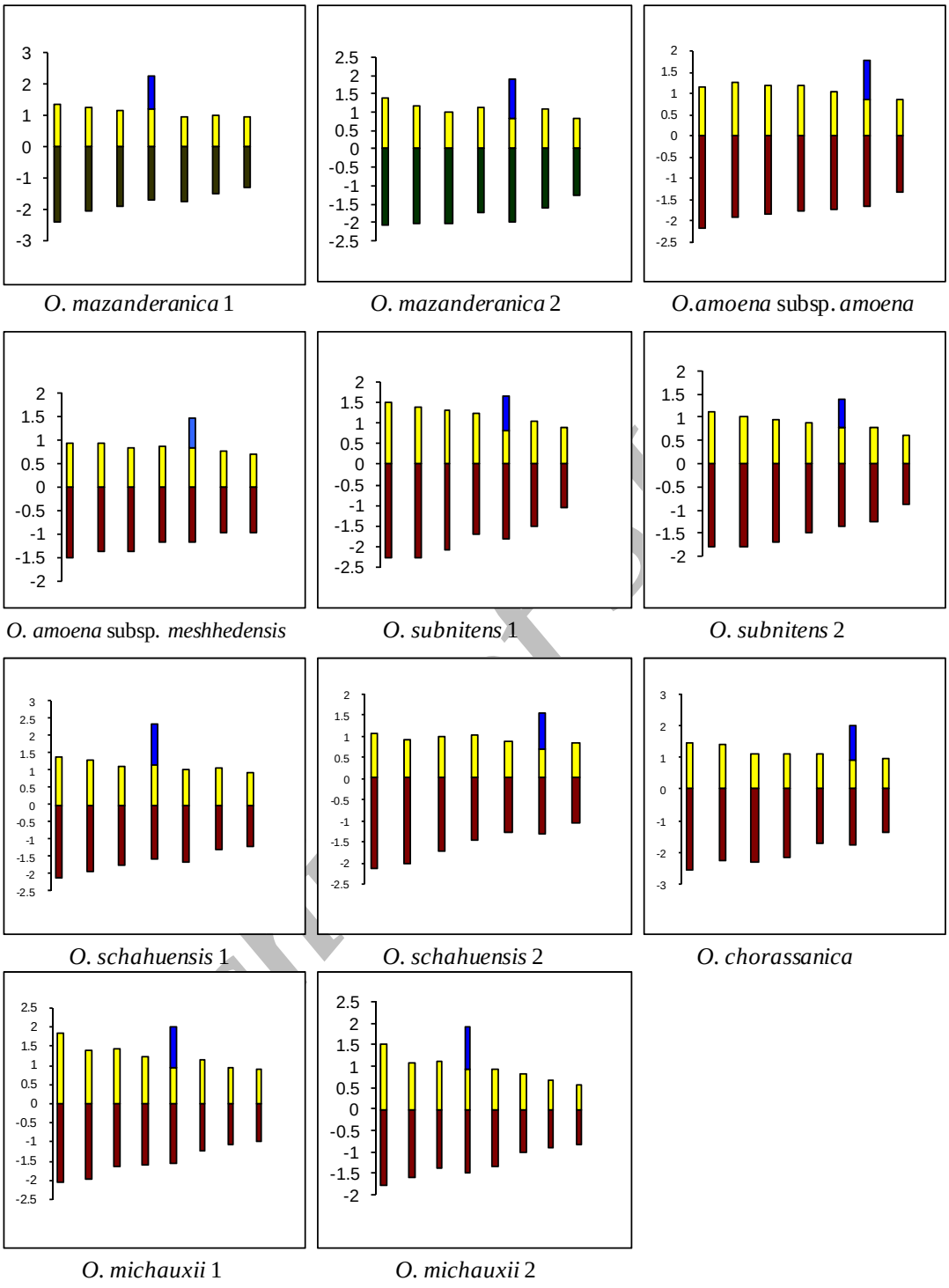
www.SID.ir



شکل۱- متافاز میتوزی به همراه کاریوگرام چند گونه از بخش Hymenobrychis

Fig.1. Metaphase mitosis and karyogram of some species of sect. Hymenobrychis

www.SID.ir



شکل ۲- ایدیوگرام چندگونه از بخش Hymenobrychis

Fig .2. Idiogram of some species of sect. Hymenobrychis

www.SID.ir

جدول ۲- ویژگی های کاریوتیپی چند گونه از بخش Hymenobrychis
Table 2. Karyotypic characteristics of some species of Hymenobrychis

Species	2n	X	DRL%	TF%	S%	A1	A2	SC	sat	KF
O. mazanderanica 1	14	7	7.247	38.827	60.050	0.345	0.186	1A	2	10m+4sm
O. mazanderanica 2	14	7	6.618	36.437	61.197	0.416	0.150	2A	2	8m+6sm
O. amoena subsp. *meshhedensis*	14	7	5.319	41.228	68.269	0.277	0.125	1A	2	14m
O. amoena subsp. *amoena*	14	7	5.574	37.450	66.450	0.395	0.139	1A	2	10m+4sm
O. subnitens 1	14	7	8.675	38.770	51.988	0.352	0.215	2A	2	12m+2sm
O. subnitens 2	14	7	8.720	38.185	50.863	0.373	0.223	1A	2	12m+2sm
O. schauhensis 1	14	7	6.656	41.020	62.738	0.289	0.171	1A	2	14m
O. schauhensis 2	14	7	7.633	36.288	58.296	0.401	0.199	2A	2	6m+8sm
O. chorassanica	14	7	7.434	35.686	58.878	0.432	0.187	2A	2	6m+8sm
O. michauxii 1	16	8	9.161	43.966	48.977	0.204	0.258	1A	2	16m
O. michauxii 2	16	8	10.537	43.362	42.617	0.227	0.290	1B	2	16m

2n : تعداد کروموزوم ؛X: عدد پایه کروموزومی؛ DRL%: اختلاف دامنه طول نسبی؛TF% : درصد فرم کلی ؛ S%: طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم؛ A_1: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی؛ A_2: شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی SC :کلاس استبینز sat :ستلاتیت ؛ KF:فرمول کاریوتیپی.

2n: Number of chromosomes; X: Base of chromosomes; DRL: Differenccce of relative length; TF%: Total form percentage; S%: Relative length of shortest chromosome; A_1: Intra asymmetry chromosomal index; A_2: Inter asymmetry chromosomal index; SC: Stebins Class; sat: satelait; KF: Karyotypic formula.

می‌تواند دلیلی بر انجام مطالعات جامع کروموزومی جهت تعیین وضعیت تکاملی و بررسی قرابت و خویشاوندی گونه‌های مختلف اسپرس باشد.

نتایج تجزیه همبستگی کلیه صفات کاریوتیپی نشان داد که طول کل کروموزوم (TL) با صفات مجموع طول بازوهای بلند (L) و مجموع طول بازوهای کوتاه (S) همبستگی مثبت و با سایر صفات همبستگی چندانی نشان نمی‌دهد. در حالی که مجموع طول بازوهای کوتاه (S) از بیشترین همبستگی با سایر صفات برخوردار بود و با افزایش محموع طول بازوی کوتاه (S)، مجموع طول بازوهای بلند (L)، طول کل کروموزوم (TL)، نسبت بازوی کوتاه به بازوی بلند (r-value) و شاخص سانترومری (CI) افزایش می‌یابد (جدول ۴). از نظر میانگین

Archive
www.SID.ir

جدول ۳ - تجزیه واریانس ویژگی‌های کاریوتیپی گونه‌های مختلف بخش Hymenobrychis

Table 3. Analysis of variance for the karyotypic characteristics of different species of Hymenobrychis

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS S	L	TL	AR	r-value	CI
Species	گونه گیاهی	10	3.32**	5.04ns	17.27*	3.32*	1.98**	0.51**
Error	خطا	22	0.94	3.34	5.63	1.08	0.18	0.04
CV%	ضریب تغییرات		12.94	15.42	12.37	9.21	8.88	7.76

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی دار ، معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.

ns, * and **: Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively .

S : مجموع طول بازوهای کوتاه ؛ L : مجموع طول بازوهای بلند ؛ TL : طول کل کروموزوم ؛ AR : نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه؛ r-value : نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند ؛ CI : شاخص سانترومری.

S: Sum length of short arms; L: Sum length of long arms ; TL: Total length of chromosome; AR: Ratio of long arm to short arm; r- value: Ratio of hort arm to long arm; CI: Centromic Index.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۴- ضرایب همبستگی ساده ویژگی‌های کاریوتیپی در گونه‌های بخش Hymenobrychis
Table 4. Simple correlation coefficients for different karyological characters in sect. Hymenobrychis

	S	L	TL	AR	r-value
L	0.56^{**}				
TL	0.86^{**}	0.81^{**}			
AR	-0.25^{ns}	0.36^{*}	0.21^{ns}		
r-value	0.43^{*}	-0.31^{ns}	-0.05^{ns}	-0.75^{**}	
CI	0.38^{*}	-0.30^{ns}	-0.04^{ns}	-0.61^{**}	0.91^{**}

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.

ns, * and **: Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively .

S: مجموع طول بازوهای کوتاه ؛ L: مجموع طول بازوهای بلند ؛ TL: طول کل کروموزوم ؛ AR: نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه؛ r-value: نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند ؛ CI: شاخص سانترومری.

S: Sum length of short arms; L: Sum length of long arms ; TL: Total length of chromosome; AR: Ratio of long arm to short arm; r- value: Ratio of short arm to long arm; CI: Centromic Index.

طول بازوی کوتاه (S)و طول بازوی بلند (L) تنوع زیادی بین جمعیت‌های مختلف وجود داشت، به نحوی که کمترین میانگین مجموع طول بازوی کوتاه (۵/۹۳ میکرومتر) به گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* و کمترین میانگین مجموع طول بازوی بلند(۱۰/۱۸ میکرومتر) به گونه *O. michauxii* 2 تعلق داشت. بیشترین میانگین مجموع طول بازوی بلند (۱۴/۲۱ میکرومتر) مربوط به گونه *O. chorassanica* و بیشترین میانگین مجموع طول بازوی کوتاه (۷/۹۸ میکرومتر) به گونه *O. schauhensis* 1تعلق داشت. همچنین نتایج نشان داد که میانگین مجموع بازوهای بلند گونه *O. chorassanica* با سایر گونه‌ها تفاوت داشت. مقایسه میانگین طول بلندترین کروموزوم نیز نشان داد که بین گونه‌های مختلف از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. از نظر شاخص سانترومری نیز بین جمعیت‌های گونه *O. michauxii* و سایر گونه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۵).

گونه‌های مورد مطالعه با استفاده از روش Stebbins (1971) از نظر کاریوتیپی نیز مورد مقایسه قرار گرفتند. در میان گونه‌های مورد بررسی گونه *O. michauxii* 2 بر خلاف سایر گونه‌ها که در کلاس A استبینز بودند در

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۵ - مقایسه میانگین ویژگی های کاریوتیپی گونه های مختلف بخش Hymenobrychis
Table 5. Mean comparison of karyotypic characteristics of different species of Hymenobrychis

Species	S	L	TL	AR	r-value	CI
O. mazanderanica 1	7.95ab	12.47ab	20.43abc	11.23abcd	4.58bcd	2.74b
O. mazanderanica 2	7.24bc	12.79ab	20.14abc	12.67a	4.08d	2.55b
O. amoena subsp. *meshhedensis*	5.93c	10.44b	14.41d	10.00cd	5.06b	2.90b
O. amoena subsp. *amoena*	7.41bc	12.44ab	19.86abc	11.85abc	4.23cd	2.62b
O. subnitens 1	8.07ab	12.85ab	20.9abc	11.13abcd	4.53bcd	2.72b
O. subnitens 2	6.25bc	10.18b	16.43cd	11.29abcd	4.38bcd	2.68b
O. schauhensis 1	7.98ab	11.44ab	19.42abc	9.77d	4.97bc	2.88b
O. schauhensis 2	6.33bc	11.09ab	17.43bcd	12.46ab	4.19cd	2.57b
O. chorassanica	7.93ab	14.21a	22.14a	12.77a	3.97d	2.51b
O. michauxii 1	9.65a	12.30ab	21.95ab	10.38cd	6.36a	3.52a
O. michauxii 2	7.74bc	10.14b	17.89abcd	10.61bcd	6.17a	3.79a

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج در صد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

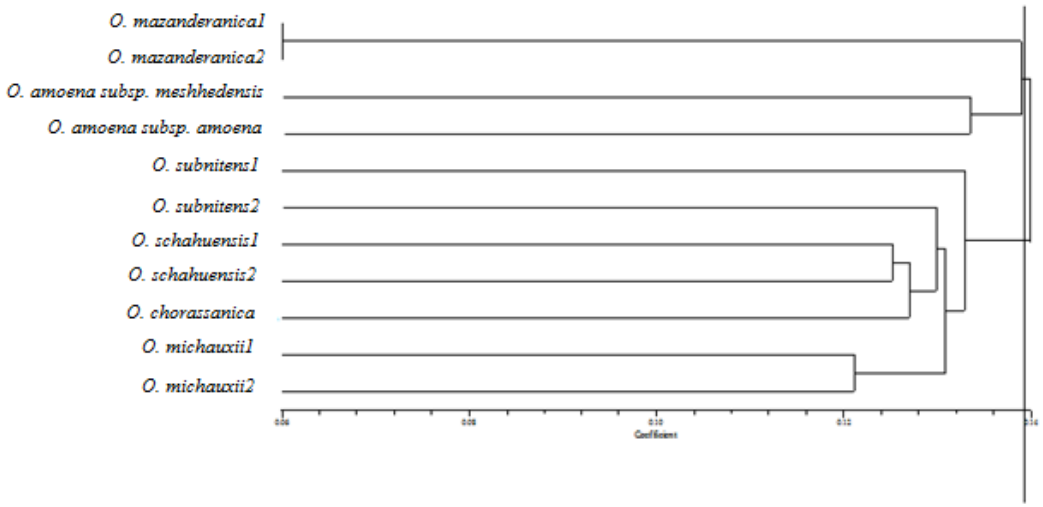
S : مجموع طول بازوهای کوتاه ؛ L : مجموع طول بازوهای بلند ؛ TL : طول کل کروموزوم ؛ AR : نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه؛ r-value : نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند ؛ CI : شاخص سانترومری.

S: Sum length of short arms; L: Sum length of long arms ; TL: Total length of chromosome; AR: Ratio of long arm to short arm; r- value: Ratio of short arm to long arm; CI: Centromic Index.

کلاس B قرار گرفت و دارای کاریوتیپ‌های نامتقارن‌تر بود که نشان‌دهنده پیشرفته بودن این گونه است. این جمعیت در میان گونه‌هایی که در کلاس A قرار گرفتند گونه‌های *O. mazanderanica* 2، *O. subnitens* 1، *O. schauhensis* 2 و *O. chorassanica* در کلاس A۲ قرار گرفتند که نشان دهنده نامتقارن‌تر بودن و پیشرفته‌تربودن این گونه‌ها است. از طرفی با توجه به این که دو شاخص A_1 و A_2 تقارن کاریوتیپ را بیان می‌کنند، با استفاده از گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس مقادیر A1 وA2 در مقابل هم می‌توان میزان تقارن یا عدم‌تقارن هر کاریوتیپ را نیز بررسی کرد (Romero Zarco, 1986). بر اساس

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌های بخش Hymenobrychis بر اساس دو پارامتر A1 و A2

Fig. 3. Dendrogram of cluster analysis of different species of Hymenobrychis based on A1 and A2 parameters

دندروگرام گونه‌ها در شکل ۳، گونه‌ها در دو دسته قرار گرفتند. دسته اول دارای مقادیر کمتر A_2 بودند که این مطلب نشان‌دهنده متقارن‌تر بودن کاریوتیپ آن‌ها است. گونه‌های *O. amoena* subsp. *amoena*، *O. amoena* subsp. *meshhedensis* و جمعیت‌های گونه *O. mazanderanica* در این دسته قرار گرفتند. سایر گونه‌ها در دسته دوم قرار گرفتند که نشان‌دهنده نامتقارن‌تر بودن این گونه‌ها است. در مجموع گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* با داشتن فرمول کاریوتیپی ۱۴m، قرار گرفتن در کلاس ۱A، بیشترین طول نسبی کروموزوم (۶۸/۲۶)، کمترین دامنه طول نسبی کروموزوم (۵/۳۱)، کمترین میزان نامتقارن بودن بین کروموزومی (۰/۱۲) و درصد فرم کلی بالا به عنوان متقارن‌ترین گونه شناخته شد که نشان‌دهنده ابتدایی‌تر بودن این گونه است.

برای تعیین نقش هر یک از صفات کاریوتیپی مورد مطالعه در تنوع بین گونه‌ها، تجزیه به مولفه‌های اصلی بر پایه میانگین شش صفت انجام شد . بر این اساس صفات مورد مطالعه به سه مولفه تقسیم شدند که در مجموع ۹۵/۴ درصد از تنوع بین داده‌ها را توجیه کرد (جدول ۶) به طوری که در مولفه اول، صفات نسبت بازوها و شاخص سانترومری با دارا بودن بالاترین ضرایب بردارهای ویژه بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها داشتند. در مولفه‌ی دوم و سوم نیز صفات طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بودند. نتایج این بررسی با نتایج حسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب (۲۰۰۹) در

Archive of SID
www.SID.ir

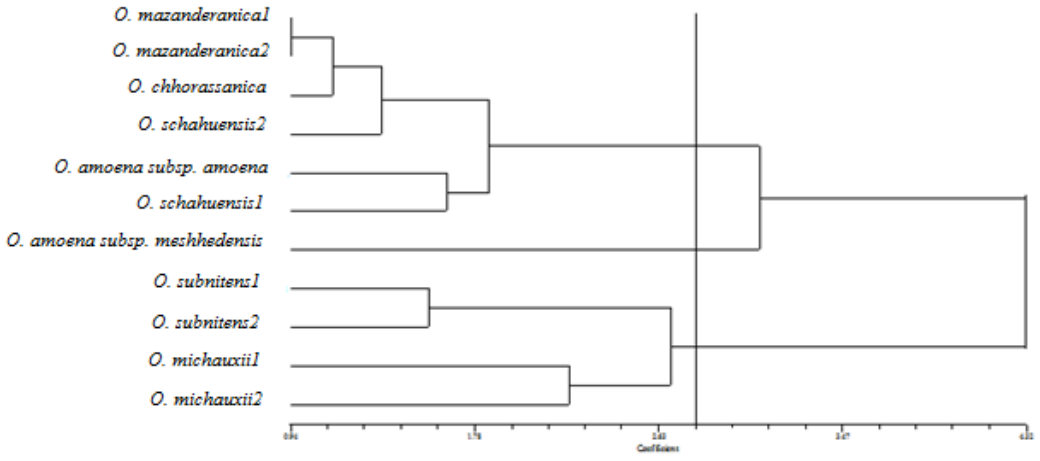
جدول ۶- تجزیه به مولفه های اصلی ویژگی های کاریوتیپی چند گونه از بخش Hymenobrychis

Table 6. Principale components analysis of karyotypic characteristics of some species of Hymenobrychis

صفات Characteristic	مولفه‌ها ی اصلی Principal components		
	اول First	دوم Second	سوم Third
S	0.06	0.707	0.56
L	0.01	0.69	-0.66
TL	0.45	0.06	0.38
AR	0.50	-0.06	-0.16
r-value	-0.51	0.05	0.09
CI	0.51	0.04	0.12
مقادیر ویژه	3.66	1.52	0.53
واریانس نسبی	61.04	25.47	8.95
واریانس تجمعی	61.04	86.51	95.46

S : مجموع طول بازوهای کوتاه ؛ L : مجموع طول بازوهای بلند ؛ TL : طول کل کروموزوم ؛ AR : نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه؛ r-value : نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند ؛ CI : شاخص سانترومری.

S: Sum length of short arms; L: Sum length of long arms ; TL: Total length of chromosome; AR: Ratio of long arm to short arm; r- value: Ratio of short arm to long arm; CI: Centromic Index.



شکل۴ - دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌های بخش Hymenobrychis بر اساس ویژگی‌های کاریوتیپی

Fig. 4. Dendrogram of cluster analysis of different species of Hymenobrychis based on karyotypic characteristics

www.SID.ir

مورد گونه‌های دیگری از اسپرس مطابقت دارد.

به منظور گروه‌بندی گونه‌ها تجزیه خوشه‌ای بر پایه کلیه صفات کاریوتیپی، با استفاده از نرم‌افزار NTSYS و به روش UPGMA انجام شد (شکل ۴) . بر این اساس گونه‌های مورد مطالعه در سه گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول شامل جمعیت‌های *O. michauxii* و *O. subnitens* بود، در این گروه جمعیت‌های دو گونه تشکیل گروه‌های مجزا را دادند. گونه متقارن *O. amoena* subsp. *Meshhedensis* درگروه جداگانه قرار گرفت. سایر گونه‌ها در گروه سوم جای داشتند. در این میان دو جمعیت گونه *O. mazanderanica* گروه مجزایی را تشکیل دادند. با توجه به گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس خصوصیات کروموزومی (شکل ۴) بیشترین شباهت بین جمعیت‌های گونه *O. mazanderanica* و کمترین قرابت و نزدیکی بین گونه‌های *O. mazanderanica* و *O. michauxii* وجود داشت، که بدون شک انجام تلاقی بین این دو گونه از موفقیت چندانی برخوردار نخواهد بود. وجود شباهت‌های کروموزومی بسیار زیاد بین جمعیت‌های مورد مطالعه به دلیل جایگاه این جمعیت‌ها در رده‌بندی جنس Onobrychis است، گونه‌های مورد مطالعه همگی متعلق به بخش Hymenobrychis هستند که شباهت‌های مورفولوژیکی بسیار زیادی نیز بین آن‌ها وجود دارد. در مجموع این بخش دارای کروموزوم‌های تقریبا متقارن و از این‌رو گونه‌های ابتدایی هستند. شمارش تعداد کروموزم‌ها و اندازه‌گیری ابعاد آن‌ها و تعیین اختلاف‌های احتمالی بین کروموزم‌های گونه‌های مختلف می‌تواند به عنوان ابزاری در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقی‌های بین گونه‌ای به کار گرفته شود (Lemmi *et al*., 1995). نتایج حاصل از این تحقیق برای انتخاب گونه‌های نزدیک به یکدیگر برای انجام تلاقی بین گونه‌ای گونه‌های بخش Hymenobrychis که اکثراً انحصاری ایران هستند و برای اولین بار بررسی شدند قابل استفاده خواهد بود.

References

Abou-El-Enain, M. M. 2002. Choromosomal criteria and their phylogenetic implication in the genus Onobrychis Mill sect. Lophobrychis (Leguminosae), with special reference to Egyptian species. Botanical Journal of the Linnean Society 139: 409-414.

Amirabadizadeh, H., Abbasi, M., and Ranjbar, M. 2006. A new species of Onobrychis sect. Heliobrychis (Tribe Hedysareae) from Iran. Iranian Journal of Botany 12: 187-190 (in Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

Amirabadizadeh, H., Ghanavati, F., Abbassi, M., and Ranjbar, M. 2009. A new species of Onobrychis sect. Afghanicae (Fabaceae) from Iran. Iranian Journal of Botany 15: 45-50 (in Persian).

Ansari Asl, F., Ahmadian, P., and Nasirzadeh, A. 2000. Cytological study of Onobrychis germplasm in Tehran province. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 5: 36-56 (in Persian).

Ansari Asl, F., Nasirzadeh, A., and Hatami, A. 2001. Collection, identification and determination of genetic resources of Onobrychis genus in Fars province. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 6(2): 131-140 (in Persian).

Cao, Z. Z. 1984. Study of the karyotype of *Onobrychis vicifolia*. Zhongguo Caoyuan Grassland of China 1: 54-55.

Ghanavati, F., Tajdini, M., Yousefi, M., and Amirabadizadeh, H. 2010. Cytogenetical study on species of Sect. Heliobrychis of Onobrychis in Iran. Seed and Plant Improvement Journal 26: 269-284 (in Persian).

Goldblatt, P. 1992-1993. Index to Plant Chromosome Numbers for 1992- 1993. Monographs in Systematic Botany, Vol. 58. Botanical Garden, Saint Lois Missori.

Hatami, A., and Nasirzadeh, A.R. 2006. Change in rank position of two Onobrychis subspecies according to morphological and karyotypic studies in Fars province. Pajouhesh & Sazandegi 75: 186-191 (in Persian).

Hesamzadeh Hejazi, S.M., and Ziaei Nasab, M. 2009. Cytogenetic study on several populations of diploid species of Onobrychis in natural gene bank of Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 16(2): 158-179 (in Persian).

Lemmi, G., Lorenzetti, S., and Negri, V. 1995. The annual medic collection of the Istituto de Miglioramento Genetico Vegetale of the University of Perugia. Herba 8: 43-52.

Levan, A., Fredga, K., and Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.

Lock, J. M., and Simpson, K. 1991. Legume of the West Asia: A Chek-list. Royal Botanical Gardens, Kew. UK. 452pp.

Archive of SID

www.SID.ir

Mabberley, D. J. 1997. The Plant Book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants, 2nd ed. Cambridge, UK. 342pp.

Mirzaie-Nodoushan, H., and Fayazi, M. A. 2000. Selection indices in some sainfoin (*Onobrychis sativa*) population. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 5 : 14-18 (in Persian).

Ranjbar, M., Amirabadizadeh, H., Karamian, R., and Ghahremani, M. A. 2004. Notes on Onobrychis sect. Heliobrychis (Fabacea*e*) in Iran. Willdenowia 34: 187-190.

Ranjbar, M., Karamian, R., and Johartchi, M. R. 2006. Notes on the taxonomy of Hedysarum (Fabaceae) in Iran. Annual Botany Fennici 43: 152-155.

Ranjbar, M., Karamian, R., Tolui, Z., and Amirabadizadeh, H. 2007. *Onobrychis assadii* (Fabaceae)a new species from Iran. Annual Botany Fennici 44:481-484.

Rechinger, K. H. 1984. Papilionaceae. pp. 387- 464. In: Rechinger, K. H. (ed.) Flora Iranica 157.

Romero Zarco, C. 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 36: 526-530.

Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edwardm Arnold (Publisher) Ltd., London.

Yakovlev, G. P., Sytin, A. K., and Roskov, J. R. 1996. Legumes of Northern Eurasia, a Checklist, Kew., UK. 542pp.

Zohary, M. 1972. Flora Palestina, Part Two. The Israel Academy of Scinces and Humanities. Israel.

Archive of SID

www.SID.ir