مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال اول، شماره اول، پاییز ۱۳۹۰ (۹۵-۸۵)

مطالعه کاریوتیپی برخی از گونه‌های جنس اسپرس (*Onobrychis*)

فرنگیس قنواتی[1]*، حسن اسکندری[2] و غلامرضا بخشی خانیکی[3]
۱، استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، ۲، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی، دانشگاه پیام نور، تهران، ۳، استاد سیستماتیک گیاهی دانشگاه پیام نور تهران
(تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۱۸- تاریخ تصویب: ۹۰/۹/۲۸)

چکیده

در این تحقیق چهارده جمعیت از بخش‌های *Hymenobrychis*، *Lophobrychis* و *Onobrychis* از جنس *Onobrychis*، جمع‌آوری‌شده از مناطق طبیعی ایران، با استفاده از مریستم انتهایی ریشه و اندازه‌گیری تعداد و ابعاد کروموزم‌ها در تقسیم میتوز و فرمول کاریوتیپی هر گونه ارزیابی شدند. تعداد کروموزوم پایه در گونه‌ها x=۷ یا x=۸ و نوع کروموزوم‌ها نیز از نوع متاسنتریک (m) تا ساب متاسنتریک (sm) بود. بیشترین میانگین طول ژنوم متعلق به گونه *O. viciaefolia* (۴۸/۱۵۷ میکرومتر) و کمترین آن متعلق به گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* (۱۴/۴۰۹ میکرومتر) بود. نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی نشان داد که بین گونه‌های مورد مطالعه از نظر تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت. برخلاف سایر گونه‌ها که در کلاس A استبینز بودند، گونه *O. michauxii* 2 در کلاس B قرار گرفت و دارای کاریوتیپ نامتقارن‌تری بود. گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* با داشتن فرمول کاریوتیپی 14m، قرار گرفتن در کلاس 1A، بیشترین طول نسبی کروموزوم (۶۸/۲۶ میکرومتر)، کمترین عدم‌تقارن بین کروموزومی (۰/۱۲) و درصد فرم کلی بالا (۴۱/۱۹) به عنوان متقارن‌ترین گونه بود که نشان‌دهنده ابتدایی‌تر بودن این گونه از لحاظ تکاملی می‌باشد. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، دو مؤلفه اول بیش از ۹۷/۹۴ درصد از تنوع بین داده‌ها را توجیه نمودند. با توجه به گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس پارامترهای کروموزومی بیشترین شباهت بین جمعیت‌های *O. schahuensis* 1 و *O. chorassanica* 2 و کمترین قرابت و نزدیکی بین گونه‌های *O. schahuensis* 1 و *O. viciaefolia* بود.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، تکامل، تعداد کروموزوم، کاریوتیپ

* نویسنده مسئول: فرنگیس قنواتی
E-mail: f_ ghanavati83@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

جنس اسپرس (*Onobrychis*) با دارا بودن بیش از ۱۳۰ گونه یک‌ساله و چندساله در نواحی معتدل شمالی کره زمین گسترش دارد. تعدادی از گونه‌های این جنس دارای ارزش علوفه‌ای هستند و برخی در کنترل فرسایش و یا به عنوان گیاهان زنبور پسند بکار می‌روند. تعدادی از گونه‌های این جنس نیز به عنوان گیاهان زینتی کشت می‌شوند (Lock and Simpson. 1991; Mabberley. 1997; Yakovlev *et al*. 1996).

جنس *Onobrychis* در اوراسیا و شمال‌شرقی آفریقا پراکنش دارد و مرکز تنوع آن نواحی معتدل منطقه ایرانو-تورانی می‌باشد (Rechinger. 1984). این جنس دارای دو زیر جنس و ۸ بخش بر طبق فلور ایرانیکا می‌باشد و کشور ایران یکی از مراکز اصلی پیدایش و تنوع گونه‌های این جنس محسوب می‌گردد، بطوری‌که ۳۱ گونه انحصاری از آن برای ایران شناخته شده است. در ایران جنس *Onobrychis* دارای ۶۳ گونه (۱۳ گونه یک‌ساله و ۵۰ گونه چندساله) است. Ranjbar *et al.* (2004,2006) و Amirabadizadeh *et al.* (2006,2009) نیز چند گونه از جنس *Onobrychis* را به عنوان گونه‌های جدید از ایران معرفی کرده‌اند.

تحقیقات Aboe-El-Enain (2002) نشان داد که گونه‌های این جنس دارای تیپ کروموزومی متاسنتریک (m) تا ساب متاسنتریک (sm) می‌باشند. همچنین ذخیره ژنی این جنس دارای سطوح پلوئیدی متفاوت دیپلوئید و تتراپلوئید با عدد پایه کروموزمی متفاوت ۷، ۸ و ۹ می‌باشد. با بررسی کاریوتیپ ۴ گونه اسپرس نشان داده شد که گونه‌های *O. aucheri* subsp. *tehranica*، *O. scrobiculata*، *O. melanotricha* و *O. oxyptera* دارای ۱۶ کروموزوم هستند و براساس عدد پایه کروموزومی x=۸ گونه‌های دیپلوئید محسوب می‌شوند (Ansari *et al*. 2000). حاتمی و نصیرزاده (Hatami and Nasirzadeh. 2006) در پژوهش‌هایی 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. ۹ گونه از بخش *heliobrychis* جنس *Onobrychis* توسط Ghanavati *et al*. (2010) از نظر کاریوتیپی مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در جمعیت‌های مورد مطالعه تعداد کروموزوم پایه x=۷ و x=۸ بود. در میان گونه‌های مورد بررسی گونه‌های *O. heliocarpa* و *O. lunata* در کلاس A قرار گرفتند و گونه *O. oxyptera* در کلاس 3B قرار گرفت.

در پژوهش حاضر ضمن شمارش و اندازه‌گیری کروموزم‌های مرحله متافازی میتوز و تکامل کاریوتیپی برخی از گونه‌های اسپرس که بسیاری از آن‌ها اختصاصی ایران هستند، گونه‌های نزدیک به یکدیگر نیز برای انجام تلاقی بین‌گونه‌ای با استفاده از روش‌های تجزیه آماری چندمتغیره تعیین شد.

مواد و روش‌ها

در این بررسی چهارده جمعیت از بخش‌های *Hymenobrychis*، *Lophobrychis* و *Onobrychis* از جنس *Onobrychis* (اسپرس) از نظر مشخصات کروموزومی مورد مطالعه قرار گرفتند. ابتدا برای از بین‌بردن سختی پوسته بذر، سطح ۱۰۰ عدد از بذر هر جمعیت توسط کاغذ سمباده خراش داده شد و سپس با آب ژاول ۱۰٪ ضدعفونی شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

بذرهای تیمار شده در تشتک‌های پتری محتوی کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند و برای جوانه‌زنی به ژرمیناتور ۲۵ درجه سلسیوس منتقل گردیدند. پس از ۴۸ ساعت که ریشه‌چه‌ها به اندازه ۱/۵–۱ سانتی‌متر رشد کردند، ریشه‌چه‌ها جدا و سپس به محلول پیش‌تیمار ۸- هیدروکسی کینولئین انتقال داده شدند و به مدت ۳/۵ ساعت در یخچال نگهداری شدند. نمونه‌ها در ادامه پس از شستشو با آب مقطر در محلول فیکساتور لویتسکی (محلول یک به یک فرمالین ده درصد و اکسید کرُم یک درصد) قرار داده شدند و در یخچال نگهداری گردیدند. پس از گذشت ۳۰–۲۴ ساعت به مدت ۳ ساعت در آب جاری شستشو و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. بعد از این مدت ریشه‌چه‌ها در محلول سدیم هیدروکسید نرمال به مدت ۱۲ دقیقه در حمام آبی ۶۰ درجه سانتی‌گراد هیدرولیز و سپس با هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. برای از بین‌بردن تیغه‌میانی و تهیه گسترش بهتر سلولی، ریشه‌چه‌ها به مدت یک ساعت در آنزیم سلولاز و پکتیناز قرار داده شدند و پس از اسکواش، ۱۰–۵ پهنه متافازی میتوز سلول‌های مریستم نوک ریشه برای هر گونه مورد مطالعه قرار گرفت.

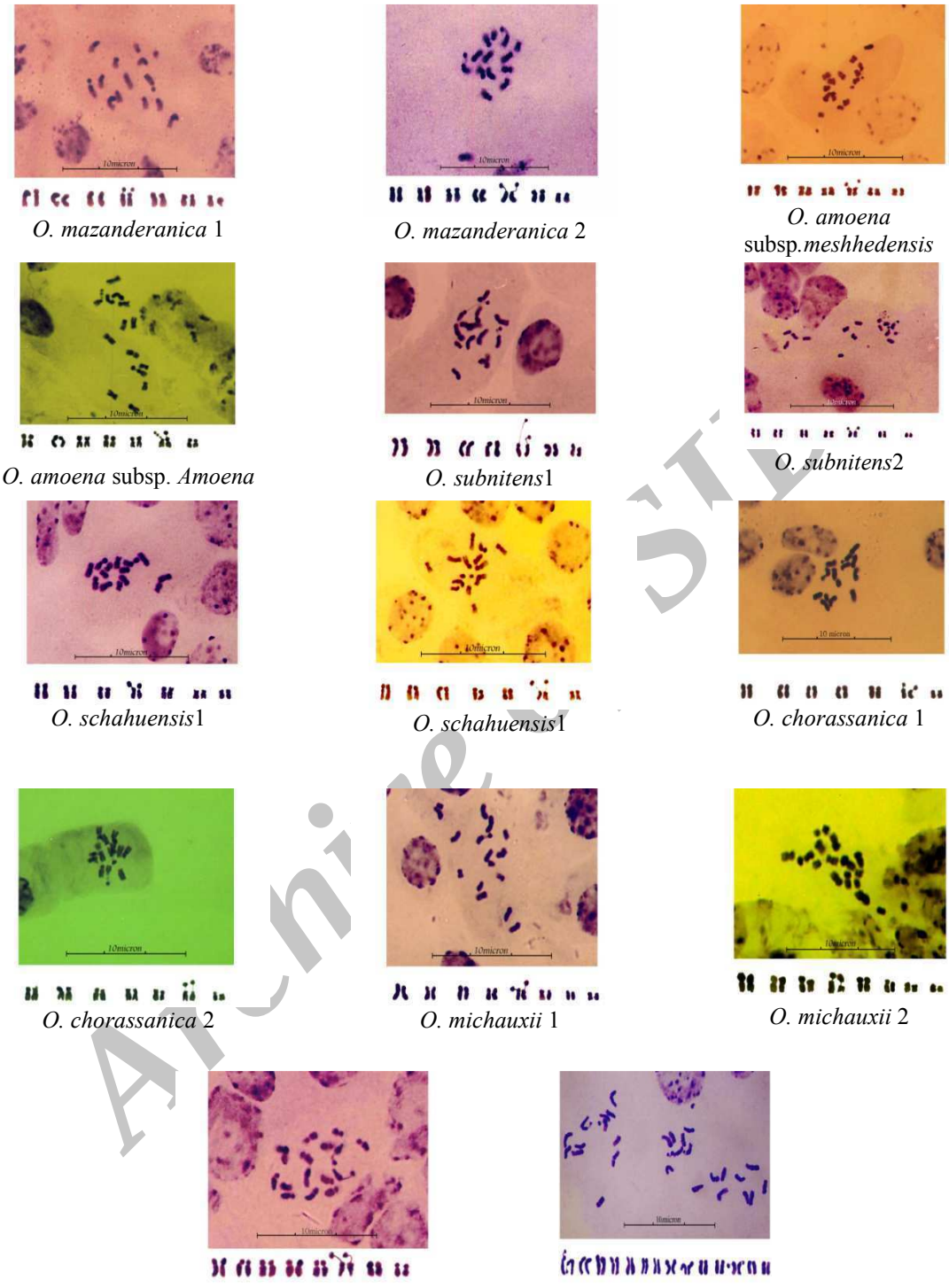
در تمام نمونه‌های مورد مطالعه ابتدا تعداد کروموزم‌در هسته سلول شمارش شد و پارامترهای کاریوتیپی نظیر طول کل کروموزوم (TL)، مجموع طول بازوی بلند (L) و مجموع طول بازوی کوتاه (S) توسط نرم‌افزار Micromeasure 3.3 بر حسب میکرون اندازه‌گیری شد و براساس نسبت بازوی بلند به کوتاه (AR) و شاخص ضریب سانترومری (CI) 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 کوچک‌ترین کروموزوم (DRL%)، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S%)، ضریب نامتقارن‌بودن 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 و مقایسه میانگین صفات نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۱٪) انجام شد. برای تعیین سهم هر یک از صفات اندازه‌گیری شده در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها، تجزیه به مؤلفه اصلی و برای گروه‌بندی آن‌ها تجزیه کلاستر (UPGMA) بدست آمد. تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS9، SPSS 16 و NTSYS 2.02 بررسی شد.

نتایج و بحث

نام و رویشگاه گونه‌هایی که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند در جدول ۱ نشان داده شده است. گونه‌های *O. subnitens*، *O. mazanderanica* و *O. amoena* subsp. *meshhedensis* انحصاری ایران هستند. تصاویر صفحه متافازی و کاریوگرام گونه‌های مورد مطالعه در شکل ۱ و ایدیوگرام مربوط به آن‌ها در شکل ۲ ارایه شده‌اند. نتایج این بررسی نشان داد که از نظر تعداد کروموزوم پایه، بین گونه‌ها عدد پایه کروموزومی ۷ و ۸ مشاهده گردید. مطالعات کروموزومی این تحقیق نشان‌داد که به جز گونه *O. viciaefolia* که تتراپلوئید می‌باشد، همه گونه‌های مورد بررسی دیپلوئید بودند. جمعیت‌های گونه *O. michauxii* و گونه *O. pulchella* با عدد پایه کروموزومی x=۸، تعداد کروموزوم ۲n=۲x=۱۶، گونه *O. viciaefolia* با پایه کروموزومی x=۷، تعداد کروموزوم ۲n=۴x=۲۸ و سایر گونه‌ها، با پایه کروموزومی x=۷، تعداد کروموزوم ۲n=۲x=۱۴ را نشان دادند. نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققین در مورد این جنس نیز مؤید نتایج این تحقیق می‌باشد (Hesamzadeh and

Archive of SID

www.SID.ir

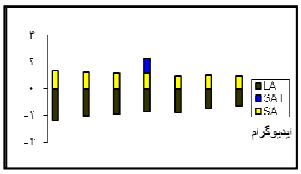


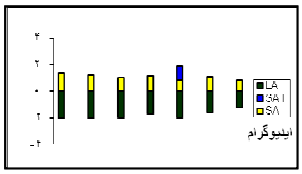
شکل ۱– متافاز میتوزی به همراه کاریوگرام گونه‌های مورد بررسی

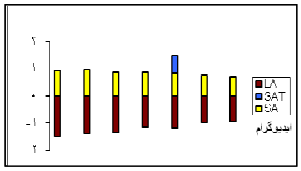
Ziaie Nasab. 2009; Ansari *et al*. 2000; Goldblatt. 1992-1993; Cao. 1984) از نظر تعداد ماهواره‌ها، نیز همه گونه‌ها دو ماهواره داشتند.

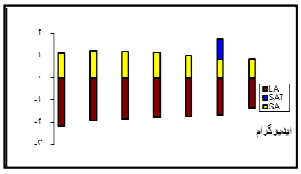
هم‌چنین این مطالعه نشان داد که هرچند گونه‌ها و جمعیت‌های مختلف اسپرس دارای تعداد متفاوتی کروموزم پایه هستند ولی تمامی آن‌ها در داشتن کروموزم‌های کوچک مشترک هستند، به عبارت دیگر در مقایسه با بسیاری از گونه‌ها و جنس‌های

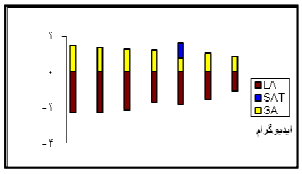
Archive of SID
www.SID.ir

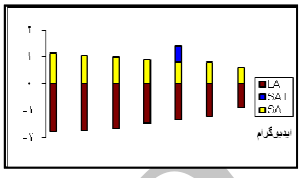

O. mazanderanica 1

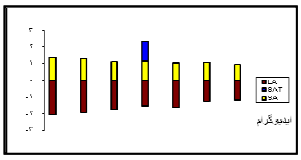

O. mazanderanica 2

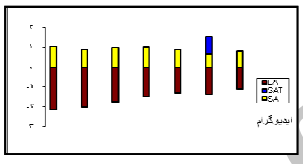

O. amoena subsp. *meshhedensis*

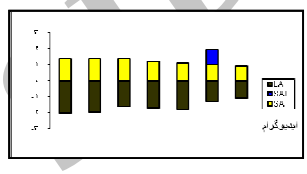

O. amoena subsp. *amoena*

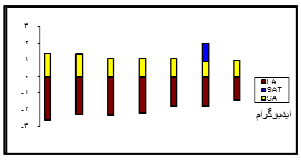

O. subnitens 1

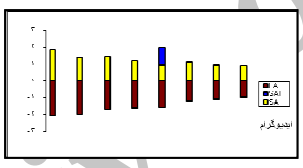

O. subnitens 2

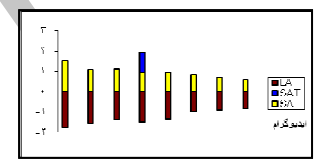

O. schahuensis 1

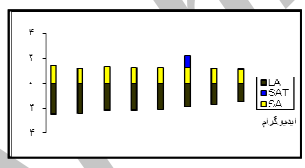

O. schahuensis 2

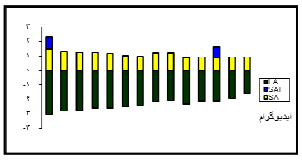

O. chorassanica 1


O. chorassanica 2


O. michauxii 1


O. michauxii 2


O. pulchella


O. vicieafolia

شکل ۲- ایدیوگرام گونه‌های اسپرس مورد بررسی

دیگر گیاهی میانگین طول کروموزم‌های اسپرس کوچک‌تر است. مقایسه میانگین طول ژنوم گونه‌های اسپرس نیز نشان داد که بیشترین میانگین طول ژنوم متعلق به گونه *O. viciaefolia* (۴۸/۱۵۷ میکرون) و کمترین آن متعلق به گونه *O. amoana* subsp. *meshhedensis* (۱۴/۴۰۹ میکرون) بود.

با استفاده از نسبت اندازه طول بازوی بلند بر بازوی کوتاه کروموزم‌ها و براساس نظر Levan *et al.* (1964) فرمول کاریوتیپی گونه‌های مورد بررسی تعیین شد. ویژگی‌های کاریوتیپی گونه‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تیپ کروموزوم‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر از نوع متاسنتریک (m) تا ساب‌متاسنتریک (sm) می‌باشد، بطوری‌که، تمام کروموزوم‌های گونه‌های *O. amoena* subsp. *meshhedensis*، *O. schahuensis* 1، *O. chorassanica* 1 و جمعیت‌های گونه *O. michauxii* از نوع متاسنتریک و سایر گونه‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

تلفیقی از متاسنتریک تا ساب‌متاسنتریک می‌باشد که مؤید نظر محققین قبلی از جمله ابو ال عین (Abou-El-Enain. 2002) و حسام‌زاده و ضیاعی نسب (Hesamzadeh and Ziai Nasab. 2009) می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی نشان داد که بین گونه‌های مورد مطالعه از نظر تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت (جدول ۳). معنی‌دار بودن صفات کروموزومی بیانگر تنوع کاریوتیپی در بین گونه‌های مورد مطالعه است که این امر می‌تواند دلیلی بر انجام مطالعات جامع کروموزومی جهت تعیین وضعیت تکاملی و بررسی قرابت و خویشاوندی گونه‌های مختلف اسپرس باشد. نتایج تجزیه همبستگی صفات کاریوتیپی (جدول ۴) نشان داد که اکثر صفات در سطح احتمال یک درصد از همبستگی بالایی برخوردار بودند. از نظر میانگین طول بازوی

جدول ۱- گونه‌های مورد مطالعه کروموزومی جنس *Onobrychis* و رویشگاه‌آن‌ها

ROW	Species	Habitate
1	*O. mazanderanica* 1Rech.f.	Mazandaran: Noshahr, Zaloos, Dalam, 571†
2	*O. mazanderanica* 2Rech.f.	Mazandaran: Sari, Narmabdos, Saidabad, 171†
3	*O. amoena* subsp. *meshhedensis* Širj. & Rech.f.	Fariman, Arrehkamar, 1900m
4	*O. amoena* subsp. *amoena* M. Pop. et Vved.	Bojnord, Shoghan, 2000m
5	*O. subnitens* 1Bornm.	East Azarbaijan: Sarab, 278†
6	*O. subnitens* 2Bornm.	East Azarbaijan: Hashtroud, Zolbin, 318†
7	*O. schahuensis* 1Bornm.	Kermanshah, Eslamabad-e- Gharb, Govareh, 419†
8	*O. schahuensis* 2Bornm.	Kermanshah: Javanroud, 413†
9	*O. chorassanica1* Bunge.	Bojnord: Samsiyab, 475†
10	*O. chorassanica* 2Bunge.	Khorasan Razavi: Mashhad, Kalat road to Dargaz, 588†
11	*O. michauxii* 1DC.	East Azarbaijan: Mianeh, 291†
12	*O. michauxii* 2DC.	East Azarbaijan: Kaleibar, 280†
13	*O. pulchella* Schrenk.	Khorrasan Razavi: Mashhad, Kalat, Chenar, 471†
14	*O. vicieafolia*	Lorestan: Aligodarz, 525†

†: شماره TNگونه مورد نظر در بانک ژن گیاهی ملی ایران

جدول ۲- ویژگی های کاریوتیپی گونه‌های اسپرس مورد مطالعه

Row	Species	2n	X	TF%	S%	DRL	A_1	A_2	SC	Sat	K.F
1	*O. mazanderanic* 1	14	7	38.94	59.87	7.38	0.352	0.174	1A	2	10m+4sm
2	*O. mazanderanica* 2	14	7	36.45	61.2	6.62	0.419	0.147	2A	2	8m+6sm
3	*O. amoena* subsp. *meshhedensis*	14	7	41.19	68.26	5.35	0.291	0.120	1A	2	14m
4	*O. amoena* subsp *amoena*	14	7	37.35	66.42	5.57	0.402	0.135	1A	2	10m+4sm
5	*O. subnitens* 1	14	7	38.57	51.43	8.78	0.360	0.223	2A	2	12m+2sm
6	*O. subnitens* 2	14	7	38.04	51.21	8.65	0.381	0.214	1A	2	12m+2sm
7	*O. schahuensis*1	14	7	41.08	62.5	6.70	0.292	0.211	1A	2	14m
8	*O. schahuensis* 2	14	7	36.32	59.51	7.43	0.410	0.196	2A	2	8sm+6m
9	*O. chorassanica* 1	14	7	41.71	58.68	7.11	0.274	0.180	1A	2	14m
10	*O. chorassanica* 2	14	7	35.82	58.76	7.44	0.381	0.182	2A	2	8sm+6m
11	*O. michauxii* 1	16	8	43.95	48.55	9.16	0.208	0.250	1A	2	16m
12	*O. michauxii* 2	16	8	43.28	42.55	10.54	0.238	0.288	1B	2	16m
13	*O. pulchella1*	16	8	36.83	68.23	4.66	0.406	0.120	2A	2	8sm+8m
14	*O. viciaefolia*	28	7	32.49	55.21	4.21	0.514	0.158	3A	4	22sm+6m

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

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- تجزیه واریانس پارامترهای کاریوتیپی در گونه‌های مورد مطالعه اسپرس

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)					
			S	L	TL	AR	r-value	CI
Species	گونه گیاهی	13	17.04**	96.98**	196.51**	74.28**	2.44**	1.01**
Error	خطا	28	1.23	5.30	9.58	1.08	0.16	0.04
CV%	ضریب تغییرات		13.39	16.87	14.18	8.26	8.16	7.13

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

S: مجموع بازوهای کوتاه؛ L: مجموع 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

جدول ۴- ضرایب همبستگی ساده صفات کاریوتیپی در گونه‌های مورد مطالعه اسپرس

	S	L	TL	AR	r-value
L	0.91**				
TL	0.96**	0.98**			
AR	0.79**	0.93**	0.9**		
r-value	0.61**	0.41**	0.46**	0.38*	
CI	0.71**	0.59**	0.64**	0.61**	0.92**

*، **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد

S: مجموع بازوهای کوتاه؛ L: مجموع 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

کوتاه و طول بازوی بلند تنوع زیادی بین جمعیت‌های مختلف وجود دارد، به نحوی که کمترین میانگین طول بازوی کوتاه (۰/۵۸۱ میکرومتر) و کمترین میانگین طول بازوی بلند (۰/۸۱۵ میکرومتر) به گونه *O. michauxii* 2 تعلق داشت. در حالی که بیشترین میانگین طول بازوی بلند (۳/۰۱۷میکرومتر) مربوط به گونه *O. viciaefolia* و بیشترین میانگین طول بازوی کوتاه (۱/۸۴۴ میکرومتر) به گونه *O. michauxii* 1 تعلق داشت. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که گونه *O. michauxii* 2 با فرمول کاریوتیپی ۱۶m از بیشترین درصد شکل کلی (۴۳/۹۵) و کمترین مقدار شاخص نامتقارن‌بودن درون کروموزومی (۰/۲۰۸) برخوردار بود و نیز گونه *O. viciaefolia* با فرمول کاریوتیپی ۲۲sm+۶m کمترین درصد شکل کلی (۳۲/۴۹) و بیشترین شاخص عدم‌تقارن درون کروموزومی (۰/۵۱۴) را نشان داد. میانگین کلیه پارامترهای کاریوتیپی گونه *O. viciaefolia* با سایر گونه‌ها تفاوت داشت و در گروه جداگانه‌ای قرار گرفت. مقایسه میانگین طول بلندترین کروموزوم نیز نشان داد که بین گونه‌های مختلف از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (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 استیبنز بودند در کلاس B قرار گرفت و دارای کاریوتیپ‌های نامتقارن‌تر بود که نشان‌دهنده پیشرفته‌بودن این گونه است. در میان گونه‌هایی که در کلاس A قرار گرفتند گونه *O. viciaefolia* در کلاس ۳A قرار گرفت که نشان‌دهنده نامتقارن‌تر بودن و پیشرفته‌تربودن این گونه است. از طرفی با توجه به این که دو شاخص A1 و A2 تقارن کاریوتیپ را بیان می‌کنند، با استفاده از گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس مقادیر A1 و A2 در مقابل هم می‌توان میزان تقارن یا عدم‌تقارن هر کاریوتیپ را نیز

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- مقایسه میانگین پارامترهای کاریوتیپی گونه‌های مورد مطالعه اسپرس

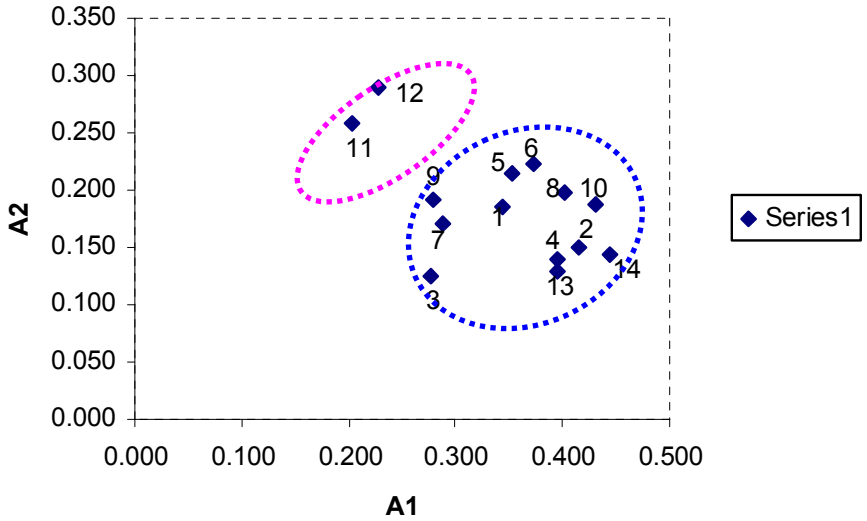
Species	S	L	TL	AR	r-value	CI
O. mazanderanic 1	7.95b-d	12.47bc	20.43c	11.23c-f	4.58bc-e	2.74cd
O. mazanderanica 2	7.24cd	12.79bc	20.14cd	12.67bc	4.08de	2.55d
O. amoena subsp. *meshhedensis*	5.93d	10.44c	14.41d	10.00ef	5.06b	2.90cd
O. amoena subsp *amoena*	7.41cd	12.44bc	19.86cd	11.85b-e	4.23c-e	2.62d
O. subnitens 1	8.07b-d	12.85bc	20.92bc	11.13c-f	4.53bc-e	2.72cd
O. subnitens 2	6.25cd	10.18c	16.43cd	11.29c-f	4.38bc-e	2.68cd
*O. schahuensis*1	7.98b-d	11.44c	19.42cd	9.77f	4.97bc	2.88cd
O. schahuensis 2	6.33b-d	11.09c	17.43cd	12.46b-d	4.19de	2.57d
O. chorassanica 1	8.25bc	11.63c	19.88cd	9.85ef	5.03b	2.92cd
O. chorassanica 2	7.93b-d	14.21bc	22.14bc	12.77bc	3.97e	2.51d
O. michauxii 1	9.65b	12.30bc	21.95bc	10.38ef	6.36a	3.52b
O. michauxii 2	7.74b-d	10.14c	17.89cd	10.61d-f	6.17a	3.79b
O. pulchella1	9.64b	16.52b	26.33b	13.37b	4.83b-d	3.05c
O. viciaefolia	15.68a	32.50a	48.15a	29.45a	6.85a	4.57a

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

S: مجموع بازوهای کوتاه؛ L: مجموع 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؛

بررسی کرد (Romero Zarco. 1986). بر اساس دیاگرام پراکنش جمعیت‌ها در شکل ۳، جمعیت‌ها در ۲ دسته قرار گرفتند، گروه اول شامل دو جمعیت گونه *O. michauxii* بود که دارای بیشترین مقادیر A2 می‌باشند، این مطلب نشان‌دهنده نامتقارن‌تر بودن کاریوتیپ آنها می‌باشد. سایر جمعیت‌ها در دسته دوم قرار گرفتند که نشان‌دهنده متقارن‌تر بودن آنها است.

کمترین مقدار A2 مربوط به گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* بود که متقارن‌ترین گونه می‌باشد. از لحاظ بررسی شاخص عدم‌تقارن درون کروموزومی (A1)، گونه *O. michauxii* 1 با داشتن کمترین مقدار (۰/۲۰۴) متقارن‌ترین و گونه *O. viciaefolia* با داشتن بیشترین مقدار (۰/۴۴۵) از نامتقارن‌ترین کاریوتیپ برخوردار می‌باشد.



شکل ۳ – دیاگرام پراکنش گونه‌های مورد مطالعه اسپرس بر اساس دو فاکتور A1 و A2

Archive of SID

www.SID.ir

در مجموع گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* با داشتن فرمول کاریوتیپی 14m، قرار گرفتن در کلاس 1A، بیشترین طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (۶۸/۲۶)، کمترین میزان نامتقارن‌بودن بین‌کروموزومی (۰/۱۲) و درصد فرم کلی بالا به عنوان متقارن‌ترین گونه بود که نشان‌دهنده ابتدایی‌تربودن این گونه از لحاظ تکاملی می‌باشد.

برای تعیین نقش هر یک از صفات کاریوتیپی مورد مطالعه در تنوع بین گونه‌ها، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر پایه میانگین ۶ صفت انجام شد. بر این اساس صفات مورد مطالعه به دو مؤلفه تقسیم شدند که در مجموع ۹۷/۹۴ درصد از تنوع بین داده‌ها را توجیه می نمود (جدول۶) بطوری‌که در مؤلفه اول، صفات طول بازوی کوتاه، طول بازوی بلند و طول کل کروموزوم با دارا بودن بالاترین ضرایب بردارهای ویژه بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها داشتند. در مؤلفه‌ی دوم نیز صفات نسبت بازوها و شاخص سانترومری دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بودند. نتایج این بررسی با نتایج حسام‌زاده و ضیائی‌نسب (Hesamzadeh and Ziaie Nasab. 2009) در مورد گونه‌های دیگری از اسپرس تطبیق دارد.

تجزیه خوشه‌ای به روش (UPGMA) و با استفاده از ۶ صفت کاریوتیپی ذکر شده در جدول ۶ بر روی ۱۴ جمعیت اسپرس انجام شد و جمعیت‌های مورد مطالعه در ۲ گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول شامل گونه *O. viciaefolia* بود و سایر جمعیت‌های مورد مطالعه در گروه دیگر قرار گرفتند. مشخصه گروه اول نسبت به گروه دوم، داشتن مقادیر بیشتر از نظر تمام صفات می‌باشد.

جمعیت‌های *O. schahuensis* 1 و *O. chorassanica* 2 دارای بیشترین قرابت و نزدیکی بودند و کمترین شباهت بین‌گونه‌های *O. schahuensis* 1 و *O. viciaefolia* بود. 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، اکثر گونه‌های مورد مطالعه متعلق به بخش *Hymenobrychis* هستند که شباهت‌های مورفولوژیکی بسیار زیادی نیز بین آن‌ها وجود دارد. در مجموع این بخش دارای کروموزوم‌های تقریباً 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 بین‌گونه‌ای به کار گرفته شود (Lemmi *et al*. 1995). نتایج حاصل از این تحقیق برای انتخاب گونه‌های نزدیک به یکدیگر برای انجام تلاقی بین‌گونه‌ای گونه‌های بررسی‌شده که اکثرا انحصاری ایران هستند و برای اولین‌بار بررسی شدند، قابل استفاده خواهد بود.

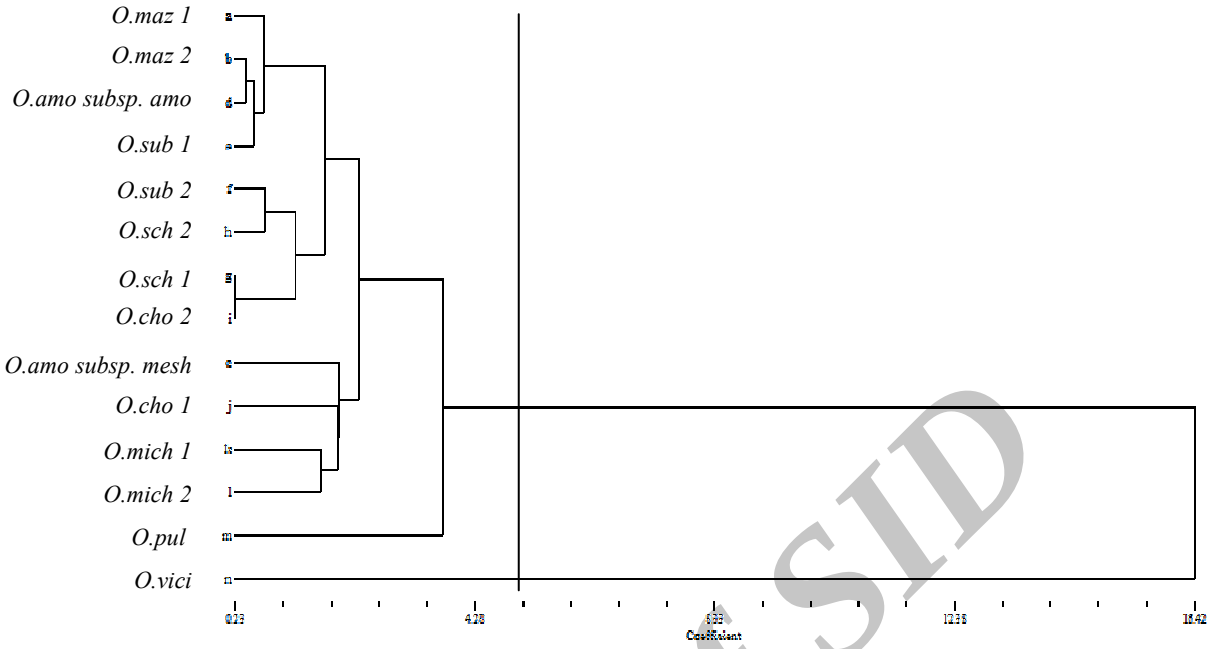
جدول ۶- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات کاریوتیپی گونه‌های مورد مطالعه اسپرس

صفات	مؤلفه‌های اصلی	
	اول	دوم
S	0.43	-0.06
L	0.42	-0.32
TL	0.43	-0.26
AR	0.41	-0.34
r-value	0.33	0.69
CI	0.39	0.47
مقادیرویژه	4.98	0.89
درصد واریانس نسبی	83.07	14.87
درصد واریانس تجمعی	83.07	97.94

S: مجموع بازوهای کوتاه؛ L: مجموع 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

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌های مورد مطالعه اسپرس بر اساس ویژگی‌های کاریوتیپی

Archive of SID

REFERENCES

Abou-El-Enain MM (2002) Choromosomal criteria and their phylogenetic implication in the genus *Onobrychis* Mill sect. *Lophobrychis* (Leguminosae), with special reference to Egyptian species. Bot. J. of the Linnean Soc. 139: 409-414.

Amirabadizadeh H, Abbasi M, Ranjbar M (2006) A new species of *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Tribe *Hedysareae*) from Iran. Iranian J. of Bot. 12: 187-190.

Amirabadizadeh H, Ghanavati F, Abbassi M, Ranjbar M (2009) A new species of *Onobrychis* sect. *Afghanicae* (Fabaceae) from Iran. Iranian J. of Bot. 15: 45-50.

Ansari F, Ahmadian P, Nasirzadeh A (2000) Cytological study of *Onobrychis* germplasm in Tehran province. Iranian J. of Rangeland For Plant Bre. and Gen. Res. 5: 36-56.

Ansari F, Nasirzadeh A, Hatami A, (2001) Collection, identification and determination of genetic resources of *Onobrychis* genus in Fars province. Iranian J. of Rang. and For. Plant Bre. and Gen. Res. 6(2): 131-140.

Cao ZZ (1984) Study of the karyotype of *Onobrychis vicifolia*. Zhongguo Caoyuan Grassland of China. 1: 54-55.

Ghanavati F, Tajdini M, Yousefi M, Amirabadizadeh H (2010) Cytogenetical study on species of Sect. *Heliobrychis* of *Onobrychis* in Iran. Seed and Pl. Imp. J. 26: 269-284.

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

Hatami A, Nasirzadeh AR (2006) Change in rank position of two *Onobrychis* subspecies according to morphological and karyotypic studies in Fars province. Paj. Saz.75: 186-191.

Hesamzadeh SM, Ziaei Nasab M (2009) Cytogenetic study on several populations of diploid species of *Onobrychis* in natural gene bank of Iran. Iranian J. of Rang. and For. Pl. Bre. and Gen. Res. 16(2): 158-179.

Lemmi G, Lorenzetti S, 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, Sandberg A (1964) Nomenclature for centromeric position on

www.SID.ir

chromosomes. Hereditas. 52: 201-220.
Lock JM, Simpson K (1991) Legume of the West Asia: A Chek-list. Royal Botanical Gardens, Kew. UK. 452pp.
Mabberley DJ (1997) The Plant Book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants, 2nd ed. Cambridge. UK. 342pp.
Ranjbar M, Amirabadizadeh H, Karamian R, Ghahremani MA (2004) Notes on *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Fabaceae) in Iran. Willdenowia. 34: 187-190.
Ranjbar M, Karamian R, Johartchi M R (2006) Notes on the taxonomy of *Hedysarum* (Fabaceae) in Iran. Ann.l Bot. Fen. 43: 152-155.
Ranjbar M, Karamian R, Tolui Z, Amirabadizadeh H (2007) *Onobrychis assadii* (Fabaceae) a new species from Iran. Ann. Bot. Fenn. 44: 481-484.
Rechinger KH (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 GL (1971) Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edwardm Arnold (Publisher) Ltd., London.
Yakovlev GP, Sytin AK, Roskov JR (1996) Legumes of Northern Eurasia, a Checklist, Kew., UK. 542pp.

Archive of SID

www.SID.ir

Crop Biotech. Vol. 1, No. 1, 2011

Karyological Survey of some *Onobrychis* Species

F. GHANAVATI[1]*, H. ESKANDARI[2] AND GH. R. BAKHSHI KHANIKI[3]
1, Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, 2, Former M. Sc. Student, University of Payame Noor, Tehran, 3, Professor, University of Payame Noor, Tehran
(Received: Nov. 9, 2011- Accepted: Dec. 19, 2011)

ABSTRACT

Fourteen populations of sections *Hymenobrychis*, *Lophobrychis* and *Onobrychis* of sainfoin were collected from natural habitats across Iran. Number and size of the chromosomes as well as karyotypic formula of the populations were measured and studied using their root tip meristemes. The basic chromosome number varied between x=7 and x=8 and their chromosomal types were metacentric and sub-metacentric. As for the genome length average, the highest belonged to *O. viciaefolia* (48.157µm) and the lowest to *O. amoana* subsp. *meshhedensis* (14.409µm). The results of variance analysis based on unbalanced completely randomized design showed significant differences among the populations for the most of the studied traits (P<%1). *O. michauxii* 2 classified as asymmetric class of B and others as A. *O. amoena* subsp. *meshhedensis* with 14m formula, stand in A class, had the most relative length of shortest chromosome (68.26), lowest intra chromosal asymmetrical (0.12), lowest differences of relative length (5.31), and the highest total form percentage was symmetrical species. Using principal components analysis, the first two components justified %97.94 of the total variance. By cutting dendrogram, resulted from cluster analysis based on the karyotypic parameters species, the highest distance was obtained between *O. schahuensis* 1 and *O. viciaefoli*a and the lowest metric distance value was obtained between populations of *O. schahuensis* 1 and *O. chorassanica* 1.

Keywords: Karyotype, Number of chromosome, *Onobrychis*, Sainfoin

* Corresponding Author: F. Ghanavati E-mail: f_ ghanavati83@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir