Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 10:49 +0430 on Wednesday April 11th 2018

مجله علمی‌پژوهشی مهندسی اکوسیستم بیابان
سال ششم، شماره پانزدهم، تابستان ۱۳۹۶، صفحه ۲۵ـ۳۴

بررسی سیتوژنتیکی گیاه دم‌گاوی (*Smirnovia iranica* Sabeti) در رویشگاه‌های مختلف (مطالعهٔ موردی: ماسه‌زارهای کاشان)

منصوره قوام[1*]، حسین آذرنیوند[2]، محمدرضا نقوی[3]، علی طویلی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۱۴

چکیده

ماسه‌زارهای مناطق مرکزی ایران، رویشگاه یکی از گونه‌های درختچه‌ای ارزشمند بومی و سازگار از خانوادهٔ Fabaceae به نام دم‌گاوی (*Smirnovia iranica* Sabeti) است که از نظر تولید علوفه و حفاظت خاک و ایجاد چشم‌انداز زیبا و ارزش دارویی، بسیار حائز اهمیت است. برای بررسی سیتوژنتیکی، در ماسه‌زارهای کاشان، چهار رویشگاه مطالعاتی به فاصلهٔ ۳۰ کیلومتر از هم انتخاب شد. از هر رویشگاه، یک پایهٔ گیاهی انتخاب گردید و بذور جمع‌آوری شدند. به‌منظور مشاهدهٔ کروموزوم‌های متافازی میتوز، مراحل کشت بذور و تهیهٔ نمونهٔ ریشه انجام و عکس‌های تهیه‌شده با وضوح بسیار، برای اندازه‌گیری پارامترهای کاریوتیپی با استفاده از نرم‌افزار Micromesure 3.3 انتخاب شدند. نتایج نشان داد این گیاه دیپلوئید (۲n=۲x=۱۶) است. بزرگ‌ترین کروموزوم، کروموزوم شمارهٔ ۱ رویشگاه کمپ ۱ (۶/۱۵ میکرون) و کوچک‌ترین آن‌ها کروموزوم شمارهٔ ۱۲ متعلق به رویشگاه کمپ ۲ (۲/۱۲ میکرون) بود.

واژه‌های کلیدی: بذر، سلول‌های متافازی، سیتوژنتیک، کاریوتیپ کروموزوم.

۱. استادیار گروه مرتع و آبخیزداری دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین دانشگاه کاشان، نویسندهٔ مسئول/ Email: mghavam@kashanu.ac.ir
۲. استاد دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران
۳. استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
۴. دانشیار دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 10:49 +0430 on Wednesday April 11th 2018

مقدمه

دم‌گاوی (*Smirnovia iranica* Sabeti) کـه در ایـران عمـدتاً بـر روی تپه‌های ماسـه‌ای بـادی بیابـان‌هـای دشـت کـویر، مسـیله، ماسه‌زارهای کاشان و خراسان گسترش دارد، درختچـه‌ای اسـت به ارتفاع ۱ـ۱/۵ متر با شاخه‌های متعدد سبزرنگ باریک مـوج‌دار که با کـرک‌هـای انبـوه پوشـیده شـده اسـت (آذرنیونـد، ۲۰۰۰؛ جنیدی جعفری، ۲۰۰۶؛ ثابتی، ۲۰۰۰). اختلاف فاحش این گونـهٔ بومی ایران با گونهٔ *Smirnovia turkestana* در برگ‌هایی بـا سـه برگچه واژتخم‌مرغی، ناف گرد دانه و شبه‌تخم‌مرغی بـودن میـوهٔ آن است (ثابتی، ۱۹۷۷).

این گیاه از نظر تثبیت شـن‌هـای روان و حفاظـت خـاک، از اهمیت خاصی برخوردار است. ریشه‌های عمـودی آن تـا عمـق ۱۵ـ۲۰ متر نفوذ می‌کند و ریشه‌هـای افقـی آن در امتـداد شـیب بارخـان (تپـه‌هـای شـنی) بیشـتر از ۳۰ متـر توسـعه مـی‌یابـد و بدین‌ترتیب ذرات شن را تثبیت مـی‌کنـد. از نظـر تولیـد علوفـه، کیفیت خـوبی دارد. میـزان پـروتئین ایـن گیـاه ۱۷ـ۲۴ درصـد می‌باشد؛ لذا برای تغذیهٔ دام‌های اهلی و غیراهلی مناسـب اسـت. گـل‌هـا و بـرگ‌هـای ایـن گیـاه حـاوی آلکالوئیـدهای Spherophsinum و Smirnovinium است. داروهـای تولیـدی از این آلکالوئید، به میزان زیادی در کاهش فشـار خـون غیرطبیعـی اثـر دارد و جهـت تنظـیم مراحـل اولیـه و ثـانوی فشـار خـون غیرطبیعی استفاده می‌شـود. همچنـین بـه‌عنـوان مسـکّن تصـلب شرائین به‌کار می‌رود. دم‌گاوی هنگـامی کـه بـه گـل مـی‌نشـیند، منظرهٔ بسیار زیبایی را ایجاد می‌کند (آذرنیوند، ۲۰۰۰).

از مطالعات کاریوتیپی برای مقایسهٔ بـین افـراد یـک گـروه و آشـکار شـدن سـیر تکـاملی تغییـرات در کرومـوزوم‌هـای تشکیل‌دهندهٔ ژنوم استفاده می‌شود. مطالعات کـاریوتیپی در میـان گونه‌های مختلف دارای اهمیت اسـت. بررسـی‌هـای کـاریوتیپی نقش مهمی در تعیین قرابت گونه‌ها ایفـا مـی‌کننـد و مـی‌تواننـد به‌عنوان اولـین قـدم، در تجزیـهٔ فیلـوژنی و تکـاملی گـروه‌هـای خویشـاوند مطـرح باشـند. مطالعـات سـیتوژنتیکی در گیاهـان، به‌عنوان ابزار ارزشمندی برای شناسایی مـواد ژنتیکـی در جهـت ایجاد تلاقی‌های بارور و طبیعی به‌کار مـی‌رود. در حـدود ۳۰ تـا ۸۰ درصد گیاهـان عـالی پلـی‌پلوئیـد بـوده و ایـن خصوصـیت مهم‌تـرین عامـل ایجادکننـده گونـه‌هـا و تکامـل گیاهـان اسـت (مولتانی[1] و همکاران، ۱۹۸۸ و میایخوپادیای و شارما[2]، ۱۹۸۸).

گلـدبلات[3] (۱۹۸۴)، در بررسـی کـاریوتیپی و شـمارش کروموزومی گیـاه *Smirnovia turkestana* ثابـت کردنـد فرمـول کاریوتیپی این گونهٔ گیاهی به‌صورت ۲x=۲n=۱۶ است.

پورگرجی و همکـاران (۲۰۰۶) در بررسـی‌هـای کـاریوتیپی یونجـه‌هـای یـک‌سـاله تنهـا گونـهٔ *Medicago rigidula* دارای ۲x=۲n=۱۶ کروموزوم بود و گونـه‌هـای *M. minima* 316، *M. polymorpha* 612، *M. radiata* 29، *M. orbicularis* 449، *M. radiata* 588، *M. trancatulla* 1146، *M. tiralis* 1038 و *M. polymorpha* 1123 همگی دارای ۲x=۲n=۱۶ کروموزوم بودند. گونه‌های *M. littoralis* 1038 و *M. minima* 316 به‌ترتیـب دارای بیشترین و کمترین طول کل کروموزوم بودند.

ریاسـت و همکـاران (۲۰۰۰) بررسـی کاریوتیـپ برخـی گونه‌های جنس *Trigonella* از اسـتان فـارس را بـا جمـع‌آوری یک گونه شنبلیلهٔ چندسـاله بـا نـام علمـی *T. elliptica* و هفـت گونـهٔ یـک‌سـاله بـا نـام‌هـای علمـی *T. foenum-graecum*، *T. spruneriana*، *T. monspeliaca*، *T. uncata*، *T. anguina*، *T. stellata* و *T. Astroites* طرح‌ریزی کردند. مطالعات سیتوژنتیکی بر روی گونه‌های موردمطالعه نشان داد که همهٔ گونه‌ها دیپلوئیـد (۲x=۲n=۱۶) می‌باشند. مـرادی و همکـاران (۲۰۱۱) بـه‌منظـور ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی شـنبلیلهٔ ایرانـی، ۲۰ تـوده از نقاط مختلـف کشـور جمـع‌آوری و از راه صـفات سـیتوژنتیکی موردبررسی قرار دادند. بررسی صـفات سـیتوژنتیکی تـوده‌هـای بومی نشان داد که تمامی توده‌های موردبررسـی از لحـاظ سـطح پلوئیدی همگی دیپلوئید ۲x=۲n=۱۶ بودند. همچنین طـول هـر ۸ کروموزوم، مجموع طول کلی کرومـوزوم و طـول نسـبی هـر کروموزوم به طول کل اندازه‌گیری شد.

قوام و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی تنوع ژنتیکی دم‌گاوی بـا استفاده از نشـانگرهـای RAPD نشـان دادنـد علـی‌رغـم تشـابه ژنتیکی زیاد به‌دست‌آمـده از افـراد درون یـک سـایت، اخـتلاف ژنتیکی بین نمونه‌های موردمطالعه در سایت‌های مختلف وجـود دارد که یا ناشی از تفاوت میکروکلیمـای ایـن سـایت‌هاسـت یـا

1. Multani
2. Mykhopadhyay & Sharma
3. Goldblatt

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 10:49 +0430 on Wednesday April 11th 2018

نشان‌دهندهٔ زیرگونه‌های مختلف از این گونه است که علی‌رغم شباهت‌های ظاهری بسیار نزدیک به‌هم، تفاوت ژنتیک آن‌ها منجر به اختلافات ظاهری ناشناخته در آن‌ها شده است.

با وجود بررسی ژنتیکی بر روی این گیاه، تاکنون مطالعه‌ای در زمینهٔ مطالعات کروموزومی دم‌گاوی صورت نگرفته است.

بنابر اهمیت و کاربردهای متنوع این گیاه و اینکه فنون سیتولوژیکی منجر به شناسایی افراد مناسب در یک جامعهٔ گیاهی متنوع می‌شود، تحقیق حاضر در راستای بررسی ویژگی‌های کاریولوژیکی این گیاه باارزش در ماسه‌زارهای کاشان، تدارک و انجام پذیرفته است.

مواد و روش‌ها

ابتدا با بررسی‌های کتابخانه‌ای، رویشگاه‌های گونهٔ موردنظر شناسایی شد. سپس با درنظرگرفتن عوامل مختلف از قبیل قابل دسترس بودن رویشگاه، طبیعی بودن شرایط رویشگاه، وجود رویشگاه‌های مختلف با فواصل مناسب از هم و همچنین حضور مناسب و قابل برداشت گیاه از طریق بازدیدهای صحرایی از رویشگاه‌های مختلف در استان اصفهان در فروردین ۱۳۹۱، گونه فقط در تپه‌های ماسه‌ای نوار ریگ بلند واقع در شمال و شرق کاشان، به‌مقدار قابل برداشت مشاهده شد. همچنین به‌منظور مقایسهٔ پارامترهای موردمطالعه در این منطقه، پس از بازدیدهای مکرر محلی با توجه به حضور مناسب و قابل برداشت گیاه موردنظر، چهار رویشگاه (کمپ ۱، قندی‌آباد، قاسم‌آباد، کمپ ۲) با فاصلهٔ ۳۰ کیلومتر از هم انتخاب شد. مشخصات جغرافیایی سایت‌های انتخابی در جدول (۱) درج شده است.

جدول ۱: مشخصات جغرافیایی رویشگاه‌های نمونه‌برداری از گیاه دم‌گاوی

شمارهٔ سایت	نام مکان	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)
۱	کمپ ۱	۵۱º ۳۲/۱۹۱´E	۳۴º ۱۰/۵۴۲´N	۹۹۲
۲	قندی‌آباد	۵۱º ۵۰/۶۶۴´E	۳۳º ۵۲/۵۰۵´N	۱۲۶۵
۳	قاسم‌آباد	۵۱º ۴۹/۵۵۱´E	۳۴º ۰/۵۷۲´N	۱۴۵۱
۴	کمپ ۲	۵۱º ۳۶/۹۱۰´E	۳۴º ۰/۶۸۳´N	۱۱۸۶

عملیات آزمایشگاهی

برای نمونه‌برداری از گیاه موردمطالعه در هنگام رسیدن کامل بذرها در تیر ۱۳۹۱ از هر سایت، یک پایهٔ گیاهی انتخاب و بذور جمع‌آوری شدند (جدول ۱).

به‌منظور مشاهدهٔ کروموزوم‌های متافازی میتوز مراحل زیر اجرا شد:

بذور جمع‌آوری‌شده با اتانول ۷۰ درصد و هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد، ضد عفونی شده و سه بار با آب مقطر شسته شدند. سپس از نمونهٔ مربوط به هر رویشگاه، ۱۴ عدد بذر درون یک پتری‌دیش روی کاغذ صافی مرطوب و در تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شدند. بعد از ۳ـ۵ روز و هنگامی که طول ریشه‌ها به ۰/۵ـ۱ سانتی‌متر رسید، ساعت ۱۰ صبح (زمانی که براساس انجام آزمایشات مقدماتی در ساعات مختلف روز، بیشترین تقسیم میتوز در آن‌ها مشاهده شد) گیاهچه‌ها از پتری‌دیش خارج و توسط ۸ـ هیدروکسی کینولئین ۰/۰۰۲ مولار به‌مدت ۳ ساعت و در دمای ۱۸ درجهٔ سانتی‌گراد پیش‌تیمار شدند. سپس به محلول تثبیت‌کنندهٔ کارنوی I که شامل سه قسمت اتانول ۱۰۰ درصد و یک قسمت اسید استیک گلاسیال می‌باشد، منتقل گردیده و به‌مدت ۱۶ ساعت در این محلول در دمای اتاق نگه‌داری شدند. ریشه‌چه‌ها پس از اینکه از محلول تثبیت‌کننده خارج شدند، به‌مدت ۵ دقیقه با آب مقطر شست‌وشو داده شدند. برای هضم و تخریب دیوارهٔ سلولی و درنهایت پخش مطلوب کروموزوم‌ها از محلول ۱ نرمال اسید کلریدریک به‌مدت ۱۵ تا ۱۷ دقیقه در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد استفاده شد. گیاهچه‌های هیدرولیزشده پس از شست‌وشو با آب مقطر، هرکدام روی یک لام تمیز قرار گرفته و برای رنگ‌آمیزی، چند قطره از رنگ استواورسئین ۱ درصد روی لام‌ها اضافه شد. بعد از بررسی زمان‌های مختلف رنگ‌آمیزی با این محلول، مناسب‌ترین مدت ۳ ساعت تشخیص داده شد. بعد

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 10:49 +0430 on Wednesday April 11th 2018

از انجام پخش کردن نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری المپوس BX51 با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ موردبررسی قرار گرفتند.

حداقل پنج سلول متافازی مناسب به‌عنوان تکرار جهت اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک کروموزوم‌ها با استفاده از نرم‌افزار micromeasure 3.3 انتخاب شدند. طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، طول کل کروموزوم، نسبت بازوها و شاخص سانترومری براساس ترتیب صحیح کروموزوم‌ها توسط نرم‌افزار به‌دست آمد. سپس داده‌های به‌دست‌آمده وارد نرم‌افزار Excel2003 شد و پارامترهای کاریوتیپی دیگر دسته‌بندی کاریوتیپ‌ها و نامگذاری کروموزوم‌ها به شرح ذیل محاسبه شد.

دسته‌بندی کاریوتیپ‌ها

$$A_1 = 1 - \frac{\sum_{x=1}^{n} \frac{Sx}{Lx}}{n} \quad (۱)$$

برای تعیین نامتقارن بودن کاریوتیپ از روش رومرو- زارکو[1] (۱۹۸۶) استفاده شد:

x = طول بازوی کوتاه کروموزوم موردنظر

Lx = طول بازوی بلند کروموزوم موردنظر

x = شمارهٔ کروموزوم موردنظر

n = تعداد جفت کروموزوم‌های همولوگ

در این رابطه، A_1 شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی است که از صفر تا یک متغیر است. اگر A_1=1 باشد، حداکثر نامتقارنی و اگر A_1= 0 باشد، حداکثر تقارن کاریوتیپی وجود دارد.

هنگامی که نامتقارن بودن کاریوتیپ به‌علت اختلاف میان اندازهٔ کروموزوم‌های ژنوم باشد، از ضریب تغییرات (عدم تقارن بین کروموزومی) که به‌صورت زیر محاسبه می‌شود، به‌جای A_1 استفاده می‌گردد:

$$A_2 = \frac{Sd}{\overline{X}}$$

S_d= انحراف معیار طول کل کروموزوم‌ها

$\overline{X}$ = میانگین طول کل کروموزوم‌ها

نامگذاری کروموزوم‌ها

براساس روش لوان[2] و همکاران (۱۹۶۴) که بر مبنای موقعیت سانترومراست، کروموزوم‌های یک کاریوتیپ نامگذاری شدند.

برای تجزیه و تحلیل‌های آماری، تجزیهٔ واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل انجام شد. در این تجزیه، رویشگاه‌ها به‌عنوان تیمار و نمونه‌ها به‌عنوان تکرار در نظر گرفته شدند. تجزیهٔ واریانس خصوصیات کایوتیپی بر مبنای مجموعه هاپلوئید کروموزوم‌ها صورت گرفت. پس از تجزیهٔ واریانس، مقایسهٔ میانگین‌های رویشگاه‌ها از لحاظ صفاتی که دارای F معنی‌دار بودند، با روش دانکن انجام شد.

درنهایت، برای گروه‌بندی و مقایسهٔ تفاوت‌های کاریوتیپی رویشگاه‌های مختلف، از تجزیهٔ خوشه‌ای استفاده شد. این تجزیه براساس میانگین خصوصیات کروموزومی برای هر رویشگاه با استفاده از روش سلسله‌مراتبی و طبقه‌بندی UPGMA صورت گرفت و دندروگرام موردنیاز برای دسته‌بندی رویشگاه‌ها و کروموزم‌ها رسم شد. همهٔ تجزیه‌های سیتوژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver 16 انجام گرفت.

نتایج

نتایج بررسی تقارن و فرمول کاریوتیپی در جدول (۳) درج شده است. براساس این جدول، گیاه دم‌گاوی دیپلوئید (۲n=۲x=۱۶) است که با فرمول کاریوتیپی آن در سایت کمپ ۱ و کمپ ۲ به‌صورت 8m+6sm+2st، در سایت قندی‌آباد برابر با 6m+8sm+2st و در سایت قاسم‌آباد به‌شکل 4m+10sm+2st است. در تعیین نامتقارن بودن کاریوتیپ، از روش رومرو- زارکو (۱۹۸۶) مقدار A1 در سایت کمپ ۱ از بقیهٔ سایت‌ها کمتر و در نتیجه، دارای تقارن بیشتر بود که بالاتر بودن ضریب تغییرات A2 در این سایت، نسبت به بقیه نیز تقارن بیشتر را ثابت می‌کند.

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌های مربوط به صفات کروموزم‌ها شامل طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، نسبت بازوی بلند به کوتاه و شاخص سانترومری در رویشگاه‌های مختلف در جدول (۴) آمده است. براساس داده‌های این جدول، بین رویشگاه‌های مختلف، از نظر سه

1. Romero-Zarco

2. Levan

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 10:49 +0430 on Wednesday April 11th 2018

ویژگی طول کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه در سطح ۱، درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد؛ درحالی‌که بین نسبت بازوها و شاخص سانترومری در رویشگاه‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول (۳): نتایج سنجش تقارن و فرمول کاریوتیپی

رویشگاه	A_1	A_2	2n	فرمول کاریوتایپ
کمپ ۱	۰/۳۶	۰/۱۹	۱۶	8m+6sm+2st
قندی‌آباد	۰/۴۱	۰/۱۷	۱۶	6m+8sm+2st
قاسم‌آباد	۰/۴۸	۰/۱۳	۱۶	4m+10sm+2st
کمپ ۲	۰/۴۴	۰/۱۶	۱۶	8m+6sm+2st

جدول (۴): تجزیهٔ واریانس پنج صفت از کروموزوم‌ها در رویشگاه‌ها

خصوصیات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات	F
طول کروموزوم	۳	۴/۵۳۳	۱۴/۴۹۰**
طول بازوی بلند	۳	۱/۴۱۶	۵/۹۳۳**
طول بازوی کوتاه	۳	۰/۹۶۴	۱۱/۸۵۸**
نسبت بازوها	۳	۰/۹۵۶	۱/۶۵۶ n.s
شاخص سانترومری	۳	۰/۰۱۲	۲/۱۳۹n.s

** وجود اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد n.s دم وجود اختلاف معنی‌دار

یافته‌های حاصل از مقایسه میانگین صفات کروموزم‌های گیاه موردبررسی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در رویشگاه‌های مطالعاتی (جدول ۵) نشان می‌دهد چهار ویژگی طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و شاخص سانترومری در رویشگاه کمپ ۱ بیشتر از سه رویشگاه دیگر است و بین این سه رویشگاه از نظر این صفات اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همچنین از نظر صفت نسبت بازوها، رویشگاه کمپ ۲ دارای اختلاف معنی‌دار با سه رویشگاه دیگر و در سطح بالاتر از آن‌ها قرار دارد که عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین این رویشگاه‌ها به‌وضوح قابل مشاهده است.

نتایج به‌دست‌آمده از ضرایب همبستگی بین میانگین صفات کروموزومی گیاه موردمطالعه در کل سایت‌ها (جدول ۷)، گویای این مطلب است که بیشترین همبستگی بین شاخص سانترومری و نسبت بازوها و کمترین همبستگی بین طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند وجود دارد.

جدول (۵): مقایسهٔ میانگین رویشگاه‌ها از نظر صفات کروموزوم‌ها با روش دانکن

رویشگاه	طول کروموزوم (میکرون)	طول بازوی بلند (میکرون)	طول بازوی کوتاه (میکرون)	نسبت بازوها (میکرون)	شاخص سانترومری (میکرون)
کمپ ۱	۴/۰۰۸۳ a	۲/۵۱۰۴ a	۱/۴۹۴۷ a	۱/۷۳۶۹ b	۰/۳۸۲۳ a
قندی‌آباد	۲/۸۹۱۳ b	۱/۸۳۹۸ b	۱/۰۵۱۴ b	۱/۹۴۳۲ ab	۰/۳۶۲۹ ab
قاسم‌آباد	۲/۹۳۲۰ b	۱/۹۳۴۱ b	۰/۹۹۷۹ b	۲/۰۲۸۸ ab	۰/۳۳۹۴ ab
کمپ ۲	۳/۰۲۵۹ b	۲/۰۴۳۳ b	۰/۹۸۲۳ b	۲/۳۲۶۰ a	۰/۳۱۹۲ b

(در هر ستون، میانگین‌های حداقل دارای یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌دار ندارند.)

Archive of SID

www.SID.ir

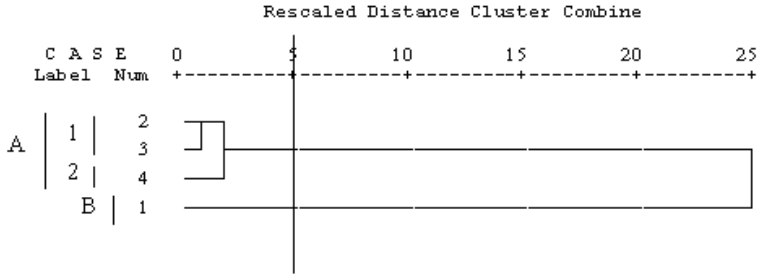
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 10:49 +0430 on Wednesday April 11th 2018

دندروگرام حاصل از تجزیهٔ خوشه‌ای براساس میانگین خصوصیات کروموزومی کل کروموزم‌های دم‌گاوی برای هر رویشگاه (شکل ۱)، رویشگاه‌های مطالعاتی را در فاصلهٔ ۵ به دو گروه اصلی تقسیم کرد. گروه A شامل دو زیرگروه بود که دو رویشگاه قاسم‌آباد و قندی‌آباد در زیر گروه A1 و رویشگاه کمپ ۲ به‌تنهایی در زیر گروه A2 قرار گرفت. از نظر جغرافیایی هم، دو رویشگاه قندی‌آباد و قاسم‌آباد به هم نزدیک‌تر و در فاصلهٔ نسبتاً مساوی از رویشگاه کمپ ۲ واقع شده‌اند. در گروه B، رویشگاه کمپ ۱ قرار گرفت که از نظر جغرافیایی، در نقطه‌ای جداگانه از سایر رویشگاه‌ها قرار داشت.

جدول (۷): ضرایب همبستگی پیرسون بین میانگین صفات کروموزومی در کل رویشگاه‌ها

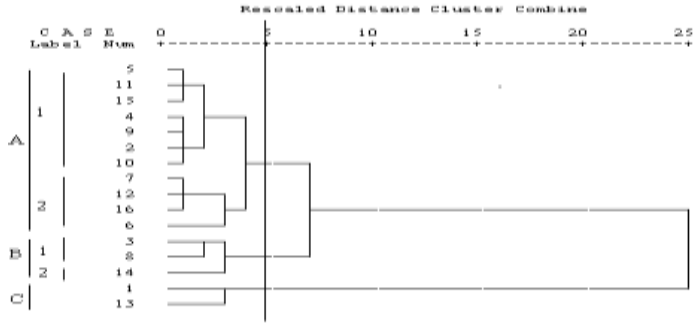
صفت	طول کروموزوم	طول بازوی بلند	طول بازوی کوتاه	نسبت بازوها	شاخص سانترومری
طول کروموزوم	۱				
طول بازوی بلند	۰/۸۷۵**	۱			
طول بازوی کوتاه	۰/۲۸۱	-۰/۲۱۸	۱		
نسبت بازوها	۰/۴۰۷	۰/۷۸۶**	-۰/۷۳۸**	۱	
شاخص سانترومری	-۰/۳۳۵	-۰/۷۴۱**	۰/۷۹۴**	-۰/۹۸۵**	۱

** وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد



شکل (۱): دندروگرام تجزیهٔ خوشه‌ای چهار رویشگاه مطالعاتی به روش UPGMA براساس میانگین خصوصیات کروموزومی در کل کروموزوم‌ها

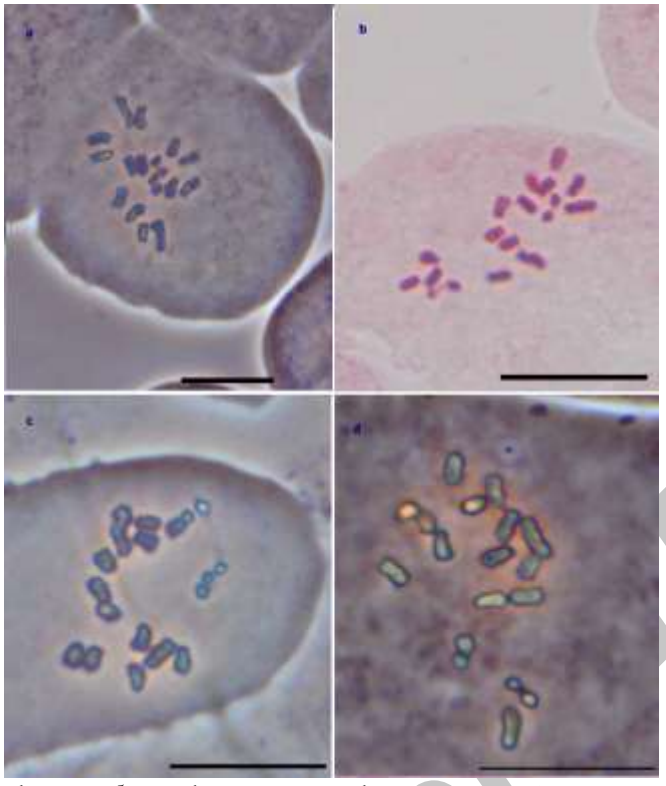
شکل (۲) دندروگرام حاصل از تجزیهٔ خوشه‌ای براساس میانگین خصوصیات کروموزومی کل سایت‌های دم‌گاوی برای هر کروموزوم است که براساس آن، ۱۶ کروموزوم گیاه در فاصلهٔ ۵ به سه گروه اصلی تفکیک می‌شوند. در گروه A، ۱۱ کروموزم جای گرفته‌اند که در فاصلهٔ ۴ خود به دو زیرگروه A1 و A2 تقسیم می‌شود. در زیرگروه A1 کروموزم‌های ۲، ۴، ۹ و ۱۰ در کنار هم و در فاصلهٔ ۲ از کروموزوم‌های ۵، ۱۱ و ۱۵ مجزا می‌شوند. کروموزوم‌های ۶، ۷، ۱۲ و ۱۶ زیرگروه A2 را تشکیل می‌دهند که کروموزوم ۶ در فاصلهٔ ۳، از سه کروموزوم دیگر جدا می‌شود. در گروه B در فاصلهٔ ۳، دو کروموزوم ۳ و ۸ در گروه مجزا از کرومزوم ۱۴ جای گرفتند. گروه C هم شامل کروموزوم‌های ۱ و ۱۳ است.



شکل (۲): دندروگرام تجزیهٔ خوشه‌ای کروموزوم‌ها به‌روش UPGMA براساس میانگین صفات کروموزومی در کل رویشگاه‌ها

www.SID.ir

Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 10:49 +0430 on Wednesday April 11th 2018



شکل (۳): تصویر کروموزوم‌های سلول‌های متافازی گونهٔ دم‌گاوی a: رویشگاه کمپ ۱، b: رویشگاه قندی‌آباد، c: رویشگاه قاسم‌آباد، d: رویشگاه کمپ ۲

نتیجه‌گیری

بررسی آزمایشگاهی و تصاویر به‌دست‌آمده (شکل ۸) نشان داد گیاه دم‌گاوی دیپلوئید (۲n=۲x=۱۶) است که با نتیجهٔ به‌دست‌آمده توسط گلدبلات (۱۹۸۴) بر روی گونهٔ دیگر این جنس، یعنی *Smirnovia turkestana* مطابقت دارد. همچنین نتایج مشابهی در بررسی بر روی سایر گیاهان هم زیرخانواده با گیاه دم‌گاوی توسط (ریاست و همکاران، ۲۰۰۰)، بر روی جنس *Trigonella* (پورگرجی و همکاران، ۲۰۰۶)، بر روی یونجه‌های یک‌ساله (مرادی و همکاران، ۲۰۱۱)، بر روی شنبلیلهٔ ایرانی (حاتمی و نصیرزاده، ۲۰۰۸) ، بر روی زیر گونه‌های اسپرس *Onobrychis aucheri* subsp. *teheranica* و *Onobrychis aucheri* subsp. *psammophila* به‌دست آمد.

در گیاه موردبررسی، بزرگ‌ترین کروموزوم با طول کلی ۶/۱۵ میکرون مربوط به کروموزم شمارهٔ ۱ رویشگاه کمپ ۱ و کوچک‌ترین آن‌ها کروموزوم شمارهٔ ۱۲ متعلق به رویشگاه کمپ ۲ با اندازهٔ ۲/۱۲ میکرون بود.

دسته‌بندی رومرو- زارکو (۱۹۸۶) در ارتباط با تقارن کاریوتیپ نشان داد مقدار A_1 در سایت کمپ ۱، از بقیهٔ سایت‌ها کمتر و برابر با ۰/۳۶ بود که متقارن‌تر از نمونه‌های متعلق به رویشگاه‌های دیگر بود. این نتیجه با بالاتر بودن ضریب تغییرات A_2 در این سایت (۰/۱۹) نسبت به بقیه و درنتیجه تقارن بیشتر مطابقت دارد. بنابراین از نظر تقارن کاریوتیپ، رویشگاه‌ها را به‌ترتیب زیر می‌توان رتبه‌بندی کرد:

کمپ ۱> قندی‌آباد> کمپ ۲> قاسم‌آباد

نامتقارن‌ترین کاریوتیپ متعلق به نمونه‌های رویشگاه قاسم‌آباد است که علت آن را می‌توان به بیشتر بودن تعداد کروموزوم‌های ساب متاسانتریک (10sm) نسبت داد.

با توجه به جدول (۴)، بین رویشگاه‌های مختلف از نظر سه ویژگی طول کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد؛ درحالی‌که بین نسبت بازوها و شاخص سانترومری در رویشگاه‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این نتیجه حاکی از آن است که از نظر اندازه، کروموزم‌های گیاه دم‌گاوی در رویشگاه‌های مختلف دارای تنوع هستند. مقایسهٔ میانگین‌ها حاکی از آن بود که چهار ویژگی طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و شاخص سانترومری در رویشگاه کمپ ۱ بیشتر از سه رویشگاه دیگر است و بین سایر سایت‌ها از نظر این صفات،

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 10:49 +0430 on Wednesday April 11th 2018

اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همچنین از نظر صفت نسبت بازوها، رویشگاه کمپ ۲ دارای اختلاف معنی‌دار با سه رویشگاه دیگر و در سطح بالاتر از آن‌ها قرار دارد که عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین دیگر رویشگاه‌ها به‌وضوح قابل مشاهده است. همچنین براساس دندروگرام حاصل از تجزیهٔ خوشه‌ای میانگین خصوصیات کروموزومی کل کروموزم‌های *Smirnovia iranica* Sabeti برای هر رویشگاه (شکل ۱) که رویشگاه‌های مطالعاتی در فاصلهٔ ۵ به دو گروه اصلی تقسیم شدند، رویشگاه کمپ ۱ از بقیهٔ رویشگاه‌ها مجزا شد که از نظر جغرافیایی هم در نقطه‌ای جداگانه از سایر رویشگاه‌ها قرار داشت و دو رویشگاه قندی‌آباد و قاسم‌آباد در نزدیک‌ترین فاصلهٔ این دندروگرام قرار داشتند. این امر بیانگر قرابت و خویشاوندی نمونه‌های موجود در این دو رویشگاه از نظر صفات کاریوتیپی است.

بیشترین همبستگی بین شاخص سانترومری و نسبت بازوها و کمترین همبستگی بین طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند وجود دارد که نشانگر آن است که تغییرات طول بازوی کوتاه ارتباط چندانی با طول بازوی ندارد.

دندروگرام حاصل از تجزیهٔ خوشه‌ای ۱۶ کروموزوم گیاه موردمطالعه، براساس میانگین خصوصیات کروموزومی کل سایت‌ها (شکل ۲) در فاصلهٔ ۵، کروموزوم‌ها را به سه گروه اصلی تفکیک کرد. در گروه A، ۱۱ کروموزم جای گرفته‌اند که در زیرگروه A1 کروموزم‌های ۲، ۴، ۹، ۵،۱۱، ۱۰ و ۱۵ مجزا می‌شوند.

کروموزوم‌های ۶، ۷، ۱۲ و ۱۶ زیر گروه A2 را تشکیل می‌دهند. در گروه B در فاصلهٔ ۳، سه کروموزوم ۳ و ۸ و ۱۴ جای گرفتند. گروه C هم شامل کروموزوم های ۱ و ۱۳ است. نتیجه اینکه بین کروموزم‌های گیاه موردبررسی از نظر صفات کروموزومی، اختلاف وجود دارد که وجود تنوع بین کروموزوم‌های تشکیل‌دهندهٔ سلول هر موجود زنده، منطقی بودن این یافته را به اثبات می‌رساند که با نتایج (قوام و همکاران، ۲۰۱۶) بر روی همین گیاه که اختلاف ژنتیکی بین سایت‌ها را ثابت کرده بودند، مطابقت دارد و این امر مطالعات گیاه‌شناسی بیشتری بر روی این گیاه می‌طلبد که شاید منجر به شناسایی زیر گونه‌هایی از این گیاه شود.

منابع

1. Azarnivand, H., 2000. Ecological features reviews *Smirnovia iranica*. Range Management, Danshkh Tyy Resources, Tehran University . (in Farsi).
2. Ghavam, M., Naghavi, M.R., Azarnivand, H. and Tavili, A., 2016. Genetic diversity of *Smirnovia iranica* Sabeti species from Iran using RAPD markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 24(1): 114-122. . (in Farsi).
3. Goldblatt, P., 1984. Index to Plant Chromosome Numbers, 1979-1981.
4. Hatami, A.& Nasirzadeh, A. R., 2008. Repositioning of the classifier and subspecies of sainfoin (*Onobrychis aucheri*) based on morphological and chromosomal province. Quarterly research and development, the twentieth year, 1 (75), pp. 186. (in Farsi).
5. Joneidi Jafari, H., 2006. Ecological and functional characterization of bovine tail *Smirnovia iranica* Kashan sand dunes., Master Thesis, Department of Natural Resources, Tehran University. (in Farsi).
6. Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosome. Hereditas 52: 2
7. Moradi, P., Kashi, A.K., Hasandokht, M.R., Khaliq, A. & Khosroshahi, M., 2011. Genetic diversity of Iranian fenugreek landraces based on cytogenetic characteristics. Journal of Pants and Ecosystems, 6(21), pp. 33. (in Farsi).
8. Multani, D. S., Dhaliwal, H. S., Sing, P. & Gill, K., 1988. Synthetic amphypoloid of wheat as a source of resistance to karmal bunt. Plant Breeding Journasl. 101: 122-125.
9. Mykhopadhyay, S., & Sharma A. K., 1987. Karyomorphological analysis of different species and varieties of Calathea. Cytologiacal, 54,179-182.
10. Poorgorgi, A.M., Sheidaii, M., Ahmadian Tehrani, P. & Mirzaei Nodoushan, H., 2006. Genetic variation of annual medics according to karyotype studies. Journals Seed and Plant, 20 (4), page 601. (in Farsi).
11. Riasat, M., Hesamzade, S.M., Sadeghian, S. & Khatami, A., 2000. Cytogenetic study of the genus *Trifolium* species using image analysis

Archive of SID

www.SID.ir

system in Fars Province, Iranian Journal of Natural Recources, 61(1): 225 (in Farsi).
12. Romero-Zarco, C.,1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 35: 526-530.
13. Sabeti, H., 1977. Actaecologica, 25 (1). National University of Iran. (in Farsi). - Sabeti, H., 2000. Forests, trees and shrubs of Iran. Yazd University Press. 400 pages.

Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 10:49 +0430 on Wednesday April 11th 2018

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 10:49 +0430 on Wednesday April 11th 2018

Cytogenetic analysis of *Smirnovia iranica* Sabeti in different habitats: A case study of sand dunes in Kashan, Iran

Mansureh Ghavam[1*], Hossein Azarnivand [2], Mohammad Reza Naghavi [3], Ali Talivi

Received: 15/3/2017 Accepted: 5/7/2017

Archive of SID

Abstract

Sand dunes in central Iranian habitats contain endemic shrub species and adapted shrubs of the family Fabaceae, known as *Smirnovia iranica* Sabeti. Not only are these very important for forage production and soil conservation, they also help create beautiful landscapes. They also possess medicinal value. This cytogenetic study was carried out on four sites in the sand dunes of Kashan within a distance of 30 km. From each habitat, a plant was selected, and the seeds harvested. Seeds and root samples were prepared for examination with high-resolution photos to view the mitotic metaphase chromosomes and measure the karyotype parameters, using Micromeasure 3.3 software. The results showed that this plant is diploid (16 = x2 = n2). The largest chromosome was Chromosome 1 of Camp 1 site (15.6 µ) and the smallest was Chromosome 12 of Camp 2 site (12.2 µ).

Keywords: Seed, Cytogenetics, Chromosome, Metaphase cells, Karyotype.

1. Assistant professor, Department of Range and Watershed Management, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, University of Kashan; Email: mghavam@kashanu.ac.ir
2. professor, Department of Rehabilitation of Arid and Mountainous, Faculty of Natural Resources, University of Tehran
3. professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Tehran
4. Associate Professor, Department of Rehabilitation of Arid and Mountainous, Faculty of Natural Resources, University of Tehran

www.SID.ir