

## مطالعه کاریوتیپ سه گونه گون (*Astragalus*)

• حمیده جوادی، عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی  
 • احمد رزبان حقیقی، کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی  
 • سید محسن حسامزاده حجازی، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران  
 تاریخ دریافت: فروردین ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۸۶  
 E-mail: Hjavadi@ yahoo.com

### چکیده

گون (*Astragalus*) از تیره بقولات *Papilionaceae* سطح وسیعی از مراتع و نقاط کوهستانی کشور را به خود اختصاص داده است. مطالعات سیتوژنتیک به منظور اصلاح گیاهان از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در این پژوهش با استفاده از مریستم نوک ریشه از سه گونه گون (*A. elegans*, *A. cancellatus*, *A. aznabjurtieus*) بعد از مراحل تثبیت، هیدرولیز و رنگ آمیزی نمونه میکروسکوپی تهیه و مورفولوژی کروموزومها مورد مطالعه قرار گرفت. بررسیها نشان داد که هر سه گونه با  $2n=4x=32$  با پایه کروموزومی  $x=8$  تتراپلوئید میباشند. با اندازه گیری پارامترهای مختلف کاریوتیپ ( $(L, S, L+S, L/S, \Sigma(L+S), A_1, A_2, S\%, TF\%, DRL, VRC)$  مشخص شد که بلندترین کروموزوم و بلندترین طول ژنوم در گونه *A. elegans* و کوتاهترین کروموزوم و کوتاهترین ژنوم در گونه *A. cancellatus* می باشد. گونه *A. elegans* با داشتن کمترین مقدار  $A_1$  و بیشترین مقدار  $TF\%$  و  $S\%$  و فرمول کاریوتیپی  $10m+6sm$  دارای کاریوتیپ متقارن بوده و نسبت به دو گونه دیگر یک گونه جدید است.

کلمات کلیدی: گون، کاریوتیپ، کروموزوم، سیتوژنتیک، *A. aznabjurtieus*, *A. cancellatus*, *A. elegans*

Pajouhesh & Sazandegi No:73 pp: 131-135

### Study of karyotype in three astragalus species

By: H. Javadi, Scientific Member of Agricultural and Natural Resources Research Center of East Azarbaijan Province.,  
 A. Razban. H., Msc. Agricultural and Natural Resources Research Center of East Azarbaijan Province., S. M. Hessamzadehe.,  
 H. Scientific Member of Research Institute of Forests and Rangelands.

*Astragalus* from family of fabaceae grows extensively in rangelands and mountainous region Iran. Cytogenetic studies are very important for plant improvement. In order to morphology of chromosomes in three species of *Astragalus* (*A. aznabjurtieus*, *A. cancellatus* and *A. elegans*) microscopic sample was prepared and studied, using their root meristem after fixation, hydrolysis and staining stages. The results showed that all the species were  $2n=4X=32$ . Measurement different traits of karyotype ( $(L, S, L+S, L/S, \Sigma(L+S), S\%, TF\%, DRL, VRC, A_1, A_2)$ ) showed that the longest chromosome and genom and the shortest chromosome and genom in *A. elegans* and *A. cancellatus* species, respectively, *A. elegans* has more symmetric and is new species, with least  $A_1$  and most percent TF and S and formula karyotype related to two other species.

**Key words:** *Astragalus*, Karyotype, chromosome, Cytogenetic, *A. aznabjurtieus*, *A. cancellatus* and *A. elegans*

## مقدمه

جنس گون (Astragalus) از راسته Leguminales، تیره Papilionaceae می‌باشد حدود ۲۰۰۰ گونه از جنس گون در تمام نقاط جهان به جز استرالیا پراکندگی دارد و قریب به ۸۰۰ گونه از آنها در ایران یافت می‌شود (۳). بهترین رویش آنها مناطق کوهستانی است. مناطق کوهستانی ایران به دلیل داشتن آب و هوایی سرد و معتدل شرایط مطلوبی را برای رویش گون‌ها بوجود آورده است. طوری که ایران در ارتفاعات یک گونستان است. در بین این گیاهان گونه‌های علفی یکساله، چند ساله و یا چوبی دیده می‌شود. این گونه‌ها علاوه بر این که به‌عنوان منبع تغذیه برای دامپروری در منطقه هستند به دلیل داشتن ریشه‌های عمیق و تاج پوششی گسترده در حفاظت از فرسایش خاک مهم بوده و علاوه بر این‌ها برخی گونه‌ها از لحاظ دارویی نیز مهم هستند (۱).

در تحقیقات به نژادی انجام مطالعات سیتوژنتیکی از اقدامات اولیه است زیرا که شناخت تعداد کروموزوم‌ها در انتخاب روش‌های به نژادی موثر است تعیین سطح پلوئیدی نیز که از مطالعات کروموزومی بدست می‌آید در انجام دورگ گیری از اهمیت فراوانی برخوردار است (۸). از کاربردهای دیگر مطالعات کروموزومی استفاده از این اطلاعات در شناسایی و طبقه بندی گیاهان در سیستم جدید به عنوان بخشی از تاکسونومی جدید است. تنوع زیاد در کروموزوم‌ها، ثابت بودن تعداد کروموزوم‌ها در افراد یک گونه و تنوع تعداد، اندازه و ساختمان کروموزوم‌ها در گونه‌های متفاوت شاخص‌های مفیدی برای اهداف تاکسونومیک هستند (۱۰). از طرفی مطالعه ساختار کروموزومی و رفتار آنها در اکثر موارد گشودن دیدگاه جدیدی را در فیلوژنی و معماری جنس نوید می‌دهد (۱۱). در رابطه با شمارش کروموزومی گونه‌های گون، منابع موجود تعداد کروموزوم‌های برخی از گونه‌ها را تأیید ولی اطلاعات لازم در مورد کاربوتیپ گونه‌ها را نمی‌دهند (۲، ۵، ۶). تعداد کروموزوم‌های تعیین شده برای گونه‌های *A. cancellatus* و *A. aznabjurtius* اولین رکورد برای مناطق جمع‌آوری شده می‌باشد. گونه‌های مورد مطالعه برای اولین بار شمارش کروموزومی و مطالعه کاربوتیپی می‌شوند. در این مطالعه سعی شده با بررسی کروموزوم‌های سه گونه گون سطح پلوئیدی آنها مشخص، ضمن تهیه کاربوتیپ و ایدیوگرام پارامترهای مختلف کاربوتیپ تعیین و با استفاده از فاکتورهای مختلف میزان تقارن کاربوتیپ و تکامل گونه مشخص گردد.

## مواد و روش‌ها

سه گونه گون در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفتند. لیست گونه‌ها در جدول شماره ۱ آمده است. جهت تهیه کاربوتیپ از مریستم نوک ریشه استفاده شد به این منظور که گونه‌ها پس از جمع‌آوری جهت حذف سختی دیواره با اسید سولفوریک غلیظ (۹۶٪) به مدت ۲۰-۱۰ دقیقه تیمار شده، سپس در روی کاغذ صافی مرطوب در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. نمونه برداری از نوک ریشه زمانی که طول ریشه به حدود ۱ سانتی متر رسید انجام گرفت. برای مشاهده متافاز باید سلول‌ها را وادار به تقسیم نمود و سپس در مرحله متافاز تثبیت نمود. در این پژوهش از پیش تیمار آلفا برمونتالین استفاده شد. ریشه‌ها به مدت چهار ساعت در دمای ۵ درجه سانتی گراد در این محلول قرار گرفتند. پس از خارج کردن ریشه‌ها از پیش تیمار جهت تثبیت تقسیم سلولی، از فیکساتیو لویتسکی<sup>۱</sup> استفاده شد. ریشه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵ درجه سانتی گراد در درون فیکساتیو قرار گرفتند پس از طی این مدت با آب مقطر شسته و در الکل ۷۰٪ نگهداری شدند. در مرحله رنگ آمیزی ریشه‌ها پس از هیدرولیز با سود ۱ نرمال در دمای ۶۰

درجه به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه، در داخل رنگ همتاکسیلین در دمای ۳۴-۳۰ درجه به مدت ۲۶-۲۴ ساعت قرار گرفتند.

در مطالعه نمونه میکروسکوپی ۵ عدد متافاز مناسب برای هر گونه ضبط سپس کاربوتیپ تهیه گردید در هر کاربوتیپ طول بازوی بلند کروموزوم (L)، طول بازوی کوتاه کروموزوم (S)، طول کل کروموزوم (L+S)، نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه (L/S)، شاخص سانترومری (S/L+S) و طول ساتلایت (SAT) محاسبه گردید. تقارن داخل کروموزومی (A<sub>1</sub>)، تقارن بین کروموزومی (A<sub>p</sub>)، درصد شکل کلی (TF/%)، درصد S/S، اختلاف دامنه نسبی کروموزوم‌ها (DRL) و طول کل ژنوم  $\sum(L+S)$  نیز محاسبه شدند (۴).

## نتایج و بحث

مطالعه سیتوژنتیکی گونه‌های فوق نشان داد که هر سه گونه دارای عدد پایه کروموزومی  $x=8$  بوده و حالت تتراپلوئیدی  $2n=4x=32$  را نشان می‌دهند. در اشکال شماره ۱ تا ۳ کروموزوم‌های متافازی و در شکل شماره ۴ ایدیوگرام‌ها پلوئید گونه‌ها نشان داده شده است. در هر سه گونه دو جفت کروموزوم ماهواره دار وجود دارد (کروموزوم شماره ۱ و ۲) که در هر سه گونه ماهواره روی بازوی کوتاه کروموزوم واقع شده است.

در گونه *A. aznabjurtieus*، بلندترین کروموزوم  $3/67$  میکرون (کروموزوم شماره ۵) و کوتاهترین کروموزوم  $3/30$  میکرون (کروموزوم شماره ۱۰) طول دارد. طول کل ژنوم در این گونه  $55/85$  میکرون و فرمول کاریوتیپی این گونه به صورت  $4m+12Sm$  است.

در گونه *A. cancellatus* بلندترین کروموزوم  $3/63$  میکرون (کروموزوم شماره ۸) و کوتاهترین کروموزوم  $2/76$  میکرون (کروموزوم شماره ۱۲) طول دارد. طول کل ژنوم  $51/56$  میکرون و فرمول کاریوتیپی این گونه به صورت  $8m+8Sm$  است.

در گونه *A. elegans* بلندترین کروموزوم  $4/10$  میکرون (کروموزوم شماره ۲) و کوتاهترین کروموزوم  $3/21$  میکرون (کروموزوم شماره ۱۳) طول دارد. طول کل ژنوم  $58/68$  میکرون و فرمول کاریوتیپی به صورت  $10m+6Sm$  است.

بنابراین بلندترین کروموزوم و بلندترین ژنوم در گونه *A. elegans* و کوتاهترین کروموزوم و کوتاهترین ژنوم در گونه *A. cancellatus* می‌باشد. در جدول شماره ۲، شاخص‌های عدم تقارن ( $A_1$  و  $A_p$ )، کلاس تقارن (SC)، درصد شکل کلی (TF)، درصد بازوی کوتاه (S)، دامنه طول نسبی کروموزومها (DRL)، میزان کروماتین نسبی (VRC) و فرمول کاریوتیپی آورده شده است.

از لحاظ کلاس استیپنز<sup>۲</sup> هر سه گونه در کلاس  $A_p$  واقع می‌شوند. بیشترین مقدار  $A_1$  (عدم تقارن درون کروموزومی) در گونه *A. aznabjurtieus* و کمترین آن در گونه *A. elegans* است. هرچه مقدار  $A_1$  بیشتر باشد دلیل بر حرکت سانترومر به سوی قسمت انتهایی کروموزوم و دور شدن از حالت متاساتریک است.

با توجه به رابطه عکس  $A_1$  با درصد TF، گونه *A. aznabjurtieus*، با داشتن بیشترین مقدار  $A_1$ ، کمترین مقدار درصد TF، و گونه *A. elegans* با داشتن کمترین مقدار  $A_1$ ، بیشترین مقدار درصد TF را دارد. طبق نظر Huziwara، درصد TF شاخصی برای بیان وضعیت تقارن کاریوتیپ است (۹). هرچه درصد TF به ۵۰ نزدیک باشد دلیل بر قرار گرفتن سانترومر در وسط کروموزومها و کاریوتیپ متقارن و هرچه از ۵۰ کمتر باشد نشان دهنده وجود کروموزومهای با سانترومرهای انتهایی و کاریوتیپ نامتقارن است (۹). وجود کروموزومهای ساب متاساتریک و ساب تلوساتریک نیز دلیل بر عدم تقارن کاریوتیپ است. گونه *A. aznabjurtieus* ۱۲ جفت و گونه *A. elegans*، ۶ جفت کروموزوم ساب متاساتریک دارد.

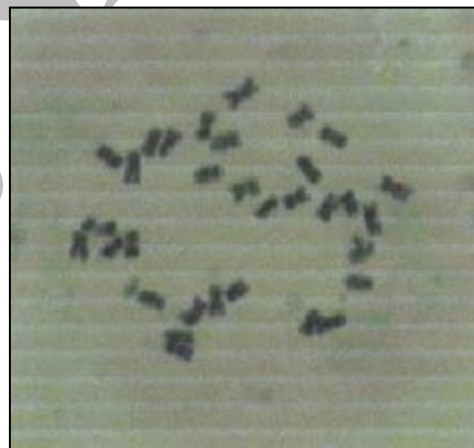
نامتقارن بودن کاریوتیپ توسط فاکتور درصد S نیز مشخص می‌گردد هرچه درصد S کمتر باشد تقارن کاریوتیپ کمتر است (۷) بنابراین گونه *A. aznabjurtieus* با داشتن بیشترین مقدار  $A_1$  و کمترین مقدار درصد TF و درصد S و فرمول کاریوتیپی  $4m+12Sm$  دارای کاریوتیپ نامتقارن و گونه *A. elegans* با داشتن کمترین مقدار  $A_1$  و بیشترین مقدار درصد TF و درصد S و فرمول کاریوتیپی  $10m+6Sm$  دارای کاریوتیپ متقارن می‌باشد. به نظر می‌رسد گونه *A. elegans* با داشتن کاریوتیپ متقارن نسبت به دو گونه دیگر یک گونه جدید باشد.

### پاورقی‌ها

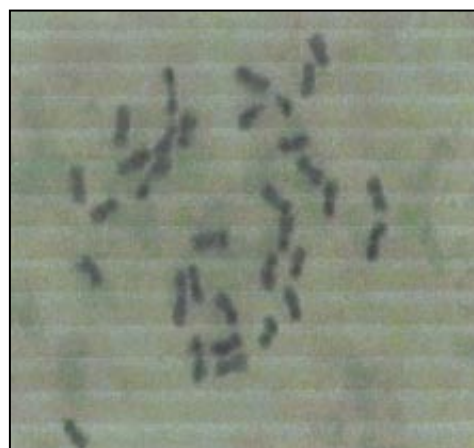
- 1- Lewitsky
- 2 - Stebines



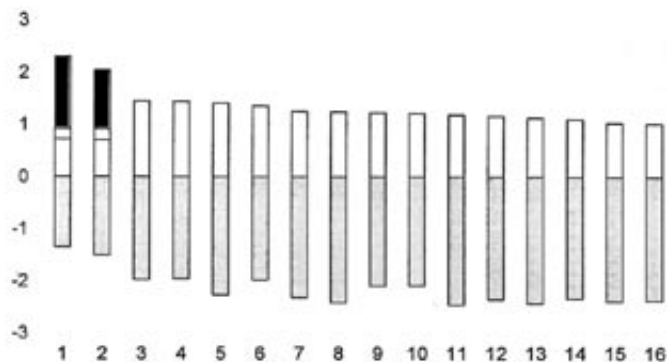
شکل شماره ۱- کروموزومهای متافازی گونه *A. aznabjurtieus*



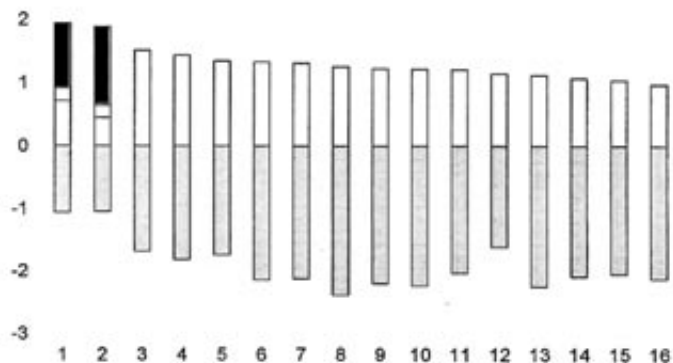
شکل شماره ۲- کروموزومهای متافازی گونه *A. cancellatus*



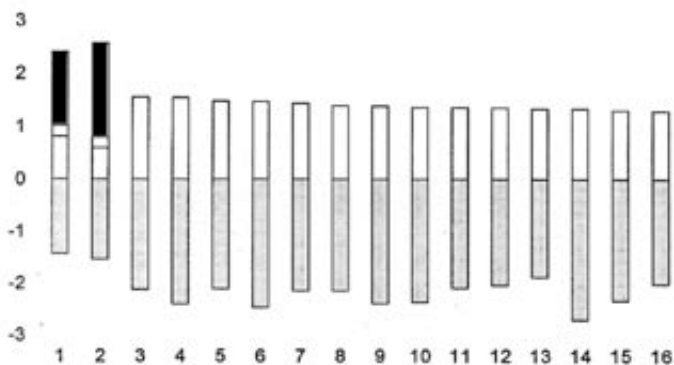
شکل شماره ۳- کروموزومهای متافازی گونه *A. elegans*



شکل A



شکل B



شکل C

شکل شماره ۴- ایدیوگرام هاپلوئید گونه‌های *A. aznabjurtieus*، *A. cancellatus* و *A. elegans*

جدول شماره ۱- گونه های گون مورد مطالعه

ارتفاع محل	محل جمع آوری شده	شماره هر بار یومی مرکز تحقیقات تبریز	گونه
۱۵۰۰	ایستگاه تحقیقاتی خواجه	۸۳۱۰	<i>Astragalus (Malacothrix) aznabjurtieus</i>
۱۹۵۰	ارتفاعات ورزقان	۸۳۰۱	<i>Astragalus (Onobrychium) cancellatus</i>
۱۹۵۰	کوه میشو	۸۲۹۷	<i>Astragalus (Malacothrix) elegans</i>

جدول شماره ۲- شاخص های عدم تقارن ( $A_1, A_2$ )، کلاس تقارن (SC)، درصد شکل کلی (%TF)، درصد بازوی کوتاه (%S) دامنه طول نسبی کروموزومها (%DRL)، میزان کروماتین نسبی (VRC) و فرمول کاریوتیپی در گونه های مورد مطالعه گون

گونه	زادگاه	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	SC	%S	TF%	DRL%	VRC	فرمول کاریوتیپی
<i>Astragalus aznabjurtieus</i>	ایستگاه تحقیقاتی خواجه	۰/۴۵۳۶	۰/۰۳۶۱	A <sub>۲</sub>	۳۵/۱۴۳۳	۳۳/۳۰۶۳	۰/۶۶۳۲	۳/۴۹۰۷	۴m+۱۲ Sm
<i>Astragalus cancellatus</i>	ارتفاعات ورزقان	۰/۳۹۴۸	۰/۰۷۳۱	A <sub>۲</sub>	۳۷/۴۴۵۷	۳۵/۵۱۲۳	۱/۶۹۶۳	۳/۲۲۲۵	۸m+۸ Sm
<i>Astragalus elegans</i>	کوه میشو	۰/۳۸۹۵	۰/۰۷۰۵	A <sub>۲</sub>	۳۷/۹۵۶۹	۳۵/۶۴۷۱	۱/۵۱۲۸	۳/۶۶۸۰	۱۰m+۶ Sm

numbers of flowering plants.

- 7- Gennur, M.N., S N, Kadapa. A.F. Habit and J.V. Goud. 1988; Karyomorphological studies in Asiatic cotton II. Karyotypic analysis of species and races of Asiatic cottons based on nucleolar chromosome and symmetry of karyotype. Cytologia, 53:107-114
- 8- Hieter, P. and T. Griffiths, 1999; Polyploidy more is more of less. Science, 285: 210-211.
- 9- Huziwara, Y. 1962; Karyotype analysis in some genera of compositae, VIII Further studies on the chromosome of Aster. Amer. J. Bot, 49:116-119.
- 10- John, C.K. 1989; Cytological studies in the genus alysicarpus. Neck. PhD thesis. Poona University. India.
- 11- Massoumii, A.K. 1987; Notes on the genus astragalus in Iran. Cytotaxonomic studies of some species. Iran. Journ. Bot, 3: 117-128.

### منابع مورد استفاده

- ۱- رمک معصومی، علی اصغر. ۱۳۶۵؛ گون های ایران جلد ۱، ۲ و ۳. وزارت جهاد سازندگی، مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع.
- ۲- رمک معصومی، علی اصغر، ۱۳۶۸؛ مطالعاتی درباره جنس گون (*Astragalus*) در ایران (۴) سیتوتاگزونومی تعدادی از گونه ها. ژورنال گیاه شناسی، جلد ۴ شماره ۲، وزارت جهاد سازندگی، مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع.
- ۳- کیانی نژاد، فرشته. ۱۳۶۴؛ بررسی گون های ایران (سکسیون *Microphysa*). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید بهشتی - دانشکده علوم - گروه زیست شناسی.
- ۴- گلدسته، مریم. ۱۳۷۶؛ سیتولوژی، مورفولوژی و الکتروفورز چند جنس از تیره *Solanaceae*. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شهید بهشتی - دانشکده علوم - گروه زیست شناسی.
- 5- Blath, P.G. (1988-1989), (1975-1978); Index of plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden.
- 6-Bolkhovskikh, Z, V. Grif, T. Matveieva, 1969; chromosome

