بررسی کاریولوژیکی بعضی از جمعیتهای گونه های تتراپلوئید جنس اسپرس (*Onobrychis*) موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران

سید محسن حسام زاده حجازی* و مهدی ضیایی نسب

تهران، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، بانک ژن

تاریخ دریافت: 86/6/11 تاریخ پذیرش: 87/9/5

چکیده

جنس اسپرس دارای حدود 342 گونه می باشد که از نظر مورفولوژی و کاریولوژی تنوع زیادی را نشان می دهد. برای بررسی تنوع کاریولوژیکی از سیستم آنالیز تصویری استفاده شد. بدین منظور بذور 19 جمعیت متعلق به 5 گونه مختلف کشت شد و پس از جوانه زنی بذور از مریستم انتهایی ریشه برای مطالعات کاریولوژیکی استفاده شد. تعداد کروموزومهای پایه در جمعیتهای مورد بررسی x=7 بود و همگی دارای 28 کروموزوم، اما از تنوع کروموزومی قابل توجهی برخوردار بودند که این امر بیانگر وجود تنوع بین گونه ای و درون گونه ای است. دو گونه (6012) *O. persica* و (6014) *O. viciaefolia* به ترتیب دارای بیشترین و کمترین ارزش نسبی کروماتین بودند و دو گونه (3026) *O. viciaefolia* با فرمول کاریوتیپی 16m+10sm+2st و (3396) *O. sativa* با فرمول کاریوتیپی 28m نیز به ترتیب نامتقارن ترین و متقارن ترین کاریوتیپ (از لحاظ تقارن درون کروموزومی) را نشان دادند. جمعیت (2399) *O. sativa* با داشتن بیشترین تغییرات بین کروموزومی از نامتقارن ترین کاریوتیپ از لحاظ بین کروموزومی، برخوردار بود. جمعیت مذکور به همراه جمعیت (182) *O. sativa* برخلاف سایر جمعیتها که در کلاس A قرار گرفته بودند، کلاس B را بخود اختصاص دادند که این امر مؤید عدم تقارن بین کروموزومی در آنها است. تجزیه واریانس داده های حاصل از اندازه گیری صفات کروموزومی بیانگر اختلاف معنی دار بین جمعیتها از لحاظ کلیه صفات کروموزومی در سطح 1 درصد بود. با توجه به تنوع موجود در جمعیتها, در تجزیه به مؤلفه های اصلی, دو مؤلفه اول و دوم, در مجموع 99 درصد از این تنوع را توجیه نمودند به طوری که در مؤلفه اول, صفات طول کل کروموزوم و طول بازوی بلند و در مؤلفه دوم صفات طول بازوی کوتاه، نسبت بازوها و شاخص سانترومری دارای بیشترین اهمیت بودند. در تجزیه خوشه ای به روش UPGMA (Cophenetic Value: r = 0.73) براساس صفات کاریوتیپی، با برش دندروگرام در فاصله 2/43 جمعیتها در سه گروه متمایز قرار گرفتند که براین اساس جمعیتهای(3026) *O. viciaefolia*, (281) *O. sativa* ، (6012)*O. persica*, (2759) *O. persica* و (242) *O. major* در کلاس1, جمعیتهای (2399) *O. sativa* و (2260) *O. altissima* در کلاس 2 و سایر جمعیتها در کلاس 3 قرار گرفتند. در این بررسی کمترین فاصله(0/053) بین دو جمعیت (2985) *O. sativa* و (3002) *O. sativa* و بیشترین فاصله (4/09) بین دو گونه (2260) *O. altissima* و (242) *O. major* مشاهده شد. در تجزیه خوشه ای به روش UPGMA (r = 0.75) بر اساس دو پارامتر A_1 و A_2 با برش دندروگرام در فاصله 1/56 جمعیتها از لحاظ تکاملی در سه گروه متمایز قرار گرفتند. بر این اساس جمعیتهای (1586)*O. sativa* و(3981) *O. sativa* کمترین مقدار فاصله (0/278) را نشان دادند در حالی که بیشترین فاصله (2/46) بین دو گونه (2260) *O. altissima* و (1586) *O. sativa* مشاهده شد.

واژه های کلیدی: اسپرس, تجزیه کلاستر, تتراپلوئید، کاریولوژی، Fabaceae

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: 5-44195901-021، پست الکترونیک: smhessamzadeh@rifr-ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

جنس اسپرس در ایران حدود 56 گونه علفی یک ساله و چند ساله دارد که دارای ارزش علوفه ای و مرتعی فوق العاده هستند. اسپرس یا Sainfoin به زبان فرانسه به معنی علوفه سالم است که به خاصیت این گیاه در تغذیه دامهای بیمار اشاره دارد. نام کلی اسپرس به تمامی گونه های جنس *Onobrychis* اطلاق می شود. اگرچه تعدادی از گونه ها از نظر مورفولوژی با هم تفاوت دارند ولی به طور عمده مشابه یکدیگر می باشند. گونه های زراعی این جنس *O. sativa* و *O. viciaefolia* هستند که بومی ارمنستان در آسیای جنوب مرکز ی بوده و در غالب مناطق مدیترانه، مخصوصاً خاورمیانه رشد می یابند. گونه *O. sativa* یکی از منابع تولید کننده عسل در اقصی نقاط جهان است. این گونه، غنی از تانن متراکم در برگها بوده که باعث جلوگیری از تجزیه پروتئین در شکمبه دام شده و باعث کاهش تخمیر شکمبه ای و جذب پروتئین بیشتر در روده کوچک دام می شود. اسپرس در ایران در استانهای اردبیل،کردستان، شهرکرد، آذربایجان شرقی وغربی، اصفهان، تهران، قزوین، زنجان و در مناطق سردسیر کشور کشت می شود. در تعیین روابط خویشاوندی بین گونه های یک جنس، تعداد کروموزومها به تنهایی کفایت نمی کند, بلکه باید اطلاعاتی مانند اندازه، مورفولوژی، تنوع در رنگ پذیری، محل سانترومر و رفتار کروموزومها مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گیرد. بنابراین یک تاکسونومیست با کمک اطلاعات مورفولوژیکی و آگاهی از وضعیت کروموزومهای گیاهان داخل یک گونه، به مطالعهٔ روابط بین گیاهان مورد علاقه خود می پردازد و یک به نژادگر نیز با اطلاعاتی که از مطالعات سیتوژنتیکی به دست می آورد به راحتی تصمیم می گیرد که در یک برنامهٔ تلاقی بین گونه ای برای ایجاد نتاج بارور از کدام گونه ها استفاده نماید؟ یا اینکه کدام کروموزوم واجد ژن دلخواه است؟ انجام مطالعات سیتوژنتیکی در گونه های گیاهی و همچنین جمعیتهای متعلق به آنها، به ویژه گیاهان وحشی و بومی به دلیل فراهم نمودن اطلاعات کمی روی تاریخچهٔ تکاملی گیاه، تعیین قرابتهای بین گونه ای، تعیین مشخصات کاریولوژیکی و غیره از اهمیت فوق العاده ای بر خوردار است (14).

اختلاف در اندازه کروموزوم می تواند نشان دهنده اختلاف موجود در انواع فرآورده های ژنی یا پروتئین هایی باشد که فرد تولید می کند. اختلاف در خواص رنگ پذیری، اغلب نشان دهنده اختلاف در زمان بیان ژن است. تفاوت های موجود در مورفولوژی کاریوتیپ نشان دهنده اختلافات در آرایش ژنها است که می تواند به طور مؤثر بر روی روشی که ژنها در وراثت مندلی تفرق و نوترکیبی حاصل می کنند، اثر نماید. به بیان ساده اختلافات کروموزومی نشان دهنده اختلافات موجود در منابع گوناگون ژنتیکی است ولی اختلافات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و شیمیایی نشان دهنده اختلاف در فرآورده های حاصل از عمل ژن می باشد که با اثرات محیطی قابل تغییر می باشد. همانگونه که مطالعات کاریوتیپی به منظور مقایسهٔ افراد یک گروه و آشکار شدن سیر تکاملی کروموزومهای تشکیل دهندهٔ ژنوم آنها در میان گونه های مختلف حائز اهمیت است، در جمعیتهای متعلق به یک گونه نیز به دلیل آنکه جمعیتهای مختلف یک گونه، هر یک سازش ژنومی خاص خود را با محیطی که در آن می رویند، نشان می دهند، از اهمیت و ارزش بالایی برخوردار است.

اولین مطالعه کروموزومی اسپرس, بر روی گونه *O. crista-galli* صورت گرفت و تعداد کروموزوم $2n=2x=14$ گزارش شد. در تحقیقات بعدی بر روی این گونه اعداد کروموزومی $2n=2x=16$ (4) و $2n=4x=32$ (5). نیز مشاهده گردید(2). شمارش و بررسی کروموزومی در 6 گونه مختلف اسپرس نشان دهنده عدد پایه کروموزومی

Archive of SID

www.SID.ir

x=7 و x=8، تیپ کروموزومی متاسانتریک تا ساب متاسانتریک و دامنه طول کروموزومی 1/6 تا 2/6 میکرومتر در این جنس بود(1). همچنین بررسی های صورت گرفته در گونه *O. altissima* نشان داد این گونه با پایه کروموزومی x=7، تتراپلوئید می باشد(11). بررسی سیتوژنتیکی بر روی گونه *O. viciaefolia* توسط محققین زیادی صورت گرفته است. اولین تحقیق در مورد آن در سال 1937 بود که تعداد کروموزومهای این گونه را 2n=2x=14 اعلام نمودند ولی در تحقیق دیگری که در سال 1939 انجام گرفت تعداد کروموزومهای این گونه 2n=4x =28 گزارش شد(4). در سال 1968 در بررسی سیتولوژیکی که روی تعدادی از گونه های اسپرس صورت گرفت تعداد کروموزومهای گامتی گونه *O. viciaefolia* برابر 14 و تعداد کروموزومهای سوماتیکی آن برابر 2n=4x=28 اعلام شد (3). در سال 1989 مجدداً عدد کروموزومی 28 برای گونه اسپرس علوفه ای(*O. viciaefolia*) مورد تأئید قرار گرفت (7). گزارش دیگری در سال 1993 در مورد تعداد کروموزومهای گونه زراعی(*O. sativa*) اسپرس انتشار یافت که حاکی از 28 کروموزومی بودن این گونه می باشد (6). بررسی کاریولوژیکی روی گونه*O. persica* به دلیل انحصاری بودن آن در ایران، تاکنون صورت نگرفته است. همچنین گونه *O. major* مورد بررسی سیتوژنتیکی قرار نگرفته است و این گزارش احتمالاً اولین گزارشی است که در مورد این گونه ها ارائه می شود.

با توجه به مطالب بالا عمده ترین اهدافی که در این بررسی دنبال شده است عبارتند از:

1- مطالعه کاریوتیپ و بررسی سیتوژنتیک برخی از گونه ها و جمعیتهای تتراپلوئید جنس *Onobrychis*

2- تعیین کاریوتیپ تاگزون ها (جمعیتها) به منظور تعیین عدد کروموزومی، مطالعه شکل و اندازه کروموزومها

3- یافتن دوری یا نزدیکی گونه ها و جمعیتها، از طریق روش های آماری تجزیه چند متغیره

مواد و روشها

در این تحقیق 19 جمعیت متعلق به 5 گونه تتراپلوئید از جنس اسپرس، مورد مطالعه کاریولوژیکی قرار گرفت که اسامی آنها به همراه کد بانک ژن و محل جمع آوری در جدول 1 ارائه شده است.

جدول دو طرفه Stebbins برای مقایسه تقارن کاریوتیپ

کوچکترین کروموزوم/ بزرگترین کروموزوم	نسبت کروموزوم های با Arm ratio بزرگتر از 2			
	0	0/01-0/50	0/51-0/99	1
<2:1	1A	2A	3A	4A
2:1-4:1	1B	2B	3B	4B
>4:1	1C	2C	3C	4C

بذور جمعیتهای مورد بررسی، پس از ضد عفونی با هیپوکلریت سدیم 15 درصد به مدت 5 دقیقه روی کاغذ صافی داخل پتری دیش، تحت شرایط کنترل شده با رطوبت 70 درصد، دمای 23 درجه سانتی گراد و دوره نوری 16 ساعت کشت شدند. پس از جوانه زنی و رشد ریشه به طول 1- 1/5 سانتیمتر، قسمت انتهایی ریشه جدا گردید و به ترتیب مراحل پیش تیمار (0/5 درصد محلول اشباع شده در آب آلفا برومونفتالین)، تثبیت (محلول لویتسکی مرکب از محلول کرومیوم تری اکسید و فرمالدئید 40 درصد به نسبت 2:1)، هیدرولیز (هیدروکسید سدیم یک نرمال در دمای 60 درجه سانتی گراد به مدت 6 دقیقه) و رنگ آمیزی (مخلوط هماتوکسیلین 4 درصد و یک گرم سولفات آمونیم فریک) روی نمونه ها انجام شد و پس از تهیه اسلاید به روش اسکواش، تصاویر کروموزومی تهیه گردید (10) و اندازه گیریهای کروموزومی با استفاده از سیستم آنالیز تصویری و

Archive of SID
www.SID.ir

با بزرگنمایی *1908 x* انجام شد (میکروسکوپ Olympus BH-2 ،ویدئو دوربین مدل SSC,DC18P).

جدول 1 – ویژگی های کاریوتیپی به همراه پارامترهای سنجش تقارن در جمعیتهای مختلف جنس *Onobrychis*

جمعیت	جمع آوری	DRL	VRC	%TF	A_1	A_2	SC	فرمول کاریوتیپی
O. altissima Grossheim (2260)	زنجان	3/97	3/01	38/98	0/349	0/160	2A	24m+4sm
O. major Boiss (242)	مرند	4/01	3/65	40/39	0/314	0/156	2A	24m+4sm
O. persica Sirjaev (2759)	همدان	4/84	3/39	39/09	0/333	0/197	2A	18m+10sm
O. persica Sirjaev (6012)	تبریز	2/81	4/04	38/71	0/354	0/201	2A	20m+8sm
O. sativa Lam. (182)	کرج	5/57	3/03	40/80	0/301	0/193	1B	22m+6sm
O. sativa Lam. (281)	همدان	3/54	3/85	39/10	0/348	0/174	2A	24m+4sm
O. sativa Lam. (1586)	گرگان	2/97	2/94	41/66	0/275	0/115	1A	24m+4sm
O. sativa Lam. (1601)	گرگان	3/39	3/17	40/31	0/307	0/141	2A	24m+4sm
O. sativa Lam. (1763)	ارومیه	2/51	3/09	40/28	0/324	0/097	1A	24m+4sm
O. sativa Lam. (2399)	کرج	6/07	3/16	37/86	0/366	0/210	2B	20m+6sm+2st
O. sativa Lam. (2979)	زنوز	3/07	3/43	42/08	0/264	0/126	1A	24m+4sm
O. sativa Lam. (2985)	تبریز	3/33	2/68	41/59	0/282	0/128	1A	28m
O. sativa Lam. (3001)	کرج	4/64	3/09	40/16	0/323	0/172	1A	26m+2sm
O. sativa Lam. (3002)	کرج	3/74	2/68	41/62	0/279	0/138	1A	24m+4sm
O. sativa Lam. (3396)	چهار محال	3/03	2/71	42/91	0/242	0/117	1A	28m
O. sativa Lam. (3981)	کرج	2/78	3/09	42/29	0/264	0/113	1A	28m
O. viciaefolia Scop. (3013)	کرج	3/37	3/08	40/85	0/302	0/123	1A	28m
O. viciaefolia Scop. (3026)	کرج	3/58	3/85	37/18	0/396	0/159	2A	16m+10sm +2st
O. viciaefolia Scop. (6014)	تبریز	4/23	2/48	41/41	0/277	0/185	1A	28m

جدول2 –تجزیه واریانس ویژگیهای کاریوتیپی اندازه گیری شده در جمعیتهای مورد مطالعه بر پایه طرح CRD نامتعادل

		صفات					
منابع تغییرات	درجه آزادی	LA	SA	TL	AR	CI
جمعیت	18	0/19**	0/05**	0/49**	0/023**	0/0009**
اشتباه	46	0/04	0/02	0/11	0/006	0/0002
ضریب تغییرات		11/29	10/17	10/53	5/463	3/273

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال 1 درصد

پس از تهیه متافازهای مناسب و کاریوتیپ برای هر جمعیت (حداقل3 کاریوتیپ)، با استفاده از نرم افزار Micromeasure، طول کل کروموزوم (TL) ، طول بازوی بلند (LA) ، طول بازوی کوتاه (SA) ، نسبت بازوها (AR:L/S) و شاخص سانترومری (CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است، محاسبه گردید. در این بررسی برای تعیین وضعیت تکاملی و مطالعه تقارن کاریوتیپی جمعیتها از جدول دو طرفه Stebbins استفاده شد (14) و پارامترهای اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم (DRL) ، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (A_1) ، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A_2)(13) و درصد شکل کلی (%TF) (8) محاسبه گردید. برای تعیین نوع کروموزومها نیز از روش Levan استفاده شد (9). به منظور تجزیه آماری داده های حاصل از اندازه گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی

Archive of SID

www.SID.ir

نامتعادل (با حداقل 3 تکرار) و برای 5 صفت طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، نسبت بازوها و شاخص سانترومری انجام شد. مقایسه میانگین صفات نیز با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (در سطح احتمال1 درصد) انجام گرفت. برای تعیین سهم هر یک از صفات اندازه گیری شده در ایجاد تنوع بین جمعیتها، تجزیه به مؤلفه های اصلی و برای گروهبندی آنها پس از تعیین مقدار ضریب Cophenetic تجزیه کلاستر (UPGMA) انجام گرفت. تجزیه آماری داده ها توسط نرم افزارهای SAS، JMP و NTSYS انجام شد.

نتایج و بحث

تصاویر متافاز میتوزی به همراه کاریوگرام و ایدیوگرام جمعیتهای مورد بررسی به ترتیب در شکلهای 1و2 و نتایج حاصل از تجزیه کاریوتیپی آنها در جدول 1 ارائه شده است. بر این اساس همه جمعیتها تتراپلوئید بوده و دارای تعداد کروموزوم پایه x=7 بودند.

در مورد گونه *O. viciaefolia* بعضی محققین سطح پلوئیدی آن را دیپلوئید با 14 کروموزوم بیان نموده اند(4). در این تحقیق مشخص شد سطح پلوئیدی این گونه در ایران تتراپلوئید می باشد که این موضوع توسط تحقیقات انجام شده طی سالهای 1937-1993 مورد تأئید می باشد.

اصولاً از مشخصات گونه ها ی مورد بررسی در این تحقیق خصوصاً گونه *O. sativa*، داشتن یک یا دو جفت قمر قابل مشاهده است دو گونه (6012) *O. persica* و (6014) *O. viciaefolia* به ترتیب دارای بیشترین و کمترین ارزش نسبی کروماتین (VRC) بودند.

بررسیهای انجام شده توسط Goldblatt و Johnson در 1993 در گونه *O. viciaefolia* نشان داد این گونه با فرمول کاریوتیپی 24m+4sm, مجموع طول کل کروموزومهای آن 61/74 میکرون, طول کوتاه ترین کروموزوم 1/45 میکرون و طول بلندترین کروموزوم آن 3/41 میکرون می باشد(6). اما در این بررسی مجموع طول کل کروموزومهای گونه *O. viciaefolia* برابر 87/93 میکرون، طول کوتاه ترین و بلندترین کروموزوم به ترتیب برابر2/44 ،4/06 میکرون بوده و دارای فرمول کاریوتیپی 28m و 16 m+10sm+2st می باشد که این امر مؤید تنوع درون گونه ای بسیار در این گونه می باشد. در گونه *O. altissima* مجموع طول کل کروموزومها، طول کوتاه ترین و بلندترین کروموزوم به ترتیب 84/3 ،2/32 ،3/99 میکرون بود. در گونه *O. major* مجموع طول کل کروموزومها، طول کوتاه ترین و بلندترین کروموزوم به ترتیب 102/21 ،2/89 ،4/94 میکرون بود. در گونه *O. Persica* مجموع طول کل کروموزومها، طول کوتاهترین و بلندترین کروموزوم به ترتیب 65/08،2/104، 5/20 میکرون بود. در گونه *O. sativa* نیز مجموع طول کل کروموزومها، طول کوتاهترین و بلندترین کروموزوم به ترتیب 86/11 ،2/44، 4/04 میکرون بود.

از لحاظ تقارن درون کروموزومی گونه (3026) *O. viciaefolia* با فرمول کاریوتیپی 16m+10sm+2st با دارا بودن کمترین درصد شکل کلی و بیشترین میزان شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی, دارای نامتقارنترین کاریوتیپ بود. گونه (3396)*O. sativa* نیز با فرمول کاریوتیپی 28m و دارا بودن بیشترین درصد شکل کلی و کمترین میزان شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی, کاریوتیپ متقارنی را نشان داد. گونه (2399) *O. sativa* با داشتن بیشترین شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی و اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم, از بیشترین تغییرات بین کروموزومی برخوردار بود و نامتقارن ترین کاریوتیپ را از لحاظ بین کروموزومی نشان داد. لازم بذکر است که گونه مذکور به همراه گونه (182) *O. sativa* در کلاس B قرار گرفتند که این امر بیانگر عدم تقارن بین کروموزومی در آنها می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

در جدول1 روند مخالف بین دو پارامتر A_1 و TF% بعنوان پارامترهای عدم تقارن درون کروموزومی و روند موافق بین دو پارامتر A_2 و DRL بعنوان پارامترهای عدم تقارن بین کروموزومی بخوبی مشهود است.

جدول 3- دسته بندی میانگین ویژگی های کاریوتیپی به روش دانکن در سطح 1 درصد در جمعیتهای مورد بررسی

جمعیت	TL	LA	SA	AR	CI
O. sativa (182)	2/98 bcd	1/73 cde	1/20 abc	1/45 bcd	0/40 abc
O. major (242)	3/65 abc	2/09 abcd	1/42 ab	1/47 abcd	0/39bcde
O. sativa (281)	3/81 ab	2/26 abc	1/45 ab	1/55 abcd	0/38 bcde
O. sativa (1586)	2/94 bcd	1/68 cde	1/20 abc	1/41 cd	0/41 abc
O. sativa (1601)	3/17 abcd	1/86 abcde	1/26 abc	1/48 abcd	0/40 abcd
O. sativa (1763)	3/09 abcd	1/76 bcde	1/19 abc	1/48 abcd	0/38 bcde
O. altissima (2260)	3/01 bcd	1/80 abcde	1/15 abc	1/57 abc	0/38 bcde
O. sativa (2399)	3/16 abcd	1/86 abcde	1/13 bc	1/64 ab	0/36 e
O. persica (2759)	3/39abcd	2/07 abcd	1/33 abc	1/56 abcd	0/39 bcde
O. sativa (2979)	3/43 abcd	1/94 abcde	1/41 ab	1/38 cd	0/41 abc
O. sativa (2985)	2/65 d	1/54 de	1/09 bc	1/41 cd	0/41 abc
O. sativa (3001)	3/04 bcd	1/81 abcde	1/21 abc	1/50 abcd	0/40 abc
O. sativa (3002)	2/64 d	1/53 de	1/09 bc	1/40 cd	0/41 ab
O. viciaefolia (3013)	3/08 abcd	1/82 abcde	1/26 abc	1/44 bcd	0/41 abc
O. viciaefolia (3026)	3/85ab	2/35 ab	1/39 abc	1/69 a	0/36 de
O. sativa (3396)	2/71 cd	1/55 de	1/16 abc	1/33 d	0/43 a
O. sativa (3981)	3/07 abcd	1/75 cde	1/29 abc	1/36 cd	0/42 ab
O. persica (6012)	3/99 a	2/37 a	1/50 a	1/58 abc	0/38 cde
O. viciaefolia (6014)	2/48 d	1/46 e	1/03 c	1/42 bcd	0/41 ab

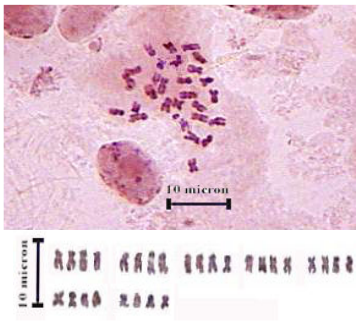
جدول4- مقادیر ویژه, درصد واریانس و ضرایب بردارهای ویژه دو عامل اصلی حاصل از تجزیه به مؤلفه های اصلی

صفات	مؤلفه1	مؤلفه2
TL	0/49	0/26
LA	0/50	0/18
SA	0/41	0/57
AR	0/41	-0/55
CI	-0/42	0/53
مقادیر ویژه	3/91	1/04
درصد واریانس	78/21	20/79
درصد واریانس تجمعی	78/21	99/00

تجزیه واریانس داده های حاصل از اندازه گیری صفات کروموزومی بیانگر اختلاف معنی دار بین جمعیتها از لحاظ کلیه صفات کروموزومی در سطح 1 درصد بود که این امر بیانگر وجود تنوع در اندازه و شکل کروموزومها در میان جمعیتهای مورد مطالعه می باشد. (جدول2). مقایسه میانگین صفات در جمعیتهای مورد مطالعه در جدول 3 ارائه شده است. از نظر صفات طول کل کروموزوم, طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند دو جمعیت (6012) *O. persica* و (6014) *O. viciaefolia* بترتیب دارای بیشترین و کمترین ارزش بودند. از لحاظ پارامتر نسبت بازوها نیز دو جمعیت (3026) *O. viciaefolia* و (3396) *O. sativa* به ترتیب بیشترین و کمترین میانگین را بخود اختصاص دادند. در تجزیه به مؤلفه های اصلی برای تعیین سهم هر یک از صفات کاریوتیپی در تنوع بین جمعیتها، دو مؤلفه اصلی اول و دوم, در مجموع 99 درصد از تنوع موجود بین جمعیتها را توجیه نمودند. مقادیر ضرایب بردارهای

Archive of SID
www.SID.ir

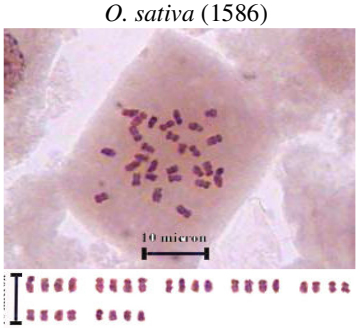
ویژه در مؤلفه اول نشان داد که صفات طول کل کروموزوم و طول بازوی بلند بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیتها داشتند. در مؤلفه دوم نیز صفات طول بازوی کوتاه, نسبت بازوها و شاخص سانترومری با داشتن بالاترین ضرایب بردار ویژه دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیتها بودند (جدول4).



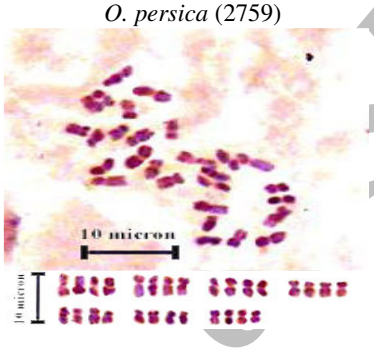
O. sativa (1586)

O. persica (2759)

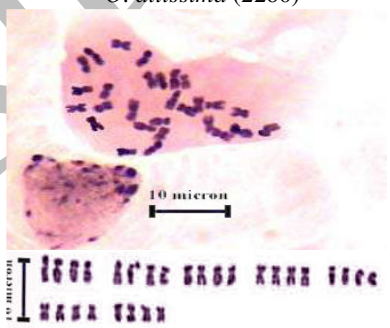
O. altissima (2260)



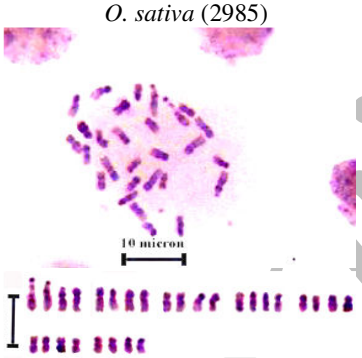
O. sativa (2985)



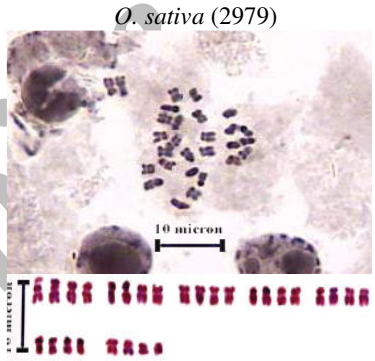
O. sativa (2979)



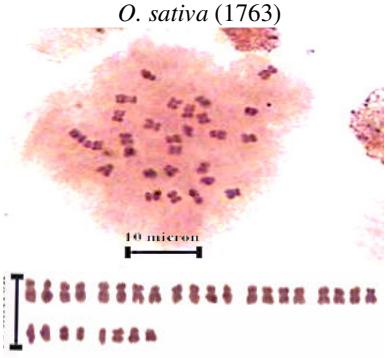
O. sativa (1763)



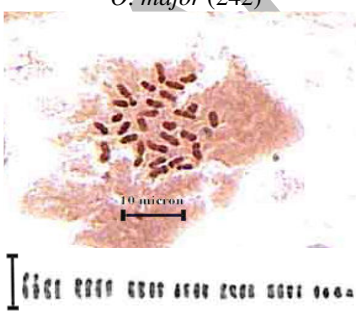
O. major (242)



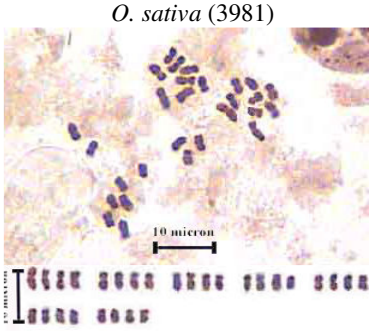
O. sativa (3981)



O. sativa (3396)



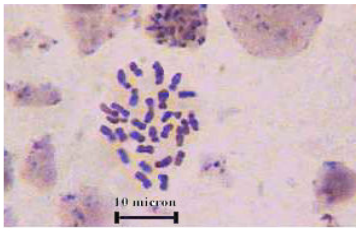
O. sativa (182)



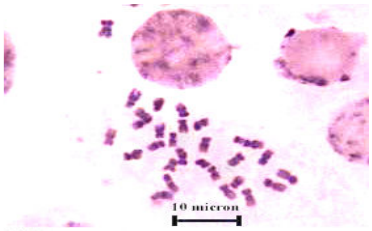
O. viciaefolia (3013)

O. persica (6012)

www.SID.ir

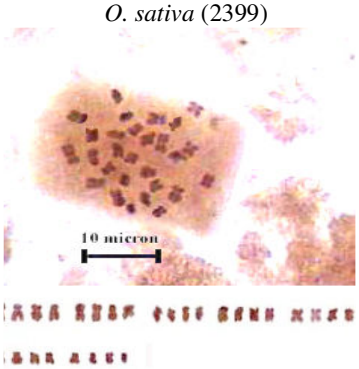


O. sativa (2399)

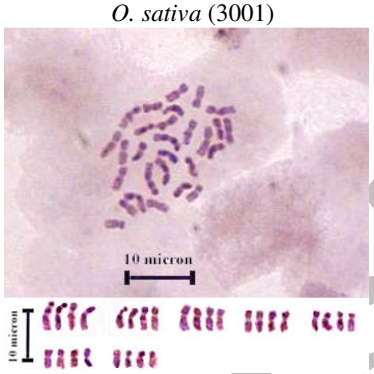


O. sativa (3001)

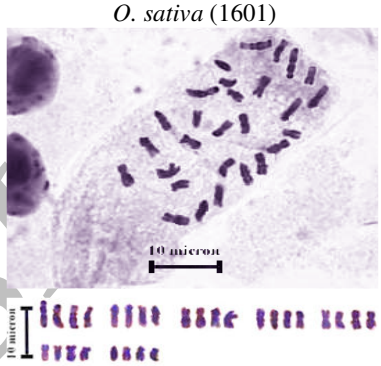
O. sativa (1601)



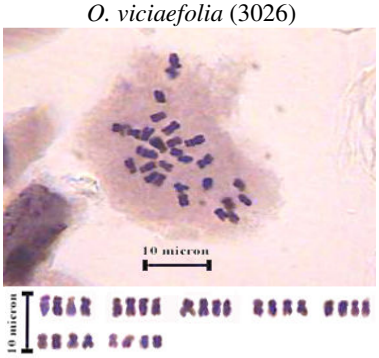
O. viciaefolia (6014)



O. sativa (281)

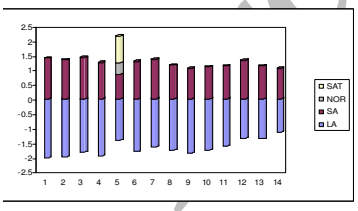


O. viciaefolia (3026)

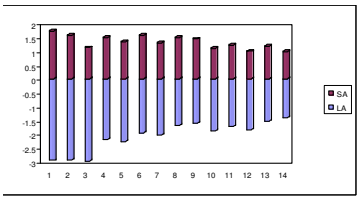


O. sativa (3002)

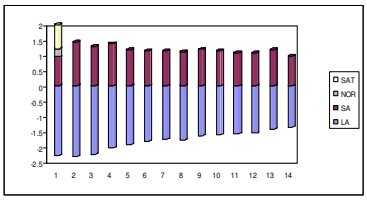
شکل1- تصاویر متافاز میتوزی به همراه کاریوگرام جمعیتهای مورد مطالعه



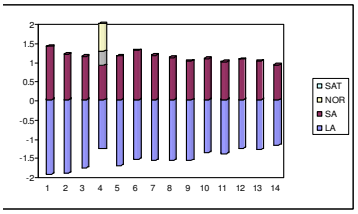
O. sativa (1586)



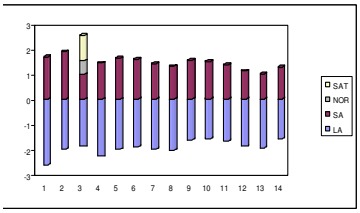
O. persica (2759)



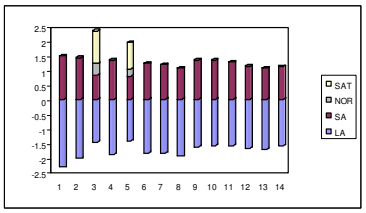
O. altissima (2260)



O. sativa (2985)

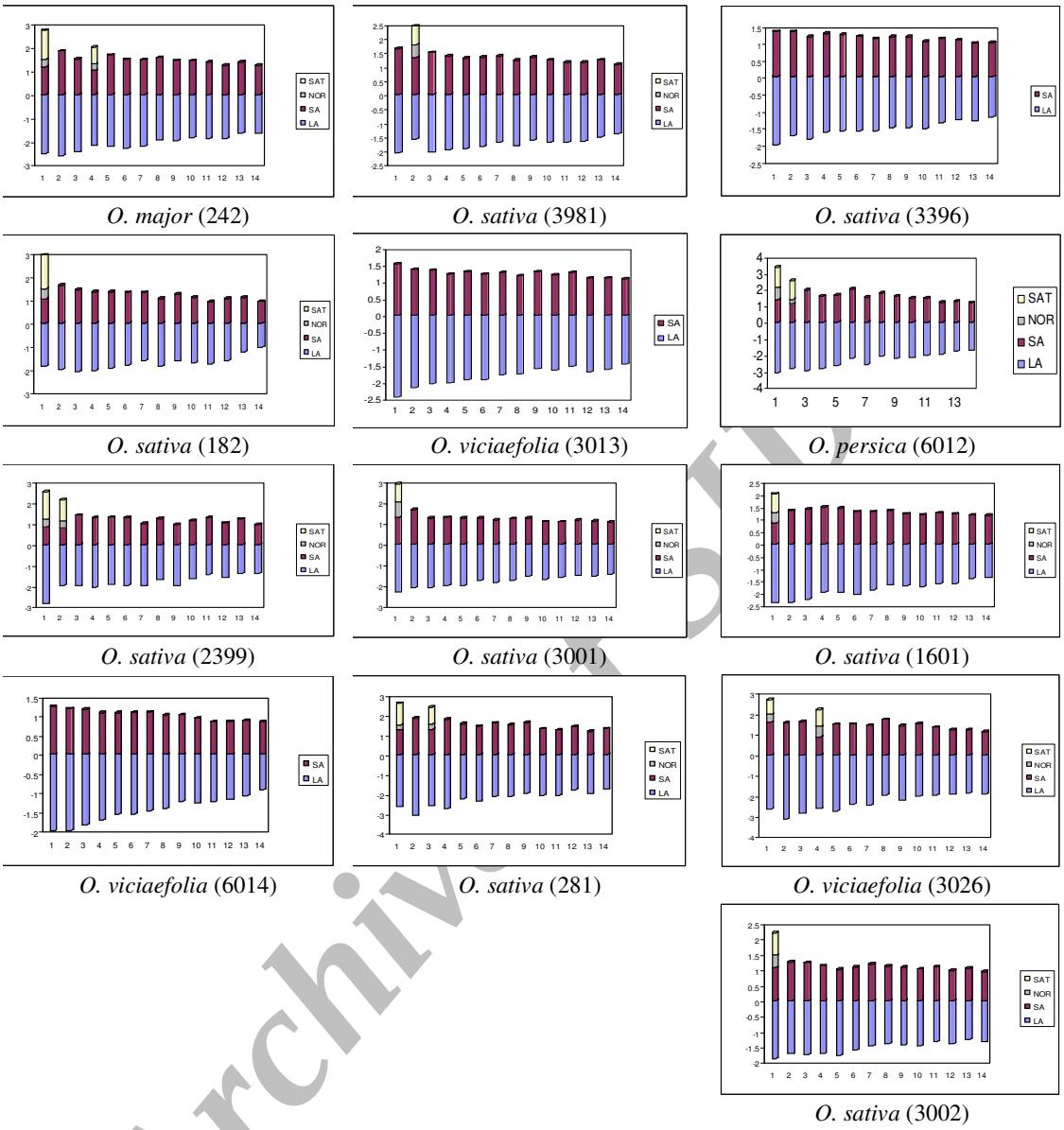


O. sativa (2979)



O. sativa (1763)

www.SID.ir



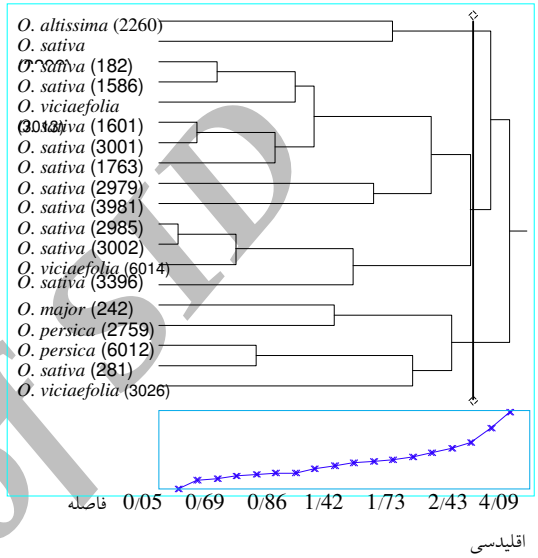
شکل2- ایدیوگرام جمعیت های مورد مطالعه

در تجزیه کلاستر پس از بررسی و تعیین ضریب Cophenetic (r=0.73)، روش UPGMA انتخاب شد و با برش دندروگرام در فاصله 2/43، جمعیتها بر اساس 5 صفت (طول کل، بازوی بلند، بازوی کوتاه، نسبت بازوها و شاخص سانترومری کروموزومها) در سه گروه قرار گرفتند. براین اساس جمعیتهای *O. viciaefolia* (3026)، (281) *O. sativa*، *O. persica*(6012)، *O. persica* (2759) و *O. major* (242) در کلاس 1 واقع شدند که به نظر می رسد این جمعیتها از لحاظ صفات مربوط به طول کل کروموزوم و طول بازوی بلند به دلیل داشتن بالاترین میانگین صفات فوق، از سایر جمعیتها جدا شده اند. جمعیتهای *O. sativa* (2399) و *O. altissima* (2260) در کلاس 2 و سایر جمعیتها در کلاس 3 قرار گرفتند (شکل 3). جمعیتهای کلاس 2 در مقایسه با سایر جمعیتها به طور نسبی از کمترین مقدار بازوی کوتاه همراه با بیشترین مقدار نسبت بازوها برخوردار بودند که این امر

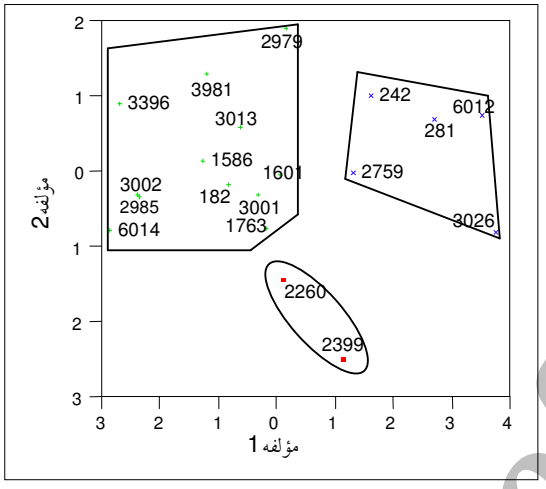
Archive of SID
www.SID.ir

دلیلی بر استقرار جمعیتهای مذکور در گروه جداگانه می باشد. در این بررسی کمترین فاصله بین دو جمعیت *O. sativa* (2985) و *O. sativa* (3002) و بیشترین فاصله بین دو گونه *O. altissima* (2260) و *O. major* (242) مشاهده شد.

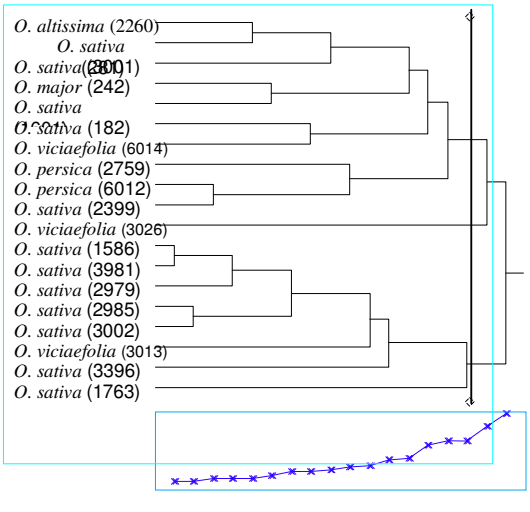
دیاگرام پراکنش جمعیتها براساس دو مؤلفه اول و دوم در شکل 4 نشان داده شده است. در این دیاگرام سه گروه متمایز قابل تشخیص هستند که این امر مؤید نتایج حاصل از تجزیه کلاستر است.

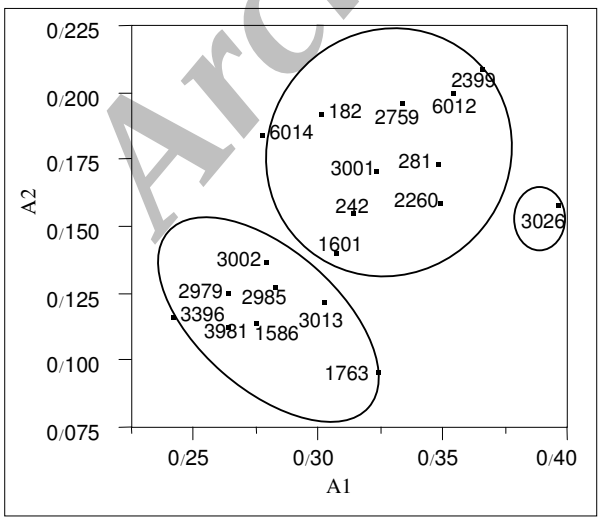


شکل 3- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش UPGMA بر اساس 5 صفت کاریوتیپی جدول 4



شکل 4-دیاگرام پراکنش جمعیتها براساس دو مؤلفه اول و دوم





Archive of SID

www.SID.ir

شکل5- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش UPGMA بر اساس دو پارامتر A_1 و A_2

به منظور گروهبندی جمعیتها از لحاظ تکامل کاریوتیپی، پس از بررسی و تعیین ضریب Cophenetic ($r_{=}0.75$)، تجزیه کلاستر به روش UPGMA براساس دو پارامتر A_1 وA_2 انجام شد و با برش دندروگرام در فاصله 1/56, جمعیتها مجدداً در سه کلاس قرار گرفتند (شکل5). در این بررسی کمترین فاصله بین دو جمعیت (1586) *O.sativa* و (3981) *O. sativa* (0/278) و بیشترین فاصله بین دو گونه(2260) *O. altissima* و (1586) *O. sativa* با مقدار (2/46) مشاهده شد. نتایج حاصل از این گروهبندی, نتیجه به دست آمده از دیاگرام پراکنش جمعیتها بر اساس دو پارامترA_1 وA_2 (شکل6) را تأئید می نماید. همانگونه که از شکلهای 5 و 6 استنباط می شود گونه (3026) *O. viciaefolia* به دلیل داشتن میزان بالای A_1 و در نتیجه بالا بودن تغییرات درون کروموزومی در یک کلاس جداگانه قرار گرفته است.

در خاتمه لازم به ذکر است که این جنس بر طبق فلور ایرانیکا (12) دارای دو زیرجنس به نامهای *Onobrychis* و *Sisyrosema* و هر یک از زیر جنس ها به ترتیب به 4 و 5 بخش مختلف تقسیم شده اند(12). جمعیتهای مورد استفاده در این مقاله همگی متعلق به زیر جنس *Onobrychis* و بخش *Onobrychis* می باشند. لذا از لحاظ

شکل 6-دیاگرام پراکنش جمعیتها بر اساس دو پارامتر A_1 و A_2

خصوصیات و فاکتور های مورفولوژیکی و گیاه شناسی مشابه می باشند اما از نظر کروموزومی و پارامتر های اندازه گیری شده به گروههای متفاوتی تقسیم شده اند. به عنوان مثال حتی جمعیتهای مختلف گونه *O. sativa* بر اساس پارامتر های کروموزومی اندازه گیری شده در یک گروه قرار نگرفتند. علت این امر بیشتر به دلیل اختلاف در طول کروموزومهای آنها تا نسبت بازوهای کروموزومی می باشد. گونه (281) *O. sativa* همانگونه که در شکل 3 مشاهده می شود به طور معنی داری از بقیه جمعیتهای این گونه اختلاف دارد و باعث شده است تا در یک گروه مجزا قرار گیرد. این اختلاف عمدتاً ناشی از صفاتی همچون LA و TL می باشد. لازم به ذکر است با توجه به اینکه بذور این جمعیتها متعلق به مناطق رویشی متفاوت بوده و همچنین این جنس دارای گرده افشانی باز می باشد این تفاوتهای درون گونه ای از نظر پارامتر های سیتوژنتیکی احتمالاً متأثر ازتأثیرات شدید محیطی و مناطق رویشی آنها می باشد. شرایط محیطی متفاوت سبب تغییر در تعداد یا ساختار کروموزومی خواهد شد که بعضی از این تغییرات باعث ایجاد مشکلات اساسی در گیاه می شود و بعضی دیگر روی رفتار گیاه بی اثر است.

منابع

1 - Abou-EL-Enain, M.M. 2002. Chromosomal criteria and their phylogenetic implications in the genus *Onobrychis* Mill, Sect. *Lophobrychis* (Leguminosae) , with special reference to Egyptian species . Botanical Journal of the Linnean Society, 139 (4): 409-414 .

2 - Cao, Z. 1984 . Study of the karyotype of *Onobrychis viciaefolia*. Zhongguo Caoyuan Grassland of China, No. 1, 54-55.

3 - Chapman, S. R. and M. Yuan. 1968. Cytological and morphological variation in breeding stocks of Onobrychis. A Preliminary Report. Montana State University, Bulletin 627, pp. 93-96.

4 - Darlington, C. D. and A. P. Wylie. 1955. Chromosome atlas of flowering Plants. George Alien and Uuwin. LTD.

5 - Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1998. Index to plant chromosome numbers for 1994-1995. Monographs in systematic Botany.Vol. 61. Bot. Gard., St. Louis, Missouri.

6 - Goldblatt, P. and D. E. Johnson.1993. Index to plant chromosome numbers. Monographs in systematic Botany.Vol. 49. Bot. Gard., St. Louis, Missouri.

7 - Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1989. Index to plant chromosome numbers. Monographs in

Archive of SID
www.SID.ir

systematic Botany.Vol. 27. Bot. Gard., St. Louis, Missouri.

8 - Huziwara, Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of compositeae. VIII Further studies on the chromosome of Aster. Amer. J. Bot. 49: 116-119.

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

10 - LÖVE, À. And D. LÖVE. 1975. Plant Chromosomes. J. Cramer, in: der A.R. Gantener verlag kommanditgesellschaft FL-9490 UADUZ.

11 - Ornduff, R. 1966. Index to plant chromosome Numbers for 1965. Regnum Veg.50 Int. Bur. Plant Tax. And Nom.,Utrecht, Netherlands.

12 - Rechinger, K.H., 1984: *Onobrychis* in Flora Iranica. Akademische Druck And Verlagsanstalt Graz- Austria, 157: 387-484.

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

14 - Stebbins, G.L.,1971. Chromosomal evolution in higher plants. Edward Arnold Publisher, London, Ltd.

Karyological Study on several Populations of Tetraploid Species of *Onobrychis* in Natural Gene Bank of Iran

Hesamzadeh Hejazi S.M.*, and Ziaei Nasab M.

Research Institute of Forests and Rangelands(Gene Bank), Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

Sainfoins (*Onobrychis* Adans. , Fabaceae , Faboideae, Hedysareae) are Eurasian perennial herbs. This highly nutritious plant is an important forage crop with comprises approximately 342 species. The germplasm used in this study containing 19 populations from 5 species of *Onobrychis* genus considered by Karyotypic studies. In this study, the Video Analysis System was used for karyotype analysis. The basic chromosome number was $x=7$ in all of the populations but their chromosomal variations was very high. According to Stebbins' categories, the populations number *O. sativa* (2399) and *O. sativa* (182) classified to symmetric class of B and others stand to A. The highest VRC was obtained for 6012 and the lowest was obtained for *O. viciaefolia* (6014) populations. Based on inter chromosomal symmetric, *O. viciaefolia* (3026) had the most asymmetrical and evolutionary karyotypesis and *O. sativa* (3396) had the most symmetrical karyotypesis. Based on intrachromosomal symmetric, *O. sativa* (2399) had the most asymmetrical karyotypesis. The Results of analysis of variance based on unbalanced completely randomized design showed significant differences among the populations for all traits (P<%1). Using principal component analysis, the first two components justify %99 of total variance. In the first component, the total length of chromosome and the length of the long arm, which had the highest coefficients of Eigen vectors, also had the most significant role in total variance. In the second component the feature of the arm ratio, centromer index and length of short arm had the most important part in creating of total variance. By cutting dendrogram resulted from cluster analysis (UPGMA) with Cophenetic value equall to $r=0.73$ based on 5 parameters (TL, LA, SA, AR, CI,) in metric distance 2.43, the populations classified to three classes which certainly the first and the second components had the most significant role in separated classes. The highest distance was obtaind between *O. altissima* (2260) and *O .major* (242) that indicates the least affinity between them. The lowest metric distance value was obtained between two populations of *O. sativa* (2985) and (3002). The diagram of the populations dispersion, based on two first components, the populations were

Archive of SID

www.SID.ir

grouped in three separated groups, which agrees with the results of cluster analysis. By cutting dendrogram produced from cluster analysis (UPGMA) with the r =0.75 based on two parameters (A_1 and A_2) in metric distance 1.56, the populations classified to three classes. The highest distance was obtained between *O. altissima* (2260) and *O. sativa* (1586) which imply the least affinity between them. There was the lowest distance between *O. sativa* (1586) and *O. sativa* (3981).

Keywords: Cluster analysis, Fabaceae, Karyology, *Onobrychis,* Tetraploid.

Archive of SID

www.SID.ir