Archive of SID

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره اول، شماره سوم، تابستان ۱۳۹۰

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی سیتوژنتیکی برخی از گونه های جنس اسپرس در ایران

فرنگیس قنواتی

استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: در ایران جنس اسپرس (*Onobrychis*) دارای ۶۳ گونه یک ساله و چند ساله می باشد که در مناطق مختلف آب و هوایی پراکنش یافته اند. تعدادی از گونه های این جنس دارای ارزش علوفه ای بوده و در کنترل فرسایش و یا به عنوان گیاهان جلب کننده زنبور عسل مورد استفاده قرار می گیرند. این گونه ها تنوع ژنتیکی بالایی داشته و به عنوان یک ذخیره ژنتیکی غنی و ارزشمند می توان از آن ها برای اصلاح گونه های زراعی استفاده کرد. در پژوهش حاضر با شمارش و اندازه‌گیری کروموزم‌های مرحله متافازی میتوز نه گونه اسپرس که بسیاری از آن ها انحصاری ایران می باشند، کاریوتیپ و تقارن گونه ها بررسی می شود.

مواد و روش ها: نه گونه از جنس (اسپرس)، از مناطق طبیعی کشور جمع‌آوری شد و با استفاده از سلول های مریستم انتهایی ریشه آن ها، تعداد و ابعاد کروموزم‌ها در مرحله میتوز اندازه‌گیری و فرمول کاریوتیپی هر گونه تعیین گردید.

یافته ها: تعداد کروموزوم پایه در گونه ها بین x=۷ و x=۸ متغیر و تیپ کروموزوم ها نیز از نوع متاسنتریک تا ساب متاسنتریک بود. از نظر میانگین طول ژنوم، بیشترین مقدار طول ژنوم متعلق به گونه *O. scrobiculata* (۲۴/۲۶) و کمترین میانگین طول ژنوم به گونه *O. lunata* (۱۴/۷۶) تعلق دارد. گونه *O. heliocarpa* با فرمول کاریوتیپی ۱۶m از بیشترین درصد شکل کلی (۴۴/۸۵۶) و کمترین مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (۰/۲۱۸) برخوردار بود و نیز گونه *O. oxyptera* با فرمول کاریوتیپی ۲m+۱۴sm دارای کمترین درصد شکل کلی (۳۲/۵۵۲) و بیشترین شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (۰/۴۸۹) بود. در میان گونه های مورد بررسی گونه های *O.heliocarp* و *O. lunata* بر خلاف سایر گونه ها که در کلاس B استیبنز بودند در کلاس A قرار گرفتند و دارای کاریوتیپ های متقارن تر می باشند که نشان دهنده ابتدایی تر بودن این دو گونه می باشد. گونه *O. oxyptera* در کلاس ۳B قرار گرفته و کاریوتیپ آن به سوی نامتقارنی و پیشرفته بودن میل می کند. در تجزیه خوشه ای به روش Ward بر اساس صفات کاریوتیپی گونه های مورد مطالعه در دو گروه مجزا قرار گرفتند. کمترین فاصله بین گونه های *O. buhseana* و *O. atropatana* و بیشترین فاصله بین گونه های *O. heliocarpa O. oxyptera* مشاهده شد.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این تجزیه جهت رده بندی گونه ها و انتخاب گونه های نزدیک به یکدیگر برای انجام تلاقی بین گونه ای استفاده می شود.

کلمات کلیدی: اسپرس، تجزیه کلاستر، کاریوتیپ

مقدمه

جنس اسپرس به خانواده *Fabaceae* و طایفه *Hedysareae* تعلق دارد. این جنس با دارا بودن بیش از ۱۳۰ گونه چندساله و یکساله در نواحی معتدله شمالی گسترش دارد و مرکز تنوع آن شرق مدیترانه و غرب آسیا می باشد. رشینگر (Rechinger, 1984).

۷۷ گونه را در قالب دو زیرجنس و ۹ بخش معرفی کرد. رنجبر و همکاران (Ranjbar et al., 2004; Ranjbar et al., 2006; (Ranjbar et al., 2007 و امیرآبادی زاده و همکاران (Amirabadizadeh et al., 2006,2009) از جنس *Onobrychis* را به عنوان گونه های جدید از ایران معرفی کردند. در ایران جنس اسپرس دارای ۶۳ گونه یک ساله

آدرس نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، دانشکده ی علوم زیستی، گروه زیست شناسی.
Email: f_ghanavati83@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۲/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۳/۱۷

www.SID.ir

Archive of SID

(۱۳ گونه) و چند ساله (۵۰ گونه) می باشد که در مناطق مختلف آب و هوایی پراکنش یافته اند. تعدادی از گونه های این جنس دارای ارزش علوفه ای بوده و در کنترل فرسایش و یا به عنوان گیاهان جلب کننده زنبور عسل مورد استفاده قرار می گیرند (Lock and Simpson, 1991 Mabberley, 1997; Yakovlev et al., 1996). این گونه ها تنوع ژنتیکی بالایی داشته و به عنوان یک ذخیره ژنتیکی غنی و ارزشمند می توان از آن ها برای اصلاح گونه های زراعی استفاده کرد. ذخیره ژنی این جنس دارای سطوح پلوئیدی متفاوت دیپلوئید و تتراپلوئید با عدد پایه کروموزمی متفاوت ۷، ۸ و ۹ می‌باشد. میرزایی ندوشن و فیاضی درسال ۱۹۹۸ ده جمعیت از گونه *O. sativa* را که از نقاط مختلف ایران جمع آوری شده بود مورد مطالعه سیتوژنتیکی قرار داده و ضمن ارزیابی این جمعیت ها از نظر سطح پلوئیدی و ارائه فرمول کاریوتیپی تعدادی از پارامترهای آماری راجهت ارزیابی تقارن کاریوتیپی جمعیت های مورد مطالعه ارائه نمودند (Mirzaie-Nodoushan and Fayazi, 1998). با بررسی کاریوتیپ ۴ گونه اسپرس نشان داده شد که گونه *O. aucheri ssp.tehranica, O.scrobiculata, O.melanotricha* و *O. oxyptera* دارای ۱۶ کروموزوم هستند و براساس عدد پایه کروموزومی $x = ۸$ گونه های دیپلوئید محسوب می شوند (Ansari et al., 2000). حاتمی ونصیرزاده طی پژوهش هایی در مورد دو زیر گونه *Onobrychis aucheri subsp. tehranica* و *O.aucherisubsp. psammophila* دریافتند که با توجه به خصوصیات ریخت شناسی و صفات کروموزومی در هر دو تاکسون مشخص می شود که این دو زیرگونه با یکدیگر دارای اختلاف ظاهری وکروموزومی بوده بنابراین نمی توان آن ها را به عنوان دو زیرگونه ازیک گونه تلقی کرد (Hatami and Nasirzadeh, 2006). در مطالعه ای دیگر ۱۱ جمعیت گونه های بخش Hymenobrychis جنس Onobrychis مورد ارزیابی قراردادند و نتایج نشان داد بیشترین میانگین طول ژنوم متعلق به گونه *O.chorassanica* (۲۲/۱۴۴میکرون) و کمترین میانگین طول ژنوم به گونه *O.amoana subsp.meshhedensis* (۱۴/۴۰۹میکرون) تعلق دارد. نتایج تجزیه واریانس صفات مربوط به کروموزوم ها نشان داد که بین گونه های مختلف اسپرس از نظر اکثریت صفات در سطح یک درصد تفاوت معنی دار وجود داشت. در میان گونه های مورد بررسی گونه *O.michauxii280* بر خلاف سایر گونه ها که در کلاس A استیبنز بودند در کلاس B قرار گرفت و دارای کاریوتیپ های نا متقارن تر بود. گونه *O. amoena subsp. meshhedensis* با داشتن فرمول کاریوتیپیm ۱۴، قرار گرفتن در کلاس A۱، بیشترین طول نسبی کروموزوم (۶۸/۲۶)، کمترین دامنه طول نسبی کروموزوم (۵/۳۱)، کمترین میزان نامتقارن بودن بین کروموزومی (۰/۱۲) و درصد فرم کلی بالا به عنوان متقارن ترین گونه بود که نشان دهنده ابتدایی تر بودن این گونه می باشد. با توجه به گروه بندی گونه ها بر اساس خصوصیات کروموزومی بیشترین شباهت بین جمعیت های گونه *O.mazanderanica* و کمترین قرابت و نزدیکی بین گونه های *O.mazanderanica* و *O. michauxii* وجود داشت (Ghanavati etal., 2010). در پژوهش حاضر با شمارش و اندازه‌گیری کروموزم‌های مرحله متافازی میتوز نه گونه اسپرس که بسیاری از آنها انحصاری ایران می باشند، کاریوتیپ و تقارن گونه ها بررسی خواهد شد.

مواد و روش ها

۹ گونه اسپرس مورد مطالعه کروموزومی قرار گرفت (جدول ۱). ابتدا برای از بین بردن سختی پوسته بذر، سطح ۱۰۰ عدد از بذر هر جمعیت توسط کاغذ سمباده خراش داده شد و سپس با آب ژاول ضدعفونی گردیدند. بذور تیمار شده در پتری دیش‌های محتوی کاغذ صافی مرطوب قرار گرفت و جهت جوانه‌زنی به ژرمیناتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. پس از ۴۸ ساعت که ریشه‌چه‌ها به اندازه ۱/۵-۱ سانتی‌متر رشد کردند، ریشه‌چه‌ها را جدا کرده و به محلول پیش تیمار ۸- هیدروکسی کینولئین منتقل و به مدت ۳/۵ ساعت در یخچال نگهداری شدند. نمونه ها در ادامه پس از شستشو با آب مقطر در محلول فیکساتور لویتسکی (محلول یک به یک فرمالین ده درصد و اکسید کرم 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. ریشه‌چه‌ها در محلول سدیم هیدروکسید نرمال به مدت ۱۲ دقیقه در حمام آبی ۶۰ درجه سانتی‌گراد هیدرولیز و با هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. برای از بین بردن تیغه میانی و تهیه گسترش

www.SID.ir

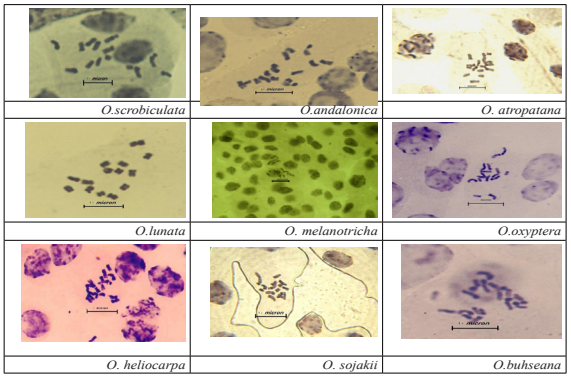
Archive of SID

جدول ۱- اسامی گونه‌های مورد مطالعه و رویشگاه های آن‌ها

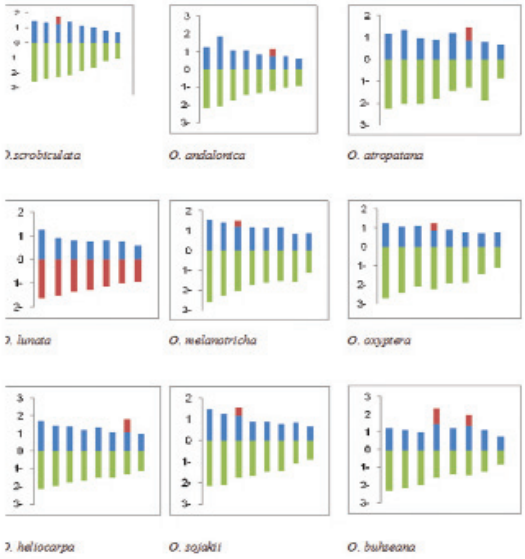
ردیف Row	گونه گیاهی Species	رویشگاه Habitate
1	***O. atropatana*** Boiss.	East Azerbaijan: Zenoz village.
2	***O. scrobiculata*** Boiss.	Khorassan razavi: Mashhad.
3	***O. oxyptera*** Boiss.	Fars: Shiraz, Kamfiroz.
4	***O. sojakii Rech.*** f.	Fars: Shiraz, Hosseinabad village.
5	***O. andalanica Bornm.,*** Beih.	Kordestan: Sanandaj, Abidar mountain, 1700- 1760m.
6	***O. lunata*** Boiss.	Kordestan: Saghez, Malgherni.
7	***O. melanotricha*** Boiss.	Kerman: Khabr†.
8	***O. heliocarpa*** Boiss.	East Azerbaijan: Shabestar, Tezej village.
9	***O. buhseana Bunge ex*** Boiss.	East Azerbaijan: Shabestar, Sophian.

بهتر سلولی ریشه چه ها به مدت یک ساعت در آنزیم سلولاز و پکتیناز قرار گرفتند. و پس از اسکواش، ۱۰-۵ پهنه متافازی میتوز سلول های مریستم نوک ریشه برای هر گونه مطالعه گردید. در تمام نمونه های مورد مطالعه ابتدا تعداد کروموزم‌ها در سلول شمارش شد و پارامتر های کاریوتیپی نظیر طول کل کروموزوم (TL)، اندازه بازوی بلند (LA)، اندازه بازوی کوتاه (SA)، نسبت بازوی بلند به کوتاه (SA)، نسبت بازوی بلند به کوتاه (r-value) و شاخص ضریب سانترومری (CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است توسط نرم افزار Micromeasure بر حسب میکرون اندازه گیری گردید. دیگر پارامترهای کاریوتیپی مانند درصد شکل کلی (TF%)، اختلاف درصد طول نسبی بزرگ ترین و کوچک ترین کروموزوم (DRL%)، طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (S%)، ضریب نامتقارن بودن درون کروموزومی (A1) و بین کروموزومی(A2) محاسبه شدند. در این بررسی برای تعیین وضعیت تکاملی و مطالعه تقارن کاریوتیپی جمعیت ها از جدول دو طرفه Stebbins استفاده شد (Stebbins, 1971). مقایسه میانگین صفات نیز با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن (در سطح احتمال ۱٪) انجام گرفت . برای گروه بندی آن ها تجزیه کلاستر (Ward) انجام شد. تجزیه آماری داده ها توسط نرم افزار SAS انجام شد.

شکل۱- متافاز میتوزی گونه های *Onobrychis*



شکل۲ - ایدیوگرام گونه های اسپرس مورد بررسی



www.SID.ir

Archive of SID

یافته ها

تصاویر صفحه متافازی گونه های مورد مطالعه در شکل ۱ و ایدیوگرام مربوط به آن ها در شکل ۲ ارائه شده است.

این مطالعه نشان داد که هرچند گونه‌ها و جمعیت‌های مختلف اسپرس دارای تعداد متفاوتی کروموزم پایه هستند ولی همگی در داشتن کروموزم‌های کوچک مشترک هستند. با استفاده از نسبت اندازه طول بازوی بلند بر بازوی کوتاه کروموزم‌ها و براساس نظر لوان و همکاران (Levan et al., 1964) فرمول کاریوتیپی گونه‌های مورد بررسی تعیین شد. ویژگی های کاریوتیپی گونه ها نیز در جدول ۲ نشان داده شده است. گونه های *O.scrobiculata* (۲۴/۲۶) و کمترین میانگین طول ژنوم به گونه *O.lunata* (۱۴/۷۶) تعلق دارد. هم چنین نتایج این تحقیق نشان داد که گونه *O.heliocarpa* با فرمول کاریوتیپی ۱۶ m از بیشترین درصد شکل کلی (۴۴/۸۵۶) و کمترین مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (۰/۲۱۸) برخوردار بود و نیز گونه *O. oxypter* با فرمول کاریوتیپی $2m+14sm$ دارای کمترین درصد شکل کلی (۳۲/۵۵۲) و بیشترین شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (۰/۴۸۹) می باشد. مقایسه میانگین اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم نشان داد که بین گونه های مختلف از نظر این صفت اختلاف معنی داری وجود ندارد (جدول ۳).

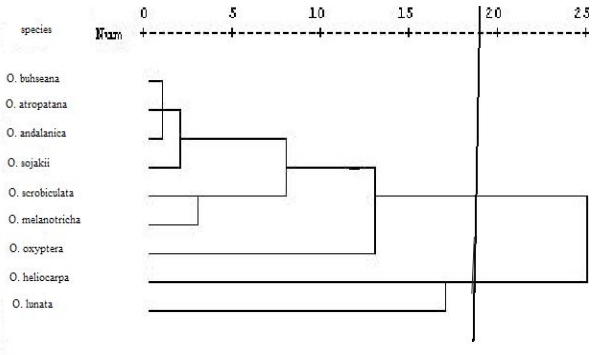
جدول ۲- ویژگی های کاریوتیپی تعداد کروموزوم (2n) ، عدد پایه کروموزومی (x)، کلاس استبینز (SC)، تعداد ماهواره (Sat) و فرمول کاریوتیپی گونه های مورد مطالعه

Row	Species	2n	X	SC	Sat	Karyotype
1	O. atropatana	16	8	2B	2	10m+ 6sm
2	O. scrobiculata	16	8	1B	2	8m+ 8sm
3	O. oxyptera	16	8	3B	2	2m+ 14sm
4	O. sojakii	16	8	1B	2	8m+ 8sm
5	O. andalanica	16	8	1B	2	14m+ 2sm
6	O. lunata	14	7	1A	-	14m
7	*O. melanotricha*	16	8	1B	2	12m+ 4sm
8	O. heliocarpa	16	8	1A	2	16m
9	.O. buhseana	16	8	1B	4	6m+ 10sm

O.heliocarpa ،*O.andalanica* ،*O.lunata* و *O.atropatana* انحصاری ایران می باشند.

از لحاظ تعداد کروموزوم پایه، بین گونه ها عدد پایه کروموزومی ۷و ۸ مشاهده گردید. به طوری که گونه *O.lunata* با عدد پایه کروموزومی x=۷ دارای $2n=2x=14$ کروموزوم و سایرگونه ها با عدد پایه کروموزومی x=۸ تعداد $2n=2x=16$ کروموزوم را نشان داده و همگی دیپلوئید می باشند. تیپ کروموزوم های مورد بررسی در تحقیق حاضر از نوع متاسنتریک تا ساب متاسنتریک می باشد، به طوری که تمام کروموزوم های گونه های *O.lunata* و *O.heliocarpa* از نوع متاسنتریک و سایر گونه ها تلفیقی از متاسنتریک تا ساب متاسنتریک می باشند. از نظر تعداد ستلایت ها گونه *O.buhseana* دارای ۴ ستلایت بوده و سایر گونه ها ۲ ستلایت دارند. مقایسه میانگین طول ژنوم گونه های اسپرس نیز نشان داد که از نظر میانگین ، بیشترین مقدار طول ژنوم متعلق به

گونه های مورد مطالعه با استفاده از روش Stebbins (۱۹۷۱) به لحاظ کاریوتیپی مورد مقایسه قرار گرفتند(جدول۲). به منظور گروه بندی گونه ها تجزیه خوشه ای به روش Ward صورت گرفت (شکل۳).



شکل۳ -دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای گونه های اسپرس بر اساس ویژگی های کاریوتیپی

بر این اساس گونه های مورد مطالعه در دو گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول شامل گونه های *O.heliocarpa* و *O.lunata* بوده

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳ - مقایسه میانگین صفات کاریوتیپی طول کل کروموزوم(TL)، مجموع بازوهای کوتاه (SA)، مجموع بازوهای بلند (LA)، شاخص سانترومری (CI)، نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه (r-value)، درصد فرم کلی (TF٪) ، طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (S٪)، اختلاف دامنه طول نسبی (DRL٪)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A۱)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی (A۲)، طول بلندترین کروموزوم (p)، طول کوتاهترین کروموزوم (q) گونه های مورد مطالعه

ژنوتیپ	TL	SA	LA	CI	r-value	%TF	%S	%DRL	A_1	A_2	P	q
O.atropatano	20.52ab	7.8bc	12.71bc	3.12ab	13.03b	38.21bc	44.62ab	9.29a	0.34bc	0.27ab	3.43ab	1.53b
O.scrobiculata	24.26a	9.02b	15.27ab	3.54a	13.62b	37.16bc	41.79b	9.44a	0.39b	0.283a	4.10a	1.72ab
O.oxyptera	23.53ab	7.65bc	15.7a	2.64b	16.7a	32.55d	49.76ab	8.76a	0.48a	0.24abc	3.95a	1.87ab
O.sojakii	20.601ab	7.97bc	12.4c	3.10ab	12.98b	38.74bc	44.11ab	9.85a	0.35bc	0.27ab	3.62ab	1.57ab
O.andalanica	19.41b	7.52bc	11.88c	3.17ab	12.77b	39.26bc	46.25ab	9.48a	0.33bc	0.281a	3.42ab	1.57ab
O.lunata	14.76c	5.97c	8.79d	2.83b	10.51c	40.53b	53.48a	9.17a	0.301c	0.21bc	2.88b	1.54ab
O.melanotricha	23.77ab	9.36ab	14.41abc	3.19ab	12.45b	39.39bc	46.89ab	9.35a	0.32bc	0.25abc	4.14a	1.95ab
O.heliocarpa	23.23ab	11.68a	11.75c	3.52a	10.33c	44.85a	54.06a	7.67a	0.21d	0.19c	3.89a	2.09a
O. buhseana	20.61ab	7.64bc	12.99bc	3.01ab	13.75b	37.07c	45.87ab	9.35a	0.373bc	0.26ab	3.55ab	ab 1.62

در هر ستون میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج در صد اختلاف معنی داری ندارند.

و سایر گونه های مورد مطالعه درگروه دوم قرار گرفتند.

بحث

برخی از گونه های مورد بررسی انحصاری ایران می باشند که در این تحقیق برای اولین بار مطالعات کروموزومی آن ها انجام شد. نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققین در مورد گونه های دیگر جنس نیز موید نتایج این تحقیق می باشد (Zohary, 1972 Coa, 1984; Goldblatt, 1992-1993; Ansari etal., 1379; Hesamzade and ziainasab, 138). همچنین در این تحقیق مطالعات مربوط به تعیین تقارن گونه ها جهت ابتدایی و یا پیشرفته بودن گونه ها به روش های مختلف انجام شد. بر اساس روش استبینز گونه های *O.heliocarpa* و *O. lunata* بر خلاف سایر گونه ها که در کلاس B استیبنز بودند در کلاس A قرار گرفتند و دارای کاریوتیپ های متقارن تری می باشند که نشان دهنده ابتدایی تر بودن این دو گونه می باشد. گونه *O. oxyptera* در کلاس۳B قرار گرفته و کاریوتیپ آن به سوی عدم متقارن و پیشرفته بودن میل می کند.

در این بررسی برای تعیین دوری و نزدیکی گونه ها تجزیه خوشه ای براساس کلیه صفات کاریوتیپی انجام شد که گونه های مورد مطالعه در دو گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول شامل گونه های *O.heliocarpa* و *O. lunata* بوده و سایر گونه های مورد مطالعه درگروه دوم قرار گرفتند. مشخصه بارز گروه اول نسبت به گروه دوم، داشتن A_1 کوچکتر و میزان درصد شکل کلی بالاتر می باشد، هم چنین شباهت بین گونه های *O.buhseana* و *O.atropatana* و کمترین شباهت بین گونه های *O.oxyptera* و *O.heliocarpa* وجود دارد.

شمارش تعداد کروموزم‌ها و اندازه‌گیری ابعاد آن‌ها و تعیین اختلاف‌های احتمالی بین کروموزم‌های گونه‌های مختلف می‌تواند به عنوان ابزاری در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقی‌های بین گونه‌ای به کار گرفته شود (Lemmi et al., 1995). مطالعات سیتوژنتیکی لازم است تا نتایج حاصل از دورگ‌های بین گونه‌های دیپلوئید و تتراپلوئید به مرحله ثبات و پایداری لازم از نظر ویژگی‌های کاریوتیپی برسد. نتایج حاصل از این تجزیه جهت رده بندی گونه ها و انتخاب گونه های نزدیک به یکدیگر برای انجام تلاقی بین گونه ای استفاده می شود.

www.SID.ir

Archive of SID

Refrences

1- Abou-Enain MM.choromosomal criteria and their phylogenetic implication in the genus Onobrychis Mill sect. Lophobrychis (Leguminosae), with special reference to Egyptian spesies. Botan J Linnean Society, 2002;139:409-414

2- Amirabadizadeh H, Abbasi M, Ranjbar M. A new species of Onobrychis sect. Heliobrychis (Tribe Hedysarae) from Iran. Iran J Rangelands and Forests Plant Breeding and Gene Research, 2006.13. (Full text in Persian)

3- Amirabadizadeh H, Ghanavati F, Abbassi M, Ranjbar M. A new species of Onobrychis Sect. Afghanicae (Fabaceae) from Iran. Iran J Rangelands and Forests Plant Breeding and Gene Research. 2009; 45: 120-124. (Full text in Persian)

4- Ansari F, Nasirzadeh A, Hatami A. Collection, identification and determination of genetic resources of Onobrychis Genus in Fars province. Iran J Rangelands and Forests Plant Breeding and Gene Research, 2002; Vol. 16, No. 2. 131-140. (Full text in Persian)

5- Ansari F, Ahmadian P, Nasirzadeh A. Cytological study of Onobrychis germplasm in Tehran province.Iran J Rangelands and Forests Plant Breeding and Gene Research, 2000;Vol. 5, No. 2. 36-56. (Full text in Persian)

6- Cao ZZ. Study of the karyotype of Onobrychis vicifolia. Zhongguo Caoyuan Grassland of China, 1984;1: 54-55.

7- Chapman SR, Yuan M. Cytological and morphological variation in breeding stocks of Onobrychis. A preliminary Report. Montana State University, Bulletin, 1968; 627:93-96.

8-Ghanavati F, Eskandari H, Bakhshi Khaniki GR, Sorkhi Lalelo B, Amirabadizadeh H. Karyotypic Study of Sect. Hymenobrychis of Onobrychis in Iran. Seed and Plant Improv J, 2010;1-26. (Full text in Persian)

9- Goldblatt P. Index to plant chromosome numbers. Missour Botanical Garden, 1992-1993.

10- Hatami A, Nasirzadeh AR. Change in rank position of two Onobrychis subspecies according to morphological and karyotypic studies in Fars province. Pajouhesh & Sazandegi. 2006; No 75 : 186-191. (Full text in Persian).

11- Hesamzadeh Hejazi SM, Ziaei Nasab M. Cytogenetic study on several populations of diploid species of Onobrychis in natural gene bank of Iran.Iran J Rangelands and Forests Plant Breeding and Gene Research, 2009;Vol. 16, No. 2. 158-179. (Full text in Persian)

12- Lemmi G, Lorenzetti S, Negri V. The annual medic collection of the Istitut de Miglioramento Genetico vegetale of the University of Perugia. Herba, 1995; 8: 43-52.

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

14- Lock JM, Simpson k. Legume of the west Asia: A check-list. Royal Botanical Gardens, Kew.

www.SID.ir

Archive of SID

15-Mabberley DJ. The plant book. A portable dictionary of the vascular plants, ed. 2, Cambridge. 1997.

16-Mirzaie-Nodoushan H, Fayazi MA. Selection indices in some sainfoin (Onobrychis sativa) population.Iran J Rangelands and Forests Plant Breeding and Gene Research, 1998; No. 1. 14-18. (Full text in Persian)

17- Ranjbar M, Amirabadizadeh H, Karamian R, Ghahremani MA. Notes on Onobrychis sect. Heliobrychis (Fabaceae) in Iran. Willdenowia, 2004;34:187-190.

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

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

20-Rechinger KH. Papilionaceae. Flora iranica 157. A (K. H. Rechinger, ed). 1984; Pages 387- 464.

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

22- Stebbins GL. Chromosomal evolution in higher plants. Edwardm Arnold (publisher) Ltd., London. Uk. 1971; 216 pp.

23- Yakovlev GP, Sytin AK, Roskov JR. Legumes of Northern Eurasia, a checklist, Kew.23:kew, 1996;UK542pp

24- Zohary, M. 1972. Flora Palestina Part Two. the Israeel Academy of Scinces and Humanities.

www.SID.ir