دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ١٦، شمارهٔ ٢، صفحهٔ ١٧١-١٥٨ (١٣٨٧)

بررسی سیتوژنتیکی برخی از جمعیت‌های گونه‌های دیپلوئید جنس *Onobrychis* موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران

سید محسن حسام زاده حجازی*[1]، مهدی ضیایی نسب[2]

١* - نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، پست الکترونیک: smhessamzadeh@rifr-ac.ir
٢- کارشناس ارشد اصلاح نباتات، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت:١٣٨٦/٩/١١ تاریخ پذیرش:١٣٨٧/٢/٢٥

Archive of SID

چکیده

جنس اسپرس با نام علمی *Onobrychis* از خانواده Fabaceae، دارای بیش از ٣٤٢ گونه یک ساله و چند ساله است. بین گونه‌های آن از نظر مورفولوژی و کاریولوژی تنوع زیادی وجود دارد. برای بررسی تنوع کاریوتیپی با استفاده از سیستم آنالیز تصویری, بذور ٢١ جمعیت متعلق به ١٤ گونه مختلف کشت و پس از جوانه زنی, از مریستم انتهایی ریشه استفاده شد. تعداد کروموزوم پایه در جمعیت‌ها بین x=٧ و x=٨ متغیر بود. دو نمونه از گونه‌های *O.amoena* و *O.crista-galli* بترتیب دارای بیشترین و کمترین ارزش نسبی کروماتین بودند و دونمونه از گونه‌های *O.crista-galli* با فرمول کاریوتیپی ٢m+٦sm و گونه *O.aucheri* با فرمول کاریوتیپی ٨m نیز بترتیب نامتقارنترین و متقارنترین کاریوتیپ (از لحاظ تقارن درون کروموزومی) را نشان دادند. نمونه‌ای ازگونه *O.hohenackeriana* با داشتن بیشترین تغییرات بین کروموزومی از نامتقارنترین کاریوتیپ برخوردار بود. گونه مذکور به همراه جمعیتی از گونه *O. gypsicola* برخلاف سایر جمعیت‌ها که در کلاس A قرار گرفته بودند کلاس B را بخود اختصاص داد که این امر مؤید عدم تقارن بین کروموزومی در آنها می‌باشد. تجزیه واریانس براساس صفات کروموزومی در قالب طرح کاملا تصادفی نامتعادل با حداقل ٣ تکرار, بیانگر اختلاف معنی دار بین جمعیت‌ها از لحاظ کلیه صفات کروموزومی در سطح ١٪ بود. با توجه به تنوع موجود در جمعیت‌ها, در تجزیه به مولفه‌های اصلی, دو مولفه اول و دوم, در مجموع بیش از ٩٨ درصد از این تنوع را توجیه نمودند بطوریکه در مولفه اول صفات طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه و در مولفه دوم صفات, نسبت بازوها و شاخص سانترومری دارای بیشترین اهمیت بودند. در تجزیه خوشه‌ای (Ward) با ضریب کوفنتیک (r=٠/٧٨) براساس صفات کاریوتیپی, جمعیت‌ها در چهار گروه متمایز قرار گرفتند بطوریکه کمترین فاصله بین دو جمعیت (٤٣٨٤) *O.sintenisii* و (١١٨٣) *O.sintenisii* و بیشترین فاصله بین دو جمعیت (٥٧٨٦) *O. amoena* و (٢٨٦٣) *O. melanotricha* مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: اسپرس, مؤلفه‌های اصلی, تجزیه کلاستر, دیپلوئید، کاریوتیپ

مقدمه

جنس اسپرس در ایران حدود ٥٦ گونه گیاه علفی یکساله و چند ساله دارد که دارای ارزش علوفه‌ای و مرتعی فوق العاده می‌باشد. از نظر مورفولوژی و کاریولوژی بین گونه‌ها و درون گونه‌های مختلف تنوع زیادی وجود دارد لذا استفاده از کروموزوم‌ها به منظور طبقه بندی گیاهان و کمک به حل مشکلات تاکسونومی کلاسیک که در اوایل قرن اخیر مطرح وبتدریج به اهمیت آنها پی برده شد، می‌تواند بسیار مفید

www.SID.ir

باشد. درتعیین روابط خویشاوندی بین گونه‌های یک جنس، تنها تعداد کروموزوم‌ها کفایت نمی کند بلکه باید اطلاعاتی از قبیل اندازه، مورفولوژی، محل سانترومر و رفتار کروموزوم‌ها را مورد بررسی قرار داد. البته این مطالعات زمانی ارزش خواهند یافت که در آن سایر داده‌های سیستماتیکی نیز استفاده شود واین مطالعات یکدیگررا تایید نمایند (Stebbins,1971).

بطورکلی تحقیقات سیتوتاکسونومی، علاوه بر مشخص کردن ارتباط و قرابت بین گونه‌ها، می‌توانند اطلاعات با ارزشی درمورد خزانه ژنی موجود در کشور به منظور بهره‌گیری در بانک ژن فراهم آورد. لذا انجام مطالعات سیتوژنتیکی در گونه‌های گیاهی و همچنین جمعیت‌های متعلق به آنها، خصوصاً گیاهان وحشی و بومی بدلیل فراهم نمودن اطلاعات کمی روی تاریخچهٔ تکاملی گیاه، تعیین قرابت‌های بین گونه‌ای، تعیین مشخصات کاریولوژیکی و غیره از اهمیت فوق العاده‌ای برخوردار است (حسام زاده حجازی و ضیایی نسب، ۱۳۸٦).

اولین مطالعه کروموزومی اسپرس در سال۱۹۳۱ بر روی گونه *O. crista-galli* از جنوب شرقی مدیترانه صورت گرفت و تعداد کروموزوم‌های این گونه ۲n=۲x=۱٤ تعیین شد. مجددا در سال ۱۹۳۸، درتحقیق دیگری بر روی این گونه عدد کروموزومی ۲n=۲x =۱٦ بدست آمد (Darlington & Wylie,1955). اما در سال ۱۹۹٤، پژوهش دیگری روی این گونه انجام گرفت که با نتایج کارهای قبلی کاملاً متفاوت بود. دراین تحقیق، عدد کروموزومی ۲n=٤x=۳۲ مشاهده شد (Goldblatt & Johnson,1998). شمارش و بررسی کروموزومی بر روی ٦ گونه مختلف اسپرس نشان دهنده عدد پایه کروموزومی x=۷ و x=۸ بود و این جنس دارای تیپ کروموزومی متاسانتریک تا ساب متاسانتریک و دامنه طول کروموزومی ۱/٦ تا ۲/٦ میکرومتر بود (Abou - EL- Enain,2002). همچنین بررسی‌های صورت گرفته در گونه *O.altissima* نشان داد این گونه با پایه کروموزومی x=۷, تتراپلوئید می‌باشد (Ornduff,1966). بررسی‌های دیگر نشان می‌دهد که گونه‌های *O.radiata*، *O.bobrovii*، *O.majorovii* و *O.vassilzenkoi* دیپلوئید و دارای ۱٤ کروموزوم می‌باشند(Magulaev,1996). اسپرس مصری (*O.ptolemaica*) نیز از نظر کروموزومی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این گونه دارای ۱٤ کروموزوم می‌باشد(Cave,1957).

در این تحقیق سعی شده با کمی کردن اطلاعات سیتوژنتیکی، تشخیص و تفکیک گونه‌های این جنس دقیق تر صورت گیرد. لذا عمده ترین اهدافی که در این بررسی دنبال شده است عبارتند از:

۱- مطالعه و بررسی سیتوژنتیک برخی از گونه‌ها و جمعیت‌های دیپلوئید جنس *Onobrychis* .

۲- تعیین کاریوتیپ تاگزون‌ها به منظور تعیین عدد کروموزومی، مطالعه شکل و اندازه کروموزوم‌ها.

۳- یافتن دوری یا نزدیکی گونه‌ها و جمعیت‌های درون گونه ای, از طریق روش‌های آماری تجزیه چند متغیره.

بطور کلی آنچه موجب تفاوت این تحقیق و دیگر تحقیقات انجام شده در گذشته است از نظر نتایج بررسی سطوح پلوئیدی، اندازه‌گیری کروموزوم‌ها و شاخص‌های مورد بررسی و بررسی گونه‌های انحصاری در ایران می‌باشد.

مواد و روشها

ژرم پلاسم مورد مطالعه در این بررسی شامل ۲۱ جمعیت متعلق به ۱٤ گونه دیپلوئید از جنس اسپرس بود که پس از تامین بذور آنها از بانک ژن منابع طبیعی, مورد بررسی

Archive of SID

www.SID.ir

سیتوژنتیکی قرار گرفتند. برای این منظور بذور, پس از ضد عفونی با هیپوکلریت سدیم ۱۵٪ به مدت ۲ دقیقه، روی کاغذ صافی داخل پتری دیش، تحت شرایط کنترل شده با رطوبت ۷۰٪، دمای ۲۳ درجه سانتی گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت کشت شدند. پس از جوانه زنی و رشد ریشه به طول ۱- ۱/۵ سانتیمتر، قسمت انتهایی ریشه جدا گردید و به ترتیب مراحل پیش تیمار (محلول ۰/۵٪ آلفا برومونفتالین اشباع شده در آب)، تثبیت (محلول لویتسکی[1] مرکب از محلول کرومیوم تری اکسید و فرمالدئید ۴۰٪ به نسبت ۲:۳)، هیدرولیز (هیدروکسید سدیم یک نرمال در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶ دقیقه) و رنگ آمیزی (مخلوط هماتوکسیلین ۴٪ و یک گرم سولفات آمونیم فریک) روی نمونه‌ها انجام شد و پس از تهیه اسلاید به روش اسکواش، تصاویر کروموزومی تهیه گردید (LÖVE & LÖVE 1975) و اندازه‌گیری‌های کروموزومی با استفاده از سیستم آنالیز تصویری و با بزرگنمایی *۱۹۰۸x* انجام شد.

پس از تهیه متافازهای مناسب و کاریوتیپ برای هر جمعیت (حداقل۳ کاریوتیپ)، با استفاده از نرم افزار Micromeasure، طول کل کروموزوم (TL)[2] ، طول بازوی بلند (LA)[3]، طول بازوی کوتاه (SA)[4]، نسبت بازوها (AR:L/S)[5] و شاخص سانترومری (CI)[6] 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 (Stebbins, 1971) 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) (Romero Zarco, 1986) و درصد شکل کلی (%TF) (Huziwara, 1962) محاسبه گردید. برای تعیین نوع کروموزوم‌ها نیز از روش Levan استفاده شد(Levan *et al.*,1964). بمنظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس در قالب طرح کاملا تصادفی نامتعادل (با حداقل ۳ تکرار) انجام شد. مقایسه میانگین صفات نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال۱٪) انجام گرفت. برای تعیین سهم هر یک از صفات اندازه‌گیری شده در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها، تجزیه به مولفه‌های اصلی و برای گروهبندی آنها پس از تعیین مقدار ضریب cophenetic تجزیه کلاستر (Ward) انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم افزارهای SAS وJMP و statistixl انجام شد.

نتایج

تصاویر صفحه متافازی به همراه کاریوگرام جمعیت‌های مورد بررسی در شکل ۱ و ایدیوگرام مربوط به آنها در شکل ۲ ارائه شده است. ویژگی‌های کاریوتیپی جمعیت‌ها نیز در جدول ۱ نشان داده شده است. بر این اساس از لحاظ تعداد کروموزوم پایه, بین جمعیت‌ها, پایه کروموزومی ۷ و ۸ مشاهده شد. بطوریکه چهار گونه *O. amoena* ,*O. radiata* ,*O. sintenissi* و *O.transcaspica* با پایه کروموزومی x=۷ دارای تعداد کروموزوم ۲n=۲x =۱۴ بودند و بقیه گونه‌ها, با پایه کروموزومی x=۸ تعداد کروموزوم ۲n=۲x =۱۶ را نشان دادند. نتایج نشان داد دو جمعیت (۵۷۸۶)*O. amoena* و (۲۵۲۰) *O. crista-galli* بترتیب دارای بیشترین(۴/۰۶ µm) و کمترین (۲/۳۳ µm) ارزش نسبی کروماتین در بین جمعیت‌های مورد بررسی می‌باشند. جمعیت (۲۵۴۳)

[1] = Levitsky fluids
[2] =Total length
[3] =Long arm
[4] =Short arm
[5] =Arm ratio
[6] =Centromer Index

Archive of SID
www.SID.ir

O. crista-galli با فرمول کاریوتیپی ۲m+۶sm دارای کمترین درصد شکل کلی (۳۵/۹۵) و بیشترین مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (۰/٤۲٤) بود. جمعیت (۲۹۰۰) *O. aucheri* نیز با فرمول کاریوتیپی ۸m از بیشترین درصد شکل کلی (٤۵/۱۸) و کمترین مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (۰/۱۸۳) برخوردار بود. جمعیت (٦۰۱۳) *O. hohenackeriana* با دارا بودن بیشترین میزان اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم و بالاترین مقدار شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی, کلاسB از جدول دو طرفه استبینز را به خود اختصاص داد. همچنین جمعیت (۱۱۱۱)*O.gypsicola* برخلاف سایر جمعیت‌ها که در کلاس A قرار گرفته بودند کلاس B را بخود اختصاص داد که این امر مؤید عدم تقارن بین کروموزومی در این جمعیت می‌باشد.

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات، طول کل کروموزوم, طول بازوی بلند, طول بازوی کوتاه, نسبت بازوها و شاخص سانترومری نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ کلیه صفات فوق اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ وجود دارد که این امر بیانگر وجود تنوع در اندازه‌های کروموزوم‌ها در میان جمعیت‌های مورد بررسی می‌باشد(جداول ۲و۳). بر این اساس از نظر صفات طول کل کروموزوم, طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند دو جمعیت (۵۷۸٦) *O. amoena* و (۲۵۲۰) *O. crista-galli* به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقادیر صفات فوق بودند و بیشترین اختلاف اندازه کروموزومی را نشان دادند و لذا در گروه‌های جداگانه و دور از هم قرار گرفتند. از نظر نسبت بازوها، جمعیت‌های (۲۵٤۳) *O. crista-galli*، (۲۲۷۰)*O. cornuta*، (۱۱۱۱) *O. gypsicola*و(٤۱۸۱) *O. gaubae* در مقایسه با سایر جمعیت‌ها از مقادیر بیشتری برخوردار بودند و این امر بیانگر عدم تقارن درون کروموزومی در گونه‌های اخیر می‌باشد.

در تجزیه به مولفه‌های اصلی, دو مولفه اول و دوم, در مجموع بیش از ۹۸ درصد از واریانس بین جمعیت‌ها را توجیه نمودند بطوریکه در مولفه اول, صفات طول کل کروموزوم, طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه با دارا بودن بالاترین ضرایب بردارهای ویژه بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها داشتند. در مولفه دوم نیز صفات نسبت بازوها و شاخص سانترومری دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بودند (جدول ٤).

در تجزیه کلاستر پس از بررسی و تعیین ضریب *cophenetic*(r=۰/۷۸)، روش Ward انتخاب شد و با برش دندروگرام در فاصله ۲/٤۹, جمعیت‌ها در چهار گروه قرار گرفتند. براین اساس ۵ جمعیت در کلاس ۱، پنج جمعیت همگی با x=۸ در کلاس ۲ , هفت جمعیت در کلاس ۳ و بقیه جمعیت‌ها در کلاس ٤ مستقر شدند (شکل شماره۳). در این بررسی کمترین فاصله بین دو جمعیت (٤۳۸٤) *O. sintenisii* و (۱۱۸۳) *O. sintenisii* و بیشترین فاصله بین دو جمعیت (۵۷۸٦) *O.amoena* و(۲۸٦۳) *O. melanotricha* مشاهده شد.

دیاگرام پراکنش جمعیت‌ها براساس دو مؤلفه اول و دوم در شکل٤ نشان داده شده است. در این دیاگرام چهار گروه متمایز قابل تشخیص هستند که این امر مؤید نتایج حاصل از تجزیه کلاستر است.

بمنظور گروهبندی جمعیت‌ها از لحاظ تکاملی, تجزیه کلاستر به روش Ward (r =۰/۷۵) براساس دو شاخص A_1 وA_2 انجام شد و با برش دندروگرام در فاصله ۱/٦٦, جمعیت‌ها در چهار کلاس قرار گرفتند (شکل۵). در این بررسی کمترین فاصله بین دو جمعیت (۲۵۲۰) *O. crista-*

Archive of SID

www.SID.ir

galli و (۲۷۲۱) *O. radiata* و بیشترین فاصله بین دو جمعیت (۲۲۷۰) *O. cornuta* و (۵۷۸۶) *O. amoena* مشاهده شد. نتایج حاصل از این گروهبندی, نتیجه بدست آمده از دیاگرام پراکنش جمعیت‌ها بر اساس دو شاخص A_1 وA_2 (شکل ٦) را تائید می‌نماید.

بحث

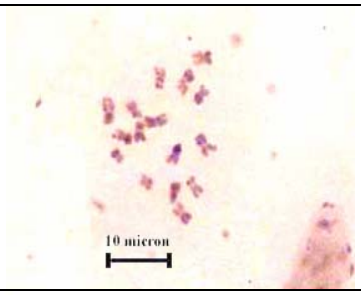
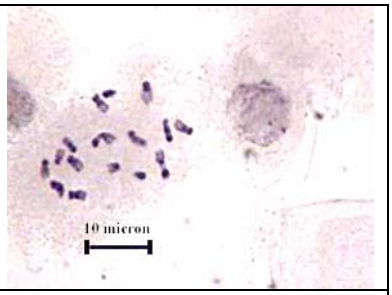
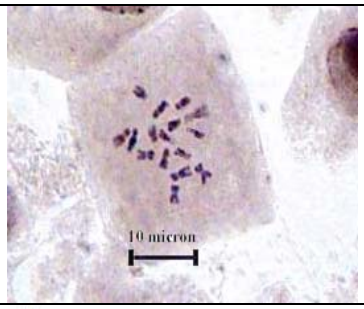
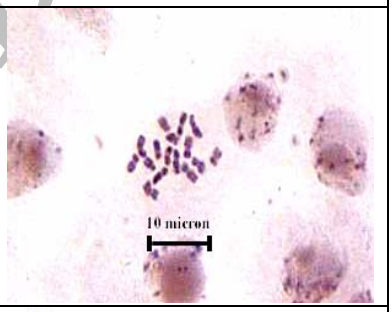
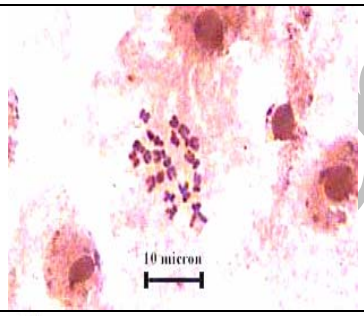
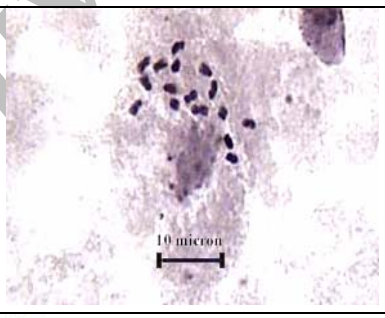
نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققین در مورد این جنس بیانگر پایه کروموزومی x=۷ و x=۸ است که موید نتایج این تحقیق می باشد. (Goldblatt&Johnson, 1989,1993,1995,1998 ; Ziqin *et al*,1996 ,Cao,1984 ; Abou-EL-Enain,2002). بررسی‌های انجام شده در گونه *O.crista-galli* نشان دهنده پایه کروموزومی x = ۸ و سطح پلوئیدی 2x بود که با نتایج تحقیقات *Goldblatt & Johnson* (۱۹۹۸) متفاوت است. تنوع کاریوتیپی موجود بین جمعیت‌های مورد بررسی با توجه به اثر معنی‌دار صفات کروموزومی تایید گردید که این امر میتواند دلیلی بر انجام مطالعات جامع کروموزومی جهت تعیین وضعیت تکاملی و بررسی قرابت و خویشاوندی گونه‌های مختلف باشد. از نظر میانگین طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند تنوع زیادی بین جمعیت‌های مختلف وجود دارد بنحوی که بیشترین میانگین طول بازوی کوتاه (۱/٦٦µm) مربوط به گونه (۵۷۸٦) *O.amoena* و کمترین میانگین طول بازوی کوتاه(۰/۹۲µm-۰/۹٤) مربوط به گونه‌های (۲۵٤۳) *O. crista-galli* و (۲۵۲۰) *O. crista-galli* بود . همچنین بیشترین میانگین طول بازوی بلند (۲/۲٦µm) مربوط به گونه (۵۷۸٦) *O.amoena* و کمترین میانگین طول بازوی بلند (۱/٤۰µm) مربوط به گونه‌های (۵۷۹۰) *O. buhseana*، (۲۵۲۰) *O. crista-galli* و (٦۰۱۳) *O. hohenackeriana* بود. از دیگر تفاوتهای مهم موجود بین جمعیت‌ها حضور یا عدم حضور قمرهای مشخص در بازوی کوتاه یا بلند کروموزوم‌ها بود(شکل۲) که در گونه (۲۸٦۳) *O. melanotricha* برخلاف دیگر جمعیت‌ها بطور مشخص دارای دو جفت قمر بود.

از لحاظ وضعیت تقارن درون کروموزومی, با توجه به مقادیر درصد شکل کلی و شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی, جمعیت (۲۵٤۳) *O. crista-galli* با بیشترین مقدار A_1 و کمترین مقدار درصد TF در کلاس 2A قرار گرفته است، لذا از نامتقارنترین و در عین حال متکاملترین کاریوتیپ و جمعیت (۲۹۰۰) *O. aucheri* با کمترین مقدار A۱ و بیشترین مقدار درصد TF در کلاس 1A قرار گرفته است و از متقارنترین و در عین حال ابتدائی ترین کاریوتیپ برخوردار بود. استقرار جمعیت های (٦۰۱۳) *O. hohenackeriana* در کلاس2B و (۱۱۱۱) *O. gypsicola* در کلاس 1B از جدول دو طرفه استبینز بیانگر تغییرات شدید بین کروموزومی و عدم تقارن بین کروموزومی در کاریوتیپ گونه‌های مذکور است. استقرار جمعیت‌های (۵۷۸٦)*O.amoena*, (۲۷۲۱) *O. radiate*, (۵۷۸۷) *O. plantago*, (۱۱۸۳) *O. sintenisii* و (٤۳۸٤) *O. sintenisii* در یک گروه جداگانه و دور از سایر جمعیت‌ها, بدلیل اختلاف طول کروموزوم و موقعیت سانترومر جمعیت‌های مذکور در مقایسه با سایرین می باشد.

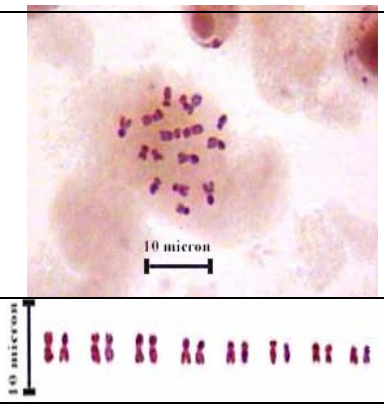
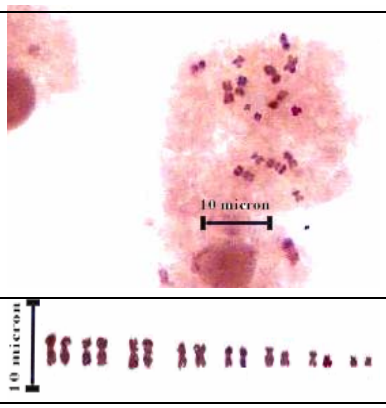
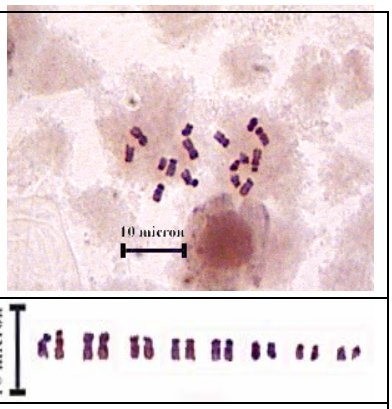
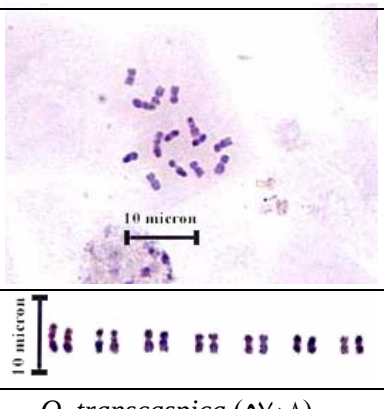
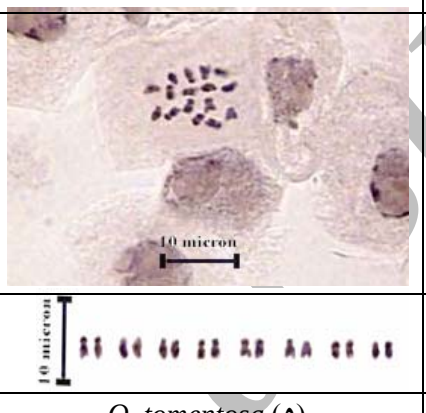
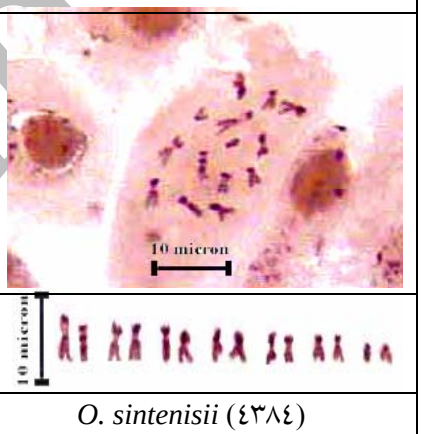
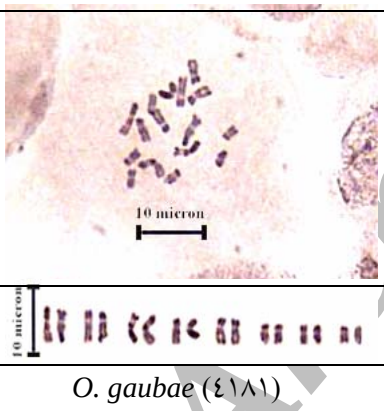
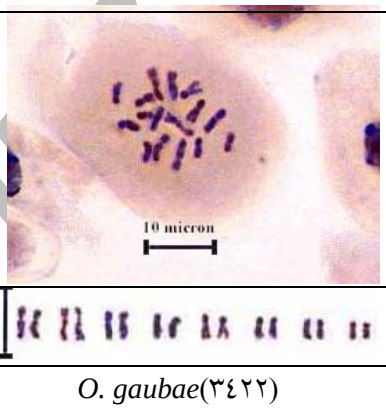
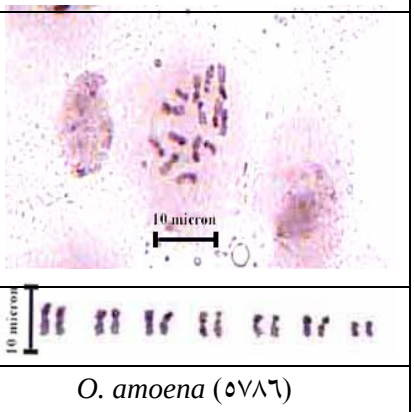
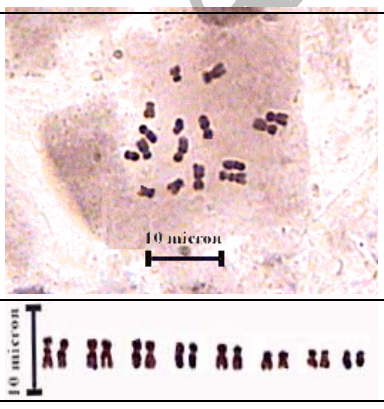
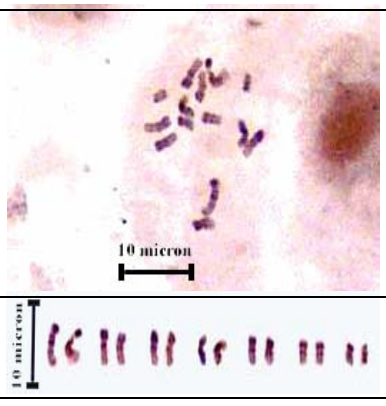
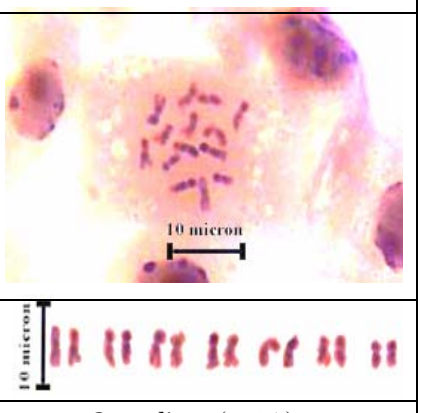
دو جمعیت (۵۷۸٦) *O.amoena* و (۲۸٦۳) *O. melanotricha* با توجه به خصوصیات کروموزومی, دارای کمترین قرابت و نزدیکی بودند که بدون شک انجام تلاقی بین این دو گونه از موفقیت چندانی برخوردار نخواهد بود. نتایج بدست آمده از گروهبندی جمعیت‌ها بر اساس ۵ صفت کاریوتیپی (شکل٤) و عدم تقارن درون و بین کروموزومی (شکل٦) کاملا متفاوت است که محقق باید بر اساس اهدافی که دنبال می‌کند از یکی یا هر دو گروهبندی استفاده نمایند.

Archive of SID
www.SID.ir

شکل۱- متافاز میتوزی به همراه کاریوگرام جمعیت‌های مورد مطالعه

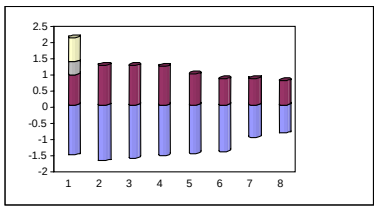
		
O. buhseana(۵۷۹۰)	*O. aucheri* (۲۹۰۰)	*O. melanotricha* (۲۸۶۳)
		
O. crista-galli (۲۵۴۳)	*O. crista-galli* (۲۵۲۰)	*O. cornuta* (۲۲۷۰)
		
O. gypsicola (۲۵۶۹)	*O. crista-galli* (۳۳۴۶)	*O. crista-galli* (۲۵۵۱)

www.SID.ir

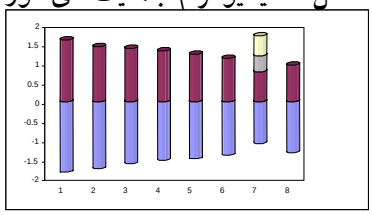
		
O. plantago (۵۷۸۷)	*O. hohenackeriana*(٦۰۱۳)	*O. gypsicola* (۱۱۱۱)
		
O. transcaspica (۵۷۰۸)	*O. tomentosa* (۵)	*O. sintenisii* (٤۳۸٤)
		
O. gaubae (٤۱۸۱)	*O. gaubae*(۳٤۲۲)	*O. amoena* (۵۷۸٦)
		
O. melanotricha (۵۷۸۸)	*O.sintenisii* (۱۱۸۳)	*O. radiata* (۲۷۲۱)

www.SID.ir

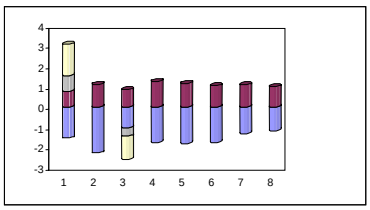
شکل۲- ایدیوگرام جمعیت‌های مورد مطالعه



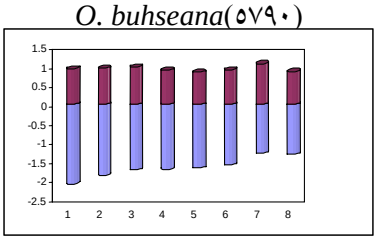
O. buhseana(۵۷۹۰)



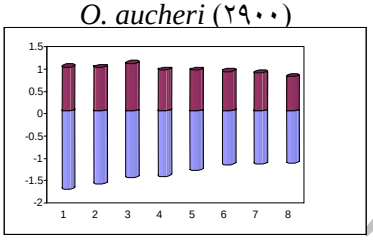
O. aucheri (۲۹۰۰)



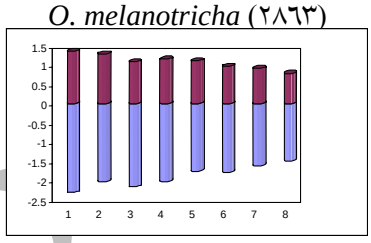
O. melanotricha (۲۸۶۳)



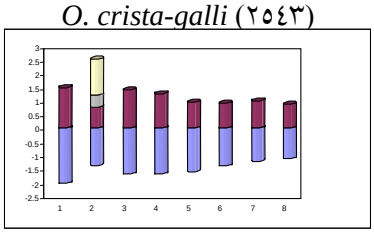
O. crista-galli (۲۵۴۳)



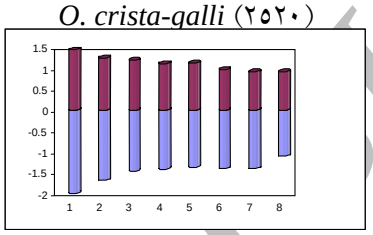
O. crista-galli (۲۵۲۰)



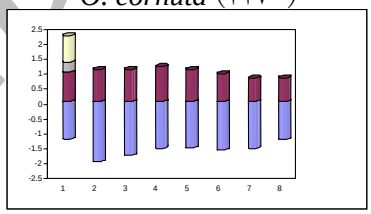
O. cornuta (۲۲۷۰)



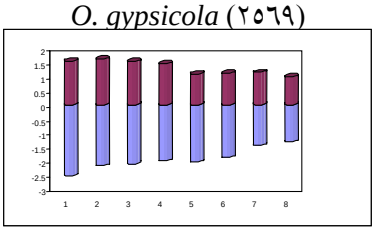
O. gypsicola (۲۵۶۹)



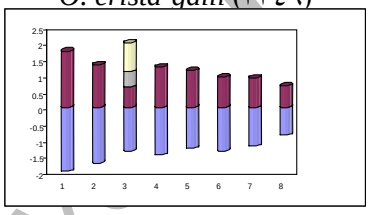
O. crista-galli (۳۳۴۶)



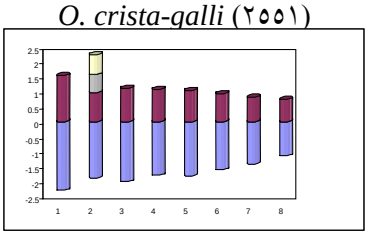
O. crista-galli (۲۵۵۱)



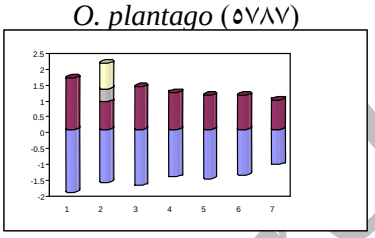
O. plantago (۵۷۸۷)



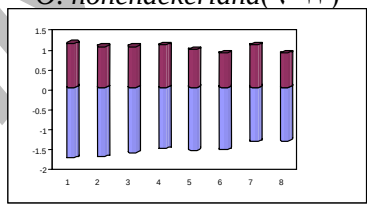
O. hohenackeriana(۶۰۱۳)



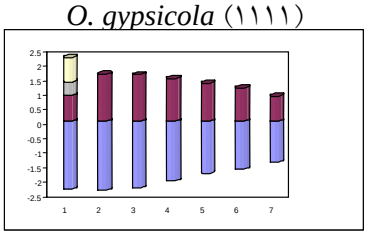
O. gypsicola (۱۱۱۱)



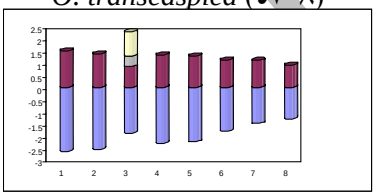
O. transcaspica (۵۷۰۸)



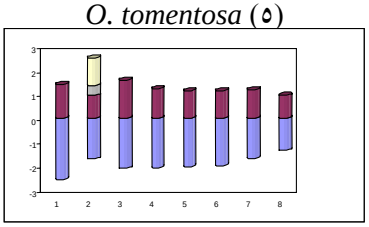
O. tomentosa (۵)



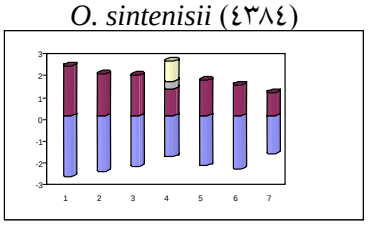
O. sintenisii (۴۳۸۴)



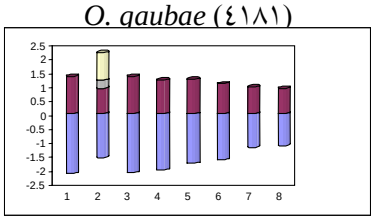
O. gaubae (۴۱۸۱)



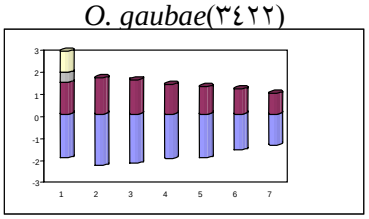
O. gaubae(۳۴۲۲)



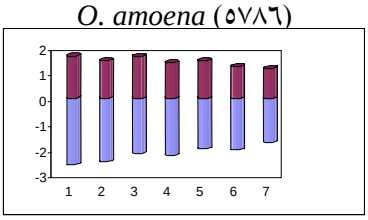
O. amoena (۵۷۸۶)



O. melanotricha (۵۷۸۸)



O.sintenisii (۱۱۸۳)



O. radiata (۲۷۲۱)

www.SID.ir

جدول۱- ویژگی‌های کاریوتیپی جمعیت‌های مورد مطالعه

جمعیت	جمع آوری	۲n	X	DRL	VRC	%TF	A_1	A_2	SC	فرمول‌کاریوتیپی
O. amoena (۵۷۸٦)	تربت حیدریه	۱٤	۷	۸/۰۱	٤/۰٦	٤۲/۳۲	۰/۲۷٤	۰/۱۷۱	۱A	۱٤m
O. melanotricha (۲۸٦۳)	اراک	۱٦	۸	۷/۱٤	۲/۹٤	۳۹/۷۸	۰/۳۱٤	۰/۱۷۸	۲A	۱۲m+٤sm
O. aucheri (۲۹۰۰)	جلفا	۱٦	۸	۵/۲۷	۲/۸۱	٤۵/۱۸	۰/۱۸۳	۰/۱٤۳	۱A	۱٦m
O. buhseana (۵۷۹۰)	تبریز	۱٦	۸	۸/۰۹	۲/۵۰	٤۱/۵۷	۰/۲۷۷	۰/۲۲٦	۱A	۱٤m+۲sm
O. cornuta (۲۲۷۰)	زنجان	۱٦	۸	۵/۸۱	۲/۹۸	۳٦/٦٤	۰/٤۲۲	۰/۱۵۳	۱A	٦m+۱۰sm
O. crista galli (۲۵۲۰)	مسجد سلیمان	۱٦	۸	٤/۳٤	۲/۳۳	۳۹/٦۳	۰/۳۳۷	۰/۱۲۷	۱A	۱٤m+۲sm
O. crista galli (۲۵٤۳)	هفتگل-خوزستان	۱٦	۸	٤/۱۸	۲/٦۰	۳۵/۹۵	۰/٤۲٤	۰/۱۰٤	۲A	٤m+۱۲sm
O. crista galli (۲۵۵۱)	رامهرمز	۱٦	۸	٤/۹۳	۲/٦۸	۳۸/٦۳	۰/۳٦۲	۰/۱۳۵	۲A	۱۰m+٦sm
O. crista galli (۳۳٤٦)	دهلران	۱٦	۸	٦/۸٤	۲/٦۰	٤۳/۰۱	۰/۲٤۱	۰/۱٦٦	۱A	۱٦m
O. gaubae (۳٤۲۲)	چهارمحال {بختیاری(میشان)	۱٦	۸	٦/۳٦	۳/۲۹	۳۷/۹٦	۰/۳۸۳	۰/۱٦٦	۱A	٦m+۱۰sm
O. gaubae (٤۱۸۱)	چهارمحال بختیاری	۱٦	۸	۷/۱۸	۳/۳٤	۳٦/۸۲	۰/٤۰٤	۰/۲۰٤	۲A	٦m+۱۰sm
O. gypsicola (۲۵٦۹)	هفتگل-خوزستان	۱٦	۸	٦/۸۸	۲/۷۵	٤۱/٤۲	۰/۲۹۳	۰/۲۰۹	۱A	۱۲m+٤sm
O. gypsicola (۱۱۱۱)	خوزستان	۱٦	۸	۸/۵۰	۲/۸٦	۳٦/۸۵	۰/٤۲۰	۰/۲۲۰	۱B	٦m+۱۰sm
O. hohenackeriana (٦۰۱۳)	تبریز	۱٦	۸	۱۰/۵۰	۲/٦۰	٤۳/٤۱	۰/۲۳۹	۰/۲۵٤	۲B	۱٤m+۲sm
O. plantago (۵۷۸۷)	یزد	۱٦	۸	٦/۸۳	۳/۲٦	٤۰/۱۸	۰/۳۲۱	۰/۱۸٦	۱A	۱۲m+٤sm
O. radiata (۲۷۲۱)	گرگان	۱٤	۷	۵/۳٦	۳/٦۱	۳۹/۸۸	۰/۳۳۳	۰/۱۲۵	۱A	۱٤m
O. sintenisii (٤۳۸٤)	فریدن-اصفهان	۱٤	۷	۷/٤٤	۳/٤۰	۳۹/۲۲	۰/۳٤۹	۰/۱۹۹	۲A	۱۲m+۲sm
O. tomentosa (۵)	کهکیلویه و بویراحمد	۱٦	۸	۳/۳۱	۲/۵٦	۳۸/۸۳	۰/۳٦۲	۰/۰۸۳	۱A	۱٤m+۲sm
O. transcaspica (۵۷۰۸)	گلستان	۱٤	۷	۷/۸۱	۲/۸۵	٤۲/٤۹	۰/۲۵۸	۰/۱۸۹	۱A	۱۲m+۲sm
O. sintenisii (۱۱۸۳)	زنجان	۱٤	۷	۸/٦۵	۳/٤۰	٤۰/۱۸	۰/۳۳۰	۰/۲۰۹	۱A	۱٤m
O. melanotricha (۵۷۸۸)	اصفهان	۱٦	۸	٦/۰۲	۲/۹۵	۳۹/۷۵	۰/۳۳۰	۰/۲۰۱	۱A	۱٤m+۲sm

(Intra asymmetry chromosomal index) A_1 = : شاخص عدم تقارن درون کروموزومی

(Inter asymmetry chromosomal index) A_2= : شاخص عدم تقارن بین کروموزومی, TF%: درصد فرم کلی, DRL : اختلاف دامنه درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم, VRC: میزان کروماتین نسبی, SC کلاس تقارن استبینز

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۲- تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های مورد مطالعه بر پایه طرح کاملا تصادفی نامتعادل

منابع تغییرات	درجه آزادی	صفات				
		LA	SA	TL	AR	CI
جمعیت	۲۰	۰/۲۶**	۰/۱۲**	۰/۷۰**	۰/۰۹**	۰/۰۰۲**
اشتباه	۵۴	۰/۰۵	۰/۰۲	۰/۱۱	۰/۰۲	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات		۱۲/۳۰	۱۰/۷۶	۱۱/۱۶	۸/۷۰	۵/۸۲

** اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

LA: طول بازوی بلند, SA: طول بازوی کوتاه, TL: طول کل کروموزوم, AR: نسبت بازوها (نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه), CI: شاخص سانترومری (نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم)

جدول۳- دسته بندی میانگین ویژگی‌های کاریوتیپی به روش دانکن در سطح ۱٪ در جمعیت‌های مورد بررسی

ژنوتیپ	TL	LA	SA	AR	CI
O. tomentosa (۵)	۲/۵۶ def	۱/۵۷ cde	۰/۹۹ de	۱/۵۸ abcde	۰/۳۹ bcde
O. gypsicola (۱۱۱۱)	۲/۸۶ bcdef	۱/۷۵ bcde	۱/۰۲ cde	۱/۷۳ ab	۰/۳۶ e
O.sintenisii (۱۱۸۳)	۳/۴۰ abc	۱/۹۵ abcd	۱/۳۱ bc	۱/۴۸ bcdef	۰/۳۹ bcde
O. cornuta (۲۲۷۰)	۲/۹۸ bcdef	۱/۸۹ abcde	۱/۰۹ cde	۱/۷۶ a	۰/۳۷ cde
O. crista galli (۲۵۲۰)	۲/۳۳ f	۱/۴۰ e	۰/۹۲ e	۱/۵۲ abcdef	۰/۴۰ abcde
O. crista galli (۲۵۴۳)	۲/۶۰ cdef	۱/۶۷ bcde	۰/۹۴ e	۱/۷۸ a	۰/۳۶ de
O. crista galli (۲۵۵۱)	۲/۶۸ cdef	۱/۵۷ cde	۰/۹۹ de	۱/۵۹ abcde	۰/۳۷ cde
O. gypsicola (۲۵۶۹)	۲/۶۴ cdef	۱/۵۲ cde	۱/۰۷ cde	۱/۴۲ bcdef	۰/۴۱ abcde
O. radiata (۲۷۲۱)	۳/۶۱ ab	۲/۱۷ ab	۱/۴۴ ab	۱/۵۲ abcdef	۰/۴۰ abcde
O. melanotricha (۲۸۶۳)	۲/۸۳ bcdef	۱/۵۷ cde	۱/۰۴ cde	۱/۵۲ abcdef	۰/۳۷ cde
O. aucheri (۲۹۰۰)	۲/۷۶ cdef	۱/۵۱ de	۱/۲۴ bcd	۱/۲۱ f	۰/۴۵ a
O. crista galli (۳۳۴۶)	۲/۶۰ cdef	۱/۴۸ de	۱/۱۲ cde	۱/۳۳ def	۰/۴۳ ab
O. gaubae (۳۴۲۲)	۳/۲۶ bcde	۱/۹۵ abcd	۱/۱۹ bcde	۱/۶۳ abcd	۰/۳۷ cde
O. gaubae (۴۱۸۱)	۳/۳۲ abcd	۲/۰۳ abc	۱/۱۸ bcde	۱/۷۲ abc	۰/۳۶ e
O. sintenisii (۴۳۸۴)	۳/۴۰ abc	۱/۹۹ abcd	۱/۲۹ bcd	۱/۵۵ abcde	۰/۳۸ bcde
O. transcaspica (۵۷۰۸)	۲/۸۱ cdef	۱/۵۷ cde	۱/۱۶ bcde	۱/۳۶ def	۰/۴۱ abcd
O. amoena (۵۷۸۶)	۴/۰۲ a	۲/۲۶ a	۱/۶۶ a	۱/۳۷ def	۰/۴۱ abcd
O. plantago (۵۷۸۷)	۳/۲۶ bcde	۱/۹۵ abcd	۱/۳۱ bc	۱/۴۸ abcdef	۰/۴۰ abcde
O. melanotricha (۵۷۸۸)	۲/۹۵ bcdef	۱/۷۰ bcde	۱/۱۲ cde	۱/۵۱ abcdef	۰/۳۸ bcde
O. buhseana (۵۷۹۰)	۲/۴۷ ef	۱/۴۱ e	۱/۰۰ de	۱/۴۱ cdef	۰/۴۱ abcde
O. hohenackeriana (۶۰۱۳)	۲/۶۰ cdef	۱/۴۱e	۱/۰۸ cde	۱/۳۰ ef	۰/۴۲ abc

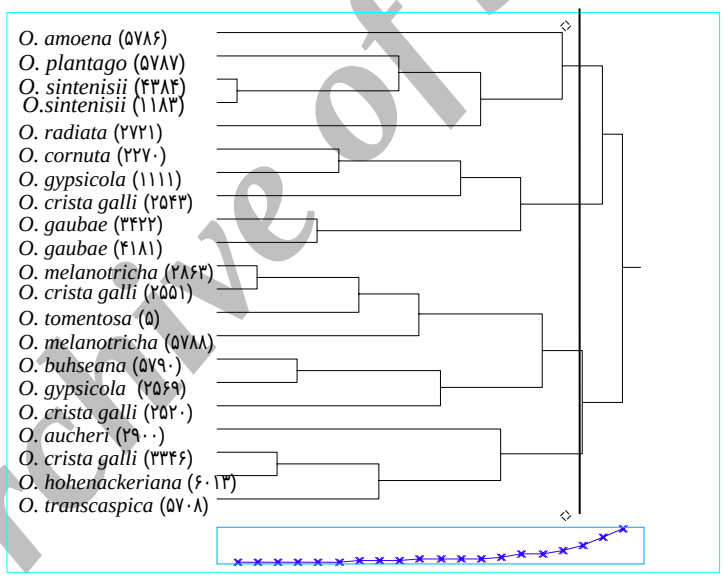
Archive of SID

www.SID.ir

جدول٤- ضرایب بردارهای ویژه, مقادیر ویژه, درصد واریانس و درصد واریانس تجمعی دو عامل اصلی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

صفات	مولفه۱	مولفه۲
TL	۰/٦۰	۰/۰٤
LA	۰/۵۹	-۰/۱۲
SA	۰/۵۳	۰/۳۱
AR	۰/۰۸	-۰/٦۷
CI	-۰/۰۹	۰/٦٦
مقادیر ویژه	۲/۷۸	۲/۱۳
درصد واریانس	۵۵/٦۷	٤۲/٦۹
درصدواریانس تجمعی	۵۵/٦۷	۹۸/۳٦

LA: طول بازوی بلند, SA: طول بازوی کوتاه, TL: طول کل کروموزوم, AR: نسبت بازوها (نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه), CI: شاخص سانترومری (نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم)

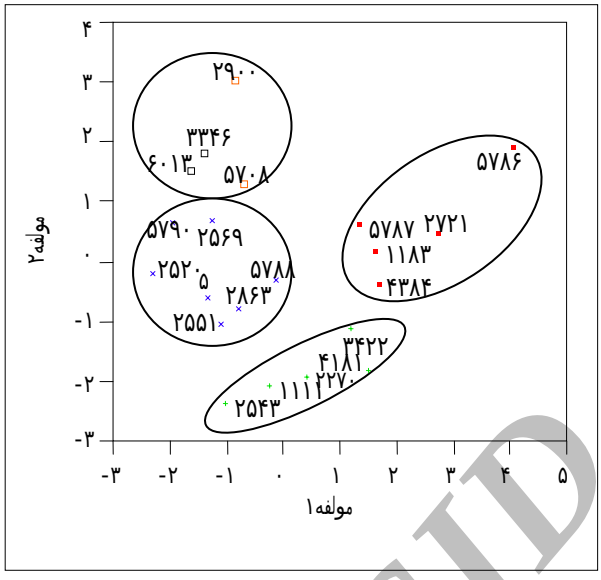


فاصله ۰/٤۱ ۰/۵۵ ۰/۷۵ ۱/۱۱ ۲/٤۹ ٦/٤۳

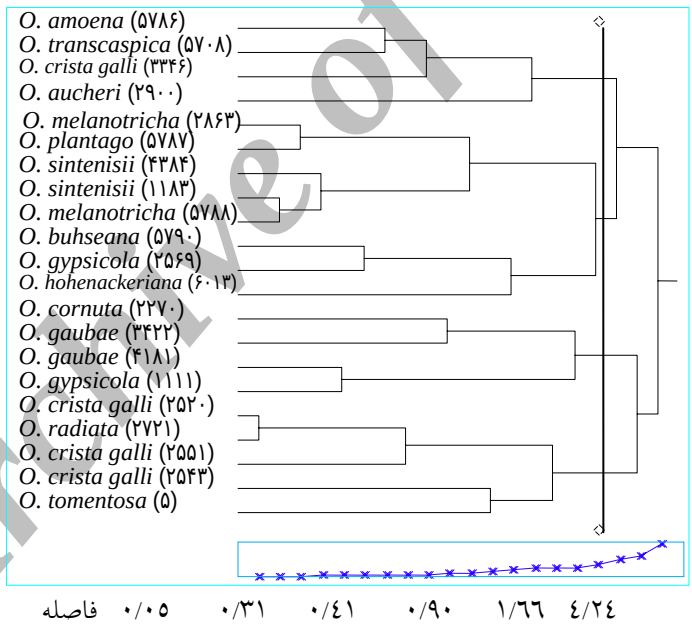
شکل۳- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش Ward بر اساس ۵ صفت کاریوتیپی جدول ٤

Archive of SID

www.SID.ir



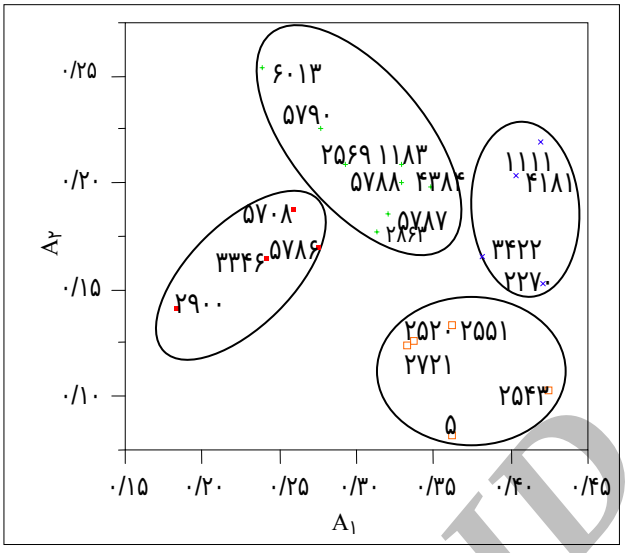
شکل٤-دیاگرام پراکنش جمعیت‌ها براساس دوم‌مولفه اول‌ودوم



شکل۵- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش **Ward** بر اساس دو پارامتر A_1 وA_2

Archive of SID

www.SID.ir



شکل٦-دیاگرام پراکنش جمعیت‌ها بر اساس دو پارامتر A_1 و A_2

منابع مورد استفاده

- حسام زاده حجازی، س.م. وضیایی نسب، م. ۱۳۸٦. مطالعه سیتوژنتیکی برخی گونه های جنس *Hedysarum* موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۵: ۸۵-۹٤.
- 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: 409-414.
- Cao , Z. 1984. Study of the karyotype of *Onobrychis viciaefolia* .Zhongguo Caoyuan Grassland of China. 1:54-55.
- Cave, M. S. 1957. Index to plant chromosome numbers for 1956. The university of North Carolina. Press, Chapel Hill, North Carolina.
- Darlington, C. D. and A. P.Wylie. 1955. Chromosome atlas of flowering plants. George Alien and Uuwin. LTD. London.
- Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1989. Index to plant chromosome numbers. Monographs in systematic Botany.Vol. 27. Bot. Gard., St. Louis, Missouri.
- Goldblatt, P. and D. E. Johnson.1993. Index to plant chromosome numbers. Monographs in systematic. Botany.Vol. 49. Bot. Gard., St. Louis, Missouri..
- Goldblatt, P. and D. E. Johnson. 1995. Index to plant chromosome numbers for 1992-1993. Monographs in systematic Botany.Vol. 58. Bot. Gard., St. Louis, Missouri.
- 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.
- Huziwara, Y., 1962. Karyotype analysis in some genera of compositeae. VIII Further studies on the chromosome of Aster. Amer.J.Bot, 49: 116-119.
- Levan, A., K. Fredga and A.A Sandberg, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201-220.
- LÖVE, À. and LÖVE, D., 1975. Plant Chromosomes. J.Cramer, in der A.R. Gantener verlag kommanditgesellschaft FL-9490 UADUZ.
- Magulaev, A. Yu. 1996. Chromosome numbers, distribution and some taxonomic problems of *Onobrychis* species of subgenus Hymenobrychis (Fabaceae) from northern caucasus. Botaniche Skiizhurnal, 80: 7, 55-59.
- Ornduff, R.,1966. Index to plant chromosome Numbers for 1965. Rengnum Veg.50 Int.Bur.Plant Tax. and Nom.,Utrecht, Netherlands.
- Romero Zarco, C., 1986. A new method for estimating Karyotype asymmetry. Taxon, 36: 526-530.
- Stebbins, G.L.1971. Chromosomal evolution in higher plants .Edward Arnold Publisher LDT, London , 216 pp.
- Ziqin , X.U., J. Jingfen, X.U. ZQ, and J.F. Jia. 1996. The reduction of chromosome number and the loss of regeneration ability during subculture of hairy root cultures of *Onobrychis viciaefolia* transformed by Agrobacterium rihizogenes Au. Plant Science Limerick, 120: 107-112.

Archive of SID
www.SID.ir

Cytogenetic study on several populations of diploid species of *Onobrychis* in natural gene bank of Iran

S.M.Hesamzadeh Hejazi[1*], M. Ziaei Nasab[2]

1* – Corresponding author, Assis. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, P.O.Box: 13185-116, Tehran, I.R.Iran
E-Mail: smhessamzadeh@rifr-ac.ir
2 – MSc. In Plant Breeding, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran

Received: 01.12.2008 Accepted: 14.05.2008

Abstract

The genus *Onobrychis* Adans. (Fabaceae) is an important forage crop, containing approximately 342 annual and perennial species. Video Analysis System was used for karyotype analysis on 21 populations of 14 *onobrychis* species. The basic chromosome number varied between x=7 and x=8 but their chromosomal variation was very high. According to Stebbins' classification, populations *O.hohenackeriana* (6013) and *O.gypsicola* (1111) classified as symmetric class of B and others as A. The highest VRC was obtained for *O.amoena* (5786) and the lowest was obtained for *O.crista-galli* (2520) populations. Based on inter chromosomal symmetric, *O. crista-galli* (2543) had the most asymmetrical and evolutionary karyotype and *O.aucheri* (2900) had the most symmetrical karyotype. Based on intra chromosomal symmetric, *O.hohenackeriana* (6013) had the most asymmetrical karyotype. The results of analysis of variance based on unbalanced completely randomized design showed significant differences among the populations for all the studied traits (P<%1). Using principal components analysis, the first two components justified %98.36 of total variance. In the first component, chromosome total length, long arm length and short arm length which had the highest coefficients of eigen vectors also, had the most significant role in total variance. In the second component arm ratio and centromer index had the most important role in the total variance. By cutting dendrogram resulted from cluster analysis (Ward) with cophenetic value equal to r=0.78 based on the 5 parameters (TL, LA, SA, AR, CI,) the populations were classified to four classes. The highest distance was obtained between *O.amoena*(5786) and *O.melanotricha* (2863). The lowest metric distance value was obtained between two populations of *O.sintenisii* (4384) and (1183).

Key words: Cluster analysis, Diploid, Principal components analysis, Karyotype, *Onobrychis* .

Archive of SID

www.SID.ir