

مطالعه کاربوتیپی برخی از گونه‌های جنس اسپرس (*Onobrychis*)

فرنگیس قنواتی^{۱*}، حسن اسکندری^۲ و غلامرضا بخشی خانیکی^۳

۱، استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، ۲، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد رشته

بیوتکنولوژی، دانشگاه پیام نور، تهران، ۳، استاد سیستماتیک گیاهی دانشگاه پیام نور تهران

(تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۱۸ - تاریخ تصویب: ۹۰/۹/۲۸)

چکیده

در این تحقیق چهارده جمعیت از بخش‌های *Hymenobrychis* و *Lophobrychis* از جنس *Onobrychis*، جمع‌آوری شده از مناطق طبیعی ایران، با استفاده از مریستم انتهایی ریشه و اندازه‌گیری تعداد و ابعاد کروموزوم‌ها در تقسیم میتوز و فرمول کاربوتیپی هر گونه ارزیابی شدند. تعداد کروموزوم پایه در گونه‌ها $x=7$ یا $x=8$ و نوع کروموزوم‌ها نیز از نوع متاستریک (m) تا ساب متاستریک (sm) بود. بیشترین میانگین طول ژنوم متعلق به گونه *O. viciaefolia* (۴۸/۱۵۷ میکرومتر) و کمترین آن متعلق به گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* (۱۴/۴۰۹ میکرومتر) بود. نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی نشان داد که بین گونه‌های مورد مطالعه از نظر تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت. برخلاف سایر گونه‌ها که در کلاس A استیپنز بودند، گونه *O. michauxii* 2 در کلاس B قرار گرفت و دارای کاربوتیپ نامتقارن‌تری بود. گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* با داشتن فرمول کاربوتیپی $14m$ ، قرار گرفتن در کلاس A^۱، بیشترین طول نسبی کروموزوم (۶۸/۲۶ میکرومتر)، کمترین عدم تقارن بین کروموزومی (۰/۱۲) و درصد فرم کلی بالا (۴۱/۱۹) به عنوان متقارن‌ترین گونه بود که نشان‌دهنده ابتدایی‌تر بودن این گونه از لحاظ تکاملی می‌باشد. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، دو مؤلفه اول بیش از ۹۷/۹۴ درصد از تنوع بین داده‌ها را توجیه نمودند. با توجه به گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس پارامترهای کروموزومی بیشترین شباهت بین جمعیت‌های *O. schahuensis* 1 و *O. chorassanica* 2 و کمترین قرابت و نزدیکی بین گونه‌های *O. schahuensis* 1 و *O. viciaefolia* بود.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، تکامل، تعداد کروموزوم، کاربوتیپ

مقدمه

جنس اسپرس (*Onobrychis*) با دارا بودن بیش از ۱۳۰ گونه یک‌ساله و چندساله در نواحی معتدل شمالی کره زمین گسترش دارد. تعدادی از گونه‌های این جنس دارای ارزش علوفه‌ای هستند و برخی در کنترل فرسایش و یا به عنوان گیاهان زنبور پسند بکار می‌روند. تعدادی از گونه‌های این جنس نیز به عنوان گیاهان زینتی کشت می‌شوند (Lock and Simpson. 1991; Mabberley. 1997; Yakovlev et al. 1996).

جنس *Onobrychis* در اوراسیا و شمال شرقی آفریقا پراکنش دارد و مرکز تنوع آن نواحی معتدل منطقه ایرانوتورانی می‌باشد (Rechinger. 1984). این جنس دارای دو زیر جنس و ۸ بخش بر طبق فلور ایرانیکا می‌باشد و کشور ایران یکی از مراکز اصلی پیدایش و تنوع گونه‌های این جنس محسوب می‌گردد، بطوری که ۳۱ گونه انحصاری از آن برای ایران شناخته شده است. در ایران جنس *Onobrychis* دارای ۶۳ گونه (۱۳ گونه یک‌ساله و ۵۰ گونه چندساله) است. Amirabadizadeh et al. (2004,2006) و (2006,2009) نیز چند گونه از جنس *Onobrychis* را به عنوان گونه‌های جدید از ایران معرفی کرده‌اند.

تحقیقات Aboe-El-Enain (2002) نشان داد که گونه‌های این جنس دارای تیپ کروموزومی متاستریک (m) تا ساب متاستریک (sm) می‌باشند. همچنین ذخیره ژنی این جنس دارای سطوح پلوئیدی متفاوت دیپلوئید و تتراپلوئید با عدد پایه کروموزومی متفاوت ۷، ۸ و ۹ می‌باشد. با بررسی کاربوتیپ ۴ گونه اسپرس نشان داده شد که گونه‌های *O. aucheri* subsp. *tehranica* و *O. melanotricha*، *O. scrobiculata*

O. oxyptera دارای ۱۶ کروموزوم هستند و براساس عدد پایه کروموزومی $x=8$ گونه‌های دیپلوئید محسوب می‌شوند (Ansari et al. 2000). حاتمی و نصیرزاده (Hatami and Nasirzadeh. 2006) در پژوهش‌هایی در مورد دو زیر گونه *Onobrychis aucheri* subsp. *tehranica* و *O. aucheri* subsp. *psammophila* گزارش کردند که با توجه به خصوصیات ریخت‌شناسی و صفات کروموزومی در هر دو تاکسون مشخص می‌شود که این دو زیرگونه با یکدیگر دارای اختلاف ظاهری و کروموزومی بوده بنابراین نمی‌توان آن‌ها را به عنوان دو زیرگونه از یک گونه تلقی کرد. ۹ گونه از بخش *heliobrychis* جنس *Onobrychis* توسط Ghanavati et al. (2010) از نظر کاربوتیپی مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در جمعیت‌های مورد مطالعه تعداد کروموزوم پایه $x=7$ و $x=8$ بود. در میان گونه‌های مورد بررسی گونه‌های *O. heliocarpa* و *O. lunata* در کلاس A قرار گرفتند و گونه *O. oxyptera* در کلاس B قرار گرفت.

در پژوهش حاضر ضمن شمارش و اندازه‌گیری کروموزوم‌های مرحله متافازی میتوز و تکامل کاربوتیپی برخی از گونه‌های اسپرس که بسیاری از آن‌ها اختصاصی ایران هستند، گونه‌های نزدیک به یکدیگر نیز برای انجام تلاقی بین‌گونه‌ای با استفاده از روش‌های تجزیه آماری چندمتغیره تعیین شد.

مواد و روش‌ها

در این بررسی چهارده جمعیت از بخش‌های *Hymenobrychis* و *Lophobrychis* از جنس *Onobrychis* (اسپرس) از نظر مشخصات کروموزومی مورد مطالعه قرار گرفتند. ابتدا برای از بین بردن سختی پوسته بذر، سطح ۱۰۰

درصد شکل کلی (TF%)، اختلاف درصد طول نسبی بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین 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 کاربوتیپی جمعیت‌ها از جدول دو طرفه استینز استفاده شد (Stebbins, 1971). به منظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس انجام و مقایسه میانگین صفات نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۱٪) انجام شد. برای تعیین سهم هر یک از صفات اندازه‌گیری شده در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها، تجزیه به مؤلفه اصلی و برای گروه‌بندی آن‌ها تجزیه کلاستر (UPGMA) بدست آمد. تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS9، SPSS 16 و NTSYS 2.02 بررسی شد.

نتایج و بحث

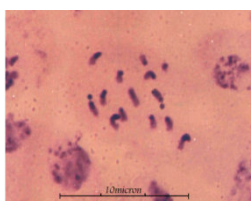
نام و رویشگاه گونه‌هایی که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند در جدول ۱ نشان داده شده است. گونه‌های *O. subnitens*، *O. mazanderanica* و *O. amoena subsp. meshhedensis* ایران هستند. تصاویر صفحه متافازی و کاریوگرام گونه‌های مورد مطالعه در شکل ۱ و ایدیوگرام مربوط به آن‌ها در شکل ۲ ارائه شده‌اند. نتایج این بررسی نشان داد که از نظر تعداد کروموزوم پایه، بین گونه‌ها عدد پایه کروموزومی ۷ و ۸ مشاهده گردید. مطالعات کروموزومی این تحقیق نشان داد که به جز گونه *O. viciaefolia* که تتراپلوئید می‌باشد، همه گونه‌های مورد بررسی دیپلوئید بودند. جمعیت‌های گونه *O. michauxii* و گونه *O. pulchella* با عدد پایه کروموزومی $x=8$ ، تعداد کروموزوم $2n=2x=16$ ،

عدد از بذر هر جمعیت توسط کاغذ سمباده خراش داده شد و سپس با آب ژاول ۱۰٪ ضدعفونی شدند. بذره‌های تیمار شده در تشتک‌های پتری محتوی کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند و برای جوانه‌زنی به ژرمیناتور ۲۵ درجه سلسیوس منتقل گردیدند. پس از ۴۸ ساعت که ریشه‌چه‌ها به اندازه ۱-۱/۵ سانتی‌متر رشد کردند، ریشه‌چه‌ها جدا و سپس به محلول پیش‌تیمار ۸- هیدروکسی کینولین انتقال داده شدند و به مدت ۳/۵ ساعت در یخچال نگهداری شدند. نمونه‌ها 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 ۲۴-۳۰ ساعت به مدت ۳ ساعت در آب جاری شستشو و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. بعد از این مدت ریشه‌چه‌ها در محلول سدیم هیدروکسید نرمال به مدت ۱۲ دقیقه در حمام آبی ۶۰ درجه سانتی‌گراد هیدرولیز و سپس با هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. برای از بین بردن تیغه‌میان‌ی و تهیه گسترش بهتر سلولی، ریشه‌چه‌ها به مدت یک ساعت در آنزیم سلولاز و پکتیناز قرار داده شدند و پس از اسکواش، ۵-۱۰ پهنه متافازی میتوز سلول‌های مریستم نوک ریشه برای هر گونه مورد مطالعه قرار گرفت.

در تمام نمونه‌های مورد مطالعه ابتدا تعداد کروموزوم در هسته سلول شمارش شد و پارامترهای کاربوتیپی نظیر طول کل کروموزوم (TL)، مجموع طول بازوی بلند (L) و مجموع طول بازوی کوتاه (S) توسط نرم‌افزار Micromesure 3.3 بر حسب میکرون اندازه‌گیری شد و براساس نسبت بازوی بلند به کوتاه (AR) و شاخص ضریب سانترومیری (CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است، محاسبه شد. دیگر پارامترهای کاربوتیپی مانند

نشان دادند. نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققین در مورد این جنس نیز مؤید نتایج این تحقیق می‌باشد (Hesamzadeh and

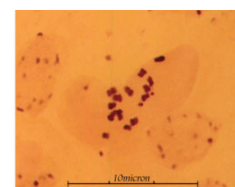
گونه *O. viciaefolia* با پایه کروموزومی $x=7$ ، تعداد کروموزوم $2n=4x=28$ و سایر گونه‌ها، با پایه کروموزومی $x=7$ ، تعداد کروموزوم $2n=2x=14$ را



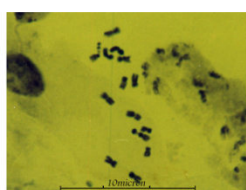
O. mazanderanica 1



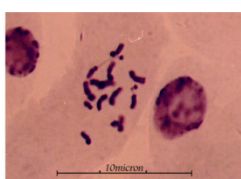
O. mazanderanica 2



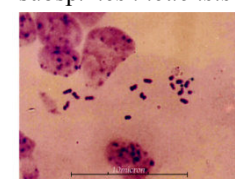
O. amoena
subsp. *meshhedensis*



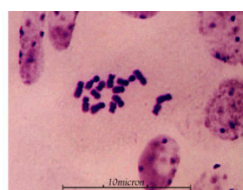
O. amoena subsp. *Amoena*



O. subnitens 1



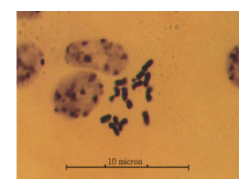
O. subnitens 2



O. schahuensis 1



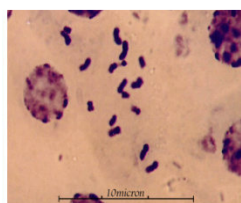
O. schahuensis 1



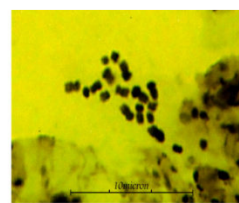
O. chorassanica 1



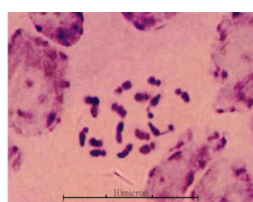
O. chorassanica 2



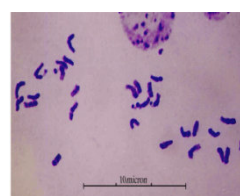
O. michauxii 1



O. michauxii 2



O. pulchella

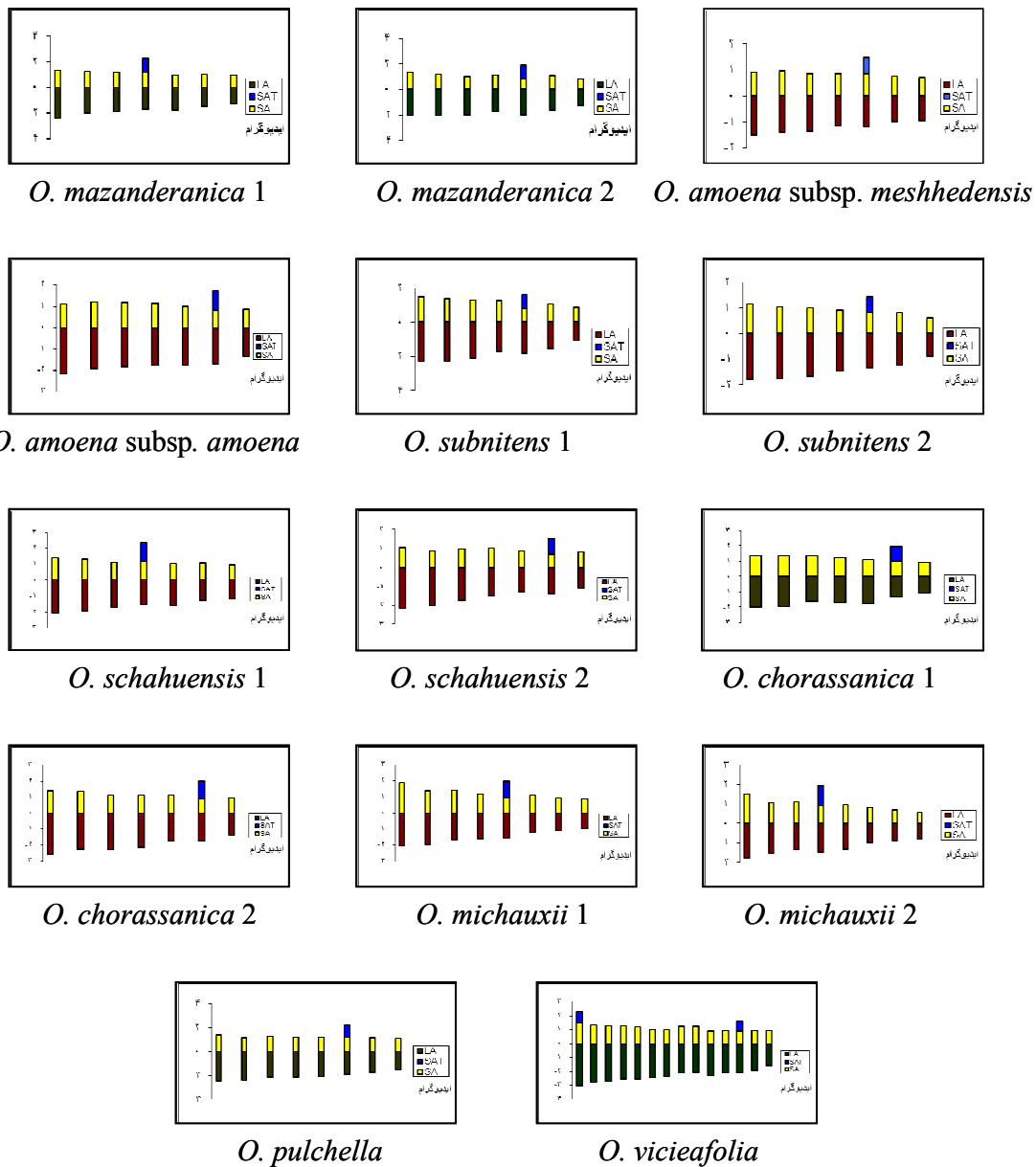


O. viciaefolia

شکل ۱- متافاز میتوزی به همراه کاریوگرام گونه‌های مورد بررسی

کروموزم پایه هستند ولی تمامی آن‌ها در داشتن کروموزم‌های کوچک مشترک هستند، به عبارت دیگر در مقایسه با بسیاری از گونه‌ها و جنس‌های

Ziaie Nasab. 2009; Ansari *et al.* 2000; Goldblatt. 1992-1993; Cao. 1984) از نظر تعداد ماهواره‌ها، نیز همه گونه‌ها دو ماهواره داشتند. همچنین این مطالعه نشان داد که هرچند گونه‌ها و جمعیت‌های مختلف اسپرس دارای تعداد متفاوتی



شکل ۲- ایدیوگرام گونه‌های اسپرس مورد بررسی

اسپرس نیز نشان داد که بیشترین میانگین طول ژنوم متعلق به گونه *O. viciaefolia* (۴۸/۱۵۷ میکرون)

دیگر گیاهی میانگین طول کروموزم‌های اسپرس کوچک‌تر است. مقایسه میانگین طول ژنوم گونه‌های

مؤید نظر محققین قبلی از جمله ابو ال عین (Abou-El-Enain. 2002) و حسام‌زاده و ضیاعی نسب (Hesamzadeh and Ziai Nasab. 2009) می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی نشان داد که بین گونه‌های مورد مطالعه از نظر تمامی صفات در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت (جدول ۳). معنی‌دار بودن صفات کروموزومی بیانگر تنوع کاریوتیپی در بین گونه‌های مورد مطالعه است که این امر می‌تواند دلیلی بر انجام مطالعات جامع کروموزومی جهت تعیین وضعیت تکاملی و بررسی قرابت و خویشاوندی گونه‌های مختلف اسپرس باشد. نتایج تجزیه همبستگی صفات کاریوتیپی (جدول ۴) نشان داد که اکثر صفات در سطح احتمال یک درصد از همبستگی بالایی برخوردار بودند. از نظر میانگین طول بازوی

و کمترین آن متعلق به گونه *O. amoana* subsp. *meshhedensis* (۱۴/۴۰۹ میکرون) بود. با استفاده از نسبت اندازه طول بازوی بلند بر بازوی کوتاه کروموزوم‌ها و براساس نظر *Levan et al.* (1964) فرمول کاریوتیپی گونه‌های مورد بررسی تعیین شد. ویژگی‌های کاریوتیپی گونه‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تیپ کروموزوم‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر از نوع متاستریک (m) تا ساب‌متاستریک (sm) می‌باشد، بطوری‌که، تمام کروموزوم‌های گونه‌های *O. amoana* subsp. *meshhedensis* 1، *O. schahuensis* 1 و جمعیت‌های گونه *O. chorassanica* 1 از نوع متاستریک و سایر گونه‌ها تلفیقی از متاستریک تا ساب‌متاستریک می‌باشد که

جدول ۱- گونه‌های مورد مطالعه کروموزومی جنس *Onobrychis* و رویشگاه‌آن‌ها

ROW	Species	Habitat
1	<i>O. mazanderanica</i> 1Rech.f.	Mazandaran: Noshahr, Zaloos, Dalam, 571†
2	<i>O. mazanderanica</i> 2Rech.f.	Mazandaran: Sari, Narmabdos, Saidabad, 171†
3	<i>O. amoena</i> subsp. <i>meshhedensis</i> Širj. & Rech.f.	Fariman, Arrehkamar, 1900m
4	<i>O. amoena</i> subsp. <i>amoena</i> M. Pop. et Vved.	Bojnord, Shoghan, 2000m
5	<i>O. subnitens</i> 1Bornm.	East Azarbaijan: Sarab, 278†
6	<i>O. subnitens</i> 2Bornm.	East Azarbaijan: Hashtroud, Zolbin, 318†
7	<i>O. schahuensis</i> 1Bornm.	Kermanshah, Eslamabad-e- Gharb, Govareh, 419†
8	<i>O. schahuensis</i> 2Bornm.	Kermanshah: Javanroud, 413†
9	<i>O. chorassanica</i> 1 Bunge.	Bojnord: Samsiyab, 475† Khorasan Razavi: Mashhad, Kalat road to Dargaz, 588†
10	<i>O. chorassanica</i> 2Bunge.	
11	<i>O. michauxii</i> 1DC.	East Azarbaijan: Mianeh, 291†
12	<i>O. michauxii</i> 2DC.	East Azarbaijan: Kaleibar, 280†
13	<i>O. pulchella</i> Schrenk.	Khorasan Razavi: Mashhad, Kalat, Chenar, 471†
14	<i>O. viciaefolia</i>	Lorestan: Aligodarz, 525†

†: شماره گونه مورد نظر در بانک ژن گیاهی ملی ایران

جدول ۲- ویژگی‌های کاریوتیپی گونه‌های اسپرس مورد مطالعه

Row	Species	2n	X	TF%	S%	DRL	A ₁	A ₂	SC	Sat	K.F
1	<i>O. mazanderanic</i> 1	14	7	38.94	59.87	7.38	0.352	0.174	1A	2	10m+4s m
2	<i>O. mazanderanica</i> 2	14	7	36.45	61.2	6.62	0.419	0.147	2A	2	8m+6sm
3	<i>O. amoena</i> subsp. <i>meshhedensis</i>	14	7	41.19	68.26	5.35	0.291	0.120	1A	2	14m
4	<i>O. amoena</i> subsp <i>amoena</i>	14	7	37.35	66.42	5.57	0.402	0.135	1A	2	10m+4s m
5	<i>O. subnitens</i> 1	14	7	38.57	51.43	8.78	0.360	0.223	2A	2	12m+2s

6	<i>O. subnitens</i> 2	14	7	38.04	51.21	8.65	0.381	0.214	1A	2	12m+2sm
7	<i>O. schahuensis</i> 1	14	7	41.08	62.5	6.70	0.292	0.211	1A	2	14m
8	<i>O. schahuensis</i> 2	14	7	36.32	59.51	7.43	0.410	0.196	2A	2	8sm+6m
9	<i>O. chorassanica</i> 1	14	7	41.71	58.68	7.11	0.274	0.180	1A	2	14m
10	<i>O. chorassanica</i> 2	14	7	35.82	58.76	7.44	0.381	0.182	2A	2	8sm+6m
11	<i>O. michauxii</i> 1	16	8	43.95	48.55	9.16	0.208	0.250	1A	2	16m
12	<i>O. michauxii</i> 2	16	8	43.28	42.55	10.54	0.238	0.288	1B	2	16m
13	<i>O. pulchella</i> 1	16	8	36.83	68.23	4.66	0.406	0.120	2A	2	8sm+8m
14	<i>O. viciaefolia</i>	28	7	32.49	55.21	4.21	0.514	0.158	3A	4	22sm+6m

2n: تعداد کروموزوم؛ X: عدد پایه کروموزومی؛ DRL%: اختلاف دامنه طول نسبی؛ TF%: درصد فرم کلی؛ S%: طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم؛ A₁: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی؛ A₂: شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی؛ SC: کلاس استیپیز؛ Sat: ستلا تیت؛ KF: فرمول کاربوتیپی

جدول ۳- تجزیه واریانس پارامترهای کاربوتیپی در گونه‌های مورد مطالعه اسپرس

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)					r-value	CI
			S	L	TL	AR			
Species	گونه گیاهی	13	17.04**	96.98**	196.51**	74.28**	2.44**	1.01**	
Error	خطا	28	1.23	5.30	9.58	1.08	0.16	0.04	
CV%	ضریب تغییرات		13.39	16.87	14.18	8.26	8.16	7.13	

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

S: مجموع بازوهای کوتاه؛ L: مجموع بازوهای بلند؛ TL: طول کل کروموزوم؛ AR: نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه؛ r-value: نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند؛ CI: شاخص سانترومری

جدول ۴- ضرایب همبستگی ساده صفات کاربوتیپی در گونه‌های مورد مطالعه اسپرس

	S	L	TL	AR	r-value
L	0.91**				
TL	0.96**	0.98**			
AR	0.79**	0.93**	0.9**		
r-value	0.61**	0.41**	0.46**	0.38*	
CI	0.71**	0.59**	0.64**	0.61**	0.92**

، *، *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد

S: مجموع بازوهای کوتاه؛ L: مجموع بازوهای بلند؛ TL: طول کل کروموزوم؛ AR: نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه؛ r-value: نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند؛ CI: شاخص سانترومری

O. michauxii 1 تعلق داشت. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که گونه *O. michauxii* 2 با فرمول کاربوتیپی ۱۶m از بیشترین درصد شکل کلی (۴۳/۹۵) و کمترین مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (۰/۲۰۸) برخوردار بود و نیز گونه *O. viciaefolia* با فرمول کاربوتیپی ۲۲sm+۶m کمترین درصد شکل کلی (۳۲/۴۹) و بیشترین شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (۰/۵۱۴) را

کوتاه و طول بازوی بلند تنوع زیادی بین جمعیت‌های مختلف وجود دارد، به نحوی که کمترین میانگین طول بازوی کوتاه (۰/۵۸۱ میکرومتر) و کمترین میانگین طول بازوی بلند (۰/۸۱۵ میکرومتر) به گونه *O. michauxii* 2 تعلق داشت. در حالی که بیشترین میانگین طول بازوی بلند (۳/۰۱۷ میکرومتر) مربوط به گونه *O. viciaefolia* و بیشترین میانگین طول بازوی کوتاه (۱/۸۴۴ میکرومتر) به گونه

دارای کاربوتیپ‌های نامتقارن‌تر بود که نشان‌دهنده پیشرفته‌بودن این گونه است. در میان گونه‌هایی که در کلاس A قرار گرفتند گونه *O. viciaefolia* در کلاس ۳A قرار گرفت که نشان‌دهنده نامتقارن‌تر بودن و پیشرفته‌تر بودن این گونه است. از طرفی با توجه به این که دو شاخص A1 و A2 تقارن کاربوتیپ را بیان می‌کنند، با استفاده از گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس مقادیر A1 و A2 در مقابل هم می‌توان میزان تقارن یا عدم تقارن هر کاربوتیپ را نیز

نشان داد. میانگین کلیه پارامترهای کاربوتیپی گونه *O. viciaefolia* با سایر گونه‌ها تفاوت داشت و در گروه جداگانه‌ای قرار گرفت. مقایسه میانگین طول بلندترین کروموزوم نیز نشان داد که بین گونه‌های مختلف از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۵).

گونه‌های مورد مطالعه با استفاده از روش Stebbins (1971) از نظر کاربوتیپی نیز مورد مقایسه قرار گرفتند. در میان گونه‌های مورد بررسی گونه 2 *O. michauxii* بر خلاف سایر گونه‌ها که در کلاس A استیپنیز بودند در کلاس B قرار گرفت و

جدول ۵- مقایسه میانگین پارامترهای کاربوتیپی گونه‌های مورد مطالعه اسپرس

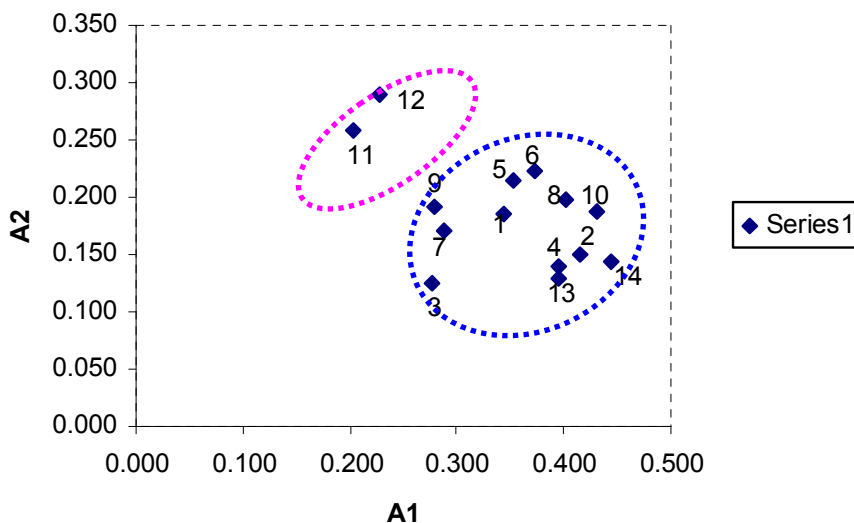
Species	S	L	TL	AR	r-value	CI
<i>O. mazanderanic</i> 1	7.95b-d	12.47bc	20.43c	11.23c-f	4.58bc-e	2.74cd
<i>O. mazanderanica</i> 2	7.24cd	12.79bc	20.14cd	12.67bc	4.08de	2.55d
<i>O. amoena</i> subsp. <i>meshhedensis</i>	5.93d	10.44c	14.41d	10.00ef	5.06b	2.90cd
<i>O. amoena</i> subsp. <i>amoena</i>	7.41cd	12.44bc	19.86cd	11.85b-e	4.23c-e	2.62d
<i>O. subnitens</i> 1	8.07b-d	12.85bc	20.92bc	11.13c-f	4.53bc-e	2.72cd
<i>O. subnitens</i> 2	6.25cd	10.18c	16.43cd	11.29c-f	4.38bc-e	2.68cd
<i>O. schahuensis</i> 1	7.98b-d	11.44c	19.42cd	9.77f	4.97bc	2.88cd
<i>O. schahuensis</i> 2	6.33b-d	11.09c	17.43cd	12.46b-d	4.19de	2.57d
<i>O. chorassanica</i> 1	8.25bc	11.63c	19.88cd	9.85ef	5.03b	2.92cd
<i>O. chorassanica</i> 2	7.93b-d	14.21bc	22.14bc	12.77bc	3.97e	2.51d
<i>O. michauxii</i> 1	9.65b	12.30bc	21.95bc	10.38ef	6.36a	3.52b
<i>O. michauxii</i> 2	7.74b-d	10.14c	17.89cd	10.61d-f	6.17a	3.79b
<i>O. pulchella</i>	9.64b	16.52b	26.33b	13.37b	4.83b-d	3.05c
<i>O. viciaefolia</i>	15.68a	32.50a	48.15a	29.45a	6.85a	4.57a

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

S: مجموع بازوهای کوتاه؛ L: مجموع بازوهای بلند؛ TL: طول کل کروموزوم؛ AR: نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه؛ r-value: نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند؛ CI: شاخص سانترومیری؛

کمترین مقدار A2 مربوط به گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* بود که متقارن‌ترین گونه می‌باشد. از لحاظ بررسی شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A1)، گونه 1 *O. michauxii* با داشتن کمترین مقدار (۰/۲۰۴) متقارن‌ترین و گونه *O. viciaefolia* با داشتن بیشترین مقدار (۰/۴۴۵) از نامتقارن‌ترین کاربوتیپ برخوردار می‌باشد.

بررسی کرد (Romero Zarco. 1986). بر اساس دیاگرام پراکنش جمعیت‌ها در شکل ۳، جمعیت‌ها در ۲ دسته قرار گرفتند، گروه اول شامل دو جمعیت گونه *O. michauxii* بود که دارای بیشترین مقادیر A2 می‌باشند، این مطلب نشان‌دهنده نامتقارن‌تر بودن کاربوتیپ آنها می‌باشد. سایر جمعیت‌ها در دسته دوم قرار گرفتند که نشان‌دهنده متقارن‌تر بودن آنها است.



شکل ۳ - دیاگرام پراکنش گونه‌های مورد مطالعه اسپرس بر اساس دو فاکتور A1 و A2

واریانس بین جمعیت‌ها بودند. نتایج این بررسی با نتایج حسام‌زاده و ضیائی‌نسب (Hesamzadeh and Ziaie Nasab, 2009) در مورد گونه‌های دیگری از اسپرس تطبیق دارد.

تجزیه خوشه‌ای به روش (UPGMA) و با استفاده از ۶ صفت کاربوتیپی ذکر شده در جدول ۶ بر روی ۱۴ جمعیت اسپرس انجام شد و جمعیت‌های مورد مطالعه در ۲ گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول شامل گونه *O. viciaefolia* بود و سایر جمعیت‌های مورد مطالعه در گروه دیگر قرار گرفتند. مشخصه گروه اول نسبت به گروه دوم، داشتن مقادیر بیشتر از نظر تمام صفات می‌باشد.

جمعیت‌های 1 *O. schahuensis* و 2 *O. chorassanica* دارای بیشترین قرابت و نزدیکی بودند و کمترین شباهت بین گونه‌های 1 *O. viciaefolia* و *O. schahuensis* بود. که بدون شک انجام تلاقی بین این دو گونه از موفقیت چندانی برخوردار نخواهد بود. وجود شباهت‌های کروموزومی بسیار زیاد بین جمعیت‌های مورد مطالعه

در مجموع گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* با داشتن فرمول کاربوتیپی ۱۴m، قرار گرفتن در کلاس A، بیشترین طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (۶۸/۲۶)، کمترین میزان نامتقارن بودن بین کروموزومی (۰/۱۲) و درصد فرم کلی بالا به عنوان متقارن‌ترین گونه بود که نشان‌دهنده ابتدایی‌تر بودن این گونه از لحاظ تکاملی می‌باشد.

برای تعیین نقش هر یک از صفات کاربوتیپی مورد مطالعه در تنوع بین گونه‌ها، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر پایه میانگین ۶ صفت انجام شد. بر این اساس صفات مورد مطالعه به دو مؤلفه تقسیم شدند که در مجموع ۹۷/۹۴ درصد از تنوع بین داده‌ها را توجیه می‌نمود (جدول ۶) بطوری‌که در مؤلفه اول، صفات طول بازوی کوتاه، طول بازوی بلند و طول کل کروموزوم با دارا بودن بالاترین ضرایب بردارهای ویژه بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها داشتند. در مؤلفه‌ی دوم نیز صفات نسبت بازوها و شاخص سانترومیری دارای بیشترین اهمیت در

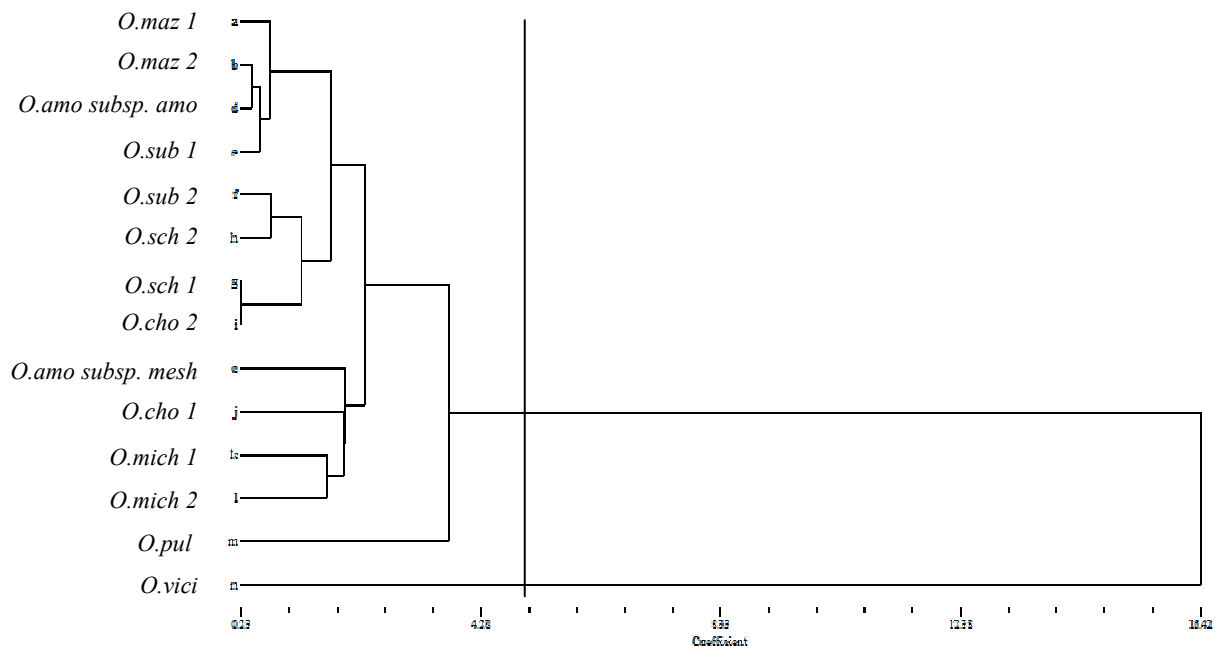
انحصاری ایران هستند و برای اولین بار بررسی شدند، قابل استفاده خواهد بود.

جدول ۶- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات کاربوتیپی گونه‌های مورد مطالعه اسپرس

صفات	مؤلفه‌های اصلی	
	اول	دوم
S	0.43	-0.06
L	0.42	-0.32
TL	0.43	-0.26
AR	0.41	-0.34
r-value	0.33	0.69
CI	0.39	0.47
مقادیر ویژه	4.98	0.89
درصد واریانس نسبی	83.07	14.87
درصد واریانس جمعی	83.07	97.94

S: مجموع بازوهای کوتاه؛ L: مجموع بازوهای بلند؛ TL: طول کل کروموزوم؛ AR: نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه؛ r-value: نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند؛ CI: شاخص سانترومیری

به دلیل جایگاه این جمعیت‌ها در رده‌بندی جنس *Onobrychis* است، اکثر گونه‌های مورد مطالعه متعلق به بخش *Hymenobrychis* هستند که شباهت‌های مورفولوژیکی بسیار زیادی نیز بین آن‌ها وجود دارد. در مجموع این بخش دارای کروموزوم‌های تقریباً متقارن و از این‌رو گونه‌های ابتدایی هستند. شمارش تعداد کروموزوم‌ها و اندازه‌گیری ابعاد آن‌ها و تعیین اختلاف‌های احتمالی بین کروموزوم‌های گونه‌های مختلف می‌تواند به عنوان ابزاری در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقی‌های بین‌گونه‌ای به کار گرفته شود (Lemmi *et al.* 1995). نتایج حاصل از این تحقیق برای انتخاب گونه‌های نزدیک به یکدیگر برای انجام تلاقی بین‌گونه‌ای گونه‌های بررسی شده که اکثراً



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌های مورد مطالعه اسپرس بر اساس ویژگی‌های کاربوتیپی

REFERENCES

Abou-El-Enain MM (2002) Chromosomal criteria and their phylogenetic implication in the genus *Onobrychis* Mill sect. *Lophobrychis* (Leguminosae), with special reference to Egyptian species. Bot. J. of the Linnean Soc. 139: 409-414.

- Amirabadizadeh H, Abbasi M, Ranjbar M (2006) A new species of *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Tribe *Hedysareae*) from Iran. *Iranian J. of Bot.* 12: 187-190.
- Amirabadizadeh H, Ghanavati F, Abbasi M, Ranjbar M (2009) A new species of *Onobrychis* sect. *Afghanicae* (Fabaceae) from Iran. *Iranian J. of Bot.* 15: 45-50.
- Ansari F, Ahmadian P, Nasirzadeh A (2000) Cytological study of *Onobrychis* germplasm in Tehran province. *Iranian J. of Rangeland For Plant Bre. and Gen. Res.* 5: 36-56.
- Ansari F, Nasirzadeh A, Hatami A, (2001) Collection, identification and determination of genetic resources of *Onobrychis* genus in Fars province. *Iranian J. of Rang. and For. Plant Bre. and Gen. Res.* 6(2): 131-140.
- Cao ZZ (1984) Study of the karyotype of *Onobrychis vicifolia*. *Zhongguo Caoyuan Grassland of China.* 1: 54-55.
- Ghanavati F, Tajdini M, Yousefi M, Amirabadizadeh H (2010) Cytogenetical study on species of Sect. *Heliobrychis* of *Onobrychis* in Iran. *Seed and Pl. Imp. J.* 26: 269-284.
- Goldblatt P (1992-1993) Index to Plant Chromosome Numbers for 1992-1993. *Monographs in Systematic Bot.* Vol. 58. Botanical Garden, Saint Lois Missouri.
- Hatami A, Nasirzadeh AR (2006) Change in rank position of two *Onobrychis* subspecies according to morphological and karyotypic studies in Fars province. *Paj. Sz.* 75: 186-191.
- Hesamzadeh SM, Ziaei Nasab M (2009) Cytogenetic study on several populations of diploid species of *Onobrychis* in natural gene bank of Iran. *Iranian J. of Rang. and For. Pl. Bre. and Gen. Res.* 16(2): 158-179.
- Lemmi G, Lorenzetti S, Negri V. 1995. The annual medic collection of the Istituto de Miglioramento Genetico Vegetale of the University of Perugia. *Herba.* 8: 43-52.
- Levan A, Fredga K, Sandberg A (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas.* 52: 201-220.
- Lock JM, Simpson K (1991) Legume of the West Asia: A Check-list. Royal Botanical Gardens, Kew. UK. 452pp.
- Mabberley DJ (1997) *The Plant Book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants*, 2nd ed. Cambridge. UK. 342pp.
- Ranjbar M, Amirabadizadeh H, Karamian R, Ghahremani MA (2004) Notes on *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Fabaceae) in Iran. *Willdenowia.* 34: 187-190.
- Ranjbar M, Karamian R, Johartchi M R (2006) Notes on the taxonomy of *Hedysarum* (Fabaceae) in Iran. *Ann.l Bot. Fen.* 43: 152-155.
- Ranjbar M, Karamian R, Tului Z, Amirabadizadeh H (2007) *Onobrychis assadii* (Fabaceae) a new species from Iran. *Ann. Bot. Fenn.* 44: 481-484.
- Rechinger KH (1984) Papilionaceae. pp. 387- 464. In: Rechinger K H (ed.) *Flora Iranica* 157.
- Romero Zarco C (1986) A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 36: 526-530.
- Stebbins GL (1971) *Chromosomal Evolution in Higher Plants.* Edwardm Arnold (Publisher) Ltd., London.
- Yakovlev GP, Sytin AK, Roskov JR (1996) *Legumes of Northern Eurasia, a Checklist,* Kew., UK. 542pp.

Karyological Survey of some *Onobrychis* Species

F. GHANAVATI^{1*}, H. ESKANDARI² AND GH. R. BAKHSHI KHANIKI³
1, Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, 2, Former M. Sc.
Student, University of Payame Noor, Tehran, 3, Professor, University of Payame Noor,
Tehran

(Received: Nov. 9, 2011- Accepted: Dec. 19, 2011)

ABSTRACT

Fourteen populations of sections *Hymenobrychis*, *Lophobrychis* and *Onobrychis* of sainfoin were collected from natural habitats across Iran. Number and size of the chromosomes as well as karyotypic formula of the populations were measured and studied using their root tip meristemes. The basic chromosome number varied between $x=7$ and $x=8$ and their chromosomal types were metacentric and sub-metacentric. As for the genome length average, the highest belonged to *O. viciaefolia* (48.157 μ m) and the lowest to *O. amoena* subsp. *meshhedensis* (14.409 μ m). The results of variance analysis based on unbalanced completely randomized design showed significant differences among the populations for the most of the studied traits ($P<1\%$). *O. michauxii* 2 classified as asymmetric class of B and others as A. *O. amoena* subsp. *meshhedensis* with 14m formula, stand in A class, had the most relative length of shortest chromosome (68.26), lowest intra chromosomal asymmetrical (0.12), lowest differences of relative length (5.31), and the highest total form percentage was symmetrical species. Using principal components analysis, the first two components justified 97.94% of the total variance. By cutting dendrogram, resulted from cluster analysis based on the karyotypic parameters species, the highest distance was obtained between *O. schahuensis* 1 and *O. viciaefolia* and the lowest metric distance value was obtained between populations of *O. schahuensis* 1 and *O. chorassanica* 1.

Keywords: Karyotype, Number of chromosome, *Onobrychis*, Sainfoin

* Corresponding Author: F. Ghanavati

E-mail: f_ghanavati83@yahoo.com