

مطالعه کاربوتیپی بخش *Hymenobrychis* از جنس اسپرس (*Onobrychis*) در ایران

Karyotypic Study of Sect. *Hymenobrychis* of *Onobrychis* in Iran

فرنگیس قنواتی^۱، حسن اسکندری^۲، غلامرضا بخشی خانیکی^۳، بهزاد سرخی‌لله‌لو^۱ و
حسن امیرآبادی‌زاده^۴

۱- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

۲و۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی و استاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه پیام نور، تهران

۴- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی حراسان رضوی، مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۳/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۸/۶

چکیده

قنواتی، ف.، اسکندری، ح.، بخشی خانیکی، غ.، سرخی‌لله‌لو، ب.، و امیرآبادی‌زاده، ح. ۱۳۸۹ مطالعه کاربوتیپی بخش *Hymenobrychis* از جنس اسپرس (*Onobrychis*) در ایران. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۶: ۵۶۰-۵۴۵.

در این تحقیق یازده جمعیت از بخش *Hymenobrychis* جنس *Onobrychis* (اسپرس)، جمع‌آوری شده از مناطق طبیعی ایران، با استفاده از مریستم انتهایی ریشه مورد مطالعه قرار گرفت و تعداد و ابعاد کروموزوم‌ها در تقسیم میتوز اندازه‌گیری و فرمول کاربوتیپی هر گونه تعیین شد. تعداد کروموزوم پایه در گونه‌ها بین $x=7$ و $x=8$ و نوع کروموزوم‌ها نیز از نوع متاستریک (m) تا ساب متاستریک (sm) بود. بیشترین میانگین طول ژنوم متعلق به گونه *O. chorassanica* (۲۲/۱ میکرومتر) و کمترین آن متعلق به گونه *O. amoana* subsp. *meshhedensis* (۱۴/۴ میکرومتر) بود. نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی نشان داد که بین گونه‌های مورد مطالعه اسپرس از نظر اکثر صفات در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت. بر خلاف سایر گونه‌ها که در کلاس A استیپینز بودند، گونه *O. michauxii* 2 در کلاس B قرار گرفت و دارای کاربوتیپ نسبتاً نامتقارن‌تر بود. گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* با داشتن فرمول کاربوتیپی $14m$ ، قرار گرفتن در کلاس A، بیشترین طول نسبی کروموزوم (۶۸/۲۶ میکرومتر)، کمترین دامنه طول نسبی کروموزوم (۵/۳۱ میکرومتر)، کمترین عدم تقارن بین کروموزومی (۰/۱۲) و درصد فرم کلی بالا به عنوان متقارن‌ترین گونه بود که نشان‌دهنده ابتدایی‌تر بودن این گونه است. در تجزیه به مولفه‌های اصلی، سه مولفه اول بیش از ۹۵/۴ درصد از تنوع بین داده‌ها را توجیه کردند. با توجه به گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس پارامترهای کروموزومی بیشترین شباهت بین جمعیت‌های گونه *O. mazanderanica* و کمترین قرابت و نزدیکی بین گونه‌های *O. michauxii* و *O. mazanderanica* وجود داشت.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، بخش *Hymenobrychis*، تکامل، تعداد کروموزوم، کاربوتیپ.

مقدمه

جنس اسپرس (*Onobrychis*) با دارا بودن بیش از ۱۳۰ گونه یک ساله و چندساله در نواحی معتدله شمالی کره زمین گسترش دارد و مرکز تنوع آن شرق مدیترانه و غرب آسیا است. رشینگر (Rechinger, 1984)، هفتاد و هفت گونه اسپرس ناحیه ایرانیکا را در قالب دو زیرجنس و نه بخش معرفی کرد. زیرجنس *Sisyrosema* شامل پنج بخش *Afghanica*، *Hymenobrychis*، *Heliobrychis*، *Anthyllum* و *Insignes* و زیرجنس *Onobrychis* دارای چهار بخش *Onobrychis*، *Dendrobrychis*، *Laxiflora* و *Lophobrychis* است. رنجبر و همکاران (Ranjbar *et al.*, 2004, 2006, 2007) و امیرآبادی زاده و همکاران (Amirabadizadeh *et al.*, 2006, 2009) نیز چند گونه از جنس *Onobrychis* را به عنوان گونه‌های جدید از ایران معرفی کردند. در ایران جنس *Onobrychis* دارای ۶۳ گونه‌ی (۱۳ گونه یک ساله و ۵۰ گونه چند ساله) است که ۱۱ گونه آن به بخش *Hymenobrychis* تعلق دارد و در بین آن‌ها ۴ گونه، زیرگونه و واریته فقط از ایران گزارش شده‌اند. تعدادی از گونه‌های این بخش دارای ارزش علوفه‌ای بوده و برای کنترل فرسایش و یا به عنوان گیاهان جلب‌کننده زنبور عسل مورد استفاده قرار می‌گیرند (Lock and Simpson, 1991؛ Yakovlev *et al.*, 1996؛ Mabbertley, 1997). این

گونه‌ها تنوع ژنتیکی بالایی داشته و به عنوان ذخیره ژنتیکی غنی و ارزشمند می‌توان از آن‌ها برای اصلاح گونه‌های زراعی استفاده کرد. ذخیره ژنی این جنس دارای سطوح پلوئیدی متفاوت دیپلوئید و تتراپلوئید با عدد پایه کروموزومی متفاوت ۷، ۸ و ۹ است. میرزایی ندوشن و فیاضی (Mirzaie-Nodoushan and Fayazi, 1998) ده جمعیت از گونه *O. sativa* را از نظر تقارن کاریوتیپی مورد مطالعه قرار دادند. با بررسی کاریوتیپ چهار گونه اسپرس نشان داده شد که گونه *O. aucheri* ssp. *tehranica* و *O. scrobiculata*، *O. melanotricha* و *O. oxyptera* دارای ۱۶ کروموزوم هستند و براساس عدد پایه کروموزومی $8x =$ گونه‌های دیپلوئید محسوب می‌شوند (Ansari Asl *et al.*, 2000). حاتمی و نصیرزاده (Hatami and Nasirzadeh, 2006) پس از مطالعه در مورد دو زیر گونه *Onobrychis aucheri* subsp. *tehranica* و گزارش *O. aucheri* subsp. *psammophila* 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. حسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب (Hesamzadeh Hejazi and Ziaei Nasab, 2009)

ریشه‌چه‌های گیاهان مورد بررسی با توسط محلول پیش تیمار ۸- هیدروکسی کینولین، تثبیت کننده لویتسکی و رنگ هماتو کسپلین و بر اساس روش قنواتی و همکاران (۲۰۱۰) آماده سازی شدند. و ۱۰-۵ پهنه متافازی میتوز سلول‌های مریستم نوک ریشه برای هر گونه مطالعه شد.

در تمام نمونه‌های مورد مطالعه ابتدا تعداد کروموزم 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 **3.3 Micromesure** 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 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 شد. همبستگی و مقایسه میانگین

ضمن بررسی ۲۱ جمعیت از ۱۴ گونه اسپرس دریافتند که گونه *O. crista-galli* با فرمول کاربوتیپی $2m+6sm$ و گونه *O. aucheri* با فرمول کاربوتیپی $8m$ به ترتیب نامتقارن‌ترین و متقارن‌ترین کاربوتیپ هستند. در بررسی آن‌ها، گونه *O. hohenackeriana* با داشتن بیشترین تغییرات بین کروموزومی نامتقارن‌ترین کاربوتیپ را داشت. قنواتی و همکاران (Ghanavati et al., 2010) گونه‌های بخش *Heliobrychis* را مورد ارزیابی قرار دادند و دریافتند که گونه *O. oxyptera* نامتقارن‌ترین و گونه‌های *O. lunata* و *O. heliocarpa* متقارن‌ترین گونه‌های این بخش هستند. در پژوهش حاضر با شمارش و اندازه‌گیری کروموزم‌های مرحله متافازی میتوز گونه‌های بخش *Hymenobrychis* که بسیاری از آن‌ها مخصوص ایران هستند و تاکنون مطالعات کروموزومی آن‌ها به‌طور کامل انجام نشده است، ضمن تعیین کاربوتیپ تاکسون‌ها به منظور تعیین عدد کروموزومی، مطالعه شکل و اندازه کروموزوم‌ها و تکامل کاربوتیپی، گونه‌های نزدیک به یکدیگر نیز برای انجام تلاقی بین گونه‌ای با استفاده از روش‌های تجزیه آماری چند متغیره تعیین شدند.

مواد و روش‌ها

یازده تاکسون اسپرس مربوط به Sect. *Hymenobrychis* از نظر مشخصات کروموزومی مورد مطالعه قرار گرفتند.

؛Ansari Asl *et al.*, 2000, 2001؛Cao, 1984؛Goldblatt, 1992-1993؛Zohary, 1972). 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 کروموزم پایه هستند ولی همگی در داشتن کروموزم‌های کوچک مشترک هستند، به عبارت دیگر در مقایسه با بسیاری از گونه‌ها و جنس‌های دیگر گیاهی میانگین طول کروموزم‌های اسپرس کوچک تر است. مقایسه میانگین طول ژنوم گونه‌های اسپرس نیز نشان داد که بیشترین میانگین طول ژنوم متعلق به گونه *O. chorassanica* (۲۲/۱۴۴ میکرومتر) و کمترین آن متعلق به گونه *O. amoana* subsp. *meshhedensis* (۱۴/۴۰۹ میکرومتر) بود.

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. ویژگی‌های کاریوتیپی گونه‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. گونه‌های این جنس دارای تیپ کروموزومی متاستریک تا ساب‌متاستریک بودند. به طوری که تمام کروموزوم‌های گونه‌های *O. schahuensis* 1، *O. michauxii* و *O. amoana* subsp. *meshhedensis* از نوع متاستریک و سایر گونه‌ها تلفیقی از متاستریک تا ساب‌متاستریک تعیین شد که موید

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 مولفه اصلی و برای گروه‌بندی آن‌ها تجزیه کلاستر (UPGMA) انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS9، SPSS 16 و NTSYS 2.02 انجام شد.

نتایج و بحث

نام و رویشگاه گونه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. گونه‌های *O. mazanderanica*، *O. subnitens*، *O. amoena* subsp. *meshhedensis* انحصاری ایران هستند و برای اولین بار در این تحقیق مطالعات کاریوتیپی آن‌ها انجام شد. تصاویر صفحه متافازی و کاریوگرام گونه‌های مورد مطالعه در شکل ۱ و ایدیوگرام مربوط به آن‌ها در شکل ۲ ارائه شده است. از نظر تعداد کروموزوم پایه، بین گونه‌ها عدد پایه کروموزومی ۷ و ۸ مشاهده شد. گونه *O. michauxii* با عدد پایه کروموزومی $x=8$ دارای $2n=2x=16$ کروموزوم و سایر گونه‌ها با عدد پایه کروموزومی $x=7$ تعداد $2n=2x=14$ کروموزوم داشتند و همگی دیپلوئیید بودند. نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققین در مورد این جنس نیز موید نتایج این تحقیق است (Hesamzadeh Hejazi and Ziaei Nasab, 2009)

جدول ۱- گونه‌های مورد مطالعه بخش *Hymenobrychis* و رویشگاه های آن‌ها در ایران
Table 1. Studied species of sect. *Hymenobrychis* and their habitats in Iran

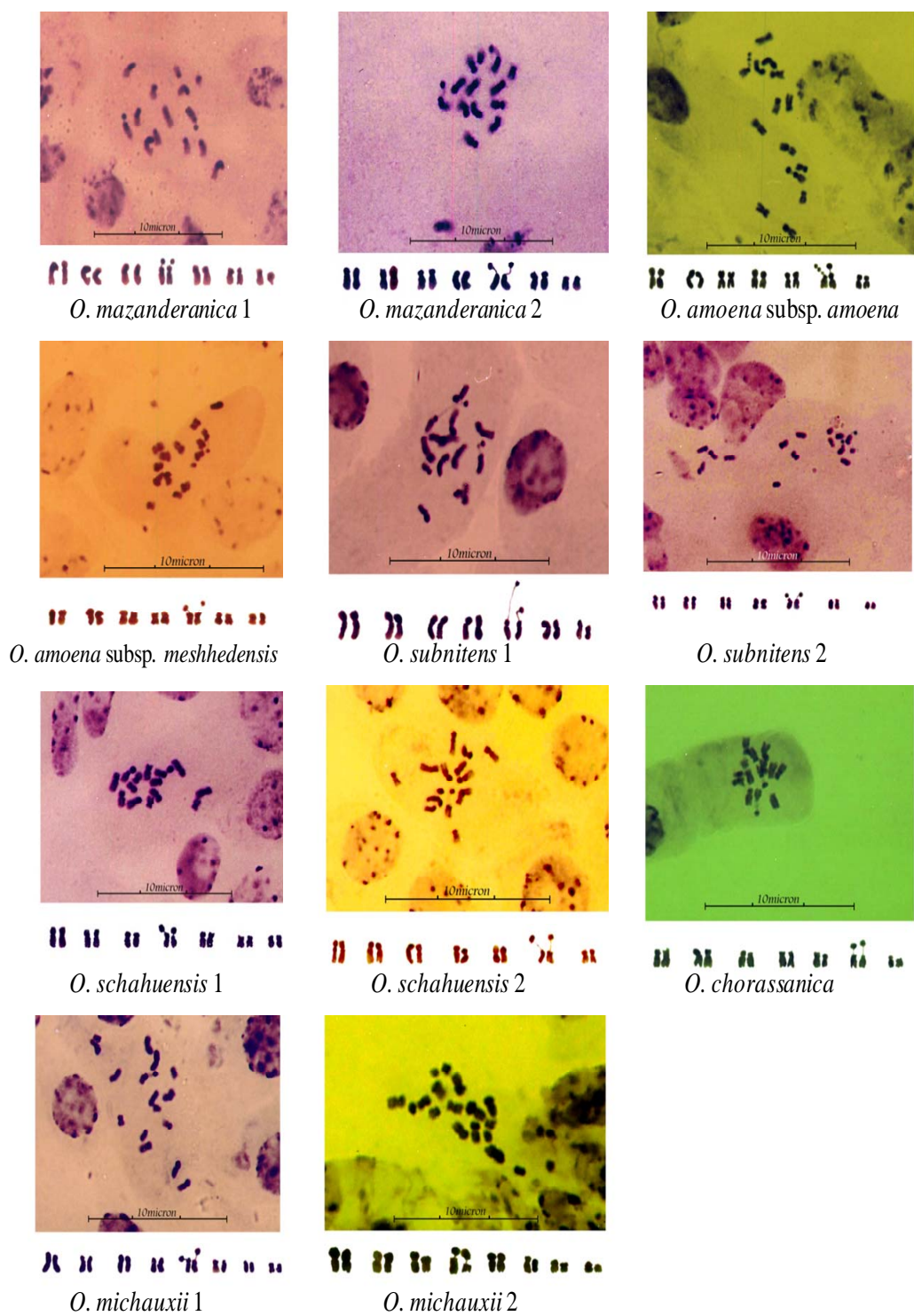
Species	Habitat
<i>O. mazanderanica</i> 1 Rech.f.	Mazandaran: Noshahr, Zaloos, Dalam, 571†
<i>O. mazanderanica</i> 2 Rech.f.	Mazandaran: Sari, Narmabdos, Saidabad, 171†
<i>O. amoena</i> M. Pop. et Vved. subsp. <i>amoena</i>	Bojnord, Shoghan, 2000m
<i>O. amoena</i> subsp. <i>meshhedensis</i> Širj. & Rech.f.	Fariman, Arrehkamar, 1900m
<i>O. subnitens</i> 1 Bornm.	East Azarbaijan: Sarab, 278†
<i>O. subnitens</i> 2 Bornm.	East Azarbaijan: Hashtroud, Zolbin, 318†
<i>O. schahuensis</i> 1 Bornm.	Kermanshah, Eslamabad-e- Gharb, Govareh, 419†
<i>O. schahuensis</i> 2 Bornm.	Kermanshah: Javanroud, 413†
<i>O. chorassanica</i> Bunge.	Khorasan Razavi: Mashhad, Kalat road to Dargaz, 588†
<i>O. michauxii</i> 1 DC.	East Azarbaijan: Mianeh, 291†
<i>O. michauxii</i> 2 DC	East Azarbaijan: Kaleibar, 280†

† شماره TN نمونه در بانک ژن گیاهی ملی ایران.

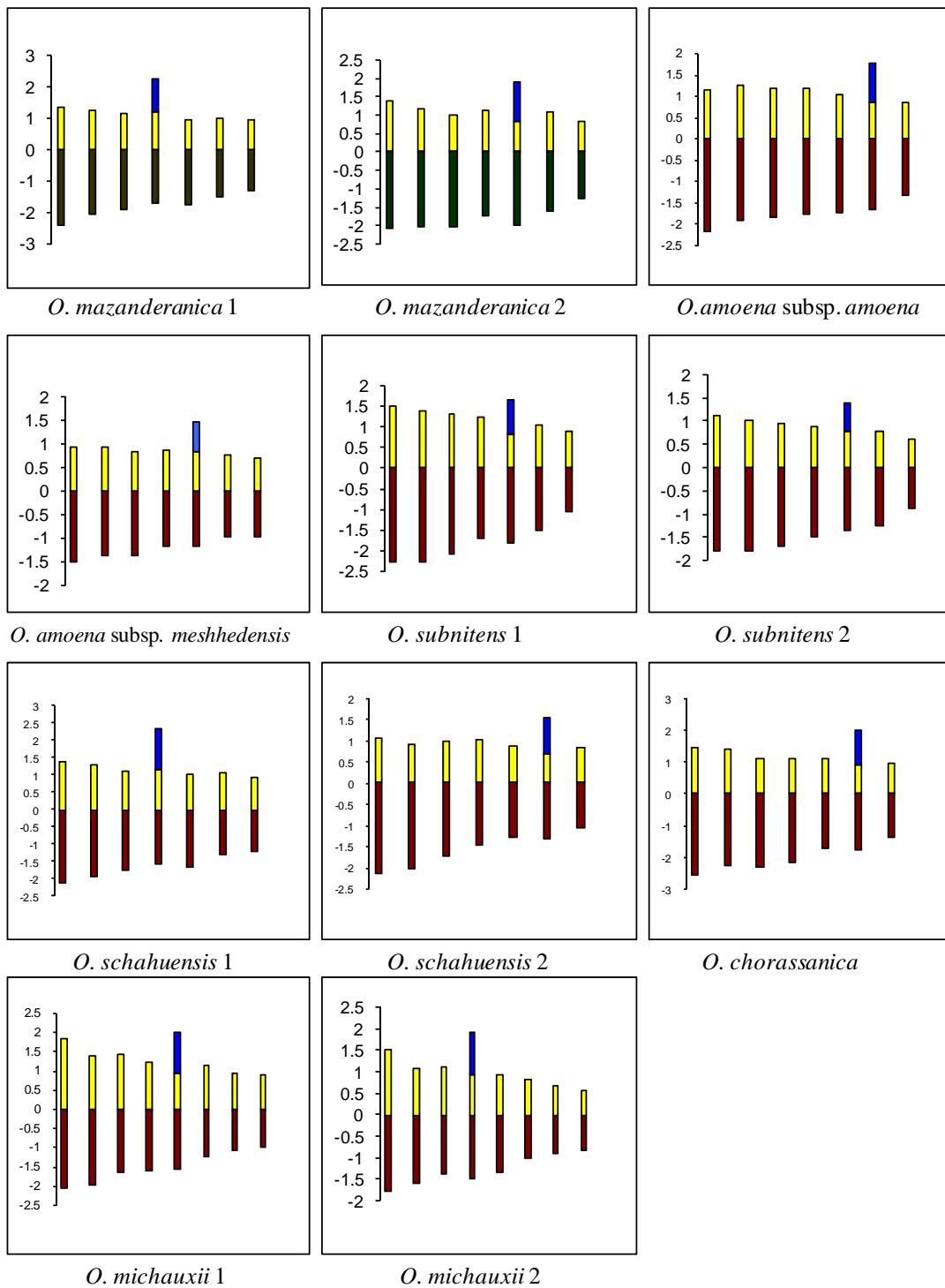
†Number of TN in National Plant Genebank of Iran.

داد که بین گونه‌های مختلف اسپرس از نظر صفات مجموع طول بازوهای کوتاه (S)، شاخص سانترومیری (CI) و نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند (r-value) در سطح یک درصد و در مورد صفات طول کل کروموزوم (TL)، نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه (AR) در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت و برای صفت مجموع طول بازوهای بلند کروموزوم (L) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳). معنی‌دار بودن صفات کروموزومی بیانگر تنوع کاربوتیپی در بین گونه‌های مورد مطالعه است که این امر

نظر محققین قبلی از جمله جسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب (۲۰۰۹) و (۲۰۰۲) Abou-El-Enain است. گونه *O. michauxii* 1 با فرمول کاربوتیپی ۱۶m از بیشترین درصد شکل کلی (۴۳/۹۶۶) و کمترین مقدار شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی (۰/۲۰۴) برخوردار بود و گونه *O. chorassanica* با فرمول کاربوتیپی ۶m+۸sm کمترین درصد شکل کلی (۳۵/۶۸۲) و بیشترین شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (۰/۴۳۲) را نشان داد. نتایج تجزیه واریانس صفات مربوط به کروموزوم‌ها نشان



شکل ۱- متافاز میتوزی به همراه کاریوگرام چند گونه از بخش *Hymenobrychis*
 Fig.1. Metaphase mitosis and karyogram of some species of sect. *Hymenobrychis*



شکل ۲- ایدیوگرام چند گونه از بخش Hymenobrychis
 Fig .2. Idiogram of some species of sect. Hymenobrychis

جدول ۲- ویژگی های کاریوتیپی چند گونه از بخش *Hymenobrychis*
Table 2. Karyotypic characteristics of some species of *Hymenobrychis*

Species	2n	X	DRL%	TF%	S%	A1	A2	SC	sat	KF
<i>O. mazanderanica</i> 1	14	7	7.247	38.827	60.050	0.345	0.186	1A	2	10m+4sm
<i>O. mazanderanica</i> 2	14	7	6.618	36.437	61.197	0.416	0.150	2A	2	8m+6sm
<i>O. amoena</i> subsp. <i>meshhedensis</i>	14	7	5.319	41.228	68.269	0.277	0.125	1A	2	14m
<i>O. amoena</i> subsp. <i>amoena</i>	14	7	5.574	37.450	66.450	0.395	0.139	1A	2	10m+4sm
<i>O. subnitens</i> 1	14	7	8.675	38.770	51.988	0.352	0.215	2A	2	12m+2sm
<i>O. subnitens</i> 2	14	7	8.720	38.185	50.863	0.373	0.223	1A	2	12m+2sm
<i>O. schauhensis</i> 1	14	7	6.656	41.020	62.738	0.289	0.171	1A	2	14m
<i>O. schauhensis</i> 2	14	7	7.633	36.288	58.296	0.401	0.199	2A	2	6m+8sm
<i>O. chorassanica</i>	14	7	7.434	35.686	58.878	0.432	0.187	2A	2	6m+8sm
<i>O. michauxii</i> 1	16	8	9.161	43.966	48.977	0.204	0.258	1A	2	16m
<i>O. michauxii</i> 2	16	8	10.537	43.362	42.617	0.227	0.290	1B	2	16m

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 استینز sat: ستلایت؛ KF: فرمول کاریوتیپی.

2n: Number of chromosomes; X: Base of chromosomes; DRL: Differencce of relative length; TF%: Total form percentage; S%: Relative length of shortest chromosome; A₁: Intra asymmetry chromosomal index; A₂: Inter asymmetry chromosomal index; SC: Stebins Class; sat: satelait; KF: Karyotypic formula.

مثبت و با سایر صفات همبستگی چندانی نشان نمی‌دهد. در حالی که مجموع طول بازوهای کوتاه (S) از بیشترین همبستگی با سایر صفات برخوردار بود و با افزایش مجموع طول بازوی کوتاه (S)، مجموع طول بازوهای بلند (L)، طول کل کروموزوم (TL)، نسبت بازوی کوتاه به بازوی بلند (r-value) و شاخص ساترومری (CI) افزایش می‌یابد (جدول ۴). از نظر میانگین

می‌تواند دلیلی بر انجام مطالعات جامع کروموزومی جهت تعیین وضعیت تکاملی و بررسی قرابت و خویشاوندی گونه‌های مختلف اسپرس باشد. نتایج تجزیه همبستگی کلیه صفات کاریوتیپی نشان داد که طول کل کروموزوم (TL) با صفات مجموع طول بازوهای بلند (L) و مجموع طول بازوهای کوتاه (S) همبستگی

جدول ۳ - تجزیه واریانس ویژگی‌های کاربوتیپی گونه‌های مختلف بخش Hymenobrychis

Table 3. Analysis of variance for the karyotypic characteristics of different species of Hymenobrychis

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS				r-value	CI
			S	L	TL	AR		
Species	گونه گیاهی	10	3.32**	5.04 ^{ns}	17.27*	3.32*	1.98**	0.51**
Error	خطا	22	0.94	3.34	5.63	1.08	0.18	0.04
CV%	ضریب تغییرات		12.94	15.42	12.37	9.21	8.88	7.76

ns ، * و **: به ترتیب غیر معنی دار ، معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.

ns , * and **: Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively .

S: مجموع طول بازوهای کوتاه ؛ L: مجموع طول 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.

S: Sum length of short arms; L: Sum length of long arms ; TL: Total length of chromosome; AR: Ratio of long arm to short arm; r- value: Ratio of hort arm to long arm; CI: Centromic Index.

جدول ۴- ضرایب همبستگی ساده ویژگی‌های کاریوتیپی در گونه‌های بخش *Hymenobrychis*
Table 4. Simple correlation coefficients for different karyological characters in sect. *Hymenobrychis*

	S	L	TL	AR	r-value
L	0.56**				
TL	0.86**	0.81**			
AR	-0.25 ^{ns}	0.36*	0.21 ^{ns}		
r-value	0.43*	-0.31 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	-0.75**	
CI	0.38*	-0.30 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	-0.61**	0.91**

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.
ns، * and **: Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively .

S: مجموع طول بازوهای کوتاه؛ L: مجموع طول 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.

S: Sum length of short arms; L: Sum length of long arms ; TL: Total length of chromosome; AR: Ratio of long arm to short arm; r- value: Ratio of short arm to long arm; CI: Centromeric Index.

O. chorassanica با سایر گونه‌ها تفاوت داشت. مقایسه میانگین طول بلندترین کروموزوم نیز نشان داد که بین گونه‌های مختلف از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. از نظر شاخص سانترومری نیز بین جمعیت‌های گونه *O. michauxii* و سایر گونه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۵).

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

طول بازوی کوتاه (S) و طول بازوی بلند (L) تنوع زیادی بین جمعیت‌های مختلف وجود داشت، به نحوی که کمترین میانگین مجموع طول بازوی کوتاه (۵/۹۳ میکرومتر) به گونه *O. amoena* subsp. *meshhedensis* کمترین میانگین مجموع طول بازوی بلند (۱۰/۱۸ میکرومتر) به گونه 2 *O. michauxii* تعلق داشت. بیشترین میانگین مجموع طول بازوی بلند (۱۴/۲۱ میکرومتر) مربوط به گونه *O. chorassanica* و بیشترین میانگین مجموع طول بازوی کوتاه (۷/۹۸ میکرومتر) به گونه 1 *O. schauhensis* تعلق داشت. همچنین نتایج نشان داد که میانگین مجموع بازوهای بلند گونه

جدول ۵ - مقایسه میانگین ویژگی های کاربوتیپی گونه های مختلف بخش *Hymenobrychis*
 Table 5. Mean comparison of karyotypic characteristics of different species of *Hymenobrychis*

Species	S	L	TL	AR	r-value	CI
<i>O. mazanderanica</i> 1	7.95ab	12.47ab	20.43abc	11.23abcd	4.58bcd	2.74b
<i>O. mazanderanica</i> 2	7.24bc	12.79ab	20.14abc	12.67a	4.08d	2.55b
<i>O. amoena</i> subsp. <i>meshhedensis</i>	5.93c	10.44b	14.41d	10.00cd	5.06b	2.90b
<i>O. amoena</i> subsp. <i>amoena</i>	7.41bc	12.44ab	19.86abc	11.85abc	4.23cd	2.62b
<i>O. subnitens</i> 1	8.07ab	12.85ab	20.9abc	11.13abcd	4.53bcd	2.72b
<i>O. subnitens</i> 2	6.25bc	10.18b	16.43cd	11.29abcd	4.38bcd	2.68b
<i>O. schauhensis</i> 1	7.98ab	11.44ab	19.42abc	9.77d	4.97bc	2.88b
<i>O. schauhensis</i> 2	6.33bc	11.09ab	17.43bcd	12.46ab	4.19cd	2.57b
<i>O. chorassanica</i>	7.93ab	14.21a	22.14a	12.77a	3.97d	2.51b
<i>O. michauxii</i> 1	9.65a	12.30ab	21.95ab	10.38cd	6.36a	3.52a
<i>O. michauxii</i> 2	7.74bc	10.14b	17.89abcd	10.61bcd	6.17a	3.79a

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.

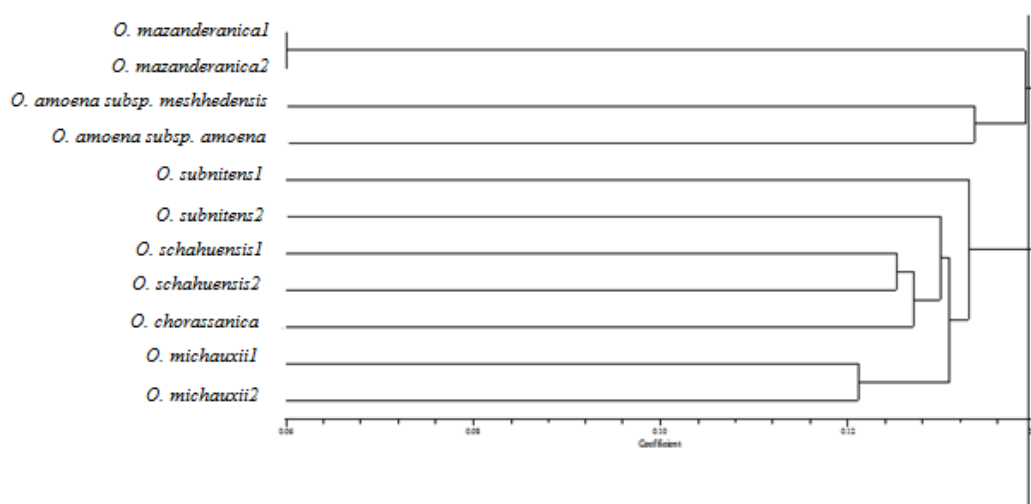
Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

S: مجموع طول بازوهای کوتاه؛ L: مجموع طول 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.

S: Sum length of short arms; L: Sum length of long arms; TL: Total length of chromosome; AR: Ratio of long arm to short arm; r-value: Ratio of short arm to long arm; CI: Centromic Index.

نامتقارن تر بودن و پیشرفته تر بودن این گونه ها است. از طرفی با توجه به این که دو شاخص A₁ و A₂ تقارن کاربوتیپ را بیان می کنند، با استفاده از گروه بندی گونه ها بر اساس مقادیر A₁ و A₂ در مقابل هم می توان میزان تقارن یا عدم تقارن هر کاربوتیپ را نیز بررسی کرد (Romero Zarco, 1986). بر اساس

کلاس B قرار گرفت و دارای کاربوتیپ های نامتقارن تر بود که نشان دهنده پیشرفته بودن این گونه است. این جمعیت در میان گونه هایی که در کلاس A قرار گرفتند گونه های *O. subnitens* 1، *O. mazanderanica* 2، *O. schauhensis* 2 و *O. chorassanica* در کلاس A₂ قرار گرفتند که نشان دهنده



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌های بخش Hymenobrychis بر اساس دو پارامتر A1 و A2

Fig. 3. Dendrogram of cluster analysis of different species of Hymenobrychis based on A1 and A2 parameters

مقایسه‌ترین گونه شناخته شد که نشان‌دهنده ابتدایی‌تر بودن این گونه است. برای تعیین نقش هر یک از صفات کاریوتیپی مورد مطالعه در تنوع بین گونه‌ها، تجزیه به مولفه‌های اصلی بر پایه میانگین شش صفت انجام شد. بر این اساس صفات مورد مطالعه به سه مولفه تقسیم شدند که در مجموع ۹۵/۴ درصد از تنوع بین داده‌ها را توجیه کرد (جدول ۶) به طوری که در مولفه اول، صفات نسبت بازوها و شاخص سانترومری با دارا بودن بالاترین ضرایب بردارهای ویژه بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها داشتند. در مولفه دوم و سوم نیز صفات طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بودند. نتایج این بررسی با نتایج حسام‌زاده حجازی و ضیائی‌نسب (۲۰۰۹) در

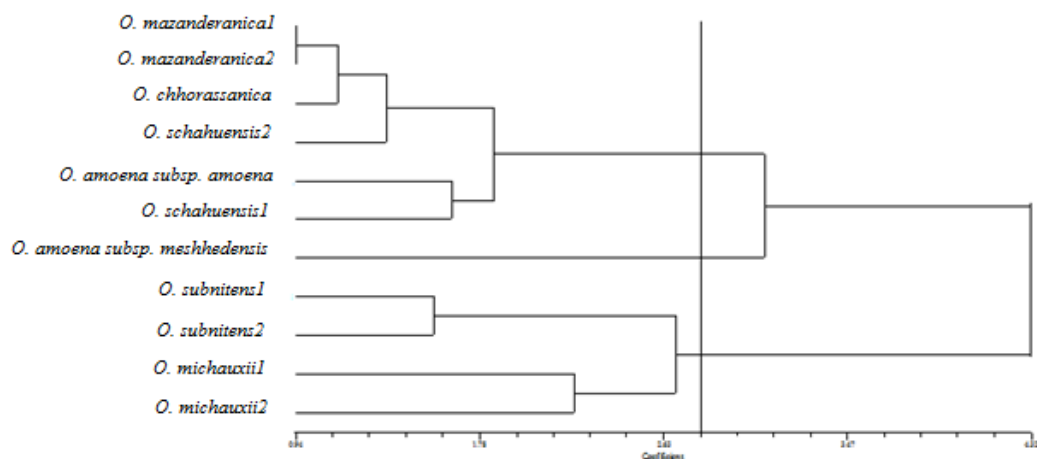
دندروگرام گونه‌ها در شکل ۳، گونه‌ها در دو دسته قرار گرفتند. دسته اول دارای مقادیر کمتر A2 بودند که این مطلب نشان‌دهنده مقایسه‌ترین بودن کاریوتیپ آن‌ها است. گونه‌های *O. amoena subsp. amoena*، *O. amoena subsp. meshhedensis* و جمعیت‌های گونه *O. mazanderanica* در این دسته قرار گرفتند. سایر گونه‌ها در دسته دوم قرار گرفتند که نشان‌دهنده نامقایسه‌ترین بودن این گونه‌ها است. در مجموع گونه *O. amoena subsp. meshhedensis* با داشتن فرمول کاریوتیپی ۱۴m، قرار گرفتن در کلاس 1A، بیشترین طول نسبی کروموزوم (۶۸/۲۶)، کمترین دامنه طول نسبی کروموزوم (۵/۳۱)، کمترین میزان نامقایسه‌ترین بودن بین کروموزومی (۰/۱۲) و درصد فرم کلی بالا به عنوان

جدول ۶- تجزیه به مولفه های اصلی ویژگی های کاربوتیپی چند گونه از بخش *Hymenobrychis*
 Table 6. Principale components analysis of karyotypic characteristics of some species of *Hymenobrychis*

صفات Characteristic	مولفه های اصلی Principal components		
	اول First	دوم Second	سوم Third
	S	0.06	0.707
L	0.01	0.69	-0.66
TL	0.45	0.06	0.38
AR	0.50	-0.06	-0.16
r-value	-0.51	0.05	0.09
CI	0.51	0.04	0.12
مقادیر ویژه	3.66	1.52	0.53
واریانس نسبی	61.04	25.47	8.95
واریانس تجمعی	61.04	86.51	95.46

S: مجموع طول بازوهای کوتاه ؛ L: مجموع طول 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.

S: Sum length of short arms; L: Sum length of long arms ; TL: Total length of chromosome; AR: Ratio of long arm to short arm; r- value: Ratio of short arm to long arm; CI: Centromic Index.



شکل ۴ - دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای گونه های بخش *Hymenobrychis* بر اساس ویژگی های کاربوتیپی

Fig. 4. Dendrogram of cluster analysis of different species of *Hymenobrychis* based on karyotypic characteristics

برخوردار نخواهد بود. وجود شباهت‌های کروموزومی بسیار زیاد بین جمعیت‌های مورد مطالعه به دلیل جایگاه این جمعیت‌ها در رده‌بندی جنس *Onobrychis* است، گونه‌های مورد مطالعه همگی 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 این رو 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 بین گونه‌ای به کار گرفته شود (Lemmi *et al.*, 1995). نتایج حاصل از این تحقیق برای انتخاب گونه‌های نزدیک به یکدیگر برای انجام تلاقی بین گونه‌ای گونه‌های بخش *Hymenobrychis* که اکثراً انحصاری ایران هستند و برای اولین بار بررسی شدند قابل استفاده خواهد بود.

مورد گونه‌های دیگری از اسپرس مطابقت دارد. به منظور گروه‌بندی گونه‌ها تجزیه خوشه‌ای بر پایه کلیه صفات کاربوتیپی، با استفاده از نرم‌افزار NTSYS و به روش UPGMA انجام شد (شکل ۴). بر این اساس گونه‌های مورد مطالعه در سه گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول شامل جمعیت‌های *O. michauxii* و *O. subnitens* بود، در این گروه جمعیت‌های دو گونه تشکیل گروه‌های مجزا را دادند. گونه متقارن *O. amoena* subsp. *Meshhedensis* در گروه جداگانه قرار گرفت. سایر گونه‌ها در گروه سوم جای داشتند. در این میان دو جمعیت گونه *O. mazanderanica* گروه مجزایی را تشکیل دادند. با توجه به گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس خصوصیات کروموزومی (شکل ۴) بیشترین شباهت بین جمعیت‌های گونه *O. mazanderanica* و کمترین قرابت و نزدیکی بین گونه‌های *O. mazanderanica* و *O. michauxii* وجود داشت، که بدون شک انجام تلاقی بین این دو گونه از موفقیت چندانی

References

- Abou-El-Enain, M. M. 2002. Chromosomal criteria and their phylogenetic implication in the genus *Onobrychis* Mill sect. *Lophobrychis* (Leguminosae), with special reference to Egyptian species. *Botanical Journal of the Linnean Society* 139: 409-414.
- Amirabadizadeh, H., Abbasi, M., and Ranjbar, M. 2006. A new species of *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Tribe Hedysareae) from Iran. *Iranian Journal of Botany* 12: 187-190 (in Persian).

- Amirabadizadeh, H., Ghanavati, F., Abbassi, M., and Ranjbar, M. 2009.** A new species of *Onobrychis* sect. *Afghanicae* (Fabaceae) from Iran. *Iranian Journal of Botany* 15: 45-50 (in Persian).
- Ansari Asl, F., Ahmadian, P., and Nasirzadeh, A. 2000.** Cytological study of *Onobrychis* germplasm in Tehran province. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 5: 36-56 (in Persian).
- Ansari Asl, F., Nasirzadeh, A., and Hatami, A. 2001.** Collection, identification and determination of genetic resources of *Onobrychis* genus in Fars province. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 6(2): 131-140 (in Persian).
- Cao, Z. Z. 1984.** Study of the karyotype of *Onobrychis vicifolia*. *Zhongguo Caoyuan Grassland of China* 1: 54-55.
- Ghanavati, F., Tajdini, M., Yousefi, M., and Amirabadizadeh, H. 2010.** Cytogenetical study on species of Sect. *Heliobrychis* of *Onobrychis* in Iran. *Seed and Plant Improvement Journal* 26: 269-284 (in Persian).
- Goldblatt, P. 1992-1993.** Index to Plant Chromosome Numbers for 1992- 1993. Monographs in Systematic Botany, Vol. 58. Botanical Garden, Saint Lois Missouri.
- Hatami, A., and Nasirzadeh, A.R. 2006.** Change in rank position of two *Onobrychis* subspecies according to morphological and karyotypic studies in Fars province. *Pajouhesh & Sazandegi* 75: 186-191 (in Persian).
- Hesamzadeh Hejazi, S.M., and Ziaei Nasab, M. 2009.** Cytogenetic study on several populations of diploid species of *Onobrychis* in natural gene bank of Iran. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 16(2): 158-179 (in Persian).
- Lemmi, G., Lorenzetti, S., and 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., and Sandberg, A. A. 1964.** Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Lock, J. M., and Simpson, K. 1991.** Legume of the West Asia: A Chek-list. Royal Botanical Gardens, Kew. UK. 452pp.

- Mabberley, D. J. 1997.** The Plant Book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants, 2nd ed. Cambridge, UK. 342pp.
- Mirzaie-Nodoushan, H., and Fayazi, M. A. 2000.** Selection indices in some sainfoin (*Onobrychis sativa*) population. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 5 : 14-18 (in Persian).
- Ranjbar, M., Amirabadizadeh, H., Karamian, R., and Ghahremani, M. A. 2004.** Notes on *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Fabaceae) in Iran. Willdenowia 34: 187-190.
- Ranjbar, M., Karamian, R., and Johartchi, M. R. 2006.** Notes on the taxonomy of *Hedysarum* (Fabaceae) in Iran. Annual Botany Fennici 43: 152-155.
- Ranjbar, M., Karamian, R., Tolui, Z., and Amirabadizadeh, H. 2007.** *Onobrychis assadii* (Fabaceae) a new species from Iran. Annual Botany Fennici 44:481-484.
- Rechinger, K. H. 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, G. L. 1971.** Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edwardm Arnold (Publisher) Ltd., London.
- Yakovlev, G. P., Sytin, A. K., and Roskov, J. R. 1996.** Legumes of Northern Eurasia, a Checklist, Kew., UK. 542pp.
- Zohary, M. 1972.** Flora Palestina, Part Two. The Israel Academy of Scinces and Humanities. Israel.