

بررسی کاربوتیپ گونه‌هایی از یونجه‌های یکساله (*Medicago spp.*) با استفاده از روشهای آماری چند متغیره.

آناهیتا شریعت^(۱)، حسین میرزایی‌ندوشن^(۲)، عباس قمری زارع^(۳)

و محمد حسین سنگتراش^(۳)

چکیده

تاکنون مطالعات سیتوژنتیکی پراکنده‌ای در خصوص سطح پلوئیدی و تعداد کروموزوم‌های تعدادی از جمعیتها و گونه‌های یونجه یکساله صورت گرفته ولی مطالعات قابل توجهی در زمینه چگونگی روابط و خویشاوندی احتمالی این گونه‌ها صورت نگرفته است. در این بررسی با استفاده از چندین روش آماری فاصله ژنتیکی گونه‌های مورد مطالعه ارزیابی می‌گردد. بدین منظور یازده جمعیت از هفت گونه مختلف یونجه یکساله مورد مطالعات کروموزومی قرار گرفتند. مشخصه‌های کاربوتیپی متعددی در حداقل پنج سلول متافازی از هر جمعیت مورد اندازه‌گیری و محاسبه قرار گرفت. با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی اختلاف بین جمعیتها و نیز کروموزومها مورد آزمون قرار گرفت. پس از تایید وجود تفاوت معنی‌دار بین جمعیتها و کروموزومها از نظر ابعاد کروموزومی اندازه‌گیری شده، با استفاده از روشهای آماری چند متغیره تجزیه خوشه‌ای و نیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی میزان قرابت بین جمعیتهای

۱- کارشناس ارشد اصلاح نباتات، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، صندوق پستی

۱۱۶-۱۳۱۸۵

۲- عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران صندوق پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵

۳- عضو هیئت علمی دانشگاه سیستان و بلوچستان

مورد مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت.

دو گروه ۱۴ و ۱۶ کروموزومی در بین گونه‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه مشاهده گردید. در جمعیت‌های ۱۴ کروموزومی با تجزیه خوشه‌ای بر مبنای طول بازوی کوتاه سه جمعیت از گونه *M. polymorpha* در کنار یکدیگر قرار گرفتند که حاکی از کارایی این صفت کاریوتیپی و نوع تجزیه در تعیین قرابت گونه‌ها می‌باشد. در بین جمعیت‌های ۱۶ کروموزومی گونه‌های *M. truncatula* و *M. radiata* بیشترین فاصله را بر مبنای طول کل کروموزوم نسبت به یکدیگر نشان دادند.

در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی سه متغیر طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و نسبت طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه بیشترین نقش را در تشکیل مؤلفه اول داشتند. همچنین مؤلفه اول به تنهایی بیش از ۹۸ درصد از واریانس موجود در داده‌ها را بیان نمود. نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه و طول بازوی کوتاه بیشترین نقش را در تشکیل مؤلفه دوم دارا بودند.

واژه‌های کلیدی: یونجه یکساله، تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، سیتوزنتیک، تقارب ژنتیکی.

مقدمه

یونجه‌های یکساله به دلیل خودگشنی کامل از نظر بسیاری از صفات مورفولوژیک تفاوت‌های زیادی نسبت به یکدیگر نشان می‌دهند. همینطور از نظر صفات کاربوتیپی از جمله سطح پلوئیدی، تعداد کروموزومهای پایه، ابعاد کروموزومها نظیر طول بازوهای بلند و کوتاه و نسبت‌های بین این بازوها تفاوت‌های زیادی بین این گونه‌ها مشاهده شده است (شریعت، ۱۳۸۰، گزانچیان، ۱۳۷۲، موسی پورگرگی، ۱۳۷۷، Bauchan و Hossain ۱۹۹۸، Mariani و Falistocco، ۱۹۹۰، Karadag و Gulcan، ۱۹۹۷)

تاکنون ۱۴ تا ۱۸ گونه مختلف از یونجه‌های یکساله از مناطق مختلف کشور ما جمع آوری و گزارش گردیده است (حیدری شریف آباد و ترک‌نژاد، ۱۳۷۹ و گزانچیان، ۱۳۷۲). این گونه‌ها می‌توانند در اصلاح و احیای مراتع کم بازده در مناطق مختلف کشور بخصوص در مناطقی که مشکل کم آبی وجود دارد مورد استفاده قرار گیرند. تاکنون مطالعات سیتوژنتیکی پراکنده‌ای در خصوص سطح پلوئیدی و تعداد کروموزوم‌های تعدادی از جمعیتها و گونه‌های یونجه یکساله صورت گرفته است (شریعت، ۱۳۸۰، گزانچیان، ۱۳۷۲، موسی پورگرگی، ۱۳۷۷) ولی مطالعات قابل توجهی در زمینه چگونگی روابط و خویشاوندی احتمالی این گونه‌ها صورت نگرفته است. در این بررسی با استفاده از چندین روش آماری فاصله ژنتیکی گونه‌های مورد مطالعه ارزیابی می‌گردد.

از روشهای آماری یک و چند متغیره تاکنون استفاده‌های متعددی جهت بررسی ویژگیهای کاربوتیپی گونه‌های مختلف گیاهی شده است. از جمله Kang و Yuguang (۱۹۹۳) با استفاده از روش چند متغیره آماری تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای، تعداد ۳۰ رقم گیاه گلرنگ زراعی را از نظر ویژگیهای زراعی مورد بررسی قرار دادند. Sheidai و همکاران (۱۹۹۶) با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای داده‌های

جمعیتها و گونه‌های مختلف زیره را مورد مطالعه قرار داده و تنوع زیادی را از نظر ویژگیهای کاربوتیپی در بین و درون گونه‌های مورد مطالعه مشاهده نمودند. همچنین Sheidai و همکاران (۱۹۹۸) با استفاده از روشهای مختلف آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیریهای کروموزومی ارقامی از پنبه را مورد بررسی قرار داده و تنوع کاربوتیپی زیادی را در ارقام مورد مطالعه این گونه مشاهده نمودند. Mirzaie-Nodoushan و Fayyazi (۱۹۹۹) از روشهای مذکور در ارزیابی کاربوتیپی جمعیتهایی از اسپرس استفاده نمودند. همچنین Mirzaie-Nodoushan و همکاران (۲۰۰۰) از روشهای آماری یک و چند متغیره در مطالعه ویژگیهای کاربوتیپی جمعیتهای مختلف گونه‌ای از بروموس (*Bromus tomentellus*) بهره گرفتند.

با توجه به اینکه جمعیتها و گونه‌های مورد بررسی در این مطالعه به گونه‌های مختلف تعلق دارند که از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری گردیده‌اند، احتمال اینکه از نقطه نظر ویژگیهای کروموزومی با یکدیگر اختلافات زیادی داشته باشند که به ایجاد تنوع ژنتیکی وسیع و ناسازگاری بین آنها منجر گردد وجود دارد.

در مورد جمعیتهای مختلف یک گونه و نیز گونه‌های مختلف یونجه یکساله در ایران ذکر این نکته لازم است که این گونه‌ها در بیشتر اقالیم حیاتی کشور پراکنده هستند و از مناطق رویشی مرطوب خزری در شمال تا مناطق گرم و خشک مرکزی و جنوبی کشور جمع‌آوری و گزارش گردیده‌اند (حیدری شریف آباد و ترک‌نژاد، ۱۳۷۹). به همین دلیل احتمال تنوع کاربوتیپی و حتی تنوع در تعداد کروموزوم پایه جمعیتهای مختلف یک گونه نیز وجود دارد.

یافتن فاصله ژنتیکی و خویشاوندی گونه‌های مختلف از یک جنس که در یک برنامه اصلاحی مورد استفاده قرار می‌گیرند از اولین قدمهایی است که باید برداشته شود. این امر بخصوص زمانی که تلاقی بین گونه‌های مختلف مورد نظر باشد ضرورت پیدا می‌کند. در یک طرح تحقیقاتی جاری مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع که در آن

تلاقیهای بین گونه‌ای بین چندین گونه یونجه یکساله پیش بینی شده بود، انجام این تلاقیها در عمل با مشکل مواجه گردید. که یکی از دلایل آن عدم سازگاری گونه‌ها از نظر ساختار کروموزومی و شباهتهای کاربوتیپی قلمداد گردید. از این رو انجام مطالعات سیتوژنتیکی گسترده‌ای در دستور کار قرار گرفت تا ضمن مطالعه سطح پلوئیدی و ویژگیهای کاربوتیپی گونه‌های مورد نظر با استفاده از روشهای مختلف آماری و غیر آماری تقارب و خویشاوندی این گونه‌ها مورد مطالعه قرار گیرد. در این مقاله با استفاده از روشهای آماری چند متغیره‌ای چون تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نسبت به تخمین فاصله ژنتیکی گونه‌های مورد مطالعه نیز اقدام می‌گردد.

مواد و روشها

جمعیتها و گونه‌های مورد مطالعه

تعدادی از جمعیتها و گونه‌های مختلف یونجه یکساله که از مناطق مختلف جمع آوری شده بودند و در بانک ژن منابع طبیعی مرکز تحقیقات البرز وابسته به مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع نگهداری می‌شوند مورد استفاده قرار گرفتند و یازده جمعیت که قابلیت تجزیه و تحلیل با استفاده از روشهای آماری چند متغیره در آنها وجود داشت در این مطالعه بکار گرفته شدند. اسامی این گونه‌ها، شماره ثبت بانک ژن و یا محل جمع آوری نمونه‌ها و نیز کد اختصاری اختصاص یافته به هر جمعیت در جدول شماره ۱ ارائه گردیده است.

مطالعات کروموزومی

به منظور تهیه سلولهای متافازی از جمعیتهای مذکور ابتدا بذور مورد نظر با قارچکش بنومیل آغشته شده و سپس در پتری دیش و روی کاغذ صافی مرطوب کاشته شدند. پس از جوانه دار شدن بذور، مریستمهای انتهایی ریشه‌ها جدا شده و به مدت دو

ساعت در محلول ۸ هیدروکسی کینولین به عنوان محلول پیش تیمار جهت تهیه سلولهای متافازی نگهداری گردیدند. از محلول یک به سه اسید استیک گلاسیال و الکل اتیلیک خالص به مدت ۲۴ ساعت نیز به عنوان محلول تثبیت کننده استفاده شده و پس از هیدرولیز با اسید کلریدریک یک نرمال در دمای ۶۰ درجه به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه و رنگ آمیزی با اورسئین استیک ۲٪ نمونه‌ها به روش معمول اسکواش شده و با میکروسکوپ نوری سلولهای متافازی شناسایی شدند. حد اقل ۵ سلول مناسب متافازی از هر جمعیت مورد اندازه گیریهای کروموزومی قرار گرفتند. در تمام سلولهای مورد مطالعه تعداد کروموزومها شمارش شده و بازوهای بزرگ و کوچک با روشهای مختلف مورد اندازه گیری قرار گرفتند.

محاسبات آماری

با داشتن طول بازوهای بلند و کوتاه، طول کل کروموزومها و نسبتهای بین طول بازوهای بلند به بازویهای کوتاه و نسبت طول بازوهای کوتاه به طول بازوهای بلند محاسبه گردید. با استفاده از روش لوان (Levan و همکاران، ۱۹۶۴)، کروموزومها بر اساس محل قرار گرفتن سانترومر دسته بندی گردیدند.

جمعیتهای مورد مطالعه از نظر تعداد کروموزوم در دو گروه مختلف قرار گرفتند ($2n=2x=16$ ، $2n=2x=14$)، مقایسات جمعیتهای هم گروه در گروههای ۱۴ و ۱۶ کروموزومی به طور جداگانه انجام گرفت. گروه اول شامل ۴ جمعیت با ۱۴ کروموزوم و گروه دوم شامل ۷ جمعیت با ۱۶ کروموزوم (جدول شماره ۱).

تجزیه خوشه‌ای^۱

گروه‌های مختلف کروموزومی بر اساس صفات مختلف کاربوتیپی توسط روش آماری تجزیه خوشه‌ای دسته بندی گردید و فاصله ژنتیکی بین آنها تعیین گردید.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی^۲

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ضمن اینکه نقش هر صفت کاربوتیپی را در واریانس موجود در داده‌ها تعیین می‌نماید، می‌تواند بر مبنای کلیه صفات کاربوتیپی مؤلفه‌هایی تولید کند که با استفاده از آنها بتوان دوری و نزدیکی فاصله ژنتیکی و خویشاوندی گونه‌های مورد مطالعه را ارزیابی نموده و در محور مختصات به نمایش گذاشت. از این رو بر اساس اطلاعات حاصل از گروه‌های دوگانه، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز صورت گرفت. در هر دو گروه از جمعیت‌های مورد مطالعه مؤلفه‌های اول و دوم که بیشترین واریانس موجود در داده‌ها را بیان می‌نمودند در محور مختصات در مقابل هم پلات گردیدند. در تجزیه و تحلیل این داده‌ها از نرم‌افزارهای MSTATC و SAS (میرزایی ندوشن، ۱۳۷۵ و ۱۳۷۸) و نیز JMP استفاده گردید.

نتایج و بحث

در بررسی‌های انجام شده چهار جمعیت از دو گونه دارای ۱۴ کروموزوم و بقیه جمعیت‌ها و گونه‌ها دارای ۱۶ کروموزوم بودند که اسامی و تعداد کروموزوم‌ها و فرمول کاربوتیپی آنها در جدول شماره ۱ ارائه گردیده است.

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس طول بازوهای بلند و کوتاه و نیز طول کل کروموزوم جمعیت‌های دارای ۱۴ کروموزوم در شکل‌های شماره ۱ تا ۳ ارائه گردیده

است. از نظر هر سه صفت مذکور گونه *M. polymorpha* (جمعیت خاش) بیشترین فاصله را با گونه *M. radiata* (جمعیت آذربایجان غربی) از خود نشان داده است. همینطور هر سه جمعیت مربوط به گونه *M. polymorpha* در دندروگرام در کنار یکدیگر و برای صفات طول بازوهای بلند و کوتاه در یک دسته قرار گرفته اند.

نتیجه حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس اندازه‌های کروموزومی جمعیت‌های دارای ۱۶ کروموزوم در شکل‌های شماره ۴ الی ۶ ارائه شده است. از نظر طول کل کروموزوم، طول بازوی کوتاه و بلند، گونه‌های *M. truncatula* (G۷) و جمعیت شماره ۲۹ از گونه *M. radiata* (G۵) دارای بیشترین فاصله بودند. این موضوع بیانگر این امر است که این دو گونه ممکن است از نظر ساختار کروموزومی بیشترین فاصله را نسبت به یکدیگر داشته باشند. از نظر طول کل کروموزوم کمترین فاصله بین گونه‌های *M. minima* (G۶) و *M. rigidula* (G۱۱) مشاهده گردید. از نظر طول بازوی کوتاه کمترین فاصله بین گونه‌های *M. minima* (G۶) و *M. litoralis* (G۸) و از نظر طول بازوی بلند کمترین فاصله بین گونه‌های *M. radiata* (جمعیت شماره ۲۹) (G۵) و گونه *M. orbicularis* (جمعیت گرگان) (G۹) ارزیابی گردید. لازم به توضیح است که وقتی بر اساس داده‌های حاصل از صفات مورفولوژیک، دورترین دسته‌ها در تجزیه خوشه‌ای مشخص شوند، انتظار می‌رود که این دسته‌ها بتوانند بیشترین تنوع ژنتیکی را جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی آن گونه ایجاد نمایند. ولی در خصوص دسته‌بندی بر اساس ویژگی‌های کاربوتیبی، دورترین دسته‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای دارای بیشترین ناهمگنی از نظر ویژگی‌های کروموزومی هستند و ممکن است به ایجاد ناسازگاری‌های ژنتیکی از جمله ضعف باروری و تولید مثل منجر گردند. تفاوت ابعاد کروموزومی در دو فرد خصوصاً تفاوت‌هایی که از نظر آماری نیز معنی دار شده‌اند، وقتی در اثر دورگیری به نتایج منتقل می‌گردند می‌توانند به صورت دو کروموزوم همولوگ ناهمگن در فرد ظاهر شوند که یکی از عمده‌ترین اثرات آن کاهش باروری و تولید بذر

می باشد. در یونجه‌های یکساله تولید بذر بیشتر یکی از رموز بقای این گونه‌ها در شرایط نامساعد محیطی است و لذا نا همگنی کروموزومی می تواند در دراز مدت به بقای این گونه‌ها و یا دورگهای ایجاد شده لطمه وارد نماید.

نتایج تجزیه داده‌های کاربوتیپی به مؤلفه‌های اصلی مربوط به گونه‌ها و جمعیت‌های دارای ۱۴ کروموزوم، در جداول شماره ۲ الی ۴ ارائه گردیده است. در این تجزیه مشاهده می شود که سه متغیر طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و نسبت طول بازوی بلند به طول بازوی کوتاه بیشترین نقش را در تشکیل مؤلفه اول داشتند (۰/۷۳۷، ۰/۵۴ و ۰/۳۳۶). همچنین مؤلفه اول به تنهایی بیش از ۹۸ درصد از واریانس موجود در داده‌ها را بیان می نماید (جدول شماره ۴). نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه و طول بازوی کوتاه بیشترین نقش را در تشکیل مؤلفه دوم دارا بودند (۰/۸۲- و ۰/۴۲۵). مؤلفه دوم تنها ۱/۵۹ درصد از واریانس موجود در داده‌ها را بیان می نماید. در جمعیت‌های ۱۴ کروموزومی در مؤلفه اول بیشترین مقدار به جمعیت آذربایجان غربی از گونه *M. radiata* و در مؤلفه دوم بیشترین مقدار به گونه *M. polymorpha* تعلق گرفته است (جدول شماره ۳).

نتایج تجزیه داده‌ها در گونه‌های ۱۶ کروموزومی در جداول شماره ۵ الی ۷ ارائه شده است. نقش ویژگی‌های کاربوتیپی از جمله طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه کروموزوم‌ها، نسبت‌های طول بازوی بلند به بازوی کوتاه و نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند، در تعیین هر مؤلفه مشخص گردیده است. بر اساس رشته‌های مخفی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ویژگی طول کل کروموزوم‌ها، طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند بیشترین نقش را در تشکیل مؤلفه اول داشتند (۰/۸۰۳، ۰/۳۹۸ و ۰/۳۹۳) (جدول شماره ۶). مؤلفه اول به تنهایی ۸۸/۹ درصد از واریانس موجود در داده‌ها را بیان می نماید (جدول شماره ۷). نقش مؤلفه‌های اصلی در تبیین تنوع و واریانس موجود در صفات کاربوتیپی هر یک از جمعیت‌های مورد مطالعه در

جدول شماره ۶ ارائه گردیده است. در مؤلفه اول بیشترین مقدار مؤلفه به جمعیت خاش از گونه *M. polymorpha* و از نظر مؤلفه دوم بیشترین مقدار به گونه *M. rigidula* تعلق گرفته است.

نتیجه حاصل از پلات دو مؤلفه در هر دو تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در اشکال شماره ۷ و ۸ ارائه گردیده است. در این نمودارها جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس داده‌های کاربوتیپی رسته بندی گردیدند. این رسته بندی میتواند مکمل تجزیه خوشه‌ای باشد و اطلاعات کاربوتیپی را به نحو بهتری تفسیر نماید. شکل شماره ۸ نشان می‌دهد که جمعیت‌های شماره ۲۹ از گونه *M. radiata* (G۵) و جمعیت شماره ۱۱۲۴ از گونه *M. orbicularis* (G۱۰) که در مجاورت یکدیگر قرار گرفته‌اند و نیز گونه‌های *M. minima* (G۶) و *M. truncatula* (G۷) از نظر ژنتیکی ممکن است خویشاوندی بیشتری داشته باشند و در تلاقی‌های بین گونه‌ای تا جایی که به همگنی کاربوتیپی مربوط می‌شود کمترین ناسازگاری را از خود نشان دهند.

جدول شماره ۱: اسامی و شماره ثبت، میانگین کل اندازه کروموزوم‌ها به میکرون، تعداد کروموزوم‌ها و فرمول کاربوتیپی جمعیتها و گونه‌های مورد مطالعه.

فرمول کاربوتیپی	2n	میانگین کل	کد	ژنوتیپ
6m+1Sm	۱۴	۲/۰۵	G _۱	<i>M. polymorpha</i> نمونه خاش
5m+2Sm	۱۴	۲/۲۵	G _۲	<i>M. polymorpha</i> نمونه گرگان
7m	۱۴	۱/۷۱	G _۳	<i>M. polymorpha</i> اهواز
3m+4Sm	۱۴	۲/۴۹	G _۴	<i>M. radiata</i> آذربایجان غربی
6m+2Sm	۱۶	۲/۲۳	G _۵	<i>M. radiata</i> شماره ۲۹
7m+1Sm	۱۶	۱/۹۵	G _۶	<i>M. minima</i> شماره ۳۱۶
5m+3Sm	۱۶	۱/۷۲	G _۷	<i>M. truncatula</i> شماره ۱۱۴۶
7m+1Sm	۱۶	۱/۹۹	G _۸	<i>M. litoralis</i> شماره ۱۰۳۸
5m+3Sm	۱۶	۲/۱۳	G _۹	<i>M. orbicularis</i> نمونه گرگان
7m+1Sm	۱۶	۲/۱۸	G _{۱۰}	<i>M. orbicularis</i> نمونه بهبهان
5m+3Sm	۱۶	۱/۹۷	G _{۱۱}	<i>M. rigidula</i> شماره ۱۱۲۸

جدول شماره ۲ : رشته‌های مخفی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی داده‌های کاربوتیپی نمونه‌های دارای هفت جفت کروموزوم همولوگ، به ترتیب اهمیت صفات کاربوتیپی

مؤلفه ۳	مؤلفه ۲	مؤلفه ۱	صفت کاربوتیپی
-۰/۰۳۴	۰/۳۱۸	۰/۷۳۷	طول کل
۰/۴۸۷	-۰/۰۲۳	۰/۵۴۰	طول بازوی بلند L
-۰/۱۴۲	-۰/۸۲۰	۰/۳۳۶	نسبت L/S
-۰/۵۵۴	۰/۴۲۵	۰/۱۹۰	طول بازوی کوتاه S
۰/۶۵۹	۰/۲۱۴	-۰/۱۲۸	نسبت S/L

جدول شماره ۳ : مؤلفه‌های اصلی حاصل از تجزیه روی صفات کاربوتیپی نمونه‌های دارای هفت جفت کروموزوم همولوگ.

مؤلفه ۳	مؤلفه ۲	مؤلفه ۱	ژنوتیپها
۰/۳۰۶	-۰/۱۳۶	۲/۷۵۵	<i>M. polymorpha</i>
۰/۳۰۳	-۰/۰۰۰	۲/۹۶۷	<i>M. polymorpha</i>
۰/۳۳۵	-۰/۰۴۷	۲/۲۷۰	<i>M. polymorpha</i>
۰/۳۳۹	-۰/۰۷۳	۳/۳۴۰	<i>M. radiata</i>

جدول شماره ۴: ویژگیهای سه مؤلفه اصلی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) روی صفات کاربوتیپی نمونه‌های دارای هفت جفت کروموزوم.

مؤلفه‌ها	ریشه مخفی	درصد واریانس	%تجمعی
مؤلفه ۱	۰/۵۹۸	۹۸/۲۳۶	۹۸/۲۳۶
مؤلفه ۲	۰/۰۱۰	۱/۵۹۴	۹۹/۸۲۹
مؤلفه ۳	۰/۰۰۱	۰/۱۷۰	۹۹/۹۹۹

جدول شماره ۵: رشته‌های مخفی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی داده‌های کاربوتیپی نمونه‌های دارای هشت جفت کروموزوم همولوگ، به ترتیب اهمیت صفات

کاربوتیپی

ویژگیهای کاربوتیپی	مؤلفه ۱	مؤلفه ۲	مؤلفه ۳	مؤلفه ۴
طول کل کروموزوم	۰/۸۰۳	۰/۱۸۵	-۰/۳۰۸	۰/۲۵۸
طول بازوی کوتاه S	۰/۳۹۸	-۰/۲۲۸	۰/۸۲۸	۰/۲۴۲
طول بازوی بلند L	۰/۳۹۳	۰/۳۲۴	-۰/۰۶۴	-۰/۶۳۱
نسبت S/L	۰/۰۵۳	-۰/۲۷۴	-۰/۴۳۰	۰/۵۴۶
نسبت L/S	-۰/۲۰۰	۰/۸۵۶	۰/۱۷۴	۰/۴۲۲

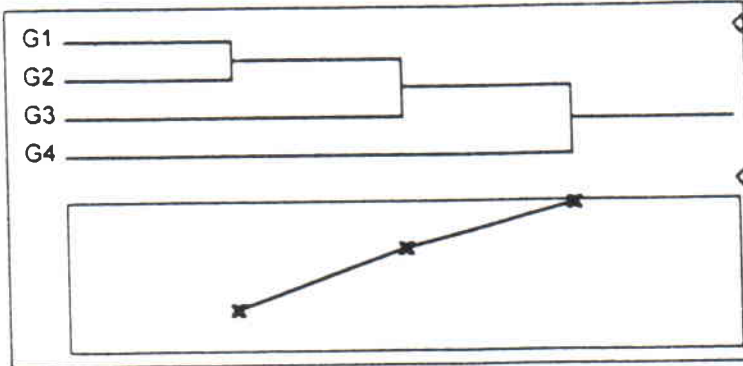
جدول شماره ۶: مؤلفه‌های اصلی حاصل از تجزیه روی صفات کاربوتیپی نمونه‌های دارای هشت جفت کروموزوم همولوگ.

جمعیتها	مؤلفه ۱	مؤلفه ۲	مؤلفه ۳	مؤلفه ۴
جمعیت شماره ۲۹ <i>M. radiata</i>	۲/۴۱۸	۱/۶۷۵	-۰/۰۵۵	۰/۹۹۰
جمعیت شماره ۳۱۶ <i>M. minima</i>	۲/۰۸۶	۱/۶۴۶	-۰/۰۵۹	۰/۹۸۸
جمعیت شماره ۱۱۴۶ <i>M. truncatula</i>	۱/۸۰۰	۱/۶۴۱	-۰/۰۶۸	۰/۹۸۵
جمعیت شماره ۱۰۳۸ <i>M. litoralis</i>	۲/۱۲۵	۱/۶۹۸	-۰/۰۵۴	۰/۹۹۴
نمونه گرگان <i>M. orbicularis</i>	۲/۲۷۴	۱/۷۴۵	-۰/۰۹۸	۰/۹۸۷
نمونه بهبهان <i>M. orbicularis</i>	۲/۳۷۸	۱/۶۴۶	-۰/۰۵۳	۰/۹۸۱
جمعیت شماره ۱۱۲۸ <i>M. rigidula</i>	۲/۰۷۳	۱/۸۴۱	-۰/۰۴۷	۰/۹۸۵

جدول شماره ۷ : ویژگیهای سه مؤلفه اصلی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)

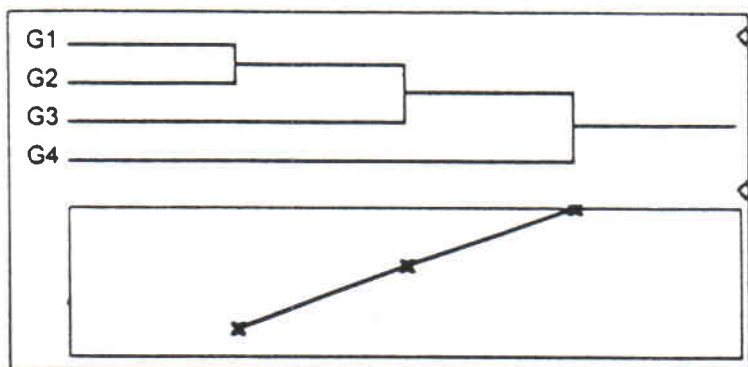
روی صفات کاریوتیپی نمونه‌های دارای هشت جفت کروموزوم.

مؤلفه‌ها	ریشه مخفی	درصد واریانس	٪تجمعی
مؤلفه ۱	۰/۲۷۱	۸۸/۹۸۶	۸۸/۹۸۶
مؤلفه ۲	۰/۰۳۲	۱۰/۴۰۰	۹۹/۳۸۶
مؤلفه ۳	۰/۰۰۲	۰/۵۸۱	۹۹/۹۶۸
مؤلفه ۴	۰/۰۰۰	۰/۰۳۱	۹۹/۹۹۹

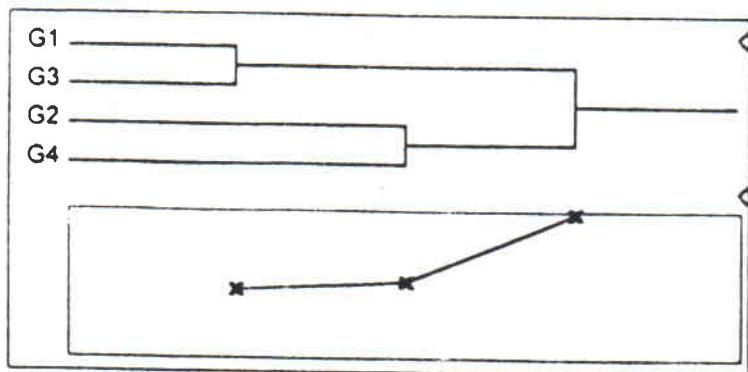


شکل شماره ۱: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش WARD از نظر طول بازوهای

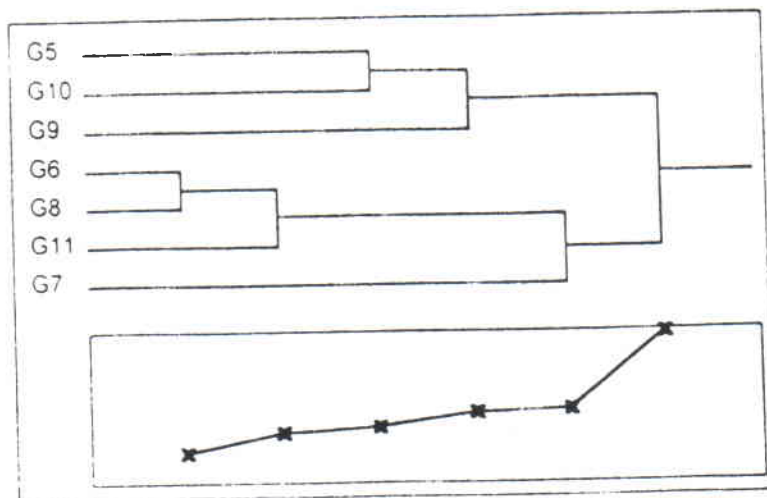
کوتاه در جمعیت‌های دارای ۱۴ کروموزوم ($2n=2x=14$).



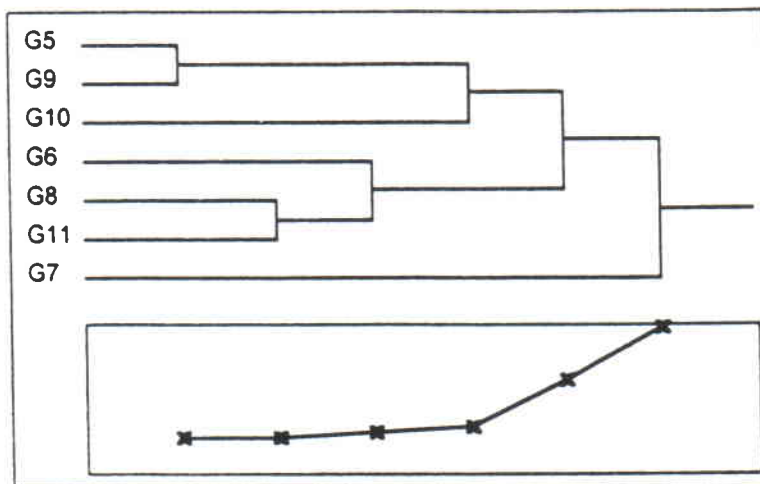
شکل شماره ۲: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش WARD از نظر طول بازوهای بلند در جمعیت‌های دارای ۱۴ کروموزوم ($2n=2x=14$).



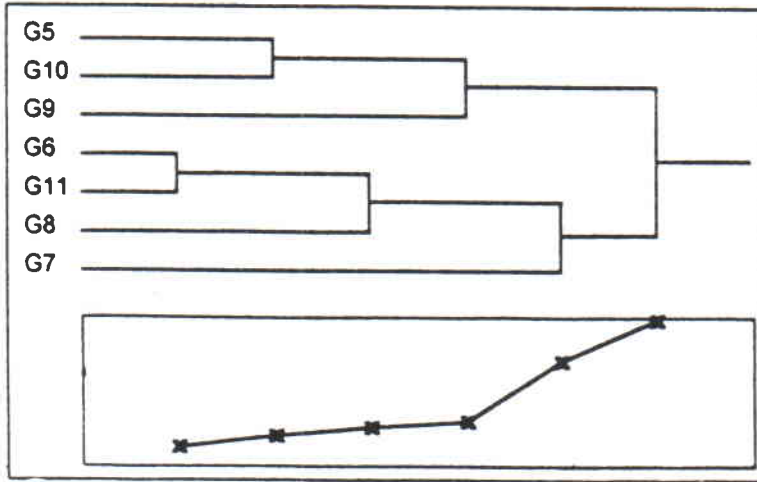
شکل شماره ۳: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش WARD از نظر طول کل کروموزوم در جمعیت‌های دارای ۱۴ کروموزوم ($2n=2x=14$).



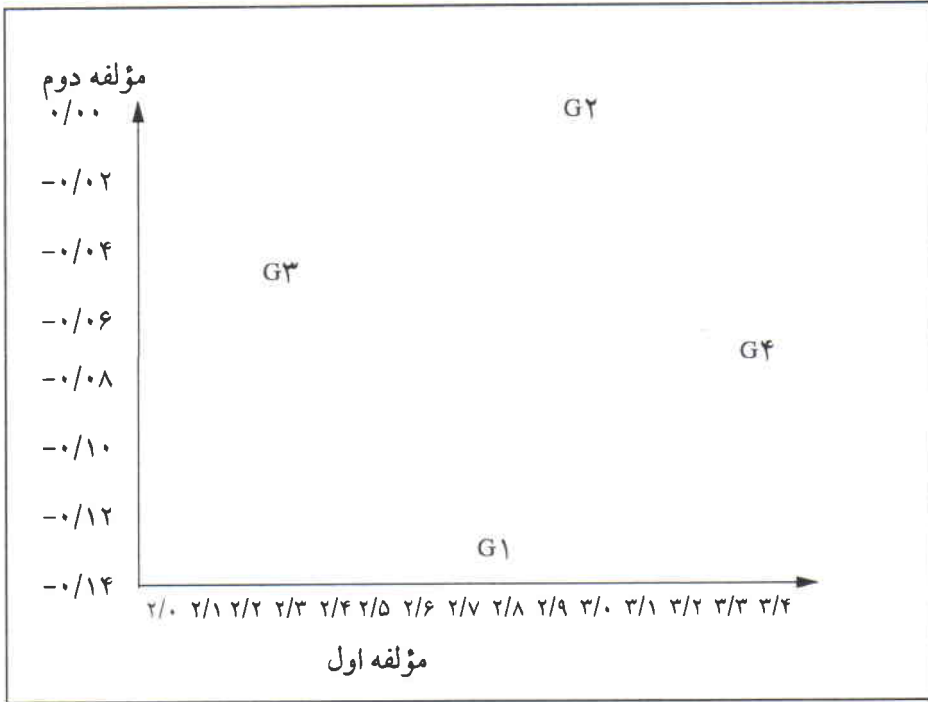
شکل شماره ۴: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش WARD از نظر طول بازوهای کوتاه در جمعیت‌های دارای ۱۶ کروموزوم ($2n=2x=16$).



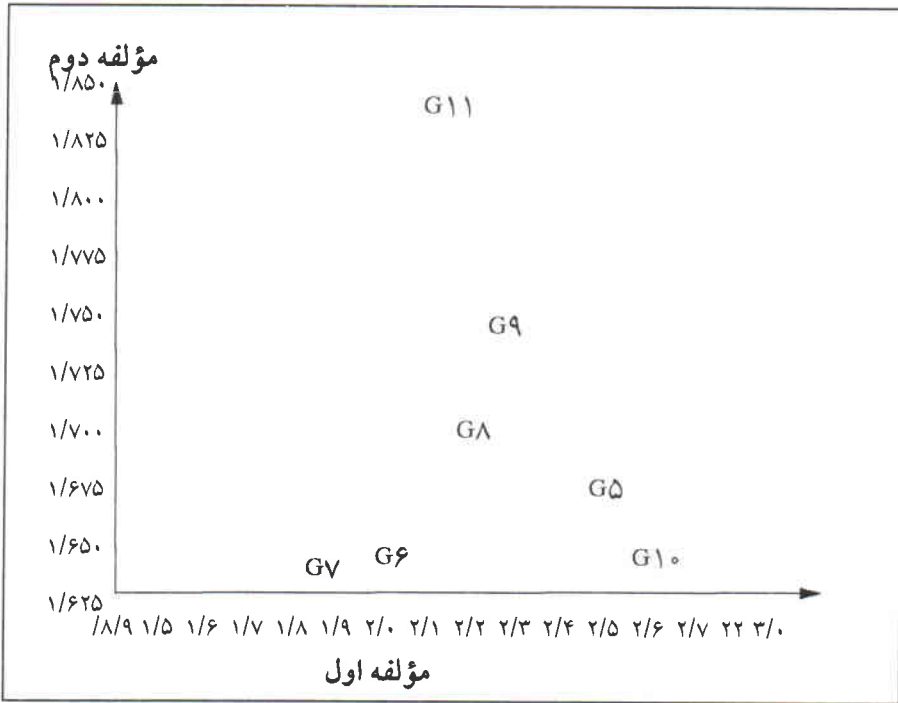
شکل شماره ۵: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش WARD از نظر طول بازوهای بلند در جمعیت‌های دارای ۱۶ کروموزوم ($2n=2x=16$).



شکل شماره ۶: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش WARD از نظر طول کل کروموزوم در جمعیت‌های دارای ۱۶ کروموزوم ($2n=2x=16$).



شکل شماره ۷: دسته بندی ژنوتیپهای مورد مطالعه دارای هفت جفت کروموزوم با استفاده از دو مؤلفه اول حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) بر اساس ویژگیهای کاربوتیپی.



شکل شماره ۸: دسته بندی ژنوتیپهای مورد مطالعه دارای هشت جفت کروموزوم با استفاده از دو مؤلفه اول حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) بر ویژگیهای کاربوتیپی.

منابع

حیدری شریف آباد حسین و ترک‌نژاد احمد، ۱۳۷۹. یونجه‌های یکساله (کلیات). انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران.

شریعت، آناهیتا، ۱۳۸۰. بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌هایی از یونجه یکساله با تکیه بر مطالعات سیتوژنتیکی، الکتروفورزی و مورفولوژیکی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه سیستان و بلوچستان، دانشکده کشاورزی زابل.

گزانچیان، علی، ۱۳۷۲. بررسی مورفولوژیک و سیتولوژیک یونجه‌های یکساله استان خراسان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی کرج.

موسی‌پور گرجی، احمد، ۱۳۷۷. بررسی تنوع ژنتیکی یونجه‌های یکساله با تکیه بر مطالعات سیتولوژیکی و الکتروفوریک. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی کرج.

میرزایی ندوشن، حسین، ۱۳۷۵. MSTATC داده پردازی و تجزیه و تحلیل داده آماری، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، ۱۲۵ صفحه.

میرزایی ندوشن، حسین، ۱۳۷۸. مقدمه‌ای بر کاربرد SAS در تجزیه و تحلیل طرحهای آماری. انتشارات نیک پندار، تهران، ۲۵۸ صفحه.

Bauchan, G. R., and M. A. Hossain, 1998. Karyotypic analysis of N-banded chromosomes of diploid alfalfa (*Medicago sativa* ssp. *coerulea* and ssp. *falcata*) and their hybrid. J. Heredity; 89: 191-193.

Kang, D., and J. Yuguang, 1993. Principal components of agricultural properties of 30 safflower cultivars. Proceeding of Third International Safflower Conference. China.

572-520.

- Karadag, Y., and H. Gulcan, 1997. Research on some cytological characters of some medic species (*Medicago scutellata*, *M. orbicularis*, *M. polymorpha*) occurring in natural vegetation of the Cukurova region . Turkish Journal of Agriculture and Forestry; 21: 121-127.
- Levan, A., K. Fredga, and A. Sandberg, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosome. Hereditas, 52: 201-220.
- Mariani, A., and E. Falistocco, 1990. Chromosome studies in $2n=14$ and $2n=16$ types of *Medicago murex*. Genome; 33: 159-163.
- Mirzaie-Nodoushan, H. and M.A. Fayazi, 1999. Karyological studies in sainfoin (*Onobrychis sativa*) populations. The Nucleous, 41: 142-144.
- Mirzaie-Nodoushan, H., A.R. Zebarjadi, and Gh. Karimzadeh, 2000. Karyotypic investigations of some bromus varieties (*Bromus tomentellus*) and their karyotypic correlations, The Iranian Journal of Botany, 8: 287-298.
- Sheidai, M., P. Ahmadian, and S. H. Poorseyedy, 1996. Cytological studies in Iran zira from three genus: *Bunium*, *Carum* and *Cuminum*. Cytologia, 61: 19-25.
- Sheidai, M., M. Vafaietabar, H. Mirzaie-Nodoushan, and Z. Hosseininejad, 1998. Cytogenetical studies in *Gossypium hirsutum* L., cultivars and hybrids. Cytologia, 63: 41-48.

Karyotypic analysis of several annual medic species (*Medicago* spp) using multivariate methods of analysis

Shariat⁽¹⁾, *A.*, *Mirzaie-Nodoushan*⁽²⁾, *H.*, *Ghamari-Zare*⁽²⁾, *A.*
and Sangtarash⁽³⁾, *M.H.*

Abstract

Karyotypic studies were carried out on eleven populations in seven species of annual medics. The length of chromosome arms were measured in at least five well prepared cells at metaphase stage of cell division. The difference between the populations and chromosomes were tested using factorial experiment, based on a completely randomized design. Revealing significant differences between the populations and their chromosome dimensions, the populations relationships were investigated using several multivariate methods of analysis of variance such as cluster analysis and principal components analysis.

Two groups of genotypes having 14 and 16 chromosomes were observed. Cluster analysis based on the short arms length of the chromosomes in the 14 chromosome group assigned three

1- MSc. in Plant Breeding, Research Institute of Forests and Rangelands, P.O.Box 13185-116, Tehran, Iran

2- Research Institute of Forests and Rangelands, P.O.Box 13185-116, Tehran, Iran

3- Scientific board member of Sistan and Baluchestan University

populations of *M. polymorpha* to one cluster, implying the usefulness of this character and the analysis method in identifying the relationship among the species. In the 16 chromosomes group, *M. truncatula* and *M. radiata* showed the most genetic distance based on the total length of the chromosomes.

In principal components analysis, the characteristic of total length of the chromosomes, long arm length and long arm to short arm ratio showed the most influence in the first component formation. The first component, also contained more than 98% of the data variation. Long arm to short arm ratio and short arm length characteristics had the most influence on the second principal component formation.

Key words: Annual medics, Cluster analysis, Principal components analysis, Genetic distance

