

مطالعه سیتوژنتیکی برخی گونه‌های جنس *Hedysarum* موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران

سیدمحسن حسامزاده حجازی^۱ و مهدی ضیائی‌نسب^۱

۱- مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ص.پ. ۱۱۶-۱۳۱۸۵ E-mail: smhessamzadeh@rifr-ac.ir

چکیده

تنوع سیتوژنتیکی در ۶ جمعیت متعلق به ۴ گونه از جنس *Hedysarum* با استفاده از سیستم آنالیز تصویری مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد کروموزومهای پایه در تمام جمعیت‌های مورد بررسی $x=8$ بود. اما از لحاظ سطوح پلوئیدی تنوع وجود داشت، که این امر مؤید وجود تنوع کروموزومی در نمونه‌های مورد بررسی بود. براساس جدول دو طرفه Stebbins همه جمعیت‌ها در کلاس ۱A قرار گرفتند و اختلاف معنی‌داری ($p < 0.01$) میان جمعیتها برای صفات مورد بررسی مشاهده گردید. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که دو مؤلفه اول و دوم به ترتیب ۷۹/۸۶ و ۱۹/۶۴ درصد از واریانس موجود بین جمعیت‌ها را توجیه می‌نمایند. در مؤلفه اول، صفات طول کل کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA) و شاخص سانترومری (CI) و در مؤلفه دوم، صفت نسبت بازوها (AR) بیشترین سهم را در واریانس بین جمعیت‌ها داشتند. تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها بر اساس خصوصیات کاریوتیپی آنها را در دو کلاس مجزا قرار داد. بیشترین فاصله (۳/۸۰۴) بین دو گونه *H. coronarium* (از گرگان) و *H. criniferum* (از کرمانشاه) و کمترین فاصله (۱/۰۰۸) بین دو نمونه شارلق و سولگرد متعلق به گونه *H. kopetdaghi* مشاهده شد. دیاگرام مربوط به پراکنش جمعیت‌ها براساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم، جمعیت‌های مورد بررسی را در دو گروه متمایز قرار داد که این امر مؤید نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای بود. در تجزیه خوشه‌ای بر اساس دو شاخص A_1 و A_2 نیز جمعیت‌ها از لحاظ تکاملی در دو گروه متمایز قرار گرفتند. بر این اساس، دو گونه *H. criniferum* (از زنجان) و *H. kopetdaghi* (از سولگرد) بیشترین فاصله (۲/۷۰۸) را نشان دادند و کمترین فاصله (۰/۲۰۲) بین دو گونه *H. kopetdaghi* (از سولگرد) و *H. criniferum* (از کرمانشاه) مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: *Hedysarum*، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تجزیه خوشه‌ای، سیستم آنالیز تصویری و کاریوتیپ.

مقدمه

به‌طور عمده دارای ساقه‌های کوتاه و غیر بالارونده می‌باشند. مرکز اصلی تنوع آن در آسیای میانه است (Yakovlev et al., 1996). گونه‌های مختلف این جنس به‌طور طبیعی در بعضی از کشورهای آسیایی، کشورهای قاره آفریقا و اروپا، استرالیا، جزایر اقیانوس هند، خاورمیانه و اقیانوس آرام یافت می‌شوند. محدوده پراکنش بعضی از گونه‌های این جنس در ایران به‌طور عمده در استانهای

جنس *Hedysarum* از خانواده Fabaceae با نام فارسی اسپرسی یا ماش معطر، شامل تعدادی گونه قابل تمایز از نظر مورفولوژی، سیستم تولید مثلی و مشخصات کاریوتیپی در دنیا می‌باشد و در کشور ایران نیز حدود ۱۸ گونه چند ساله علوفه‌ای وجود دارد (Baatout, 1996). گونه‌های این جنس یکساله، دائمی، بته‌ای- علفی و

نسبت به سرما و یخبندان، نسبت به خشکی و خشکسالی حساس بوده و در سالهای خشک تولید بذر آن به شدت کاهش می‌یابد. این گیاه به دلیل فراوانی شهد گل، جلب کننده زنبور عسل بوده که علاوه بر افزایش باروری، در تولید عسل و صنعت زنبورداری نیز اهمیت قابل توجهی دارد. این گیاه، علوفه با کیفیت بالا و بسیار خوشخوراک تولید می‌کند که نسبت به تمام گونه‌های همراه، خوشخوراک‌تر بوده و در تمام مراحل رویشی و زایشی مورد چرا قرار می‌گیرد (Rechinger, 1984).

H. ibericum M.Bieb. از گونه‌های علفی چند ساله و انحصاری کشور ایران است و با نام دیگر *H. glaucescens* نیز شناخته می‌شود (Rechinger, 1984).

مطالعات کاربولوژیکی انجام شده در جنس *Hedysarum* نشان می‌دهد که تعداد کروموزوم پایه در گونه‌های مختلف آن بین ۷ و ۸ متغیر می‌باشد. سطوح پلوئیدی مشاهده شده در این جنس دیپلوئید و تتراپلوئید گزارش شده است (Ledingham, 1957; Löve & Löve, 1982; Packer, 1968; Stebbins, 1971; Yakovlev *et al.*, 1996; Aiken *et al.*, 1999; Gillett *et al.*, 1999; Yurtsev *et al.*, 1975).

عمده‌ترین اهدافی که در این بررسی دنبال شده است، مطالعه و بررسی سیتوژنتیک برخی گونه‌های جنس *Hedysarum* موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران از نظر فرم کاریوتیپ، تعیین سطوح پلوئیدی، تعیین عدد کروموزومی، یافتن فاصله اقلیدسی، قرابت و خویشاوندی بین گونه‌های مورد مطالعه از طریق روشهای آماری تجزیه چند متغیره بوده است.

مواد و روشها

برای بررسی تنوع در گونه‌های مختلف جنس *Hedysarum* از لحاظ خصوصیات کاریوتیپی، شش

اصفهان، کرمانشاه، مرکزی، فارس، آذربایجان شرقی، قزوین و همدان می‌باشد.

H. criniferum Boiss. از گونه‌های علفی چند ساله است که انحصاری کشور ایران بوده و با نام دیگر *H. ecbatanum* Beck (Rechinger, 1984) نیز شناخته می‌شود.

H. coronarium L. گیاهی علفی دو یا چند ساله، دگرگشن و خود سازگار است که گرده افشانی در آنها به‌طور عمده توسط زنبور صورت می‌گیرد. بومی کشور ایران نمی‌باشد و با نامهای متعددی از جمله *Sulla* نیز شناخته می‌شود. این گیاه به عنوان سیلو و یا علوفه خشک استفاده می‌شود و گاهی نیز به عنوان کود سبز در مزرعه کشت می‌شود. از علوفه آن در مناطق خشک و نیمه خشک به‌صورت چرای مستقیم می‌توان استفاده نمود (Kernick, 1978). این گیاه همچنین شامل مقادیر زیادی تانن متراکم شده است که قابلیت ایجاد خاصیت ضد نفخ را برای حیوانات نشخوارکننده به‌همراه دارد و ساقه و برگ آن دارای ۲۳٪ پروتئین می‌باشد (Forage information system, 2006). بررسیهای سیتوژنتیکی انجام شده توسط محققان دیگر نشان می‌دهد که این گونه دیپلوئید بوده و دارای تعداد کروموزوم $2n=16$ (Index to plant chromosome number, 2006) یا $2n=18$ (Issolah *et al.*, 2006) می‌باشد.

H. kopetdaghi Boriss از گونه‌های علفی چند ساله است که به‌طور عمده در کشورهای ایران و افغانستان یافت می‌شود و از گونه‌های بسیار مرغوب مرتعی محسوب می‌شود که به‌طور کلی به‌صورت گونه همراه، در ترکیب تیپ‌های گیاهی مراتع بیلاقی در شمال شرقی کشور دیده می‌شود. این گیاه به‌رغم مقاومت بسیار خوب

شاخص‌های 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). به منظور تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات کروموزومی، تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل (با حداقل ۵ تکرار) و مقایسه میانگین‌ها 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 مؤلفه‌های اصلی و برای گروه‌بندی آنها تجزیه کلاستر (Ward) براساس صفات کاریوتیپی و دو شاخص A_1 و A_2 انجام گردید. تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم افزارهای SAS و JMP انجام شد.

نتایج

تصاویر متافاز میتوزی جمعیت‌های مورد مطالعه به همراه کاریوگرام و ایدیوگرام آنها در شکل ۱ و نتایج حاصل از تجزیه کاریوتیپی در جدول ۱ ارائه شده است. براساس جدول ۱، همه گونه‌های مورد مطالعه دارای پایه کروموزومی یکسان $x=8$ بودند، اما از لحاظ سطح پلوئیدی تنوع نشان دادند؛ به طوری که گونه *H. kopetdaghi* تتراپلوئید و سایر گونه‌ها دیپلوئید بودند. در بین جمعیت‌های مورد بررسی، نمونه زنجان از گونه *H. criniferum* و نمونه گرگان از گونه *H. coronarium* به ترتیب دارای بیشترین ($5/47 \mu m$) و کمترین ($2/61 \mu m$) ارزش نسبی کروماتین در بین جمعیت‌های مورد بررسی بودند.

جمعیت از چهار گونه مختلف که به طور عمده انحصاری کشور ایران می‌باشند مورد مطالعه سیتوژنتیکی قرار گرفت (جدول ۱). برای این منظور، بذور ابتدا پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۱۵٪ به مدت ۲ دقیقه روی کاغذ صافی داخل پتری‌دیش، تحت شرایط کنترل شده با رطوبت ۷۰٪، دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت کشت شدند. پس از جوانه‌زنی و رشد ریشه به طول ۱/۵-۱ سانتیمتر، قسمت انتهایی ریشه جدا گردید و به ترتیب مراحل پیش تیمار (۰/۵٪ محلول اشباع شده در اتانول آلفا برومونیفتالین)، تثبیت (محلول لویتسکی Levitsky fluids مرکب از محلول کرومیوم تری اکسید و فرمالدئید ۴۰٪ به نسبت ۱:۱)، هیدرولیز (هیدروکسید سدیم یک نرمال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ دقیقه) و رنگ‌آمیزی (مخلوط همتوکسیلین 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 $1880 \times$ انجام شد (میکروسکوپ Olympus BH-2، ویدئو دوربین مدل SSC,DC18P).

پس از تهیه متافازهای مناسب و کاریوتیپ برای هر جمعیت (حداقل ۵ کاریوتیپ)، با استفاده از نرم افزار Micromesure، طول کل کروموزوم (TL)، طول بازوی بلند (LA)، طول بازوی کوتاه (SA)، نسبت بازوها (Arm ratio:L/S) و شاخص سانترومیری (CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است، محاسبه گردید. در این بررسی برای تعیین وضعیت تکاملی و مطالعه تقارن کاریوتیپی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از جدول دو طرفه Stebbins استفاده شد (Stebbins, 1971).

براساس نتایج بدست آمده کمترین فاصله (۱/۰۰۸) بین دو نمونه شارلق و سولگرد متعلق به گونه *H. kopetdaghi* مشاهده شد، در حالی که دو ژنوتیپ *H. coronarium* نمونه گرگان و *H. criniferum* نمونه کرمانشاه بیشترین فاصله (۳/۸۰۴) را از یکدیگر نشان دادند.

بیشترین میزان کروماتین نسبی (VRC) متعلق به گونه *H. criniferum* نمونه زنجان و کمترین میزان آن متعلق به گونه *H. coronarium* نمونه گرگان بود.

در دیاگرام پراکنش جمعیت‌ها براساس مؤلفه‌های اصلی، با توجه به اهمیت مؤلفه اول در گروه‌بندی، جمعیت‌های مورد مطالعه در دو گروه جداگانه قرار گرفتند که این امر نتایج حاصل از تجزیه کلاستر را بخوبی تأیید نمود (شکل ۳).

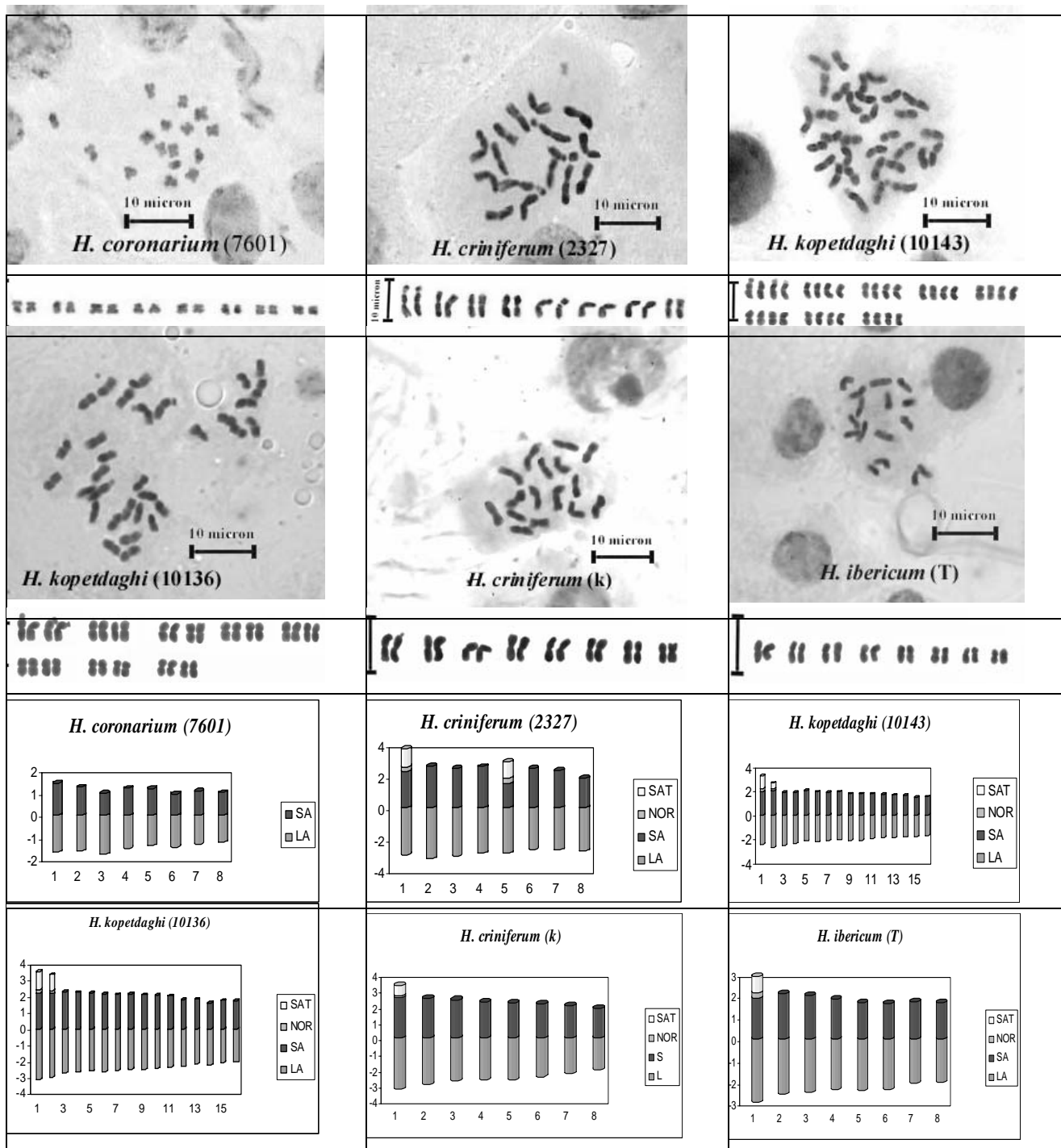
به منظور گروه‌بندی جمعیت‌ها از لحاظ تکاملی، تجزیه کلاستر (ward) بر اساس دو شاخص A_1 و A_2 انجام شد (شکل ۴). بر این اساس با برش دندروگرام در فاصله ۱/۳۱ جمعیت‌ها از لحاظ تکاملی در دو گروه متمایز قرار گرفتند که دو گونه *H. criniferum* نمونه زنجان و *H. kopetdaghi* نمونه سولگرد بیشترین فاصله را نشان دادند و کمترین فاصله بین دو گونه *H. kopetdaghi* نمونه سولگرد و *H. criniferum* نمونه کرمانشاه مشاهده شد. همچنین، بین گونه‌های *H. criniferum* نمونه زنجان، *H. coronarium* نمونه گرگان و *H. ibericum* از نظر دو شاخص A_1 و A_2 رابطه نزدیکی وجود داشت.

در تمام گونه‌ها به استثناء گونه *H. coronarium* همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود قمر و ناحیه تشکیل هستک مشخص وجود دارد.

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات و مقایسه میانگین صفات نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ کلیه صفات کروموزومی اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود دارد که این امر بیانگر وجود تنوع اندازه کروموزومها در میان ژرم پلاسماهای مورد بررسی می‌باشد (جدولهای ۲ و ۳). از لحاظ سه صفت طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه، دو گونه *H. criniferum* (نمونه زنجان) و *H. coronarium* (نمونه گرگان) به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقادیر صفات فوق بودند و بیشترین اختلاف اندازه کروموزومی را نشان دادند. از نظر صفت نسبت بازوها، جمعیت‌های *H. ibericum* نمونه تبریز، *H. coronarium* نمونه گرگان و *H. criniferum* نمونه زنجان 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 مؤلفه‌های اصلی، دو مؤلفه اصلی اول و دوم در مجموع بیش از ۹۹ درصد از واریانس بین جمعیت‌ها را توجیه نمودند (جدول ۴). مقادیر ضرایب بردارهای ویژه در مؤلفه اول نشان داد که صفات طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و شاخص ساترومیری بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها داشتند. در مؤلفه دوم، صفت نسبت بازوها با داشتن بالاترین ضریب بردار ویژه دارای بیشترین اهمیت در واریانس بین جمعیت‌ها بود.

در تجزیه کلاستر به روش Ward، با برش دندروگرام در فاصله ۲/۱۶، جمعیت‌ها و گونه‌های مورد بررسی در دو گروه مختلف قرار گرفتند (شکل ۲). بر این اساس ژنوتیپ *H. coronarium* نمونه گرگان کلاس ۱ و سایر جمعیت‌ها کلاس ۲ را بنحود اختصاص دادند.



شکل ۱- تصاویر متافاز میتوزی، به همراه کاریوگرام و ایدیوگرام جمعیت‌های مورد بررسی

جدول ۱- ویژگی‌های کاریوتیپی به همراه مؤلفه‌های سنجش تقارن در جمعیت‌هایی از گونه‌های مختلف *Hedysarum sp.*

فرمول کاریوتیپی	VRC	SC	DRL	A _۱	A _۲	%TF	۲n	محل جمع‌آوری	ژنوتیپ
Vm+1sm	۵/۴۷	۱A	۴/۱۲	۰/۲۰	۰/۱۰	۴۲/۰۹	۱۶	زنجان	<i>H. criniferum</i> (2327)
Vm+1sm	۲/۶۱	۱A	۴/۲۰	۰/۲۱	۰/۱۱	۴۳/۹۶	۱۶	گرگان-گلستان	<i>H. coronarium</i> (7601)
۱۶m	۴/۰۲	۱A	۳/۴۰	۰/۱۵	۰/۱۵	۴۴/۶۶	۳۲	سولگرد-مینودشت	<i>H. kopetdaghi</i> (10143)
۱۶m	۴/۶۷	۱A	۳/۵۵	۰/۱۸	۰/۱۶	۴۳/۵۹	۳۲	شارلق-مینودشت	<i>H. kopetdaghi</i> (10136)
۸m	۴/۹	۱A	۵/۶۳	۰/۱۴	۰/۱۵	۴۵/۳۲	۱۶	کرمانشاه	<i>H. criniferum</i> (K)
۸m	۴/۳۱	۱A	۵/۴۹	۰/۲۳	۰/۱۴	۴۲/۴۱	۱۶	تبریز	<i>H. ibericum</i> (T)

A_۱ = (Intra asymmetry chromosomal index): شاخص عدم تقارن درون کروموزومی

A_۲ = (Inter asymmetry chromosomal index): 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 استینز

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات کاریوتیپی اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های مورد مطالعه

میانگین مربعات صفات اندازه‌گیری شده					درجه آزادی	منبع تغییرات
CI	AR	SA	LA	TL		
۰/۰۰۰۵**	۰/۰۱۲**	۰/۶۲۲**	۰/۸۳۰**	۳/۲۳۷**	۵	جمعیت
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۲۴	۰/۰۴۶	۰/۱۴۷	۳۶	خطا
۲/۰۵	۲/۸۱	۸/۳۴	۹/۳۶	۹/۱۲		ضریب تغییرات (CV%)

**، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

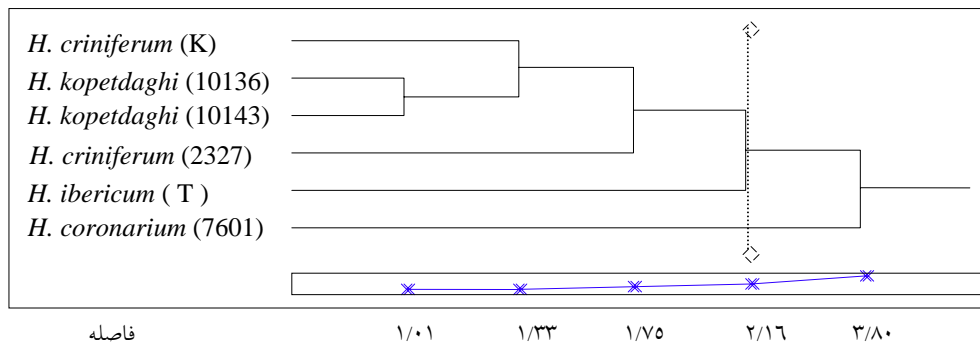
جدول ۳- مقایسه میانگین صفات کاریوتیپی اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های مورد بررسی

ژنوتیپ	TL	LA	SA	AR	CI
<i>H. criniferum</i> (K)	۴/۹۱ ab	۲/۶۲ ab	۲/۲۴ a	۱/۱۷ c	۰/۴۶۶ ab
<i>H. ibericum</i> (T)	۴/۳۱ b	۲/۳۹ ab	۱/۸۲ b	۱/۳۱ a	۰/۴۴۶ bc
<i>H. criniferum</i> (2327)	۵/۴۷ a	۲/۸۹ a	۲/۳۰ a	۱/۲۶ ab	۰/۴۷۱ a
<i>H. coronarium</i> (7601)	۲/۶۱ c	۱/۴۶ c	۱/۱۵ c	۱/۲۷ a	۰/۴۴۰ c
<i>H. kopetdaghi</i> (10136)	۴/۶۷ ab	۲/۵۰ ab	۲/۰۴ ab	۱/۲۳ abc	۰/۴۶۵ ab
<i>H. kopetdaghi</i> (10143)	۳/۹۵ b	۲/۱۳ b	۱/۷۹ b	۱/۱۹ bc	۰/۴۶۲ abc

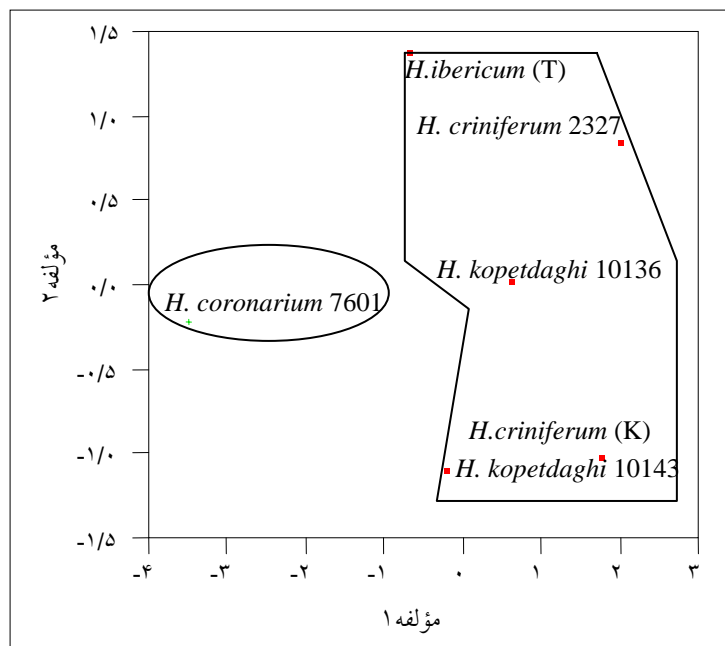
در هر ستون میانگین صفات در گونه‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

جدول ۴- مقادیر ویژه، درصد واریانس و ضرایب بردارهای ویژه دو مؤلفه اول و دوم در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

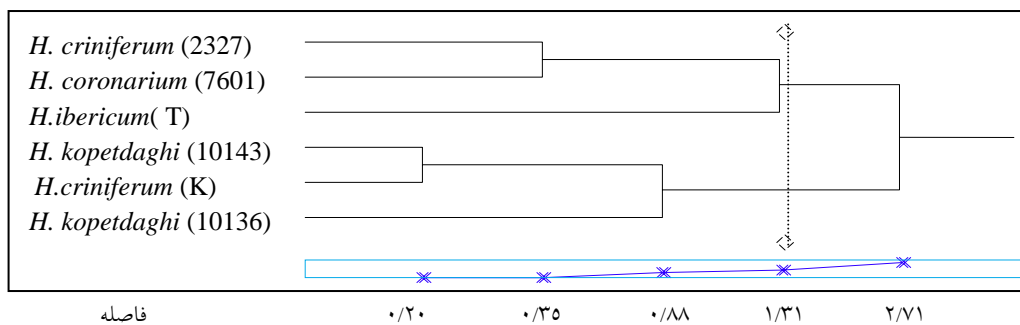
مؤلفه ۲	مؤلفه ۱	صفات
۰/۲۴	۰/۴۹	طول کل کروموزوم
۰/۲۸	۰/۴۸	طول بازوی بلند
۰/۰۹	۰/۵۰	طول بازوی کوتاه
۰/۹۰	-۰/۲۲	نسبت بازوها
-۰/۱۹	۰/۴۹	شاخص سانترومری
۰/۹۸	۳/۹۹	مقادیر ویژه
۱۹/۶۴	۷۹/۸۶	درصد واریانس
۹۹/۵۰	۷۹/۸۶	درصد واریانس تجمعی



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش (WARD) از نظر یژگیهای کاربوتیبی



شکل ۳- دیاگرام پراکنش جمعیتها براساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش (WARD) بر اساس دو شاخص A_1 و A_2

بحث

روند تغییرات دو شاخص $TF\%$ و A_1 (به‌عنوان شاخص‌های عدم تقارن درون کروموزومی) در جمعیت‌های مورد بررسی بیانگر وجود رابطه معکوس بین دو شاخص فوق بود. همچنین روند تغییرات دو شاخص DRL و A_2 (به‌عنوان شاخص‌های عدم تقارن بین کروموزومی) در جمعیت‌های مورد بررسی مورد مقایسه قرار گرفتند که بین دو شاخص فوق رابطه مستقیم و مثبتی بر اساس سطوح پلوئیدی وجود داشت. استقرار جمعیت‌های مورد بررسی در جایگاه $1A$ از جدول دوطرفه Stebbins بیانگر تقارن کاریوتیپی آنها بود و نشان داد که در مراحل اولیه تکامل قرار دارند. نتایج مطالعات سیتوژنتیکی توسط دیگر محققان در مورد این جنس و به‌طور عمده گونه‌های غیر موجود در ایران، نشان می‌دهد که این جنس دارای پایه کروموزومی 7 و 8 و $x=12$ می‌باشد (Yildiz & Gucl, 2006) و سطح پلوئیدی به‌طور عمده بین دیپلوئید و تتراپلوئید متغیر است. برای مثال، نتایج بررسی سیتوژنتیکی روی گونه *H. boreale* نشان داد که تعداد کروموزوم در این گونه بین 14 ، 16 ، 17 ، 28 و 32 متغیر است و نتایج بررسی روی گونه *H. coronarium* نشان داد که تعداد کروموزوم در این گونه 16 می‌باشد (Yurtsev & Zhukova, 1982).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، تنها پایه کروموزومی $x=8$ در گونه‌های مورد بررسی در این جنس صادق است. نتایج تحلیل کروموزومی حاصل از این مطالعه نشان دهنده تنوع مورفولوژیکی زیادی در تمام کروموزوم‌های موجود در گونه‌های دو یا چند ساله این جنس می‌باشد و نوع کروموزوم‌ها در غالب جمعیت‌ها دارای فرمول کاریوتیپی متاسانتریک است.

با توجه به اهمیت مؤلفه اول در گروه‌بندی جمعیت‌ها، بنظر می‌رسد عامل اصلی این جدایی، صفات مربوط به اندازه کروموزوم است، زیرا گونه *H. coronarium* در مقایسه با سایر گونه‌ها از کوچکترین اندازه کروموزومی برخوردار بود.

بر اساس نتایج حاصل از گروه‌بندی جمعیت‌ها بر مبنای شاخص‌های طول کل کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، نسبت بازوها و شاخص سانترومری، می‌توان چنین بیان کرد که عامل جدایی گونه *H. coronarium* نمونه گرگان، از بقیه گونه‌ها میزان کروماتین نسبی بوده است. تفاوت بین اکوتیپ‌های زنجان و کرمانشاه از گونه *H. criniferum* به‌طور عمده مربوط به صفت نسبت بازوها بود. گونه *H. coronarium* ضمن آنکه بومی ایران نمی‌باشد، از نظر سه صفت LA ، TL ، SA با همه گونه‌های دیگر تفاوت معنی‌دار دارد و در تجزیه خوشه‌ای انجام شده بر اساس صفات کاریوتیپی این گونه از بقیه گونه‌ها جدا شده است. همچنین در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، مؤلفه اول با توجیه 80% تغییرات، به‌طور عمده بر اساس صفات طول بازوها و CI باعث جدایی گونه *H. coronarium* از بقیه گونه‌ها شده است.

بین شاخص نسبت طول بازوها و تجزیه خوشه‌ای بر اساس تقارن درون و بین کروموزومی نوعی همخوانی قابل توجه وجود دارد و دو گونه *H. kopetdagi* نمونه سولگرد و *H. criniferum* نمونه کرمانشاه بر اساس نسبت بازوها که عامل مهم در مؤلفه دوم محسوب می‌شود از بقیه گونه‌ها جدا شده‌اند. وجود قمر و ناحیه هستک ساز Nucleolar organizer region (NOR) مشخص، نشانگر وجود یک سری فرایندهای تکاملی در طی تکامل تمام

- the Near and Middle East. Technical Data Sheet No. 25, FAO, Rome, pp. 597-619.
- Ledingham, G.F., 1957. Chromosome numbers of some Saskatchewan Leguminosae with particular reference to *Astragalus* and *Oxytropis*. Can. J. Bot, 35: 657-666.
 - Levan, A.K., Fredga, K. and Sandberg, A.A., 1964. Nomenclature for centromic position on chromosomes. Hereditas, 52: 201-220.
 - Löve, Á. and Löve, D., 1982. In IOPB chromosome number reports 74. Taxon, 31: 120-126.
 - Löve, Á. and Löve, D., 1975. Plant Chromosomes. J.Cramer, in der A.R. Gantener verlag kommanditgesellschaft FL-9490 UADUZ.
 - Packer, J.G., 1968. In: IOPB chromosome number reports XVIII. Taxon, 17: 285-288.
 - Rechinger, K.H., 1984. In: Flora Iranica. Papilionaceae 2. N 157. Graz-Austria.
 - 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, London, Ltd.
 - Yakovlev, G.P., Sytin, A.K. and Roskov, J.R., 1996. Legumes of Northern Eurasia. Royal Botanic Gardens, Kew.
 - Yildiz, K. and Gucel, S., 2006. Chromosome Numbers of 16 Endemic Plant Taxa from Northern Cyprus. Turk.J.Bot, 30:181-192.
 - Yurtsev, B.A. and Zhukova, P.G., 1982. Chromosome numbers of some plants of northeastern Yakutia (the drainage of the Indigirka River and its middle reaches). Bot. Zhurn, 67: 778-787.
 - Yurtsev, B.A., Zhukova, P.G., Plieva, T.V., Raszhinin, V.V. and Sekretarem, N.A., 1975. Interesting floristic finds in the easternmost Chukotka Peninsula. Bot. Zhurn, 60: 233-247.
- H. coronarium* گونه‌های مورد بررسی به استثناء گونه می‌باشد.
- ### منابع مورد استفاده
- Aiken, S.G., Dallwitz, M.J., Consaul, L.L., McJannet, C.L., Gillespie, L.J., Boles, R.L., Argus, G.W., Gillett, J.M., Scott, P.J., Elven, R., LeBlanc, M.C., Brysting, A.K. and Solstad, H., 1999. Onwards. Flora of the Canadian Arctic Archipelago: Descriptions, Illustrations, Identification and Information Retrieval. <http://www.mun.ca/biology/delta/arcticf/>
 - Baatout, H., 1996. Comparison of phenotypic variation in self – fertilizing and outcrossing subspecies of *Hedysarum spinosissimum* a Mediterranean herb, plant, Genet. Resour. Newslett, 105: 23-28.
 - Forage information system. 2006. *Hedysarum coronarium*. <http://forages.oregonstate.edu/>.
 - Gillett, J.M., Consaul, L.L., Aiken, S.G. and Dallwitz, M.J., 1999. onwards. Fabaceae of the Canadian Arctic Archipelago: a DELTA database for interactive identification and illustrated information retrieval. <http://www.mun.ca/biology/delta/arcticf/>
 - Huziwara, Y., 1962. Karyotype analysis in some genera of compositeae. VIII Further studies on the chromosome of Aster. Amer.J.Bot, 49: 116-119.
 - Index to plant chromosome number, 2006. Missouri Botanical Garden, *Hedysarum* Genus. <http://mobot.mobot.org/>.
 - Issolah., R., Benhizia, H. and Khalfallah, N., 2006. Karyotype Variation within Some Natural Populations of Sulla (*Hedysarum coronarium* L., Fabaceae) in Algeria. Genetic Resources and Crop Evolution, 53(8): 1653-1664
 - Kernick, M.D., 1978. Ecological Management of Arid and Semi-arid Rangelands in Africa and the Near and Middle East (EMSAR-33), Vol. IV, Indigenous Arid and Semi-arid Forage Plants of North Africa,

Cytogenetic study on some *Hedysarum* species available in the Natural Resources Gene Bank of Iran

S.M. Hesamzadeh-hejazi¹ and M. Ziaei Nasab¹

1- Research Institute of Forests and Rangelands, P.O. Box 13185-116, Tehran, Iran, E-mail:smhessamzadeh@rifr-ac.ir

Abstract

In order to study of cytogenetic characteristics in *Hedysarum*, the karyotypes of six populations from four species were analyzed using image analysis system. The basic chromosome number was $x=8$ in all of the populations, but their ploidy level varied. According to Stebbins categories, all of the populations were grouped in symmetric class of 1A, indicating a symmetric karyotype. Variance analysis showed a significant difference ($P<0.01$) among the genotypes for all of traits. Using principal components analysis, the first two components justified 99.50% of total variance. For the first component, the length of long arm, total length of chromosome, centromer index and the length of short arm with the highest coefficients of eigen vectors, were the most important traits. For the second component, the arm ratio had the most important role for total variation. Cluster analysis classified the genotypes into two groups. The highest distance were observed between *H. coronarium* (Gorgan) and *H. criniferum* (Kermanshah) indicating the least affinity between them. The lowest metric distance values were obtained between two accessions of *H. kopetdaghi* (Solgerd and Sharlogh). According to the dispersion diagram, based on first two components, the genotypes were grouped in two distinct classes, corresponding with the results of cluster analysis. According to the results of cluster analysis based on A_1 and A_2 parameters, the populations were grouped in two classes. The highest distance was observed between *H. criniferum* (Zanjan) and *H. kopetdaghi* (Solgerd), which implied the lowest affinity between them. Lowest distance was observed between *H. criniferum* (Kermanshah) and *H. kopetdaghi* (Solgerd).

Key words: *Hedysarum*, cluster analysis, Fabaceae, karyotype, principal components analysis and image analysis system.