

مطالعه کاربولوژیکی برخی از گونه‌های گون (*Astragalus spp.*) در رویشگاه‌های مختلف ایران

زهرا غلامزاده^۱، حمیده جوادی^۲، مریم پژمان‌مهر^۳ و مهرناز حاتمی^{۴*}

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران
 - ۲- استادیار، بخش تحقیقات بانک ژن، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران
 - ۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران
 - ۴- دانشیار، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۳)

چکیده

جنس گون با داشتن بیش از ۸۰۰ گونه، یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های گیاهی در ایران است و اکثر گونه‌های آن دارویی و بومی هستند. در این مطالعه خصوصیات کاربوتیپی ۲۱ جمعیت از ۱۳ گونه گون شامل *A. glycyphyllos*، *A. chrysostachys*، *A. vanillae*، *A. iranicus*، *A. vegetus*، *A. stevenianus*، *A. pseudocyclophyllus*، *A. ebenoides*، *A. caragana*، *A. macrourus*، *A. campylorrhynchus*، *A. bombycinus* و *A. jodostachys* مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ تمام صفات اندازه‌گیری شده (SA، LA، TL)، CI، AR، TF%، DRL و LA% و SA%)، به‌استثنای صفات A₁ و A₂، اختلاف معنی‌داری وجود دارد. جمعیت ۲۵۷۸۶ از گونه *A. vegetus* از خراسان با میانگین طول ۴/۵۱ میکرومتر، بیشترین طول کل کروموزوم و جمعیت ۱۳۷۶۴ از گونه *A. vanillae* از قم با مقدار ۲/۶۷ میکرومتر کم‌ترین میانگین طول کل کروموزوم را داشتند. با توجه به مقادیر صفات CI، AR، TF%، A₁، A₂، DRL، LA% و SA% جمعیت ۳۴۲۱ از گونه *A. vegetus* نامتقارن‌ترین و جمعیت ۲۹۵۸۶ از گونه *A. campylorrhynchus* متقارن‌ترین کاربوتیپ را داشتند.

واژگان کلیدی: رویشگاه‌های مختلف، کاربوتیپ، کروموزوم، گون

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: m-hatami@araku.ac.ir

مقدمه

گون (*Astragalus*) گیاهی از تیره پروانه‌آسیان (*Papilionaceae*) و دارای گونه‌های درختچه‌ای و علفی متعددی می‌باشد. این گیاه از تنوع و گستردگی زیادی در ایران برخوردار است. تنوع و تشابه مورفولوجیکی زیاد گونه‌های این جنس، شناسایی دقیق گونه‌های نزدیک به هم را مشکل نموده است، بنابراین مطالعه خصوصیات کاربولوجیکی می‌تواند راه‌گشای مؤثری در جهت رده‌بندی، شناسایی و هم‌چنین استفاده از توانمندی‌های ژنتیکی در اصلاح و احیاء مراتع باشد (Ramak Masoumi, 1995). از آنجا که کاربوتیپ نیز مانند صفات سیستماتیک دیگر در طول تکامل تغییر می‌کند، می‌توان از آن در فیلوژنی و طبقه‌بندی گیاهان استفاده کرد. مطالعه کاربوتیپی در میان جمعیت‌های یک گونه نیز مانند بررسی‌های بین‌گونه‌ای، به دلیل سازش‌های خاص ژنومی به محیط محل رویش در جمعیت‌های مختلف یک گونه حائز اهمیت می‌باشد (Yousefi et al., 2014). کشور ایران با دارا بودن تنوع آب و هوایی گسترده و ذخایر ژنتیکی گیاهی فراوان به‌عنوان یکی از غنی‌ترین کشورها از نظر امکانات و استعدادهای طبیعی به‌شمار می‌رود. تنوع ژنتیکی بیانگر تفاوت‌ها و تنوع ژن‌ها در درون یک گونه است. از آنجا که ایران خاستگاه اصلی و یکی از مراکز مهم تنوع گونه‌های گون به‌شمار می‌رود، از این‌رو بررسی تنوع ژنتیکی گون نیز امر بسیار مهمی است (Dehdashtian et al., 2011). در پژوهش‌های به‌نژادی، انجام بررسی‌های سیتوژنتیکی از گام‌های نخستین به‌شمار می‌رود، زیرا که شناخت تعداد و ساختمان کروموزوم و تعیین سطح پلوئیدی در موفقیت دورگ‌گیری کمک شایانی می‌کند. تغییرات کروموزومی نیز می‌تواند منعکس‌کننده‌ی تغییرات تکاملی طی فرآیند گونه‌زایی جنس‌های گیاهی باشد. هم‌چنین اطلاعات حاصل از تفاوت در تعداد یا ساختمان کروموزوم‌ها بین گونه‌های وحشی و زراعی می‌تواند به‌عنوان یک ابزار مؤثر در تلاقی و انتقال صفات مطلوب قرار گیرد (Nasirzadeh, 1997). مطالعات کاربوتیپی می‌تواند نقش مهمی در تعیین قرابت گونه‌ها ایفا کند و اولین قدم در تجزیه فیلوژنی و تکاملی گونه‌های خویشاوند می‌باشد. در مطالعه شیدایی و

همکاران (Sheidaei et al., 2009) اطلاعات جدیدی از تعداد کروموزوم‌های گون *Astragalus sp* گزارش شد، که بر اساس آن تعداد کروموزوم‌های *A. caspicus* *A. meyeri* و *A. verus* به‌صورت $2n = 2x = 16$ ، *A. gossypinus* به‌صورت $2n = 2x = 14$ ، *A. denudatus* به‌صورت $2n = 2x = 32$ و *A. brachycalyx* *A. compactus* *A. dschuparensis* و *A. birticalyx microcephalus* به‌صورت $2n = 4x = 48$ گزارش شدند. مطالعه شیدایی و همکاران (Sheidaei et al., 2009) نشان داد که تعداد کروموزوم گزارش شده برای گونه‌های *A. meyeri* *A. gossypinus* *A. compactus* *A. verus* *A. caspicus* *A. brachycalyx* و *A. birticalyx* جدید اما تعداد کروموزوم گونه‌های *A. denudatus* و *A. microcephalus* از اطلاعات قدیم حمایت می‌کنند. علاوه‌بر این نتایج مطالعه شیدایی و همکاران (Sheidaei et al., 2009) در گونه *A. birticalyx* نشان داد که بیشترین طول کروموزوم $5/51$ میکرومتر و کم‌ترین طول کروموزوم $2/20$ میکرومتر بود. مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گون سفید *A. gossypinus Fisher* با روش استخراج پروتئین و تشابه ژنتیکی نشان داد که گون سفید یک ژنوتیپ مجزا بوده، بنابراین بروز هرگونه تغییر در صفات کمی و کیفی محصول کتیرای سفید را می‌توان به تغییرات شرایط زیستی گونه مورد مطالعه نسبت داد (Dehdashtian et al., 2011). در پژوهشی محققان با تجزیه و تحلیل کاربوتیپ *A. effuses Bunge* تعداد کروموزوم در این گونه را به صورت $2n = 4x = 32$ ، طول کروموزوم را $1/75$ تا $2/99$ میکرومتر و طول کل ژنوم این گونه را $75/8$ میکرومتر گزارش نمودند (Yousefzadeh, 2010). علاوه‌بر این نتایج مطالعه یوسف‌زاده و همکاران (Yousefzadeh et al., 2010) نشان داد که تقارن کاربوتیپی گونه *A. effuses Bunge* متعلق به کلاس تقارنی با فرمول $7m + 2m^{sat} + 7sm$ بوده، هم‌چنین یک وارونگی پری‌سنتریک نیز در کاربوتیپ این گونه قابل مشاهده است. در اولین مطالعه مورفولوجیکی و رفتار میوز دانه‌گرده که توسط رنجبر و همکاران (Ranjbar et al., 2011b) بر روی

گونه‌های جدید گون ایران از جمله *A. gilvanensis* با گونه *A. incani* قرابت بالایی دارند. علاوه بر این نتایج مطالعه مذکور نشان داد که گیاهان میکسوپلوئیدی با سطح پلوئیدی $2n = 4x = 32$ و $2n = 2x = 16$ و عدد پایه $x = 8$ جفت شدن دو ظرفیتی منظم و تفکیک کروموزومی مناسبی در میوز نشان می‌دهند؛ با این حال در این مطالعه برخی اختلالات میوزی از جمله چسبندگی کروموزوم‌ها در دیاکینز به متافاز، کروموزوم‌های تأخیری در آنافاز، سیتومیکسیس در پروفاز و وجود سلول‌های دو هسته‌ای نیز گزارش شده است.

با توجه به مطالب ذکر شده، گرچه مطالعاتی در زمینه بررسی کاربولوژیکی برخی از گونه‌های گون (*Astragalus. spp*) در ایران انجام شده است، اما پژوهش حاضر از نظر اینکه برخی از گونه‌های مورد مطالعه برای اولین بار در ایران شمارش کروموزومی می‌شوند منحصر به فرد بوده و تاکنون گزارشی مشابه آن در بررسی منابع دیده نشده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در آزمایشگاه ژنتیک بانک ژن موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور به اجرا درآمد. بذره‌های جمعیت‌های مورد مطالعه از بانک ژن تهیه گردید. لیست بذور جمعیت‌ها به همراه مشخصات آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است.

کشت بذور و تهیه نمونه‌های ریشه: برای این منظور ابتدا بذور به وسیله سنباده خراش‌دهی شده سپس توسط محلول قارچ‌کش (کربوکسی تیرام) با غلظت ۲ در ۱۰۰۰ به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی شده و تحت شرایط استریل در پتری‌دیش و روی کاغذ صافی کشت شدند. بذرها به مدت دو هفته در یخچال نگهداری شده تا تیمار سرمادهی روی آن اعمال شود و سپس بذور در ژرمیناتور با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از بذور جوانه‌زده برای مطالعات سیتوژنتیک استفاده شد. ریشه‌هایی به طول تقریباً ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر، در بهترین زمان نمونه‌گیری برای گیاه گون (ساعت ۸ تا ۱۰ صبح) جمع‌آوری شد.

سپس به ترتیب مراحل پیش تیمار (محلول ۱ درصد آلفا برومونتالین اشباع‌شده در آب در دمای صفر درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد)، شستشو با آب

جوامع مختلف گون صورت گرفت؛ به این موضوع دست یافتند که همه جمعیت‌های مورد مطالعه به‌استثنای یک جمعیت دیپلوئید، دارای عدد پایه پیشنهادی $x = 8$ و تعداد کروموزوم $2n = 16$ بوده و تقریباً تمام نمونه‌ها جفت شدن و جداسازی کروموزوم در میوز را به‌طور منظم نشان دادند. علاوه بر این بررسی مورفولوژیکی دانه‌گرده در پژوهش رنجبر و همکاران (Ranjbar et al., 2011a)، تنوع نسبتاً بزرگی را در بین جمعیت‌ها نشان داد؛ همچنین در مطالعه مذکور یک گونه جدید دیپلوئید محدود به شمال غرب ایران به نام *A. sekaniensis* شناسایی شد. مطالعه کاربولوژیکی گونه *Astragalus cyclophyllus* نشان داد که سه جمعیت از این گونه دارای محتوای کروموزومی به صورت $2n = 2x = 16$ بوده و همچنین در جمعیت تتراپلوئید این گونه اختلالات میوزی بیشتری نسبت به جمعیت دیپلوئید قابل مشاهده است (Ranjbar et al., 2011d)؛ این اختلالات شامل وقوع درجات متنوعی از کروموزوم تأخیری، پل‌ها و کروموزوم‌های پراکنده در تلافاز و چسبندگی کروموزوم‌ها بود. مطالعه کاربولوژیکی و مورفولوژی دانه‌گرده در ۴ گونه از جنس گون (*Astragalus*) متعلق به بخش ماکروفیلوم در ایران نشان داد که در جمعیت تتراپلوئید مورد مطالعه تعداد کروموزوم $2n = 2x = 16$ بوده که سازگار با عدد پایه پیشنهاد شده $x = 8$ می‌باشد (Ranjbar and Mahmoudian, 2012). در تحقیقی بر روی ۱۰ جمعیت گون، ۶ گونه گون شامل *A. aduncus*، *A. lilacinus*، *A. arguricus*، *A. vegetus* و *A. cancellatus* در بخش Onobrychoidei شناسایی شد. بررسی‌های تکمیلی نشان داد که هر ۶ گونه شناسایی شده، دیپلوئید و دارای تعداد کروموزوم $2n = 2x = 16$ بوده که مطابق با عدد پایه پیشنهاد شده $x = 8$ می‌باشد. در مطالعه رنجبر و همکاران (Ranjbar et al., 2014) تعداد کروموزوم‌های جمعیت‌های مورد مطالعه گون از $2n = 2x = 32$ برای *A. aduncus* تا *A. vegetus* متغیر بود (Ranjbar et al., 2014). در مطالعه رنجبر و همکاران (Ranjbar et al., 2011c) گزارش شده است که خصوصیات دیپلوئیدی، تتراپلوئیدی و میکسوپلوئیدی در

پس از بررسی و تهیه کاربوتیپ برای هر جمعیت، با استفاده از نرم‌افزار Micromesure ver.3.3 از هر اسلاید مورد بررسی حداقل ۳ سلول (تکرار) انتخاب و تعدادی از پارامترهای کروموزومی نظیر طول کروموزوم (TL)، درصد طول نسبی هر کروموزوم (RL%)، طول بازوی بلند (LA)، درصد طول نسبی بازوی بلند (LA%)، طول بازوی کوتاه (SA)، درصد طول نسبی بازوی کوتاه (SA%)، نسبت بازوها (AR)، شاخص ساترومیری (CI) که بیانگر نسبت بازوی کوتاه به طول کل کروموزوم است، محاسبه شد.

جاری، تثبیت (محلول لویتکسی مرکب از اسید کرومیک ۱ درصد + فرمالین ۱۰ درصد به نسبت ۱:۱)، هیدرولیز (هیدروکسید سدیم ۱ نرمال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه) و رنگ‌آمیزی (هماتوکسیلین ۴ درصد) انجام و پس از تهیه اسلاید به روش اسکواش، تصاویر کروموزومی تهیه شد (Ghateh, 2015). مطالعات سیتوژنتیکی با استفاده از سیستم آنالیز تصویری (میکروسکوپ Olympus مدل DC18p) با بزرگنمایی $1750 \times$ انجام شد.

جدول ۱- جمعیت‌های مورد مطالعه گون به همراه مشخصات آن‌ها

Table 1. Populations used in this study with their characteristics

ردیف Row	گونه Species	کد بانک ژن Gene bank code	محل جمع‌آوری Collection site	طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude	ارتفاع (متر) Height (m)
1	<i>Astragalus vegetus</i>	544	تهران Tehran	-	-	-
2	<i>A. vegetus</i>	3421	چهارمحال بختیاری Chaharmahal-Bakhtiary	-	-	-
3	<i>A. vegetus</i>	18371	اصفهان - داران Isfahan - Daran	-	-	250
4	<i>A. vegetus</i>	25786	خراسان Khorasan	58°34'07"	38°28'36"	2154
5	<i>A. iranicus</i>	2791	زنجان Zanjan	48°45'00"	36°50'00"	250
6	<i>A. iranicus</i>	29473	آذربایجان غربی Azarbaijan Gharbi	-	-	-
7	<i>A. iranicus</i>	29856	کردستان - سنندج Kurdistan-Sanandaj	46°50'39"	35°30'44"	206
8	<i>A. ebenoide</i>	11443	اصفهان - فریدن Isfahan-Frieden	-	-	230
9	<i>A. vanillae</i>	13764	قم Qom	50'23'00"	34°36'00"	130
10	<i>A. chrysostachys</i>	18218	اصفهان Isfahan	-	-	-
11	<i>A. chrysostachys</i>	35142	اصفهان - فریدن Isfahan-Frieden	49°58'35"	33°13'30"	2450
12	<i>A. glycyphyllos</i>	18269	اصفهان Isfahan	-	-	-
13	<i>A. glycyphyllos</i>	16770	اردبیل - سنخلخال Ardebil-Khalkhal	-	-	-
14	<i>A. jodostachys</i>	27211	اردبیل - سنخلخال Ardebil-Khalkhal	-	-	183
15	<i>A. stevenianus</i>	20105	اردبیل Ardebil	46°34'	38°18'	185
16	<i>A. bombycinus</i>	20114	اردبیل Ardebil	47°54'	38°52'	1700
17	<i>A. bombycinus</i>	29472	همدان Hamedan	-	-	-
18	<i>A. campylorrhynchus</i>	29856	چهارمحال بختیاری - شهرکرد Chahar Bakhtiari-Shahrekord	50°55'56"	32°18'04"	2098
19	<i>A. caragana</i>	35803	زنجان - ماهنشان Zanjan-Mahneshan	47°40'17"	36°39'40"	170
20	<i>A. pseudocyclopyllus</i>	35821	زنجان Zanjan	48°07'22"	36°41'39"	2150
21	<i>A. macrorus</i>	29853	کردستان - سنندج Kurdistan-Sanandaj	46°50'39"	35°30'44"	2066

قسمت‌هایی که با علامت "-" مشخص شده، طول و عرض و ارتفاع جغرافیایی آن‌ها نامشخص می‌باشد.

Areas marked with "-" sign, their latitude, longitude and height are not specified

$$TF\% = \frac{\sum S}{\sum TL} \times 100 \quad \text{رابطه (۶)}$$

- DRL: این شاخص بیانگر اختلاف حداقل و حداکثر طول نسبی کروموزوم‌ها در یک کاریوتیپ است.

$$DRL = RL\%_{Max} - RD\%_{Min} \quad \text{رابطه (۷)}$$

که در این رابطه $RL\%_{Max}$ و $RD\%_{Min}$ به ترتیب طول نسبی بلندترین و کوتاه‌ترین کروموزوم در کاریوتیپ را نشان می‌دهد. علاوه بر این برای تعیین نوع کروموزوم‌ها از روش لوان استفاده شد (Levan et al., 1964).

جهت تجزیه آماری داده‌های به دست آمده از پارامترهای کاریوتیپی، تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و مقایسه میانگین با روش چنددامنه‌ای دانکن انجام شد. برای تعیین نقش هر یک از صفات اندازه‌گیری شده در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و برای گروه‌بندی از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از نرم‌افزار JMP استفاده شد.

نتایج و بحث

بر اساس اطلاعات موجود عدد پایه کروموزومی در تمام جمعیت‌ها برابر ۸ و جمعیت‌ها در دو سطح پلیوئیدی شامل دیپلوئید $2n = 16$ و تتراپلوئید $4n = 32$ قرار گرفتند. نوع کروموزوم‌ها در بین جمعیت‌ها از نوع متاساتریک و ساب‌متاساتریک است. نتایج نشان داد که جمعیت‌های ۳۵۸۲۱، ۱۱۴۴۳، ۲۰۱۰۵، ۱۶۷۷۰ به ترتیب از گونه‌های *A. stevenianus*، *A. ebenoides pseudocyclopyllus* و *A. jodostachys* تتراپلوئید و جمعیت‌های دیگر دیپلوئید بودند. همچنین جمعیت ۱۶۷۷۰ و ۲۷۲۱۱ متعلق به گونه *A. jodostachys* بود و در دو سطح پلیوئیدی، تتراپلوئید (۱۶۷۷۰) و دیپلوئید (۲۷۲۱۱) قرار گرفتند. علاوه بر این نتایج نشان داد که از بین ۲۱ جمعیت تنها ۴ جمعیت تتراپلوئید $4n = 32$ و $2n = 16$ و ۱۷ جمعیت به صورت دیپلوئید هستند. در سه جمعیت ۱۳۷۶۴، ۲۹۴۷۲ و ۳۴۲۱ کروموزوم‌ها فقط به صورت ساب‌متاساتریک و در سایر جمعیت‌ها کروموزوم‌های ساب‌متاساتریک و متاساتریک نیز مشاهده شد که این امر نشان دهنده تقارن کاریوتیپی است (جدول ۲).

مشخصات کاریوتیپی جمعیت‌های مورد مطالعه: تعداد کروموزوم ($2n$)، تیپ کاریوتیپ (KF)، مجموع طول کل ژنوم ($\sum TL$) و همچنین نوع کلاس استینیز (SC) در جدول ۲ و

روابط ۱-۷ زیر نحوه محاسبه میانگین، انحراف معیار، A_1 ، A_2 ، VRC، CI، AR، DRL و TF% را نشان می‌دهد.

- شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A_1):

$$A_1 = 1 - \left[\sum \left(\frac{SA}{LA} \right)^n \right] \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در این رابطه A_1 شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی است که بین ۰ و ۱ متغیر می‌باشد. n تعداد جفت کروموزوم‌های همولوگ؛ SA طول متوسط بازوهای کوچک در هر جفت کروموزوم همولوگ و LA طول متوسط بازوهای بلند در هر جفت کروموزوم همولوگ است. طبق این رابطه مقدار A_1 در مورد کروموزوم‌های متاساتریک کمتر است، به طوری که اگر تمام کروموزوم‌های یک گونه متاساتریک باشند، مقدار A_1 برابر صفر خواهد بود و در این حالت گونه بالاترین درجه تقارن کاریوتیپی را خواهد داشت.

- شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A_2):

$$A_2 = \frac{SD}{x} \quad \text{رابطه (۲)}$$

که در این رابطه SD و x به ترتیب انحراف معیار و میانگین طول کروموزوم می‌باشد.

- مقدار کروماتین نسبی (VRC): بیشتر بودن این پارامتر نشان دهنده تکامل کاریوتیپ و نامتقارن بودن آن است.

$$VRC = \frac{\sum TL}{n} \quad \text{رابطه (۳)}$$

که در رابطه فوق $\sum TL$ و n به ترتیب نشان دهنده مجموع طول کل کروموزوم‌ها و تعداد کروموزوم‌های هاپلوئید کاریوتیپ مورد نظر است.

- نسبت بازوها (AR):

$$AR = \frac{L}{S} \quad \text{رابطه (۴)}$$

که در آن L و S به ترتیب طول بازوی بلند و کوتاه هر کروموزوم می‌باشد.

- شاخص سانترومری (CI):

$$CI = \frac{S}{TL} \quad \text{رابطه (۵)}$$

$$TL = L + S$$

- درصد شکل کلی (TF%): هر چه این عدد بزرگ‌تر باشد کاریوتیپ متقارن‌تر است.

مشخصات کاربوتیپی تعدادی از گونه‌ها در شکل‌های ۳-۶ و جدول‌های ۹-۶ آورده شده است.

نتایج مقایسات میانگین صفات کاربوتیپی ۲۱ جمعیت از ۱۳ گونه گون *Astragalus* به روش دانکن نشان داد که بیشترین میانگین طول کل کروموزوم ($TL = 4/51$)، طول بازوی بلند کروموزوم ($LA = 2/95$) و طول بازوی کوتاه کروموزوم ($SA = 1/55$) متعلق به جمعیت ۲۵۷۸۶ از گونه *A. vegetus* می‌باشد. جمعیت ۳۴۲۱ از گونه *A. vegetus* دارای بیشترین مقدار $AR (2/45)$ ، $A_1 (0/54)$ و $LA\%$ ($69/30$) و کمترین مقدار $CI (0/31)$ ، $TF\% (30/69)$ و $SA\% (59/44)$ بود و در مقابل جمعیت ۲۹۵۸۶ از گونه *A. campylorrhynchus* دارای بیشترین مقدار $CI (0/40)$ ، $TF\% (40/55)$ و کمترین مقدار $AR (1/51)$ ، $A_1 (0/50)$ و $LA\% (59/44)$ بود.

همچنین بیشترین میانگین A_2 در جمعیت‌های (۲۰۱۱۴) *A. bombycinus* (۱۸۲۱۸)، *A. chrysostachys* (۲۰۱۰۵) و بیشترین میانگین $A. stevenianus$ (۱۳۷۶۴) و *A. vanillae* در جمعیت (۲۰۱۱۴) *A. bombycinus* مشاهده شد. همبستگی بین صفات: نتایج تحلیل همبستگی بیانگر این موضوع بود که بین صفات TL با LA و SA و همچنین بین LA و SA رابطه مثبت و معنی‌داری وجود دارد. رابطه بین صفات AR ، A_1 و $LA\%$ باهم مثبت و معنی‌دار و با صفات CI ، TF و $SA\%$ منفی و معنی‌دار است. افزایش و یا کاهش هر یک از صفات AR ، A_1 و $LA\%$ باعث افزایش و کاهش دیگری خواهد شد ولی تأثیر آن‌ها روی صفات CI ، $TF\%$ و $SA\%$ متضاد خواهد بود. رابطه صفات CI ، $TF\%$ و $LA\%$ با هم و نیز A_2 با DRL مثبت و معنی‌دار است (جدول ۴).

جدول ۲- خلاصه مشخصات کاربوتیپی جمعیت‌های مورد مطالعه گون *Astragalus*

Table 2. Summary of karyotypic characteristics of studied *Astragalus* species

جمعیت (کد) Population (code)	2n	$\sum TL$	SC	A_1	A_2	FT%	DRL	KF
<i>A. vegetus</i> (544)	16	26.92	2A	0.43	0.18	35.60	6.81	m3+5Sm
<i>A. vegetus</i> (3421)	16	30.96	3A	0.54	0.19	30.70	6.84	8Sm
<i>A. iranicus</i> (2791)	16	26.81	2A	0.44	0.13	35.90	4.97	m1+7Sm
<i>A. ebenoides</i> (11443)	32	45.74	2A	0.43	0.10	35.97	2.20	m7+9Sm
<i>A. vanillae</i> (13764)	16	21.37	2A	0.50	0.21	32.56	7.49	8 Sm
<i>A. jodostachys</i> (16770)	32	44.02	2A	0.42	0.19	36.23	3.87	m6+10Sm
<i>A. chysostachys</i> (18218)	16	31.81	2A	0.40	0.23	36.67	8.55	m3+5Sm
<i>A. glycyphyllos</i> (18269)	16	22.67	1A	0.43	0.19	36.00	6.77	m3+5Sm
<i>A. vegetus</i> (18371)	16	28.80	2A	0.40	0.13	37.45	5.06	m4+4Sm
<i>A. stevenianus</i> (20105)	32	48.37	3B	0.51	0.22	32.63	5.15	m+15Sm
<i>A. bombycinus</i> (20114)	16	32.79	2A	0.46	0.21	35.24	5.06	m+7Sm
<i>A. vegetus</i> (25786)	16	36.11	2A	0.47	0.19	34.40	7.02	m+7Sm
<i>A. jodostachys</i> (27211)	16	26.25	2A	0.48	0.19	33.50	8.05	m+7Sm
<i>A. bombycinus</i> (29472)	16	29.37	2A	0.49	0.17	33.42	6.04	8Sm
<i>A. iranicus</i> (29473)	16	24.95	2A	0.44	0.19	34.96	7.22	m2+6Sm
<i>A. campylorrhynchus</i> (29586)	16	29.97	1A	0.51	0.12	40.56	4.87	m6+2Sm
<i>A. chrysostachys</i> (35142)	16	26.23	1A	0.39	0.15	37.61	5.48	m4+4Sm
<i>A. caragana</i> (35803)	16	21.83	2A	0.39	0.21	36.51	7.52	m4+4Sm
<i>A. pseudocyclophyllus</i> (35821)	32	47.75	2A	0.40	0.14	37.15	2.95	m9+7Sm
<i>A. macrourus</i> (29853)	16	22.64	2A	0.48	0.17	34.33	5.96	m2+6Sm
<i>A. iranicus</i> (29856)	16	30.85	2A	0.35	0.17	38.83	5.78	m6+2Sm

$\sum TL$: مجموع طول کل ژنوم؛ SC: نوع کلاس استیپ؛ A_1 : شاخص عدم تقارن درون کروموزومی؛ A_2 : شاخص عدم تقارن بین کروموزومی؛ TF:

درصد شکل کلی؛ DRL: اختلاف طول نسبی بلندترین کروموزوم با کوتاه‌ترین کروموزوم؛ KF: تیپ کاربوتیپ

$\sum TL$: Total length of genome; SC: Stubbs class type; A_1 : Intra-chromosomal asymmetry index; A_2 : Inter-chromosomal asymmetry index; TF: Percentage of total shape; DRL: Relative length difference of the longest chromosome with the shortest chromosome; KF: Caryotype

جدول ۳- مقایسه میانگین ویژگی‌های کاربوتیپی ۲۱ جمعیت مختلف گون *Astragalus*

Table 3. Mean comparisons of karyotypic characteristics of 21 different *Astragalus* populations

جمعیت Population	TL	LA	SA	AR	CI	TF%	A ₁	A ₂	DRL	LA%	SA%
<i>A. vegetus</i> (25786)	4.51 ^a	2.95 ^a	1.55 ^a	1.96 ^{ab}	0.34 ^{abc}	34.39 ^{abc}	0.46 ^a	0.19 ^a	7.02 ^{ab}	65.60 ^{abc}	34.39 ^{abc}
<i>A. bombycinus</i> (20114)	4.09 ^{ab}	2.64 ^{ab}	1.46 ^{ab}	1.90 ^{ab}	0.35 ^{abc}	35.23 ^{abc}	0.46 ^a	0.21 ^a	8.64 ^a	64.76 ^{abc}	35.23 ^{abc}
<i>A. Chrysostachys</i> (18218)	3.97 ^{ab}	2.52 ^{ab}	1.45 ^{ab}	1.76 ^b	0.37 ^{abc}	36.67 ^{abc}	0.40 ^a	0.22 ^a	8.54 ^a	63.33 ^{abc}	36.67 ^{abc}
<i>A. Vegetus</i> (3421)	3.87 ^{ab}	2.70 ^{ab}	1.17 ^{abc}	2.45 ^a	0.31 ^c	30.69 ^c	0.54 ^a	0.19 ^a	6.84 ^{ab}	69.30 ^a	30.69 ^c
<i>A. iranicus</i> (29856)	3.85 ^{ab}	2.35 ^{ab}	1.50 ^{ab}	1.59 ^b	0.39 ^{ab}	38.83 ^{ab}	0.35 ^a	0.16 ^a	5.78 ^{ab}	61.16 ^{bc}	38.83 ^{ab}
<i>A. campylorrhynchus</i> (29586)	3.74 ^{ab}	2.23 ^{ab}	1.52 ^{ab}	1.51 ^b	0.40 ^a	40.55 ^a	0.50 ^a	0.12 ^a	4.86 ^{ab}	59.44 ^c	40.55 ^a
<i>A. bombycinus</i> (29472)	3.67 ^{ab}	2.48 ^{ab}	1.19 ^{abc}	2.06 ^{ab}	0.33 ^{bc}	33.42 ^{bc}	0.49 ^a	0.16 ^a	6.04 ^{ab}	66.58 ^{ab}	33.42 ^{bc}
<i>A. vegetus</i> (25786)	3.60 ^{ab}	0.25 ^{ab}	1.35 ^{abc}	1.75 ^b	0.37 ^{abc}	37.45 ^{abc}	0.39 ^a	0.13 ^a	5.06 ^{ab}	62.55 ^{abc}	37.45 ^{abc}
<i>A. vegetus</i> (544)	3.36 ^{ab}	2.16 ^{ab}	1.20 ^{abc}	1.86 ^{ab}	0.35 ^{abc}	35.60 ^{abc}	0.43 ^a	0.18 ^a	6.81 ^{ab}	64.40 ^{abc}	35.60 ^{abc}
<i>A. iranicus</i> (2791)	3.35 ^{ab}	2.14 ^{ab}	1.20 ^{abc}	1.81 ^{ab}	0.36 ^{abc}	35.90 ^{abc}	0.43 ^a	0.13 ^a	4.97 ^{ab}	64.09 ^{abc}	35.90 ^{abc}
<i>A. jodostachy</i> (27211)	3.28 ^{ab}	2.18 ^{ab}	1.10 ^{abc}	2.05 ^{ab}	0.34 ^{abc}	33.49 ^{bc}	0.48 ^a	0.19 ^a	8.05 ^{ab}	66.50 ^{ab}	33.49 ^{bc}
<i>A. chrysostachys</i> (35142)	3.27 ^{ab}	2.03 ^{ab}	1.24 ^{abc}	1.68 ^b	0.37 ^{abc}	37.45 ^{abc}	0.39 ^a	0.14 ^a	5.48 ^{ab}	62.39 ^{abc}	37.61 ^{abc}
<i>A. iranicus</i> (2791)	3.11 ^{ab}	2.03 ^{ab}	1.09 ^{abc}	1.92 ^{ab}	0.35 ^{abc}	34.96 ^{abc}	0.44 ^a	0.18 ^a	7.21 ^{ab}	65.03 ^{abc}	34.96 ^{abc}
<i>A. stevenianus</i> (20105)	3.02 ^{ab}	2.04 ^{ab}	0.98 ^{abc}	2.08 ^{ab}	0.33 ^{bc}	32.63 ^{bc}	0.50 ^a	0.21 ^a	5.15 ^{ab}	67.37 ^{ab}	32.63 ^{bc}
<i>A. pseudocyclopyllus</i> (35821)	2.98 ^{ab}	1.88 ^{ab}	1.10 ^{abc}	1.73 ^b	0.37 ^{abc}	37.14 ^{abc}	0.39 ^a	0.14 ^a	2.95 ^{ab}	62.85 ^{abc}	37.14 ^{abc}
<i>A. ebenoides</i> (11443)	2.85 ^b	1.83 ^{ab}	1.03 ^{abc}	1.83 ^{ab}	0.36 ^{abc}	35.96 ^{abc}	0.42 ^a	0.09 ^a	2.20 ^b	64.03 ^{abc}	35.96 ^{abc}
<i>A. glycyphyllos</i> (18269)	2.83 ^b	1.81 ^{ab}	1.02 ^{abc}	1.83 ^{ab}	0.36 ^{abc}	35.99 ^{abc}	0.43 ^a	0.19 ^a	6.77 ^{ab}	64.00 ^{abc}	35.99 ^{abc}
<i>A. macrourus</i> (29853)	2.83 ^b	1.86 ^{ab}	0.96 ^{bc}	2.01 ^{ab}	0.34 ^{abc}	34.32 ^{abc}	0.48 ^a	0.17 ^a	5.96 ^{ab}	65.67 ^{abc}	34.32 ^{abc}
<i>A. Jodostachys</i> (16770)	2.75 ^b	1.75 ^b	0.99 ^{abc}	1.81 ^{ab}	0.36 ^{abc}	36.23 ^{abc}	0.42 ^a	0.18 ^a	3.87 ^{ab}	63.77 ^{abc}	36.23 ^{abc}
<i>A. caragana</i> (35803)	2.71 ^b	1.72 ^b	0.99 ^{abc}	1.76 ^b	0.37 ^{abc}	36.51 ^{abc}	0.39 ^a	0.20 ^a	7.51 ^{ab}	63.49 ^{abc}	36.51 ^{abc}
<i>A. vanillae</i> (13764)	2.67 ^b	1.80 ^{ab}	0.86 ^c	2.08 ^{ab}	0.33 ^{bc}	30.69 ^{bc}	0.50 ^a	0.21 ^a	7.49 ^{ab}	67.44 ^{ab}	32.55 ^{bc}

TL: طول کل کروموزوم؛ LA: طول بازوی بلند؛ SA: طول بازوی کوتاه؛ AR: نسبت بازوها؛ CI: شاخص سانترومیری؛ TF: درصد شکل کلی؛ A₁: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی؛ A₂: شاخص عدم تقارن بین کروموزومی؛ DRL: اختلاف طول نسبی بلندترین کروموزوم با کوتاهترین کروموزوم؛ LA%: درصد طول نسبی بازوی بلند؛ SA%: درصد طول نسبی بازوی کوتاه

TL: Total chromosome length; LA: Long arm length; SA: Short arm length; AR: Arm ratio; CI: Centromere index; TF: Percentage of total shape; A₁: Intra chromosomal asymmetry index; A₂: Inter chromosomal asymmetry index; DRL: Relative length difference between longest and shortest chromosome; LA%: Percentage of relative length of long arm; SA%: Percentage of relative length of short arm

جدول ۴- همبستگی ویژگی‌های مورد بررسی در بین ۲۱ جمعیت‌های مختلف گون *Astragalus*

Table 4. Correlation of studied characteristics among 21 different populations of *Astragalus*

صفات Traits	TL	LA	SA	AR	CI	TF	A ₁	A ₂	DRL	LA%	SA%
TL	1										
LA	0.9682**	1									
SA	0.9116**	0.7800*	1								
AR	0.0016	0.2458	0.4017	1							
CI	0.0299	-0.2167	0.4309	-0.9760**	1						
TF	0.0760	-0.1722	0.4739	-0.9760**	0.9883**	1					
A ₁	0.0959	0.2544	0.1773	0.7038*	-0.6943*	-0.6510*	1				
A ₂	0.0555	0.1620	0.1329	0.4165	-0.4387	-0.4899	0.1554	1			
DRL	0.3455	0.4076	0.1894	0.3098	-0.2902	-0.3315	0.1690	0.7580*	1		
LA%	-0.0760	0.1722	0.4739	0.9760**	-0.9883**	-1.0000	0.6510*	0.4899	0.3315	1	
SA%	0.0760	-0.1722	0.4739	-0.9760**	0.9883**	1.0000	-0.6510*	-0.4899	-0.3315	1	1

** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

** and *: Significant at 1% and 5% probability levels, respectively

TL: طول کل کروموزوم؛ LA: طول بازوی بلند؛ SA: طول بازوی کوتاه؛ AR: نسبت بازوها؛ CI: شاخص سانترومیری؛ TF: درصد شکل کلی؛ A₁: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی؛ A₂: شاخص عدم تقارن بین کروموزومی؛ DRL: اختلاف طول نسبی بلندترین کروموزوم با کوتاهترین کروموزوم؛ LA%: درصد طول نسبی بازوی بلند؛ SA%: درصد طول نسبی بازوی کوتاه

TL: Total chromosome length; LA: Long arm length; SA: Short arm length; AR: Arm ratio; CI: Centromere index; TF: Percentage of total shape; A₁: Intra chromosomal asymmetry index; A₂: Inter chromosomal asymmetry index; DRL: Relative length difference between longest and shortest chromosome; LA%: Percentage of relative length of long arm; SA%: Percentage of relative length of short arm

مطالعات کروموزومی می‌تواند نشان دهنده تغییرات تکاملی در فرآیند گونه‌زایی جنس‌های گیاهی باشد. همچنین اطلاعات حاصل از تفاوت در تعداد یا ساختمان کروموزوم‌ها بین گونه‌های خودرو و زراعی می‌تواند ابزاری مؤثر در تلاقی و انتقال صفات مطلوب مورد استفاده قرار گیرد (Nasirzadeh, 1997). در این پژوهش ۲۱ جمعیت از گونه‌های مختلف جنس *Astragalus* در نقاط مختلف کشور از لحاظ تنوع سیتوژنتیکی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند. بر اساس نتایج به دست آمده، جمعیت‌ها با عدد پایه کروموزومی $x = 8$ ، به دو صورت دیپلوئید ($2n = 2x = 16$) و تتراپلوئید ($2n = 4x = 32$) مشاهده شدند که با نتایج اغلب مطالعات کاربوتومیکی گون مطابقت دارد. نتایج به دست آمده از ۴ جمعیت ۱۸۳۷۱، ۳۴۲۱، ۵۴۴ و ۲۵۷۸۶ که متعلق به گونه *A. vegetus* می‌باشند، نشان داد که این گونه دیپلوئید بوده و عدد پایه آن $x = 8$ می‌باشد (جدول‌های ۶-۹ و شکل‌های ۶-۳) که با نتایج پژوهش رنجبر و همکاران (Ranjbar et al., 2014) مطابقت دارد.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی: جهت تعیین سهم هریک از صفات کاربوتومیکی در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها، از تجزیه به مؤلفه اصلی استفاده شد (جدول ۶). در مطالعه حاضر مؤلفه اول تا سوم به ترتیب ۵۵/۱۵، ۲۷/۱۱ و ۱۱/۷۸ درصد از کل واریانس را توجیه نمود و در مجموع این سه مؤلفه ۹۴/۰۴ از کل تنوع موجود را شامل شدند. یافته‌های این پژوهش نشان داد که مؤلفه اول بیشترین نقش را در ایجاد تنوع بین جمعیت‌ها دارد. در مؤلفه اول CI، AR، TF%، LA% و SA% در مؤلفه دوم TL، LA و SA و در مؤلفه سوم A_1 ، A_2 و DRL حائز اهمیت بودند.

تجزیه خوشه‌ای: به منظور دسته‌بندی جمعیت‌ها بر اساس صفات کاربوتومیکی از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward استفاده شد. طبق تجزیه خوشه‌ای در فاصله اقلیدسی ۳/۶۶ جمعیت‌ها در ۵ گروه قرار گرفتند. جمعیت‌های قرار گرفته در یک گروه از نظر صفات کاربوتومیکی محاسبه شده، قرابت بالایی با یکدیگر نشان دادند.

جدول ۵- مقادیر مؤلفه اول، دوم و سوم، درصد واریانس و درصد واریانس تجمعی برای ویژگی‌های کاربوتومیکی در جمعیت-

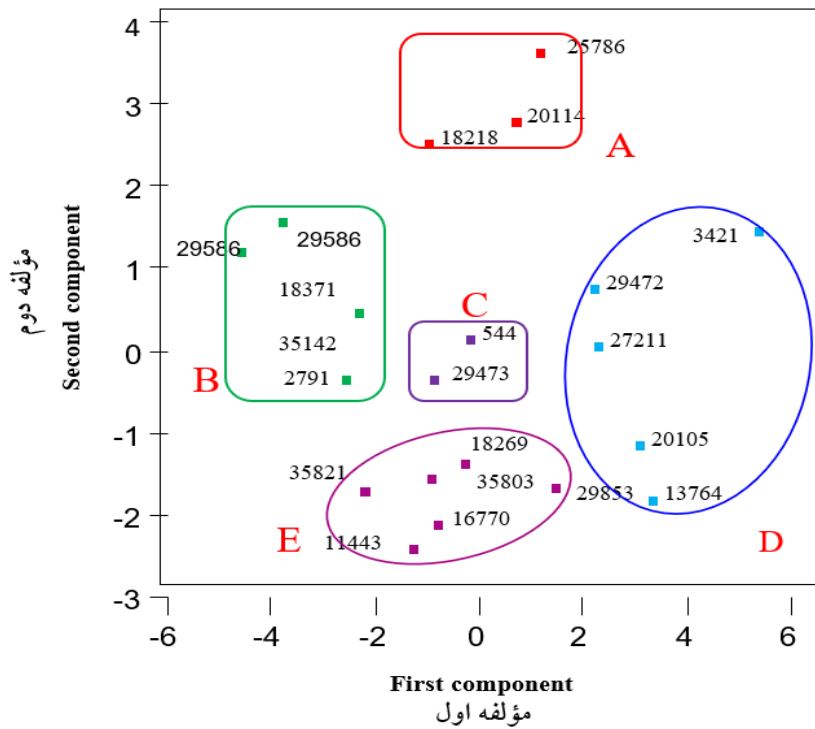
های مختلف گون *Astragalus*

Table 5. First, second, and third component values, percent of variance and percent of cumulative variance for karyotypic characteristics in different *Astragalus* populations.

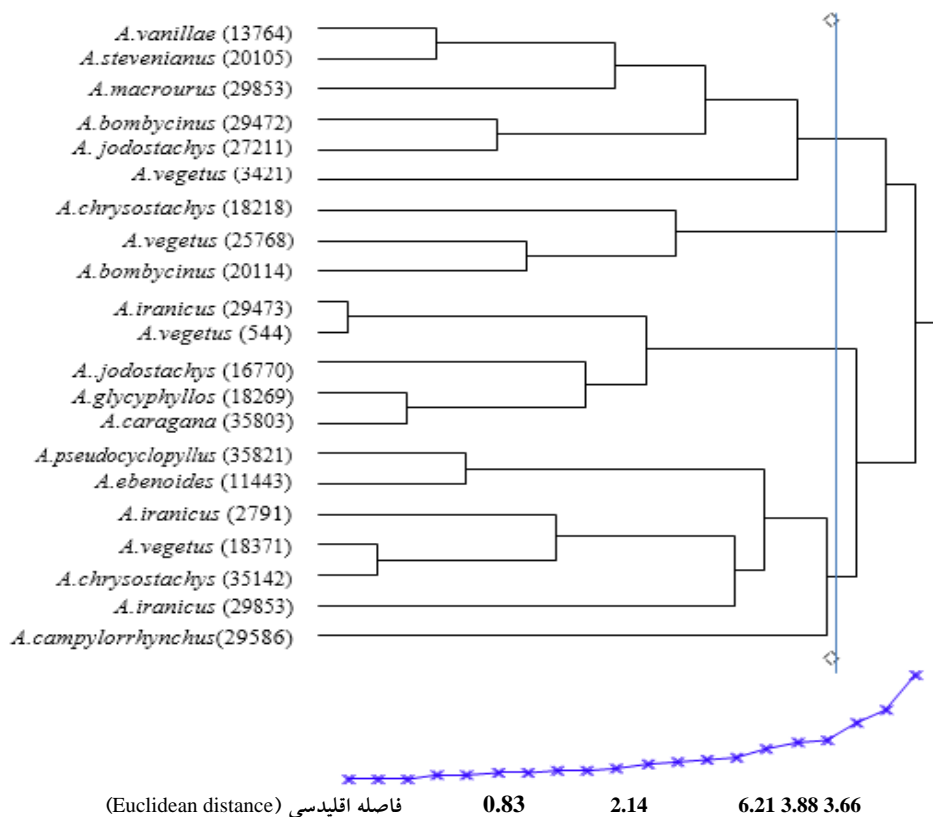
متغیر Variables	TL	LA	SA	AR	CI	TF%	A_1	A_2	DRL	LA%	SA%	ریشه‌های راکد Stagnant roots	درصد واریانس Percent of variance	واریانس تجمعی Cumulative variance
مؤلفه اول First component	-0.017	0.081	-0.178	<u>0.395</u>	<u>-0.398</u>	<u>-0.401</u>	0.287	0.224	0.167	<u>-0.401</u>	<u>0.401</u>	6.06	55.15	55.15
مؤلفه دوم Second component	<u>0.567</u>	<u>0.550</u>	<u>0.514</u>	0.007	0.010	0.029	0.056	0.122	0.297	0.029	-0.029	2.98	27.11	82.26
مؤلفه سوم Third component	-0.156	-0.179	-0.101	-0.130	-0.116	0.045	<u>-0.346</u>	<u>0.657</u>	<u>0.587</u>	0.045	-0.045	1.30	11.78	94.04

TL: طول کل کروموزوم؛ LA: طول بازوی بلند؛ SA: طول بازوی کوتاه؛ AR: نسبت بازوها؛ CI: شاخص سانترومیری؛ TF: درصد شکل کلی؛ A_1 : شاخص عدم تقارن درون کروموزومی؛ A_2 : شاخص عدم تقارن بین کروموزومی؛ DRL: اختلاف طول نسبی بلندترین کروموزوم با کوتاه‌ترین کروموزوم؛ LA%: درصد طول نسبی بازوی بلند؛ SA%: درصد طول نسبی بازوی کوتاه

TL: Total chromosome length; LA: Long arm length; SA: Short arm length; AR: Arm ratio; CI: Centromere index; TF: Percentage of total shape; A_1 : Intra chromosomal asymmetry index; A_2 : Inter chromosomal asymmetry index; DRL: Relative length difference between longest and shortest chromosome; LA%: Percentage of relative length of long arm; SA%: Percentage of relative length of short arm



شکل ۱- پراکنش جمعیت‌های مختلف گون در پنج گروه متمایز بر اساس مؤلفه اول و دوم در ویژگی‌های کاربوتیپی
 Figure 1. Distribution of different *Astragalus* populations in five distinct groups based on first and second components in Karyotypic characteristics



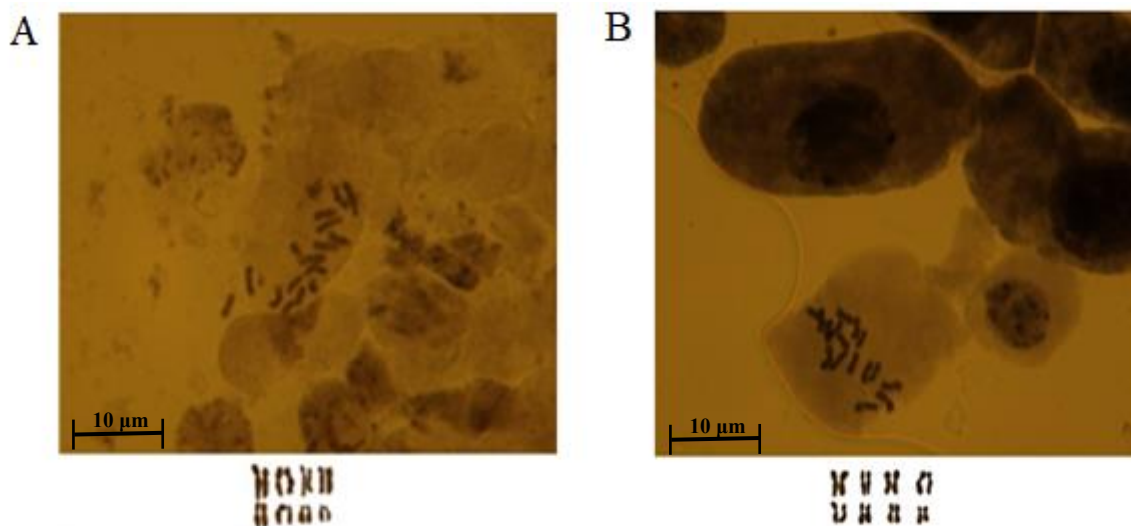
شکل ۲- دندروگرام جمعیت‌های مختلف *Astragalus* بر اساس ویژگی‌های کاربوتیپی
 Figure 2. Dendrogram of different *Astragalus* populations based on karyotypic characteristics

birticalyx شماره کروموزوم جدیدی از خود نشان دادند در حالی که تعداد کروموزوم ثبت شده برای گون‌های *A. denudatus* و *A. microcephalus* با نتایج سایر مطالعات پیشین منطبق بود. در این مطالعه بیشترین طول کروموزوم مربوط به گونه *A. birticalyx* با طول ۵/۵۱ میکرومتر و کمترین طول مربوط به با طول ۲/۲۰ میکرومتر بود. بر اساس نتایج مقایسات میانگین صورت گرفته در این تحقیق جمعیت ۲۵۷۸۶ از گونه *A. vegetus* با طول ۴/۵۱ بیشترین میانگین طول کل کروموزوم و جمعیت ۱۳۷۶۴ از گونه *A. vanillae* با مقدار ۲/۶۷ میکرومتر کمترین میانگین طول کل کروموزوم را به خود اختصاص دادند (جدول‌ها و شکل‌های ۹-۵). در جدول مقایسات میانگین هر چه مقدار A_1 و AR مربوط به یک جمعیت بیشتر باشد کروموزوم مربوط به آن، از نظر شکلی نامتقارن‌تر است. در مقابل هر چه مقدار CI و $TF\%$ بیشتر و مقدار DRL و A_2 کمتر باشد کروموزوم متقارن‌تر است. در جمعیت ۳۴۲۱ که تعداد زیادی از کروموزوم‌های آن از نوع ساب متاسانتربیک بوده و A_1 در آن‌ها بیشترین مقدار می‌باشد، نامتقارن‌ترین جمعیت از نظر شکل کروموزوم شناخته شد. همچنین جمعیت‌های ۱۸۲۱۸ و ۲۰۱۱۴ به‌عنوان نامتقارن‌ترین جمعیت‌ها از نظر اختلاف در طول کروموزوم و جمعیت ۲۹۵۸۶ که بیشترین CI و $TF\%$ را داشت، به‌عنوان متقارن‌ترین جمعیت شناخته شدند. کاربوتیپ‌هایی با کروموزوم‌هایی نامتقارن، گونه جدیدتری هستند و جمعیت‌هایی که کاربوتیپ آن‌ها متقارن است گونه قدیمی‌تر محسوب می‌شوند. بر اساس تجزیه خوشه‌ای در فاصله اقلیدسی ۳/۶۶ جمعیت‌ها در ۵ گروه مجزا قرار گرفتند. جمعیت ۱۳۷۶۴، ۲۰۱۰۵، ۲۹۸۵۳، ۲۹۴۷۲، ۲۷۲۱۱ و ۳۴۲۱ گروه اول، جمعیت‌های ۱۸۲۱۸، ۲۵۷۸۶ و ۲۰۱۱۴ گروه دوم، جمعیت‌های ۲۹۴۷۳، ۵۴۴، ۱۶۷۷۰، ۱۸۲۶۹ و ۳۵۸۰۳ گروه سوم، جمعیت‌های ۳۵۸۲۱، ۱۱۴۴۳، ۲۷۹۱، ۱۸۳۷۱، ۳۵۱۴۲، ۲۹۸۵۶ و ۲۹۵۸۶ گروه چهارم و در نهایت جمعیت ۲۹۵۸۶ در گروه پنجم جای گرفتند. مقایسه میانگین ویژگی‌های کاربولوجیکی محاسبه شده برای جمعیت‌های

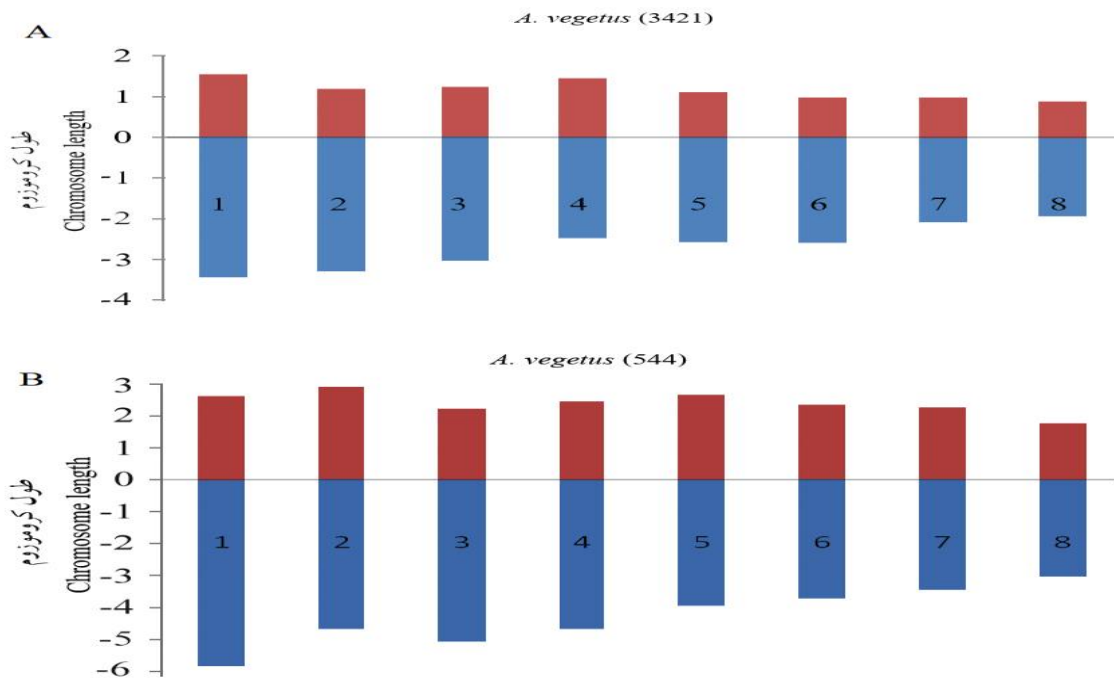
A. chrysostachys Boiss بر روی گونه *A. chrysostachys* Boiss نشان داد که در این گونه به‌استثنای یک جمعیت که تتراپلوئید بود، سایر جمعیت‌ها دیپلوئید و عدد پایه کروموزومی آن‌ها $x=8$ و تعداد کروموزوم آن $2n=16$ می‌باشد (Ranjbar et al., 2014). در پژوهشی محققان با مطالعه کاربوتیپ سه گونه گون (*A. elegans*، *A. cancellatus* و *A. aznabjurtieus*) نشان دادند که هر سه گونه مورد مطالعه دارای تعداد کروموزوم $2n=4x=32$ با پایه کروموزومی $x=8$ و تتراپلوئید می‌باشند (Javadi et al., 2007). در مطالعه حاضر با اندازه‌گیری پارامترهای مختلف کاربوتیپ مشخص شد که بلندترین کروموزوم و بلندترین طول ژنوم متعلق به گونه *A. elegans* و کوتاه‌ترین کروموزوم و کوتاه‌ترین ژنوم متعلق به گونه *A. cancellatus* می‌باشد. گونه *A. elegans* با داشتن کمترین مقدار A_1 و بیشترین مقدار $TF\%$ و $S\%$ و فرمول کاربوتیپی $6sm=10m$ دارای کاربوتیپ متقارن بود و نسبت به دو گونه دیگر یک گونه جدید محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر بررسی جمعیت‌های ۳۵۱۴۲ و ۱۸۲۱۸ در گونه‌های *A. elegans*، *A. cancellatus* و *A. aznabjurtieus* نتایجی مشابه با سایر محققین نشان داد (Ranjbar et al., 2011b). این دو جمعیت دیپلوئید، دارای عدد پایه کروموزومی $x=8$ و تعداد کروموزوم $2n=16$ می‌باشند. در مطالعه‌ای تعداد کروموزوم گونه *A. gossypinus* به‌صورت $2n=2x=14$ گزارش شده است و این محققان اطلاعات جدیدی از تعداد کروموزوم‌های گون *Astragalus spp* گزارش نمودند که بر اساس آن تعداد کروموزوم‌های گونه‌های *A. meyeri*، *A. versus caspicus* به‌صورت $2n=2x=16$ ، گونه *A. gossypinus* به‌صورت $2n=2x=14$ ، گونه‌های *A. birticalyx*، *A. microcephalus*، *A. denudatus* و *A. dschuparensis* به‌صورت $x=32$ ، $2n=4$ و گونه‌های *A. brachycalyx compactus* به‌صورت $x=48$ ، $2n=6x$ گزارش شدند (Sheidaei et al., 2009). در نتیجه در مطالعه حاضر گونه‌های *A. meyeri*، *A. versus*، *A. caspicus* و *A. gossypinus*، *A. brachycalyx compactus* و *A.*

با صفات CI، TF% و SA% منفی و معنی‌دار بود. افزایش و یا کاهش هر یک از صفات AR، A₁ و LA% باعث افزایش و کاهش دیگری خواهد شد ولی تأثیر آن‌ها روی صفات CI، TF% و SA% برعکس خواهد بود. رابطه صفات CI، TF% و LA% با هم و نیز A₂ با DRL مثبت و معنی‌دار است. افزایش و یا کاهش یک صفت باعث افزایش و کاهش دیگری خواهد شد. نتایج تجزیه خوشه‌ای کل جمعیت‌ها را در پنج گروه قرار داد. وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بین جمعیت‌ها و گونه‌ها، بیان‌کننده فاصله صفات کاریوتیپی در بین آن‌ها است که همین تفاوت آن‌ها را در تجزیه خوشه‌ای در گروه‌های مختلفی قرار داده است. جمعیت‌های واقع در یک گروه دارای صفات کاریوتیپی مشترک هستند و برای افزایش تنوع ژنتیکی گونه‌ها پیشنهاد می‌شود که گونه‌هایی که در یک گروه قرار ندارند و فاصله زیادی (با توجه به نمودار خوشه‌ای) نسبت به همدیگر دارند در برنامه‌های اصلاحی (مبتنی بر آمیزش) قرار گیرند.

مورد بررسی نشان داد که جمعیت‌هایی که در یک گروه قرار دارند از لحاظ برخی صفات بسیار به هم نزدیک می‌باشند. گروه اول کم‌ترین CI، TF% و SA% و بیشترین AR، A₁ و LA% را به خود اختصاص دادند، به طوری که این خصوصیات کاریولوژیکی مهم‌ترین صفات مشخص شده در مؤلفه اول و دوم بودند. گروه دوم به دلیل اشتراک در صفات مهم مؤلفه دوم (SA، TL و LA) در یک گروه قرار گرفتند و اعضای گروه سوم به خاطر داشتن بیشترین A₂ و DRL (صفاتی که در مؤلفه سوم از اهمیت بیشتری برخوردار بودند) دارای قرابت بالایی بودند. اعضای گروه پنجم در صفات AR، A₁ و LA% (کم‌ترین مقدار) و CI، TF% و SA% (بیشترین مقدار) مشترک بودند؛ سایر جمعیت‌ها نیز به دلیل داشتن صفات کاریوتیپی مختلف اما با مقادیر نزدیک به هم در یک گروه قرار گرفتند. بر اساس جدول همبستگی، صفت TL با LA و SA رابطه مثبت و معنی‌دار نشان داد، به طوری که با افزایش هر کدام از بازوها طول کل کروموزوم نیز افزایش می‌یابد. همچنین رابطه بین صفات AR، A₁ و LA% با هم مثبت و معنی‌دار و



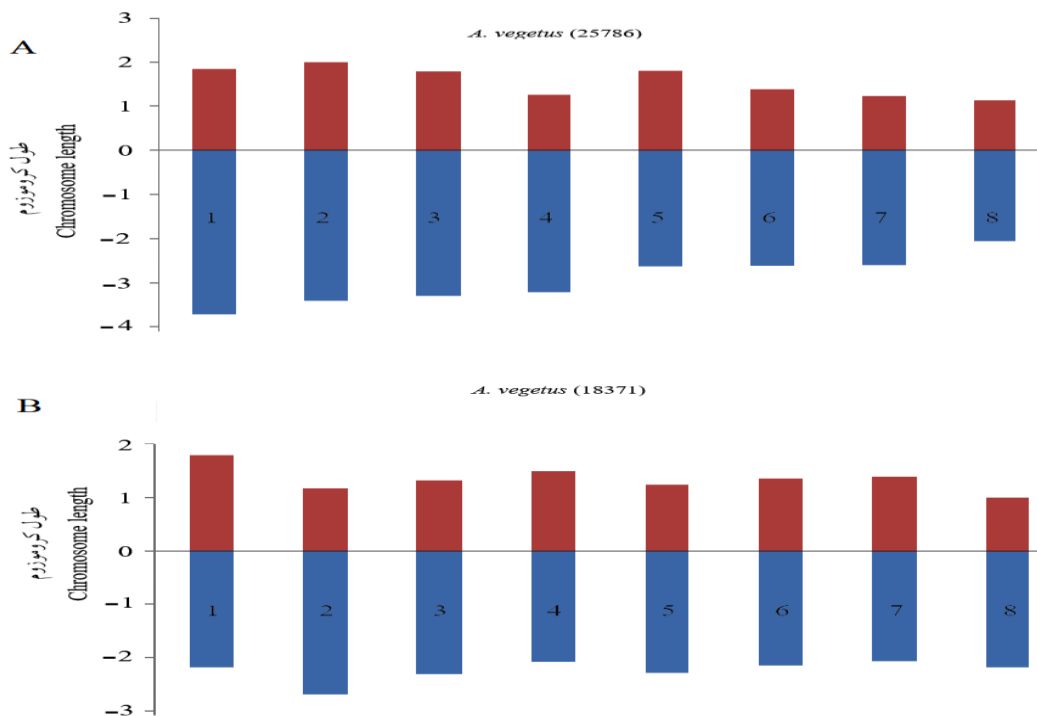
شکل ۳- بررسی سیتوژنتیکی جمعیت ۵۴۴ از گونه *Astragalus vegetus* (A) و جمعیت ۳۴۲۱ از گونه *Astragalus vegetus* (B)
 Figure 3. Mitotic metaphase chromosomes of populations 544 of *Astragalus vegetus* (A) and population 3421 of *Astragalus vegetus* (B)



شکل ۴- صفحه متافازی، کاریوتیپ و آیدیوگرام در جمعیت ۳۴۲۱ (A) و جمعیت ۵۴۴ (B) از گونه *A. vegetus*

Figures 4. Metaphase shape, karyotype and idiogram in population 3421 (A) and population 544 (B) of *A. vegetus* طول کروموزومها برحسب میکرومتر است.

Length of chromosome are based on micrometre.



شکل ۵- صفحه متافازی، کاریوتیپ و آیدیوگرام در جمعیت ۲۵۷۸۶ (A) و جمعیت ۱۸۳۷۱ (B) از گونه *A. vegetus*

Figure 5. Metaphase shape, karyotype and idiogram in population 25786 (A) and population 18371 (B) of *A. vegetus* طول کروموزومها برحسب میکرومتر است.

Length of chromosome are based on micrometre.

جدول ۶- مشخصات کاربوتیپی جمعیت ۵۴۴ از گونه *A. vegetus*

Table 6. Karyotypic characteristics of population 544 of *A. vegetus*

جفت کروموزوم Chromosome pairs	TL ± SE	LA ± SE	SA ± SE	AR	TC	CI	LA%	SA%
1	4.24 ± 0.25	2.92 ± 0.19	1.32 ± 0.60	2.21	Sm	0.31	10.85	4.90
2	3.85 ± 0.34	2.35 ± 0.14	1.22 ± 0.21	2.03	Sm	0.34	8.73	4.53
3	3.80 ± 0.20	2.36 ± 0.16	1.44 ± 0.04	1.63	m	0.38	8.77	5.35
4	3.66 ± 0.20	2.54 ± 0.18	1.12 ± 0.09	2.31	Sm	0.31	9.44	4.16
5	3.31 ± 0.13	1.24 ± 0.25	1.33 ± 0.01	1.50	m	0.40	7.39	4.94
6	3.05 ± 0.1	1.88 ± 0.06	1.17 ± 0.16	1.68	m	0.38	6.98	6.58
7	2.87 ± 0.30	1.75 ± 0.07	1.12 ± 0.26	1.74	Sm	0.38	6.50	4.16
8	2.41 ± 0.16	1.52 ± 0.09	0.89 ± 0.14	1.83	Sm	0.36	5.65	3.31
جمع کل Total	26.92	17.31	26.92		+5Sm m3		64.30	37.93

اعداد موجود در جداول برحسب میکرومتر می‌باشند.

The numbers in the tables are in micrometer.

TL: طول کل کروموزوم؛ LA: طول بازوی بلند؛ SA: طول بازوی کوتاه؛ AR: نسبت بازوها؛ TC: نوع کروموزوم؛ CI: شاخص سانترومیری؛ کروموزوم؛ LA%: درصد طول نسبی بازوی بلند؛ SA%: درصد طول نسبی بازوی کوتاه؛ SE: خطای استاندارد

TL: Total chromosome length; LA: Long arm length; SA: Short arm length; AR: Arm ratio; TC: Type of chromosome; CI: Centromere index; LA%: Percentage of relative length of long arm; SA%: Percentage of relative length of short arm; SE: Standard error

جدول ۷- مشخصات کاربوتیپی جمعیت ۳۴۲۱ از گونه *A. vegetus*

Table 7. Karyotypic Characteristics of population 3421 of *A. vegetus*

جفت کروموزوم Chromosome pairs	TL ± SE	LA ± SE	SA ± SE	AR	TC	CI	LA%	SA%
1	5.00 ± 0.56	3.48 ± 0.56	1.53 ± 0.33	2.62	Sm	0.31	11.23	4.94
2	4.5 ± 0.57	3.31 ± 0.61	1.20 ± 0.08	2.83	Sm	0.28	10.69	3.88
3	4.29 ± 0.36	3.07 ± 0.51	1.21 ± 0.20	2.77	Sm	0.29	9.92	3.91
4	3.94 ± 0.38	2.50 ± 0.29	1.44 ± 0.08	1.72	Sm	0.37	8.07	4.65
5	3.71 ± 0.20	2.60 ± 0.22	1.11 ± 0.16	2.50	Sm	0.30	8.40	3.59
6	3.59 ± 0.18	2.62 ± 0.21	0.97 ± 0.09	2.77	Sm	0.27	8.46	3.13
7	3.09 ± 0.21	2.09 ± 0.31	1.00 ± 0.10	2.19	Sm	0.33	6.75	3.23
8	2.84 ± 0.21	1.95 ± 0.14	0.89 ± 0.09	2.21	Sm	0.31	6.30	2.87
جمع کل (Total)	30.96	21.61	9.35		Sm8		69.82	30.20

اعداد موجود در جداول برحسب میکرومتر می‌باشند.

The numbers in the tables are in micrometer.

TL: طول کل کروموزوم؛ LA: طول بازوی بلند؛ SA: طول بازوی کوتاه؛ AR: نسبت بازوها؛ TC: نوع کروموزوم؛ CI: شاخص سانترومیری؛ کروموزوم؛ LA%: درصد طول نسبی بازوی بلند؛ SA%: درصد طول نسبی بازوی کوتاه؛ SE: خطای استاندارد

TL: Total chromosome length; LA: Long arm length; SA: Short arm length; AR: Arm ratio; TC: Type of chromosome; CI: Centromere index; LA%: Percentage of relative length of long arm; SA%: Percentage of relative length of short arm; SE: Standard error

جدول ۸- مشخصات کاربوتیپی جمعیت ۱۸۳۷۱ از گونه *A. Vegetus*

Table 8. Karyotypic Characteristics of Population 18371 from Species *A. Vegetus*

جفت کروموزوم Chromosome pairs	TL ± SE	LA ± SE	SA ± SE	AR	TC	CI	LA%	SA%
1	3.99 ± 0.36	2.20 ± 0.07	1.79 ± 0.29	1.25	M	0.45	7.63	6.23
2	3.87 ± 0.16	2.69 ± 0.29	1.18 ± 0.13	2.33	Sm	0.31	9.35	4.10
3	3.64 ± 0.03	2.32 ± 0.01	1.32 ± 0.02	1.76	Sm	0.36	8.06	4.59
4	3.58 ± 0.68	2.09 ± 0.23	1.49 ± 0.45	1.49	M	0.41	7.25	5.18
5	3.54 ± 0.31	2.29 ± 0.11	1.25 ± 0.20	1.87	Sm	0.35	7.96	4.33
6	3.51 ± 0.13	2.16 ± 0.03	1.35 ± 0.10	1.60	M	0.38	7.50	4.69
7	3.47 ± 0.88	2.06 ± 0.44	1.42 ± 0.44	1.50	M	0.40	7.15	4.92
8	3.19 ± 0.05	2.18 ± 0.04	1.01 ± 0.01	2.17	Sm	0.32	7.57	3.50
جمع کل (Total)	28.80	17.99	10.81		4m + 4Sm		62.47	37.53

اعداد موجود در جداول برحسب میکرومتر می‌باشند.

The numbers in the tables are in micrometer.

TL: طول کل کروموزوم؛ LA: طول بازوی بلند؛ SA: طول بازوی کوتاه؛ AR: نسبت بازوها؛ TC: نوع کروموزوم؛ CI: شاخص سانترومیری؛ کروموزوم؛ LA%: درصد طول نسبی بازوی بلند؛ SA%: درصد طول نسبی بازوی کوتاه؛ SE: خطای استاندارد

TL: Total chromosome length; LA: Long arm length; SA: Short arm length; AR: Arm ratio; TC: Type of chromosome; CI: Centromere index; LA%: Percentage of relative length of long arm; SA%: Percentage of relative length of short arm; SE: Standard error

جدول ۹- مشخصات کاربوتیبی جمعیت ۲۵۷۸۶ از گونه *A. vegetus*Table 9. Karyotypic characteristics of a population of 25786 species of *A. vegetus*

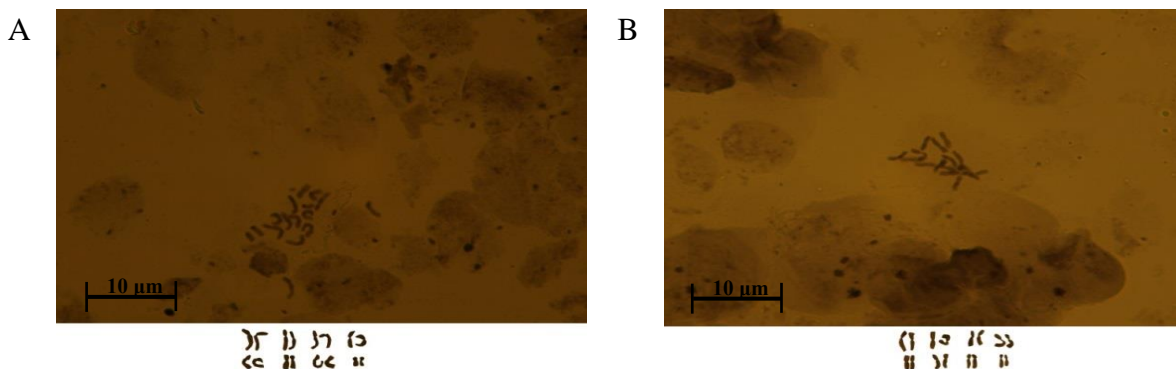
جفت کروموزوم Chromosome pairs	TL ± SE	LA ± SE	SA ± SE	AR	TC	CI	LA%	SA%
1	5.57 ± 0.42	3.74 ± 0.21	1.83 ± 0.13	2.07	Sm	0.33	10.37	5.07
2	5.42 ± 0.01	3.43 ± 0.14	1.99 ± 0.15	1.74	Sm	0.37	9.49	5.52
3	5.10 ± 0.01	3.30 ± 0.11	1.80 ± 0.10	1.85	Sm	0.35	9.14	4.97
4	4.49 ± 0.10	3.23 ± 0.05	1.26 ± 0.05	2.56	Sm	0.28	8.94	3.49
5	4.45 ± 0.04	2.64 ± 0.05	1.81 ± 0.09	1.47	m	0.41	7.31	5.01
6	4.02 ± 0.03	2.63 ± 0.24	1.39 ± 0.29	2.02	Sm	0.35	7.28	3.85
7	3.85 ± 0.61	2.62 ± 0.53	1.23 ± 0.07	2.11	Sm	0.32	7.26	3.40
8	3.21 ± 0.81	2.08 ± 0.47	1.14 ± 0.34	1.87	Sm	0.35	5.73	3.15
جمع کل (Total)	36.11	23.66	12.45		m+7Sm		65.53	34.47

اعداد موجود در جداول برحسب میکرومتر می‌باشند.

The numbers in the tables are in micrometer.

TL: طول کل کروموزوم؛ LA: طول بازوی بلند؛ SA: طول بازوی کوتاه؛ AR: نسبت بازوها؛ TC: نوع کروموزوم؛ CI: شاخص سانترومری؛ کروموزوم؛ LA%: درصد طول نسبی بازوی بلند؛ SA%: درصد طول نسبی بازوی کوتاه؛ SE: خطای استاندارد

TL: Total chromosome length; LA: Long arm length; SA: Short arm length; AR: Arm ratio; TC: Type of chromosome; CI: Centromere index; LA%: Percentage of relative length of long arm; SA%: Percentage of relative length of short arm; SE: Standard error



شکل ۶- گستره‌ی متافازی سلول‌های نوک ریشه در جمعیت‌های ۱۸۳۷۱ (A) و ۲۵۷۸۶ (B) از گونه *Astragalus vegetus*

Figure 6. Cytogenetic study of 18371 population (A) and population 25786 (B) of *Astragalus vegetus*.

اختصاص داد. بین جمعیت‌های مورد مطالعه جنس گون از لحاظ تمام صفات کاربوتیبی مورد مطالعه به‌استثنای صفات A₁ و A₂ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد؛ که دلالت بر تنوع حاکم بین جمعیت‌ها از لحاظ آن صفات می‌باشد. با توجه به پارامترهای مختلف کاربوتیبی بلندترین کروموزوم و بلندترین طول ژنوم در گونه *A. vegetus* و کوتاه‌ترین آن در گونه *A. vanillae* به‌دست آمد. جمعیت ۲۹۵۸۶ متقارن‌ترین کاربوتیب را دارد و جمعیت ۳۴۲۱ نامتقارن‌ترین کاربوتیب را از نظر شکل کروموزومی دارد. همچنین جمعیت‌های ۱۸۲۱۸ و ۲۰۱۱۴ از نظر اختلاف در طول کروموزوم نامتقارن هستند. تنوع ۹۴/۰۶ درصدی حاکم بین جمعیت‌ها حاکی از این موضوع است که متغیرهای LA%، TF% و CI بیشترین تأثیر منفی و AR و SA% بیشترین تأثیر مثبت و

نتایج بررسی تنوع سینتونتیک در گونه *A. cyclophyllus* نشان داد که توده‌های این نوع گون مرتعی تتراپلوئید و دارای ۳۲ کروموزوم بوده و همین‌طور بر اساس نتایج تجزیه کاربوتیبی می‌توان نتیجه‌گیری نمود که سه توده گون مرتعی دارای تنوع کروموزومی قابل‌توجهی هستند (Moazam et al., 2011). محققان در این مطالعه به خصوصیات دیپلوئیدی، تتراپلوئیدی و میکسوپلوئیدی در گونه‌های جدید گون ایران از جمله *Astragalus gilvanensis* که به گونه *A. incani* تعلق دارد پرداختند و شاخص‌های مورفولوژیکی آن و تعداد کروموزوم‌ها و رفتار آن‌ها در میوز بررسی شد (Ranjbar et al., 2011a). با توجه به تصاویر کروموزومی اشاره شده می‌توان دو سطح دیپلوئید و تتراپلوئید را با اطمینان خاطر به جنس *Astragalus*

جمعیت‌های واقع در یک گروه دارای صفات کاربوتیپی مشترک هستند. برای افزایش تنوع ژنتیکی گونه‌ها پیشنهاد می‌شود که گونه‌هایی که در یک گروه قرار دارند و فاصله زیادی (با توجه به نمودار خوشه‌ای) نسبت به همدیگر دارند را در برنامه‌های به‌نژادی آمیزشی بیشتر مورد توجه قرار دهیم.

متغیرهای A_2 ، SA ، LA ، TL و DRL با تأثیر مثبت کمتر و A_2 با تأثیر منفی کمتر سبب ایجاد تنوع شده‌اند. نتایج تجزیه خوشه‌ای کل جمعیت‌ها را در پنج گروه قرار داد. وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بین جمعیت‌ها و گونه‌ها، بیان‌کننده فاصله صفات کاربوتیپی در بین آن‌ها است که همین تفاوت آن‌ها را در تجزیه خوشه‌ای در گروه‌های مختلفی قرار داده است.

References

- Dehdashtian, Z., Wahhabi, M., Fazilati, M. Qaedi, K. and Salamian, A.** (2011). Evaluation of genetic diversity of *Astragalus gossypinus* Fisher populations in Isfahan province. *Quarterly Genetics in the 3rd Millennium*, **9(3)**: 2474-2480.
- Ghateh, J.** (2015). Study of different populations of four species of Yarrow. M.Sc. Thesis, Payame Noor University East Tehran Center, Tehran, Iran (In Persian).
- Javadi, H., Haghghi, A. and Hassamzadeh Hejazi, S.M.** (2007). Study of karyotype in three *Astragalus* species. *Construction Research*, **19(3)**: 131-135 (In Persian).
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A.** (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, **52**: 201-220
- Moazam, F., Mirlouhi, A.F. and Basiri, M.** (2011). Chromosome morphology and karyotyping in rangeland species of *Astragalus cyclophyllus*. *Rangeland*, **5(2)**: 181-190 (In Persian).
- Nasirzadeh, A.** (1997). Cytogenetic study of the lichen species in Fars province. M.Sc. Thesis, Shiraz University, Shiraz, Iran (In Persian).
- Ramak Masoumi, A.A.** (1995). *The Iranian species, volumes 1, 2 and 3*. Forests and Rangelands Research Institute Publications, Tehran, IR (In Persian).
- Ranjbar, M. and Mahmoudian, B.** (2012). Cytotaxonomy study of *Astragalus anserinifolius* Boiss. of section Malacothrix Bunge from Iran. *Taxonomy and Biosystematics*, **4(13)**: 45-58.
- Ranjbar, M., Assadi, A. and Karamian, R.** (2011a). Notes on *Astragalus* sect. Macrophyllium with a Cytogenetic Report on its two Tetraploid Species. *Journal of Science (Kharazmi University)*, **11(2)**: 211-226 (In Persian).
- Ranjbar, M., Assadi, A. and Karamian, R.** (2011b). Systematic study of *Astragalus chrysostachys* Boiss. (Fabaceae) in Iran, with the description of a new species. *Annalen des Naturhistorischen Museums*, **112**: 221-237.
- Ranjbar, M., Hadidchi, A. and Riahi, H.** (2014). Chromosome number reports in *Astragalus* sect. Onobrychoidei (Fabaceae) from Iran. *Taxonomy and Biosystematics*, **21**: 71-82.
- Ranjbar, M., Karamian, R. and Nouri, S.** (2011c). Diploid-tetraploid mixoploidy in a new species of *Astragalus* (Fabaceae) from Iran. *Annales Botanici Fennic*, **48**: 343-351.
- Ranjbar, M., Karamian, R. and Nouri, S.** (2011d). Impact of cytotoxicity on meiosis in *Astragalus cyclophyllus* Beck (Fabaceae) from Iran. *Caryologia*, **64(3)**: 256-264.
- Romero Zarco, C.** (1986). A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon*, **35**: 526-530.
- Sheidaei, M., Zarre, S.H. and Ismeilzadeh, J.** (2009). New chromosome number report in tragacanthic *Astragalus* species. *Caryologia*, **62(1)**: 30-36.
- Yousefi, V., Najafy, A., Zebarjadi, A. and Safari, H.** (2014). Investigation of *Thymus* spp. karyotypic diversity in different regions of Iran. *Plant Genetic Researches*, **1(1)**: 65-76 (In Persian).
- Yousefzadeh, K., Houshmand, S. and Zamani Dadane, G.** (2010). Karyotype analysis of *Astragalus effusus* Bunge (Fabaceae). *Caryologia*, **3**: 257-261.

Caryologic Study of Some Species of (*Astragalus* spp.) in Different Habitats of Iran

Zahra Gholamzadeh¹, Hamideh Javadi², Maryam Pezhmanmehr³
and Mehrnaz Hatami^{4,*}

- 1- Former M.Sc. Student, Department of Horticulture, Science Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
- 2- Assistant Professor, Gene Bank Natural Resources Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
- 3- Assistant Professor, Department of Horticulture, Science Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
- 4- Associate Professor, Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

(Received: September 15, 2019 – Accepted: July 13, 2020)

Abstract

Astragalus with more than 800 species is one of the largest plant species in Iran and most of its species are medicinal and native. In this study, karyotypic characteristics of 21 populations from 13 species including *A. vegetus*, *A. iranicus*, *A. vanillae*, *A. chrysostachys*, *A. glycyphyllos*, *A. bombycinus*, *A. campylorrhynchus*, *A. macrourus*, *A. caragana*, *A. ebenoides*, *A. pseudocyclophyllus*, *A. stevenianus* and *A. jodostachys* were examined and compared. The results showed that there was a significant difference between the populations in terms of all measured traits (TL, LA, SA, AR, CI, TF%, DRL, LA% and SA%), except for traits A₁ and A₂. Population 25786 of *A. vegetus* species from Khorasan with average length of 4.51 μm had the highest total chromosome length and population 13764 of *A. vanillae* species from Qom with 2.67 μm had the lowest mean total chromosome length. According to the values of AR, CI, TF%, A₁, A₂, DRL, LA% and SA%, population 3421 of *A. vegetus* species is the most asymmetric and population 29586 of species *A. campylorrhynchus* had the most symmetrical karyotype.

Keywords: Different habitat, Karyotype, Chromosome, *Astragalus*

* Corresponding Author, E-mail: m-hatami@araku.ac.ir