

## بررسی سیتوژنتیکی گیاه دم‌گاوی (*Smirnovia iranica Sabeti*) در رویشگاه‌های مختلف (مطالعه موردی: ماسه‌زارهای کاشان)

منصوره قوام<sup>۱\*</sup>، حسین آذرنبوند<sup>۲</sup>، محمدرضا نقوی<sup>۳</sup>، علی طولی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۱۴

### چکیده

ماسه‌زارهای مناطق مرکزی ایران، رویشگاه یکی از گونه‌های درختچه‌ای ارزشمند بومی و سازگار از خانواده Fabaceae به نام دم‌گاوی (*Smirnovia iranica Sabeti*) است که از نظر تولید علوفه و حفاظت خاک و ایجاد چشم‌انداز زیبا و ارزش دارویی، بسیار حائز اهمیت است. برای بررسی سیتوژنتیکی، در ماسه‌زارهای کاشان، چهار رویشگاه مطالعاتی به فاصله ۳۰ کیلومتر از هم انتخاب شد. از هر رویشگاه، یک پایه گیاهی انتخاب گردید و بذور جمع‌آوری شدند. به منظور مشاهده کروموزوم‌های متافازی میتوز، مراحل کشت بذور و تهیه نمونه ریشه انجام و عکس‌های تهیه‌شده با وضوح بسیار، برای اندازه‌گیری پارامترهای کاریوتیپی با استفاده از نرم‌افزار Micromesure 3.3 انتخاب شدند. نتایج نشان داد این گیاه دیپلوئید ( $2n=2x=16$ ) است. بزرگ‌ترین کروموزوم، کروموزوم شماره ۱ رویشگاه کمپ ۱ (۶/۱۵ میکرون) و کوچک‌ترین آن‌ها کروموزوم شماره ۱۲ متعلق به رویشگاه کمپ ۲ (۲/۱۲ میکرون) بود.

واژه‌های کلیدی: بذر، سلول‌های متافازی، سیتوژنتیک، کاریوتیپ کروموزوم.

۱. استادیار گروه مرتع و آبخیزداری دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین دانشگاه کاشان، نویسنده مسئول / Email: mghavam@kashanu.ac.ir

۲. استاد دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران

۳. استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

۴. دانشیار دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران

## مقدمه

دم‌گاو (Smirnovia iranica Sabeti) که در ایران عمدتاً بر روی تپه‌های ماسه‌ای بادی بیابان‌های دشت کویر، مسیله، ماسه‌زارهای کاشان و خراسان گسترش دارد، درختچه‌ای است به ارتفاع ۱/۵-۱ متر با شاخه‌های متعدد سبزرنگ باریک موج‌دار که با کرک‌های انبوه پوشیده شده است (آذرنیوند، ۲۰۰۰؛ جنیدی جعفری، ۲۰۰۶؛ ثابتی، ۲۰۰۰). اختلاف فاحش این گونه بومی ایران با گونه Smirnovia turkestanica در برگ‌هایی با سه برگچه و ژنوم مرغی، ناف گرد دانه و شبه تخم مرغی بودن میوه آن است (ثابتی، ۱۹۷۷).

این گیاه از نظر تثبیت شن‌های روان و حفاظت خاک، از اهمیت خاصی برخوردار است. ریشه‌های عمودی آن تا عمق ۱۵-۲۰ متر نفوذ می‌کند و ریشه‌های افقی آن در امتداد شیب بارخان (تپه‌های شنی) بیشتر از ۳۰ متر توسعه می‌یابد و بدین ترتیب ذرات شن را تثبیت می‌کند. از نظر تولید علوفه، کیفیت خوبی دارد. میزان پروتئین این گیاه ۱۷-۲۴ درصد می‌باشد؛ لذا برای تغذیه دام‌های اهلی و غیراهلی مناسب است. گل‌ها و برگ‌های این گیاه حاوی آلکالوئیدهای Spheropsinum و Smirnovinium است. داروهای تولیدی از این آلکالوئید، به میزان زیادی در کاهش فشار خون غیرطبیعی اثر دارد و جهت تنظیم مراحل اولیه و ثانوی فشار خون غیرطبیعی استفاده می‌شود. همچنین به‌عنوان مسکن تصلب شرائین به‌کار می‌رود. دم‌گاو هنگامی که به گل می‌نشیند، منظره بسیار زیبایی را ایجاد می‌کند (آذرنیوند، ۲۰۰۰).

از مطالعات کاربوتیبی برای مقایسه بین افراد یک گروه و آشکار شدن سیر تکاملی تغییرات در کروموزوم‌های تشکیل‌دهنده ژنوم استفاده می‌شود. مطالعات کاربوتیبی در میان گونه‌های مختلف دارای اهمیت است. بررسی‌های کاربوتیبی نقش مهمی در تعیین قرابت گونه‌ها ایفا می‌کنند و می‌توانند به‌عنوان اولین قدم، در تجزیه فیلوژنی و تکاملی گروه‌های خویشاوند مطرح باشند. مطالعات سیتوژنتیکی در گیاهان، به‌عنوان ابزار ارزشمندی برای شناسایی مواد ژنتیکی در جهت ایجاد تلاقی‌های بارور و طبیعی به‌کار می‌رود. در حدود ۳۰ تا ۸۰ درصد گیاهان عالی پلی‌پلوئید بوده و این خصوصیت

مهم‌ترین عامل ایجادکننده گونه‌ها و تکامل گیاهان است (مولتانی<sup>۱</sup> و همکاران، ۱۹۸۸ و میایخوپادیای و شارما<sup>۲</sup>، ۱۹۸۸). گلدبلات<sup>۳</sup> (۱۹۸۴)، در بررسی کاربوتیبی و شمارش کروموزومی گیاه Smirnovia turkestanica ثابت کردند فرمول کاربوتیبی این گونه گیاهی به صورت  $2x=2n=16$  است. پورگرگی و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی‌های کاربوتیبی یونجه‌های یک‌ساله تنها گونه Medicago rigidula دارای  $2x=2n=16$  کروموزوم بود و گونه‌های M. M. minima 316 M. M. radiata 29 M. orbicularis 449 polymorpha 612 M. M. tiralis 1038 M. trancatulla 1146 radiata 588 polymorpha 1123 همگی دارای  $2x=2n=16$  کروموزوم بودند. گونه‌های M. minima 316 و M. littoralis 1038 به ترتیب دارای بیشترین و کمترین طول کل کروموزوم بودند.

ریاست و همکاران (۲۰۰۰) بررسی کاربوتیبی برخی گونه‌های جنس Trigonella از استان فارس را با جمع‌آوری یک گونه شبلیله چندساله با نام علمی T. elliptica و هفت گونه یک‌ساله با نام‌های علمی T. T. foenum-graecum T. T. anguina T. uncata ، T. monspeliaca spruneriana و stellata T. Astroites طرح‌ریزی کردند. مطالعات سیتوژنتیکی بر روی گونه‌های مورد مطالعه نشان داد که همه گونه‌ها دیپلوئید ( $2x=2n=16$ ) می‌باشند. مرادی و همکاران (۲۰۱۱) به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی شبلیله ایرانی، ۲۰ توده از نقاط مختلف کشور جمع‌آوری و از راه صفات سیتوژنتیکی مورد بررسی قرار دادند. بررسی صفات سیتوژنتیکی توده‌های بومی نشان داد که تمامی توده‌های مورد بررسی از لحاظ سطح پلوئیدی همگی دیپلوئید  $2x=2n=16$  بودند. همچنین طول هر ۸ کروموزوم، مجموع طول کلی کروموزوم و طول نسبی هر کروموزوم به طول کل اندازه‌گیری شد.

قوام و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی تنوع ژنتیکی دم‌گاو با استفاده از نشانگرهای RAPD نشان دادند علی‌رغم تشابه ژنتیکی زیاد به‌دست‌آمده از افراد درون یک سایت، اختلاف ژنتیکی بین نمونه‌های مورد مطالعه در سایت‌های مختلف وجود دارد که یا ناشی از تفاوت میکروکلیمای این سایت‌هاست یا

1. Multani  
2. Mykhopadhyay & Sharma  
3. Goldblatt

حضور مناسب و قابل برداشت گیاه از طریق بازدیدهای صحرایی از رویشگاه‌های مختلف در استان اصفهان در فروردین ۱۳۹۱، گونه فقط در تپه‌های ماسه‌ای نوار ریگ بلند واقع در شمال و شرق کاشان، به مقدار قابل برداشت مشاهده شد. همچنین به منظور مقایسه پارامترهای مورد مطالعه در این منطقه، پس از بازدیدهای مکرر محلی با توجه به حضور مناسب و قابل برداشت گیاه مورد نظر، چهار رویشگاه (کمپ ۱، قندی‌آباد، قاسم‌آباد، کمپ ۲) با فاصله ۳۰ کیلومتر از هم انتخاب شد. مشخصات جغرافیایی سایت‌های انتخابی در جدول (۱) درج شده است.

### عملیات آزمایشگاهی

برای نمونه‌برداری از گیاه مورد مطالعه در هنگام رسیدن کامل بذرها در تیر ۱۳۹۱ از هر سایت، یک پایه گیاهی انتخاب و بذور جمع‌آوری شدند (جدول ۱).

جدول ۱: مشخصات جغرافیایی رویشگاه‌های نمونه‌برداری از گیاه دم‌گاو

شماره سایت	نام مکان	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)
۱	کمپ ۱	۵۱° ۳۲/۱۹۱'E	۳۴° ۱۰/۵۴۲'N	۹۹۲
۲	قندی‌آباد	۵۱° ۵۰/۶۶۴'E	۳۳° ۵۲/۵۰۵'N	۱۲۶۵
۳	قاسم‌آباد	۵۱° ۴۹/۵۵۱'E	۳۴° ۰/۵۷۲'N	۱۴۵۱
۴	کمپ ۲	۵۱° ۳۶/۹۱۰'E	۳۴° ۰/۶۸۳'N	۱۱۸۶

قسمت اتانول ۱۰۰ درصد و یک قسمت اسید استیک گلاسیال می‌باشد، منتقل گردیده و به مدت ۱۶ ساعت در این محلول در دمای اتاق نگهداری شدند. ریشه‌چه‌ها پس از اینکه از محلول تثبیت‌کننده خارج شدند، به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر شست‌وشو داده شدند. برای هضم و تخریب دیواره سلولی و در نهایت پخش مطلوب کروموزوم‌ها از محلول ۱ نرمال اسید کلریدریک به مدت ۱۵ تا ۱۷ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. گیاهچه‌های هیدرولیز شده پس از شست‌وشو با آب مقطر، هرکدام روی یک لام تمیز قرار گرفته و برای رنگ‌آمیزی، چند قطره از رنگ استوارسین ۱ درصد روی لام‌ها اضافه شد. بعد از بررسی زمان‌های مختلف رنگ‌آمیزی با این محلول، مناسب‌ترین مدت ۳ ساعت تشخیص داده شد. بعد

نشان‌دهنده زیرگونه‌های مختلف از این گونه است که علی‌رغم شباهت‌های ظاهری بسیار نزدیک به هم، تفاوت ژنتیک آن‌ها منجر به اختلافات ظاهری ناشناخته در آن‌ها شده است.

با وجود بررسی ژنتیکی بر روی این گیاه، تاکنون مطالعه‌ای در زمینه مطالعات کروموزومی دم‌گاو صورت نگرفته است.

بنابر اهمیت و کاربردهای متنوع این گیاه و اینکه فنون سیتولوژیکی منجر به شناسایی افراد مناسب در یک جامعه گیاهی متنوع می‌شود، تحقیق حاضر در راستای بررسی ویژگی‌های کاربولوجیکی این گیاه با ارزش در ماسه‌زارهای کاشان، تدارک و انجام پذیرفته است.

### مواد و روش‌ها

ابتدا با بررسی‌های کتابخانه‌ای، رویشگاه‌های گونه مورد نظر شناسایی شد. سپس با در نظر گرفتن عوامل مختلف از قبیل قابل دسترس بودن رویشگاه، طبیعی بودن شرایط رویشگاه، وجود رویشگاه‌های مختلف با فواصل مناسب از هم و همچنین

به منظور مشاهده کروموزوم‌های متافازی میتوز مراحل زیر

اجرا شد:

بذور جمع‌آوری شده با اتانول ۷۰ درصد و هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد، ضد عفونی شده و سه بار با آب مقطر شسته شدند. سپس از نمونه مربوط به هر رویشگاه، ۱۴ عدد بذر درون یک پتری‌دیش روی کاغذ صافی مرطوب و در تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شدند. بعد از ۵۳ روز و هنگامی که طول ریشه‌ها به ۱-۰/۵ سانتی‌متر رسید، ساعت ۱۰ صبح (زمانی که براساس انجام آزمایشات مقدماتی در ساعات مختلف روز، بیشترین تقسیم میتوز در آن‌ها مشاهده شد) گیاهچه‌ها از پتری‌دیش خارج و توسط ۸ هیدروکسی کینولین ۰/۰۰۲ مولار به مدت ۳ ساعت و در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد پیش تیمار شدند. سپس به محلول تثبیت‌کننده کارنوی I که شامل سه

### نامگذاری کروموزوم‌ها

براساس روش لوان<sup>۲</sup> و همکاران (۱۹۶۴) که بر مبنای موقعیت سانترومراس، کروموزوم‌های یک کاریوتیپ نامگذاری شدند. برای تجزیه و تحلیل‌های آماری، تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل انجام شد. در این تجزیه، رویشگاه‌ها به‌عنوان تیمار و نمونه‌ها به‌عنوان تکرار در نظر گرفته شدند. تجزیه واریانس خصوصیات کاریوتیپی بر مبنای مجموعه هاپلوئید کروموزوم‌ها صورت گرفت. پس از تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌های رویشگاه‌ها از لحاظ صفاتی که دارای F معنی‌دار بودند، با روش دانکن انجام شد.

در نهایت، برای گروه‌بندی و مقایسه تفاوت‌های کاریوتیپی رویشگاه‌های مختلف، از تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. این تجزیه براساس میانگین خصوصیات کروموزومی برای هر رویشگاه با استفاده از روش سلسله‌مراتبی و طبقه‌بندی UPGMA صورت گرفت و دندروگرام موردنیاز برای دسته‌بندی رویشگاه‌ها و کروموزوم‌ها رسم شد. همه تجزیه‌های سیتوژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver 16 انجام گرفت.

### نتایج

نتایج بررسی تقارن و فرمول کاریوتیپی در جدول (۳) درج شده است. براساس این جدول، گیاه دم‌گاو دیپلوئید ( $2n=2x=16$ ) است که با فرمول کاریوتیپی آن در سایت کمپ ۱ و کمپ ۲ به‌صورت  $8m+6sm+2st$ ، در سایت قندی‌آباد برابر با  $6m+8sm+2st$  و در سایت قاسم‌آباد به‌شکل  $4m+10sm+2st$  است. در تعیین نامتقارن بودن کاریوتیپ، از روش رومرو-زارکو (۱۹۸۶) مقدار  $A_1$  در سایت کمپ ۱ از بقیه سایت‌ها کمتر و در نتیجه، دارای تقارن بیشتر بود که بالاتر بودن ضریب تغییرات  $A_2$  در این سایت، نسبت به بقیه نیز تقارن بیشتر را ثابت می‌کند. نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات کروموزوم‌ها شامل طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، نسبت بازوی بلند به کوتاه و شاخص سانترومری در رویشگاه‌های مختلف در جدول (۴) آمده است. براساس داده‌های این جدول، بین رویشگاه‌های مختلف، از نظر سه

از انجام پخش کردن نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری المپوس BX51 با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ موردبررسی قرار گرفتند.

حداقل پنج سلول متافازی مناسب به‌عنوان تکرار جهت اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک کروموزوم‌ها با استفاده از نرم‌افزار 3.3 micromasure انتخاب شدند. طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، طول کل کروموزوم، نسبت بازوها و شاخص سانترومری براساس ترتیب صحیح کروموزوم‌ها توسط نرم‌افزار به‌دست آمد. سپس داده‌های به‌دست‌آمده وارد نرم‌افزار Excel2003 شد و پارامترهای کاریوتیپی دیگر دسته‌بندی کاریوتیپ‌ها و نامگذاری کروموزوم‌ها به شرح ذیل محاسبه شد.

### دسته‌بندی کاریوتیپ‌ها

$$A_1 = 1 - \frac{\sum_{x=1}^n \frac{Sx}{Lx}}{n} \quad (1)$$

برای تعیین نامتقارن بودن کاریوتیپ از روش رومرو-زارکو<sup>۱</sup> (۱۹۸۶) استفاده شد:

$$x = \text{طول بازوی کوتاه کروموزوم موردنظر}$$

$$Lx = \text{طول بازوی بلند کروموزوم موردنظر}$$

$$x = \text{شماره کروموزوم موردنظر}$$

$$n = \text{تعداد جفت کروموزوم‌های همولوگ}$$

در این رابطه،  $A_1$  شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی است که از صفر تا یک متغیر است. اگر  $A_1=1$  باشد، حداکثر نامتقارنی و اگر  $A_1=0$  باشد، حداکثر تقارن کاریوتیپی وجود دارد.

هنگامی که نامتقارن بودن کاریوتیپ به‌علت اختلاف میان اندازه کروموزوم‌های ژنوم باشد، از ضریب تغییرات (عدم تقارن بین کروموزومی) که به‌صورت زیر محاسبه می‌شود، به‌جای  $A_1$  استفاده می‌گردد:

$$A_2 = \frac{Sd}{\bar{X}}$$

$$Sd = \text{انحراف معیار طول کل کروموزوم‌ها}$$

$$\bar{X} = \text{میانگین طول کل کروموزوم‌ها}$$

ویژگی طول کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه بین نسبت بازوها و شاخص سانترومیری در رویشگاه‌های در سطح ۱، درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد؛ درحالی‌که مختلف، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول (۳): نتایج سنجش تقارن و فرمول کاریوتیپی

رویشگاه	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	2n	فرمول کاریوتیپ
کمپ ۱	۰/۳۶	۰/۱۹	۱۶	8m+6sm+2st
قندی‌آباد	۰/۴۱	۰/۱۷	۱۶	6m+8sm+2st
قاسم‌آباد	۰/۴۸	۰/۱۳	۱۶	4m+10sm+2st
کمپ ۲	۰/۴۴	۰/۱۶	۱۶	8m+6sm+2st

جدول (۴): تجزیه واریانس پنج صفت از کروموزوم‌ها در رویشگاه‌ها

خصوصیات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
طول کروموزوم	۳	۴/۵۳۳	۱۴/۴۹۰**
طول بازوی بلند	۳	۱/۴۱۶	۵/۹۳۳**
طول بازوی کوتاه	۳	۰/۹۶۴	۱۱/۸۵۸**
نسبت بازوها	۳	۰/۹۵۶	۱/۶۵۶ n.s
شاخص سانترومیری	۳	۰/۰۱۲	۲/۱۳۹ n.s

\*\* وجود اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد n.s عدم وجود اختلاف معنی‌دار

یافته‌های حاصل از مقایسه میانگین صفات کروموزوم‌های گیاه مورد بررسی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در رویشگاه‌های مطالعاتی (جدول ۵) نشان می‌دهد چهار ویژگی طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و شاخص سانترومیری در رویشگاه کمپ ۱ بیشتر از سه رویشگاه دیگر است و بین این سه رویشگاه از نظر این صفات اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همچنین از نظر صفت نسبت بازوها، رویشگاه کمپ ۲ دارای اختلاف معنی‌دار با سه رویشگاه دیگر و در سطح بالاتر از آن‌ها قرار دارد که عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین این رویشگاه‌ها به‌وضوح قابل مشاهده است. نتایج به‌دست‌آمده از ضرایب همبستگی بین میانگین صفات کروموزومی گیاه مورد مطالعه در کل سایت‌ها (جدول ۷)، گویای این مطلب است که بیشترین همبستگی بین شاخص سانترومیری و نسبت بازوها و کمترین همبستگی بین طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند وجود دارد.

یافته‌های حاصل از مقایسه میانگین صفات کروموزوم‌های گیاه مورد بررسی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در رویشگاه‌های مطالعاتی (جدول ۵) نشان می‌دهد چهار ویژگی طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و شاخص سانترومیری در رویشگاه کمپ ۱ بیشتر از سه رویشگاه دیگر است و بین این سه رویشگاه از نظر این صفات اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همچنین از نظر صفت نسبت بازوها، رویشگاه کمپ ۲ دارای اختلاف معنی‌دار با سه رویشگاه دیگر و

جدول (۵): مقایسه میانگین رویشگاه‌ها از نظر صفات کروموزوم‌ها با روش دانکن

رویشگاه	طول کروموزوم (میکرون)	طول بازوی بلند (میکرون)	طول بازوی کوتاه (میکرون)	نسبت بازوها (میکرون)	شاخص سانترومیری (میکرون)
کمپ ۱	۴/۰۸۳ a	۲/۵۱۰۴ a	۱/۴۹۴۷ a	۱/۷۳۶۹ b	۰/۳۸۲۳ a
قندی‌آباد	۲/۸۹۱۳ b	۱/۸۳۹۸ b	۱/۰۵۱۴ b	۱/۹۴۳۲ ab	۰/۳۶۲۹ ab
قاسم‌آباد	۲/۹۳۲۰ b	۱/۹۳۴۱ b	۰/۹۹۷۹ b	۲/۰۲۸۸ ab	۰/۳۳۹۴ ab
کمپ ۲	۳/۰۲۵۹ b	۲/۰۴۳۳ b	۰/۹۸۲۳ b	۲/۳۲۶۰ a	۰/۳۱۹۲ b

(در هر ستون، میانگین‌های حداقل دارای یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌دار ندارند.)

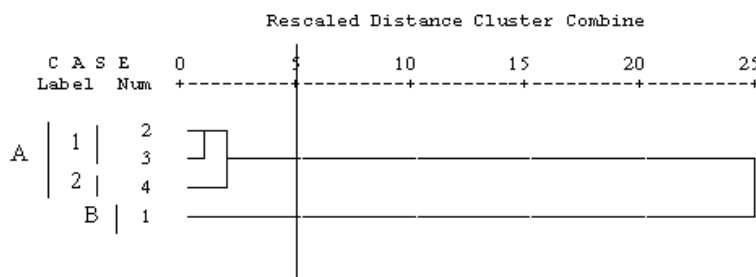
کمپ ۲ به تنهایی در زیر گروه A2 قرار گرفت. از نظر جغرافیایی هم، دو رویشگاه قندی آباد و قاسم آباد به هم نزدیک تر و در فاصله نسبتاً مساوی از رویشگاه کمپ ۲ واقع شده اند. در گروه B، رویشگاه کمپ ۱ قرار گرفت که از نظر جغرافیایی، در نقطه ای جداگانه از سایر رویشگاه ها قرار داشت.

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای براساس میانگین خصوصیات کروموزومی کل کروموزوم های دم گاوی برای هر رویشگاه (شکل ۱)، رویشگاه های مطالعاتی را در فاصله ۵ به دو گروه اصلی تقسیم کرد. گروه A شامل دو زیرگروه بود که دو رویشگاه قاسم آباد و قندی آباد در زیر گروه A1 و رویشگاه

جدول (۷): ضرایب همبستگی پیرسون بین میانگین صفات کروموزومی در کل رویشگاه ها

صفت	طول کروموزوم	طول بازوی بلند	طول بازوی کوتاه	نسبت بازوها	شاخص سانترومیری
طول کروموزوم	۱				
طول بازوی بلند	۰/۸۷۵**	۱			
طول بازوی کوتاه	۰/۲۸۱	-۰/۲۱۸	۱		
نسبت بازوها	۰/۴۰۷	۰/۷۸۶**	-۰/۷۳۸**	۱	
شاخص سانترومیری	-۰/۳۳۵	-۰/۷۴۱**	۰/۷۹۴**	-۰/۹۸۵**	۱

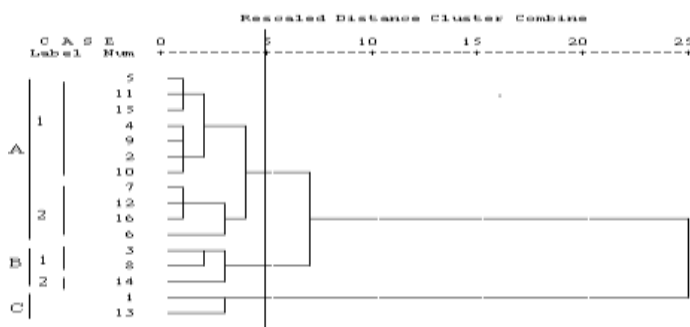
\*\* وجود اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد



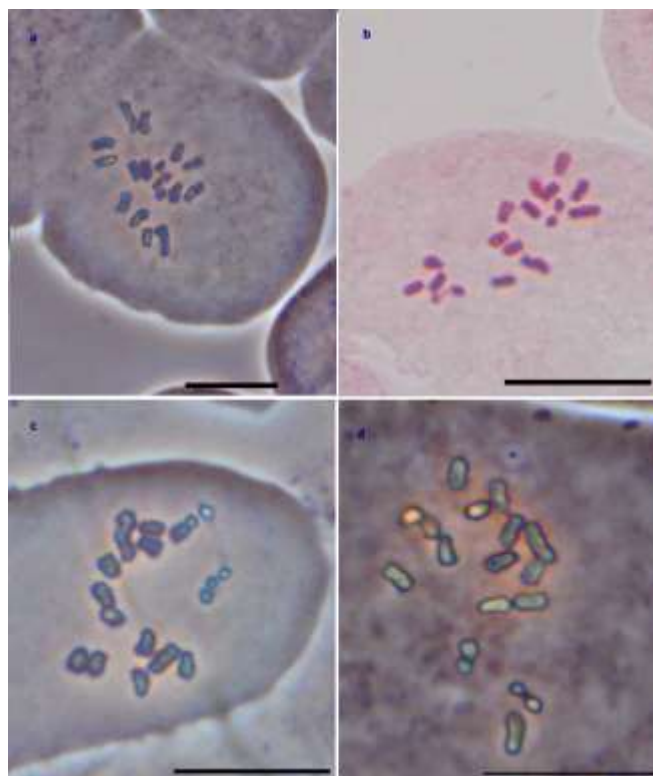
شکل (۱): دندروگرام تجزیه خوشه ای چهار رویشگاه مطالعاتی به روش UPGMA براساس میانگین خصوصیات کروموزومی در کل کروموزوم ها

۱۰ در کنار هم و در فاصله ۲ از کروموزوم های ۵، ۱۱ و ۱۵ مجزا می شوند. کروموزوم های ۶، ۷، ۱۲ و ۱۶ زیرگروه A2 را تشکیل می دهند که کروموزوم ۶ در فاصله ۳، از سه کروموزوم دیگر جدا می شود. در گروه B در فاصله ۳، دو کروموزوم ۳ و ۸ در گروه مجزا از کروموزوم ۱۴ جای گرفتند. گروه C هم شامل کروموزوم های ۱ و ۱۳ است.

شکل (۲) دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای براساس میانگین خصوصیات کروموزومی کل سایت های دم گاوی برای هر کروموزوم است که براساس آن، ۱۶ کروموزوم گیاه در فاصله ۵ به سه گروه اصلی تفکیک می شوند. در گروه A، ۱۱ کروموزوم جای گرفته اند که در فاصله ۴ خود به دو زیرگروه A1 و A2 تقسیم می شود. در زیرگروه A1 کروموزوم های ۲، ۴، ۹ و



شکل (۲): دندروگرام تجزیه خوشه ای کروموزوم ها به روش UPGMA براساس میانگین صفات کروموزومی در کل رویشگاه ها



شکل (۳): تصویر کروموزوم‌های سلول‌های متافازی گونه دم‌گاو a رویشگاه کمپ ۱، b رویشگاه قندی‌آباد، c رویشگاه قاسم‌آباد، d رویشگاه کمپ ۲

### نتیجه‌گیری

بررسی آزمایشگاهی و تصاویر به‌دست‌آمده (شکل ۸) نشان داد گیاه دم‌گاو دیپلوئید ( $2n=2x=16$ ) است که با نتیجه به‌دست‌آمده توسط گلدبلات (۱۹۸۴) بر روی گونه دیگر این جنس، یعنی *Smirnovia turkestanica* مطابقت دارد. همچنین نتایج مشابهی در بررسی بر روی سایر گیاهان هم‌زیرخانواده با گیاه دم‌گاو توسط (ریاست و همکاران، ۲۰۰۰)، بر روی جنس *Trigonella* (پورگرگی و همکاران، ۲۰۰۶)، بر روی یونجه‌های یک‌ساله (مرادی و همکاران، ۲۰۱۱)، بر روی شنبلیله ایرانی (حاتمی و نصیرزاده، ۲۰۰۸)، بر روی زیر گونه‌های اسپرس *Onobrychis aucheri* subsp. *teheranica* و *Onobrychis aucheri* subsp. *psammophila* به‌دست آمد.

در گیاه مورد بررسی، بزرگ‌ترین کروموزوم با طول کلی ۶/۱۵ میکرون مربوط به کروموزوم شماره ۱ رویشگاه کمپ ۱ و کوچک‌ترین آن‌ها کروموزوم شماره ۱۲ متعلق به رویشگاه کمپ ۲ با اندازه ۲/۱۲ میکرون بود.

دسته‌بندی رومرو-زارکو (۱۹۸۶) در ارتباط با تقارن کاریوتیپ نشان داد مقدار  $A_1$  در سایت کمپ ۱، از بقیه سایت‌ها

کمتر و برابر با ۰/۳۶ بود که متقارن‌تر از نمونه‌های متعلق به رویشگاه‌های دیگر بود. این نتیجه با بالاتر بودن ضریب تغییرات  $A_2$  در این سایت (۰/۱۹) نسبت به بقیه و در نتیجه تقارن بیشتر مطابقت دارد. بنابراین از نظر تقارن کاریوتیپ، رویشگاه‌ها را به ترتیب زیر می‌توان رتبه‌بندی کرد:

کمپ ۱ < قندی‌آباد < کمپ ۲ < قاسم‌آباد

نامتقارن‌ترین کاریوتیپ متعلق به نمونه‌های رویشگاه قاسم‌آباد است که علت آن را می‌توان به بیشتر بودن تعداد کروموزوم‌های ساب‌متاساتریک (10sm) نسبت داد.

با توجه به جدول (۴)، بین رویشگاه‌های مختلف از نظر سه ویژگی طول کروموزوم، طول بازوی بلند و طول بازوی کوتاه در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد؛ درحالی‌که بین نسبت بازوها و شاخص سانترومری در رویشگاه‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این نتیجه حاکی از آن است که از نظر اندازه، کروموزوم‌های گیاه دم‌گاو در رویشگاه‌های مختلف دارای تنوع هستند. مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود که چهار ویژگی طول کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و شاخص سانترومری در رویشگاه کمپ ۱ بیشتر از سه رویشگاه دیگر است و بین سایر سایت‌ها از نظر این صفات،



دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۶ کروموزوم گیاه مورد مطالعه، براساس میانگین خصوصیات کروموزومی کل سایت‌ها (شکل ۲) در فاصله ۵، کروموزوم‌ها را به سه گروه اصلی تفکیک کرد. در گروه A، ۱۱ کروموزوم جای گرفته‌اند که در زیرگروه A1 کروموزوم‌های ۲، ۴، ۹، ۱۱، ۱۰، ۵ و ۱۵ مجزا می‌شوند.

کروموزوم‌های ۶، ۷، ۱۲ و ۱۶ زیر گروه A2 را تشکیل می‌دهند. در گروه B در فاصله ۳، سه کروموزوم ۳ و ۸ و ۱۴ جای گرفتند. گروه C هم شامل کروموزوم‌های ۱ و ۱۳ است. نتیجه اینکه بین کروموزوم‌های گیاه مورد بررسی از نظر صفات کروموزومی، اختلاف وجود دارد که وجود تنوع بین کروموزوم‌های تشکیل دهنده سلول هر موجود زنده، منطقی بودن این یافته را به اثبات می‌رساند که با نتایج (قوام و همکاران، ۲۰۱۶) بر روی همین گیاه که اختلاف ژنتیکی بین سایت‌ها را ثابت کرده بودند، مطابقت دارد و این امر مطالعات گیاه‌شناسی بیشتری بر روی این گیاه می‌طلبد که شاید منجر به شناسایی زیر گونه‌هایی از این گیاه شود.

اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همچنین از نظر صفت نسبت بازوها، رویشگاه کمپ ۲ دارای اختلاف معنی‌دار با سه رویشگاه دیگر و در سطح بالاتر از آن‌ها قرار دارد که عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین دیگر رویشگاه‌ها به وضوح قابل مشاهده است. همچنین براساس دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای میانگین خصوصیات کروموزومی کل کروموزوم‌های *Smirnovia iranica* Sabeti برای هر رویشگاه (شکل ۱) که رویشگاه‌های مطالعاتی در فاصله ۵ به دو گروه اصلی تقسیم شدند، رویشگاه کمپ ۱ از بقیه رویشگاه‌ها مجزا شد که از نظر جغرافیایی هم در نقطه‌ای جداگانه از سایر رویشگاه‌ها قرار داشت و دو رویشگاه قندی‌آباد و قاسم‌آباد در نزدیک‌ترین فاصله این دندروگرام قرار داشتند. این امر بیانگر قرابت و خویشاوندی نمونه‌های موجود در این دو رویشگاه از نظر صفات کاریوتیپی است.

بیشترین همبستگی بین شاخص سانترومیری و نسبت بازوها و کمترین همبستگی بین طول بازوی کوتاه و طول بازوی بلند وجود دارد که نشانگر آن است که تغییرات طول بازوی کوتاه ارتباط چندانی با طول بازوی ندارد.

## منابع

1. Azarnivand, H., 2000. Ecological features reviews *Smirnovia iranica*. Range Management, Danshkh Tyy Resources, Tehran University . (in Farsi).
2. Ghavam, M., Naghavi, M.R., Azarnivand, H. and Tavili, A., 2016. Genetic diversity of *Smirnovia iranica* Sabeti species from Iran using RAPD markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 24(1): 114-122. . (in Farsi).
3. Goldblatt, P., 1984. Index to Plant Chromosome Numbers, 1979-1981.
4. Hatami, A. & Nasirzadeh, A. R., 2008. Repositioning of the classifier and subspecies of sainfoin (*Onobrychis aucheri*) based on morphological and chromosomal province. Quarterly research and development, the twentieth year, 1 (75), pp. 186. (in Farsi).
5. Joneidi Jafari, H., 2006. Ecological and functional characterization of bovine tail *Smirnovia iranica* Kashan sand dunes., Master Thesis, Department of Natural Resources, Tehran University. (in Farsi).
6. Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosome. Hereditas 52: 2
7. Moradi, P., Kashi, A.K., Hasandokht, M.R., Khaliq, A. & Khosroshahi, M., 2011. Genetic diversity of Iranian fenugreek landraces based on cytogenetic characteristics. Journal of Plants and Ecosystems, 6(21), pp. 33. (in Farsi).
8. Multani, D. S., Dhaliwal, H. S., Sing, P. & Gill, K., 1988. Synthetic amphyploid of wheat as a source of resistance to karmal bunt. Plant Breeding Journal. 101: 122-125.
9. Mykhopadhyay, S., & Sharma A. K., 1987. Karyomorphological analysis of different species and varieties of Calathea. Cytological, 54, 179-182.
10. Poorgorgi, A.M., Sheidaii, M., Ahmadian Tehrani, P. & Mirzaei Nodoushan, H., 2006. Genetic variation of annual medics according to karyotype studies. Journals Seed and Plant, 20 (4), page 601. (in Farsi).
11. Riasat, M., Hesamzade, S.M., Sadeghian, S. & Khatami, A., 2000. Cytogenetic study of the genus *Trifolium* species using image analysis



- system in Fars Province, Iranian Journal of Natural Resources, 61(1): 225 (in Farsi).
12. Romero-Zarco, C., 1986. A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon* 35: 526-530.
13. Sabeti, H., 1977. *Actaecologica*, 25 (1). National University of Iran. (in Farsi).
- Sabeti, H., 2000. *Forests, trees and shrubs of Iran*. Yazd University Press. 400 pages.

## Cytogenetic analysis of *Smirnovia iranica* Sabeti in different habitats: A case study of sand dunes in Kashan, Iran

Mansureh Ghavam<sup>1\*</sup>, Hossein Azarnivand<sup>2</sup>, Mohammad Reza Naghavi<sup>3</sup>, Ali Talivi

Received: 15/3/2017

Accepted: 5/7/2017

### Abstract

Sand dunes in central Iranian habitats contain endemic shrub species and adapted shrubs of the family Fabaceae, known as *Smirnovia iranica* Sabeti. Not only are these very important for forage production and soil conservation, they also help create beautiful landscapes. They also possess medicinal value. This cytogenetic study was carried out on four sites in the sand dunes of Kashan within a distance of 30 km. From each habitat, a plant was selected, and the seeds harvested. Seeds and root samples were prepared for examination with high-resolution photos to view the mitotic metaphase chromosomes and measure the karyotype parameters, using Micromasure 3.3 software. The results showed that this plant is diploid ( $16 = 2n = 2x$ ). The largest chromosome was Chromosome 1 of Camp 1 site ( $15.6 \mu$ ) and the smallest was Chromosome 12 of Camp 2 site ( $12.2 \mu$ ).

**Keywords:** Seed, Cytogenetics, Chromosome, Metaphase cells, Karyotype.

1. Assistant professor, Department of Range and Watershed Management, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, University of Kashan; Email: mghavam@kashanu.ac.ir

2. professor, Department of Rehabilitation of Arid and Mountainous, Faculty of Natural Resources, University of Tehran

3. professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Tehran

4. Associate Professor, Department of Rehabilitation of Arid and Mountainous, Faculty of Natural Resources, University of Tehran