تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال سوم، شماره نهم، زمستان ۱۳۹۰، صفحه ۵۳-۶۴
دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۳/۲۱ پذیرش نهایی: ۱۳۹۰/۱۰/۱۳

مطالعه عدد کروموزومی و رفتار میوز در شش جمعیت *Onobrychis melanotricha* Boiss. از بخش *Heliobrychis* از جنس اسپرس در ایران

مسعود رنجبر، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
فاطمه خادمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
رؤیا کرمیان *، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

چکیده

جنس اسپرس (*Onobrychis* Mill.) با حدود ۱۳۰ گونه در ۹ بخش از بقولات علوفه‌ای ارزشمندی است که اساساً در نواحی معتدل شمالی پراکنش دارد، اگر چه مرکز اصلی تنوع آن شرق مدیترانه و جنوب غربی آسیاست. بخش *Heliobrychis* بزرگترین بخش این جنس است که دارای حدود ۲۱ گونه در ایران است. در این پژوهش عدد کروموزومی و رفتار میوزی در ۶ جمعیت از گونه *Onobrychis melanotricha* Boiss. بررسی شده است. همه جمعیت‌های مورد مطالعه دیپلوئید بوده، عدد پایه کروموزومی آنها برابر ۸ است ($2n=2x=16$). گرچه در جمعیت‌های مورد مطالعه کروموزوم‌ها رفتار منظمی طی میوز نشان دادند، لیکن برخی ناهنجاری‌ها مانند کروموزوم‌های سرگردان و جدا افتاده در آنافاز/تلوفاز I و II و دیاکینز/متافاز I، سیتومیکسی در دیاکینز و آنافاز/تلوفاز I و II، میکرونوکلئوس در تلوفاز II، چندقطبی در تلوفاز II، پل در آنافاز I و ناهمزمانی هسته در متافاز II و تلوفاز I و II مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: اسپرس، بخش *Heliobrychis*، عدد کروموزومی، میوز

مقدمه

تیره حبوبات (Fabaceae) با حدود ۶۰۰ جنس و بیش از ۱۲۰۰۰ گونه، سومین تیره بزرگ در بین گیاهان گل‌دار است. جنس اسپرس با حدود ۱۳۰ گونه از بقولات علوفه‌ای بسیار ارزشمندی است که قرن‌هاست در سطوح وسیعی از ممالک مختلف، به ویژه مناطق معتدل آسیا و از جمله ایران کشت می‌شود، اگرچه در رویشگاه‌های مناطق سرد کوهستانی نیز به طور خودرو دیده می‌شود. جنس اسپرس شامل گیاهانی یک‌ساله یا دایمی، اغلب ایستاده و به‌ندرت به صورت بوته‌های تیغ‌دار بوده که اغلب دارای کُرک‌های ساده و گاهی نیز بدون کرک هستند (Lock and Simpson, 1991; Mabberley, 1997). اخیراً چندین گونه جدید از این جنس برای فلور ایران گزارش شده است (Ranjbar *et*

* r_karamian@basu.ac.ir

al., 2004, 2007; Ranjbar, 2009; Ranjbar *et al*., 2009a, 2009b, 2010). بخش *Heliobrychis* بزرگترین بخش این جنس است که واجد ۲۱ گونه در ایران است. گونه *Onobrychis melanotricha* از بخش *Heliobrychis* به علت محتوای پروتئینی بالا، بسیار خوش‌خوراک بوده، مورد چرای انواع دام قرار می‌گیرد. این گیاه به علت طولانی بودن دوره رشد و گل‌دهی، اغلب علوفه زیادی تولید می‌کند. همچنین، از این گونه برای تقویت خاک و به‌عنوان کود سبز نیز استفاده می‌شود. چنین ویژگی‌هایی، این گونه را به عنوان گیاهی ارزشمند برای اصلاح و توسعه مراتع و نیز تبدیل دیم‌زارهای کم بازده به مراتع دست‌کاشت، به ویژه در کشت مخلوط، در اقلیم‌های نیمه‌خشک و مدیترانه‌ای معتدل و سرد معرفی می‌کند (مقیمی، ۱۳۸۴).

از آنجا که هر اندام گیاه در تمام مراحل رشد و نموی خود می‌تواند ویژگی‌های تاکسونومیک خاصی داشته باشد، بنابراین، دستیابی به اطلاعات از منابع مختلف (ریخت‌شناسی، تشریح مقایسه‌ای، جنین‌شناسی، گرده‌شناسی، سیتوژنتیک، فیتوشیمی) در تاکسونومی ارزشمند است و اساساً باعث ارتقای سیستم‌های رده‌بندی جدید می‌گردد (جونز و لوچ سینگر، ۱۳۸۴). اطلاعات دقیق از تعداد کروموزوم‌ها، ساختمان آنها و مکانیسم تقسیم سلولی در گونه‌های گیاهی مختلف به تعیین قرابت میان آنها کمک خواهد کرد.

نخستین مطالعه کروموزومی بر روی جنس اسپرس بر روی گونه *O. cristagalli* (L.) Lam. انجام و عدد کروموزومی ۲*n*=۲*x*=۱۴ برای آن گزارش شده است (Goldblatt and Johnson, 1991). اغلب مطالعات انجام شده در این جنس محدود به گزارش عدد کروموزومی است (Baltisberger, 1991; Karshibaev, 1992). مطالعات انجام شده، اعداد پایه کروموزومی (*x*=۸ و *x*=۷) و سطوح پلوئیدی (۲*n*=۲*x*=۱۴، ۲*n*=۴*x*=۲۸، ۲*n*=۸*x*=۵۶، ۲*n*=۲*x*=۱۶ و ۲*n*=۴*x*=۳۲) را برای گونه‌های موجود در این جنس نشان می‌دهد (Fedorov, 1969; Romano *et al*., 1987; Goldblatt and Johnson, 1991; Ranjbar *et al*., 2009a, 2010؛ حسام‌زاده حجازی و ضیایی نسب، ۱۳۸۸؛ رنجبر و همکاران، ۱۳۸۸). تنها یک گزارش از عدد کروموزومی و رفتار میوزی از بخش *Heliobrychis* وجود دارد که به گونه *O. avajensis* Ranjbar مربوط می‌شود (Ranjbar *et al*., 2010). نتایج این مطالعه نشان داد که این گونه دیپلوئید بوده، عدد پایه کروموزومی آن برابر ۸ است (۲*n*=۲*x*=۱۶). مطالعات تکاملی محدودی بر مبنای تعداد کروموزوم در جنس *Onobrychis* وجود دارد. Goldblatt (۱۹۸۱) عدد پایه کروموزومی *x*=۸ را در این جنس اجدادی می‌داند و معتقد است که گونه‌های دارای عدد پایه کروموزومی *x*=۷، بر اثر کاهش آنیوپلوئیدی به وجود آمده‌اند، در حالی که Falistocco (۱۹۹۱) و Gomurgen (۱۹۹۶) معتقدند که تکامل در این جنس، با افزایش عدد پایه کروموزومی از *x*=۷ به *x*=۸ صورت گرفته است. بر اساس داده‌های به‌دست آمده از مطالعات فیلوژنتیک، مرکز تنوع ژنتیکی *Onobrychis* مناطق مدیترانه‌ای و ایرانی-تورانی بوده، تفکیک اکولوژیک این ناحیه به بخش‌های غربی و شرقی، مهمترین عامل در تکامل این جنس است (Ashurmetov and Normatov, 1998; Ranjbar *et al*., 2010). مطالعه حاضر، به منظور افزایش اطلاعات در مورد عدد پایه کروموزومی بخش *Heliobrychis* از جنس *Onobrychis* انجام شده است.

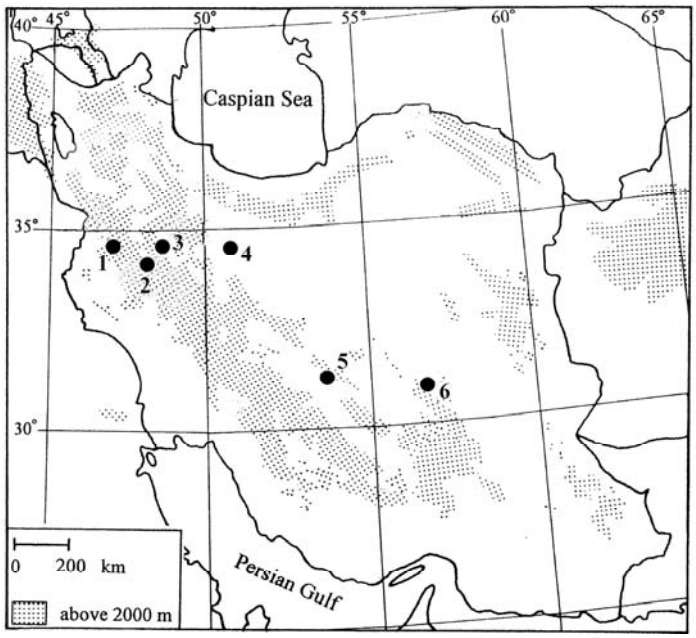
افزایش تعداد گزارش‌ها برای دیگر گونه‌های این جنس و در نهایت آنالیز فیلوژنتیک بعدی می‌تواند به تعیین روابط بین گونه‌ای در این جنس کمک کند.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه عدد کروموزومی و رفتار میوزی، جمع‌آوری غنچه گیاهان مربوط به جمعیت‌های مختلف *O. melanotricha* از اواسط اردیبهشت تا اواسط تیرماه در مناطق مختلف انجام شد (جدول ۱ و شکل ۱). برای مشاهده مراحل مختلف میوز از غنچه‌های مختلف در اندازه‌های متفاوت و در ساعات مختلف نمونه‌برداری شد. در این مطالعه از سلول‌های مادر دانه گرده در بساک پرچم‌ها استفاده شد. غنچه‌های جوان به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در محلول تثبیت‌کننده پینار و پس از شستشو به روش استاندارد استوکارمن رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت، سلول‌های در حال تقسیم توسط میکروسکوپ Olympus BX-41 بررسی و عکس‌برداری توسط دوربین دیجیتال Olympus انجام شد.

جدول ۱- مشخصات جمعیت‌های مورد مطالعه گونه *O. melanotricha*

محل جمع آوری	تاریخ جمع‌آوری	ارتفاع (متر)	جمع‌آوری کننده	شماره هرباریومی
کرمان: نگار به بافت، ۶۰ کیلومتر به بافت	۱۳۸۹/۱/۲۳	۲۷۲۸	رنجبر و خادمی	BASU 19208
مرکزی: ۱۵ کیلومتر به تفرش	۱۳۸۹/۲/۲	۲۲۹۰	رنجبر و خادمی	BASU 19297
یزد: مهریز به نیر، ۳ کیلومتر به روستای زردین	۱۳۸۹/۱/۲۱	۲۲۹۷	رنجبر و خادمی	BASU 19268
همدان: ملایر به همدان، ۲۵ کیلومتر به همدان	۱۳۸۹/۲/۲	۲۱۰۴	رنجبر و خادمی	BASU 19284
مرکزی: اراک، وفس	۱۳۸۹/۱/۱۵	۱۷۸۷	رنجبر و خادمی	BASU 19258
کردستان: سقز به کامیاران، قبل از گل سفید	۱۳۸۹/۲/۱	۱۷۵۰	رنجبر و خادمی	BASU 19263



شکل ۱- نقشه پراکنش جمعیت‌های مختلف *O. melanotricha* در ایران

1: *O. melanotricha* 19263
2: *O. melanotricha* 19284
3: *O. melanotricha* 19258
4: *O. melanotricha* 19279
5: *O. melanotricha* 19268
6: *O. melanotricha* 19208

نتایج و بحث

میوز یک رویداد تکاملی بزرگ است که در کاهش تعداد کروموزوم‌ها به اوج خود می‌رسد. مسیر هماهنگ و عادی میوز باعث ایجاد گامت‌هایی با قابلیت حیاتی می‌شود. حوادث سیتولوژیک گامتوژنز توسط گستره وسیعی از ژن‌ها کنترل می‌شود و جهش در این ژن‌ها باعث ایجاد ناهنجاری با اثر سوء بر باروری می‌شود (Pagliarini, 2000). سیناپس شدن کروموزوم‌های هومولوگ و نوترکیبی میوزی در طی پروفاز میوز اتفاق می‌افتد و پیش‌نیاز تقسیم کاهشی است (Bass *et al*., 2000). تنش‌های محیطی مانند سرما و گرما و نیز ژن‌هایی که واکنش‌های آنزیمی متعدد مورد نیاز میوز را کنترل می‌کنند، از عوامل مؤثر در جفت شدن کروموزوم‌ها هستند (استبینز، ۱۳۶۸). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که همه جمعیت‌ها دیپلوئید بوده و عدد پایه کروموزومی آنها برابر ۸ است (۲*n*=۲x=۱۶). این نتیجه با نتایج حاصل از مطالعه عدد کروموزومی و رفتار میوز در گونه *O. avajensis* از بخش *Heliobrychis* مطابقت دارد (Ranjbar *et al*., 2010). *O. avajensis* نیز دیپلوئید بوده، عدد پایه کروموزومی آن برابر ۸ است (۲*n*=۲*x*=۱۶). عدد کروموزومی ۸ برای برخی بخش‌های دیگر جنس اسپرس نیز گزارش شده است (Abou-el-Enain, 2002; Ranjbar *et al*., 2009a). گونه‌زایی درون بخش *Heliobrychis* در سطح دیپلوئید رخ داده است و تقریبا تمام اعضای این بخش دیپلوئید هستند، در حالی که اعضای بخش *Onobrychis*، دیپلوئید یا تتراپلوئید بوده، دارای اعداد کروموزومی ۲*n*=۲*x*=۱۴، ۲*n*=۲*x*=۱۶، ۲*n*=۴*x*=۲۸ و ۲*n*=۴*x*=۳۲ و اعضای بخش *Hymenobrychis* دیپلوئید بوده، دارای اعداد کروموزومی ۲*n*=۲*x*=۱۴ و ۲*n*=۲*x*=۱۶ هستند (Ranjbar *et al*., 2009a, 2010).

در این مطالعه از مجموع ۲۸۵۸ سلول شمارش شده در جمعیت *O. melanotricha* 19208، ۷/۱ درصد مرحله دیاکینز/متافاز I، ۴۱/۶ درصد مرحله آنافاز I/تلوفاز I، ۳/۹ درصد مرحله متافاز II و ۴۷/۳ درصد مرحله آنافازII/تلوفاز II و از ۲۱۹۷ سلول شمارش‌شده در جمعیت *O. melanotricha* 19297، ۱۲/۲ درصد مرحله دیاکینز/متافاز I، ۵۷/۵۳ درصد مرحله آنافاز I/تلوفاز I، ۰/۶ درصد مرحله متافاز II و ۲۷/۷ درصد مرحله آنافاز II/تلوفاز II و از ۱۸۷۰ سلول شمارش‌شده در جمعیت *O. melanotricha* 19268، ۱/۶۱ درصد مرحله دیاکینز/متافاز I، ۵۸/۸ درصد مرحله آنافاز I/تلوفاز I، ۱/۱۲ درصد مرحله متافاز II و ۳۴/۵۹ درصد مرحله آنافاز II/تلوفاز II و از ۱۶۱۷ سلول شمارش‌شده در جمعیت *O. melanotricha* 19284، ۱/۸ درصد مرحله دیاکینز/متافاز I، ۵۳/۳ درصد مرحله آنافاز I/تلوفاز I، ۰/۱۲ درصد مرحله متافاز II و ۴۳/۱ درصد مرحله آنافاز II/تلوفاز II و از ۲۰۲۸ سلول شمارش‌شده در جمعیت *O. melanotricha* 19258، ۱۳/۴۶ درصد مرحله دیاکینز/متافاز I، ۶۴/۹۴ درصد مرحله آنافاز I/تلوفاز I، ۰/۴۴ درصد مرحله متافاز II و ۱۷/۶ درصد مرحله آنافاز II/تلوفاز II و از ۱۷۱۶ سلول شمارش‌شده در جمعیت *O. melanotricha* 19263، ۳۰/۶۳ درصد مرحله دیاکینز/متافاز I، ۲۷/۳ درصد مرحله آنافاز I/تلوفاز I، ۱/۱۳ درصد مرحله متافاز II و ۳۴/۴۸ درصد مرحله آنافازII/تلوفاز II نشان دادند (جدول ۲). اگرچه در جمعیت‌های مورد مطالعه

کروموزوم‌ها رفتار منظمی طی میوز نشان دادند، لیکن برخی ناهنجاری‌ها مانند کروموزوم‌های سرگردان و جدا افتاده در آنافاز/تلوفاز I و II و دیاکینز/متافاز I، سیتومیکسی در دیاکینز و آنافاز/تلوفاز I و II، میکرونوکلئوس در تلوفاز II، سلول‌های چندقطبی در تلوفاز II، پل در آنافاز I و ناهمزمانی هسته در متافاز II و تلوفاز I و II مشاهده گردید.

جدول ۲- ویژگی‌های میوزی جمعیت‌های مختلف *Onobrychis melanotricha*

ویژگی‌های میوزی	Mel 63	Mel 58	Mel 84	Mel 68	Mel 97	Mel 08
تعداد سلول‌ها	۱۷۱۶	۲۰۲۸	۱۶۱۷	۱۸۷۰	۲۱۹۷	۲۸۵۸
دیاکینز/متافاز	۵۴۴	۲۷۳	۳۱	۳۰	۲۶۷	۲۰۳
دیاکینز/متافاز	۳۰/۶۳	۱۳/۴۶	۱/۸	۱/۶	۱۲/۲	۷/۱
٪ سیتومیکسی	۲/۰۴	۰	۰	۰	۰/۳۶	۰
٪ کروموزوم‌های جدا افتاده	۱۴/۱	۹/۴	۱۴/۸۶	۱۰	۱/۱	۰/۹۷
آنافاز I/تلوفاز I	۴۸۰	۱۳۱۷	۸۶۳	۱۱۰۰	۱۲۶۴	۱۱۹۷
٪آنافاز I/تلوفاز I	۲۷/۳	۶۴/۹۴	۵۳/۳	۵۸/۸	۵۷/۵۳	۴۱/۶
٪ لاگارد	۲/۴	۱/۱۳	۰	۰/۷۱	۰/۳	۰
٪ پل	۰/۸	۰/۲۲	۰	۰/۳۵	۰/۱۶	۰/۶۷
٪ کروموزوم‌های جدا افتاده	۱/۶۳	۹/۴	۰/۳۴	۱/۶	۰/۳۷	۰/۱۷
٪ ناهمزمانی هسته	۰	۰/۲۲	۱/۰۳	۱/۶	۰/۷۷	۰
٪ سیتومیکسی	۰	۰	۰/۱۱	۰	۰	۰
متافاز II	۲۰	۹	۲	۲۱	۱۳	۹۲
٪ متافاز II	۱/۱۳	۰/۴۴	۰/۱۲	۱/۱۲	۰/۶	۳/۹
٪ کروموزوم‌های جدا افتاده	۰	۲۵	۲۵	۱۲/۵	۲۳/۴	۹/۸
٪ ناهمزمانی هسته	۰	۰	۲۵	۰	۳۵/۳	۰
آنافاز II/تلوفاز II	۶۱۲	۳۵۷	۶۹۷	۶۴۷	۶۰۹	۱۳۳۷
٪آنافاز II/تلوفاز II	۳۴/۴۸	۱۷/۶	۴۳/۱	۳۴/۵۹	۲۷/۷	۴۷/۳
٪ ناهمزمانی هسته	۰	۱/۶۴	۰/۵۷	۱/۸	۰/۴۹	۰/۱۴
٪ میکرونوکلئوس	۰	۰/۸۴	۰	۱/۰۸	۰/۹۸	۱/۰۴
٪ سیتومیکسی	۰/۱۶	۰	۰	۰	۰	۰
٪ لاگارد	۰	۰	۰	۰/۱۵	۰	۰
٪ سه‌قطبی	۰	۰	۰	۰/۳	۰	۰
٪ کروموزوم‌های جدا افتاده	۰	۰	۰	۰/۱۵	۰	۰

سیتومیکسی

سیتومیکسی مهاجرت اجزای کروماتینی بین سلول‌های میوزی مجاور از طریق اتصالات سیتوپلاسمی است که از پیش ساختارهای پلاسمودسماتایی موجود در بافت بساک است. این پدیده به ایجاد گیاهان آنوپلوئیدی یا گامت‌های کاهش نیافته (از نظر عدد کروموزومی) منجر می‌شود. تشکیل گامت کاهش نیافته از نظر تکاملی مهم است، زیرا به تولید گیاهانی با ویژگی‌های ریخت‌شناختی متفاوت و درجه پلوئیدی بالا منجر می‌شود. گاهی مهاجرت کروموزوم ممکن

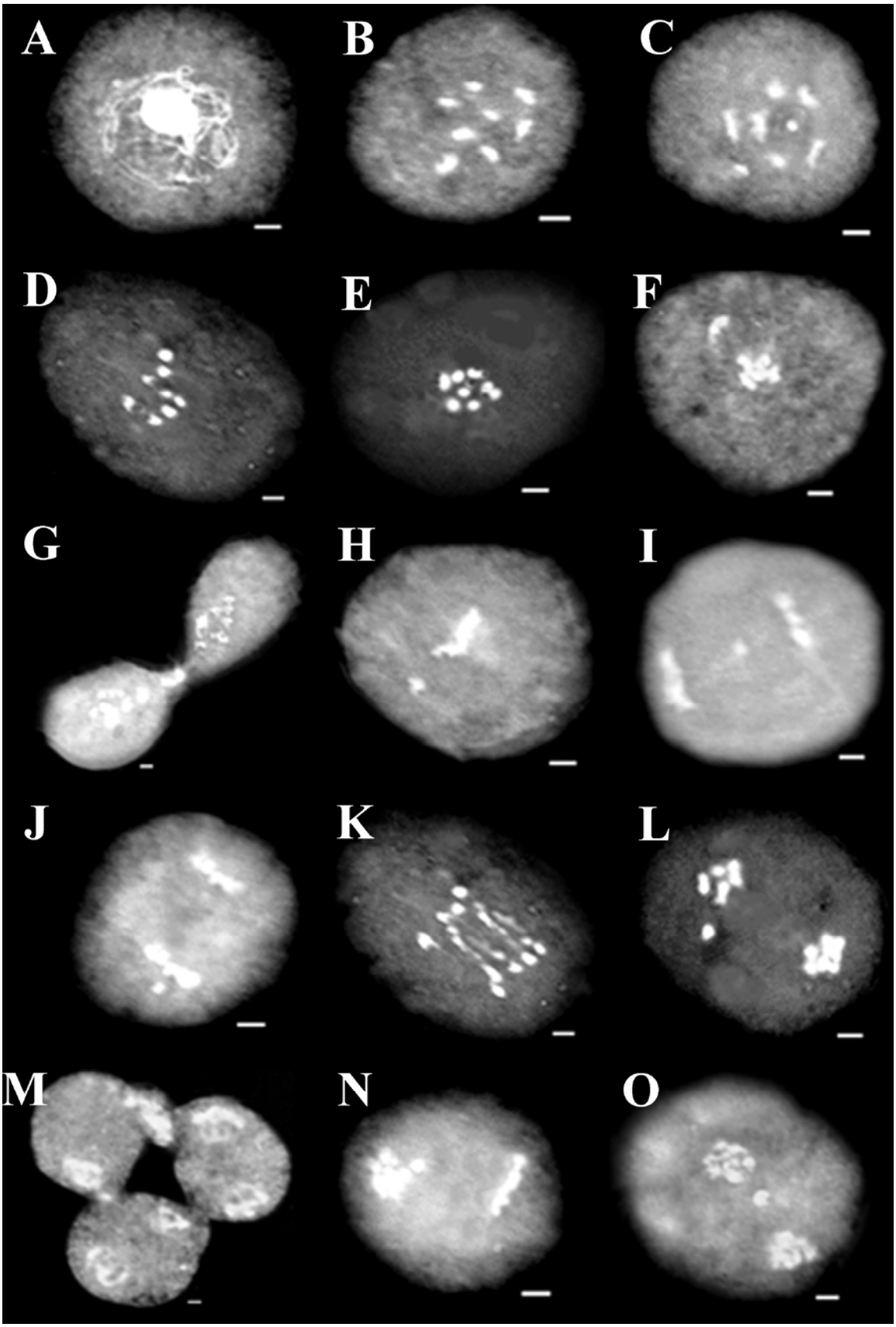
است از طریق انحلال دیواره سلولی بین سلول‌های مجاور صورت گیرد که در این حالت تشکیل سینسیت را می‌دهد (Pagliarini, 2000). بیشترین قطر و تنوع در دانه‌های گرده گیاهانی مشاهده می‌شود که سیتومیکسی را نشان می‌دهند. گامت‌های آنیوپلوئید در نتیجه وقوع سیتومیکسی و مهاجرت کروموزوم‌ها به وجود می‌آیند (Ranjbar *et al*., 2009a). در این مطالعه، فراوانی پدیده سیتومیکسی در مرحله دیاکینز به میزان ۲/۰۴ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19263، در مرحله دیاکینز به میزان ۲/۷ درصد، در مرحله آنافاز/تلوفاز I به میزان ۴/۴۶ درصد و در مرحله دیاکینز به میزان ۰/۳۶ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19297 در مرحله آنافاز/تلوفاز I به میزان ۰/۱۱ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19284 و در مرحله آنافاز/تلوفاز II به میزان ۰/۱۶ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19263 مشاهده شد (شکل ۲).

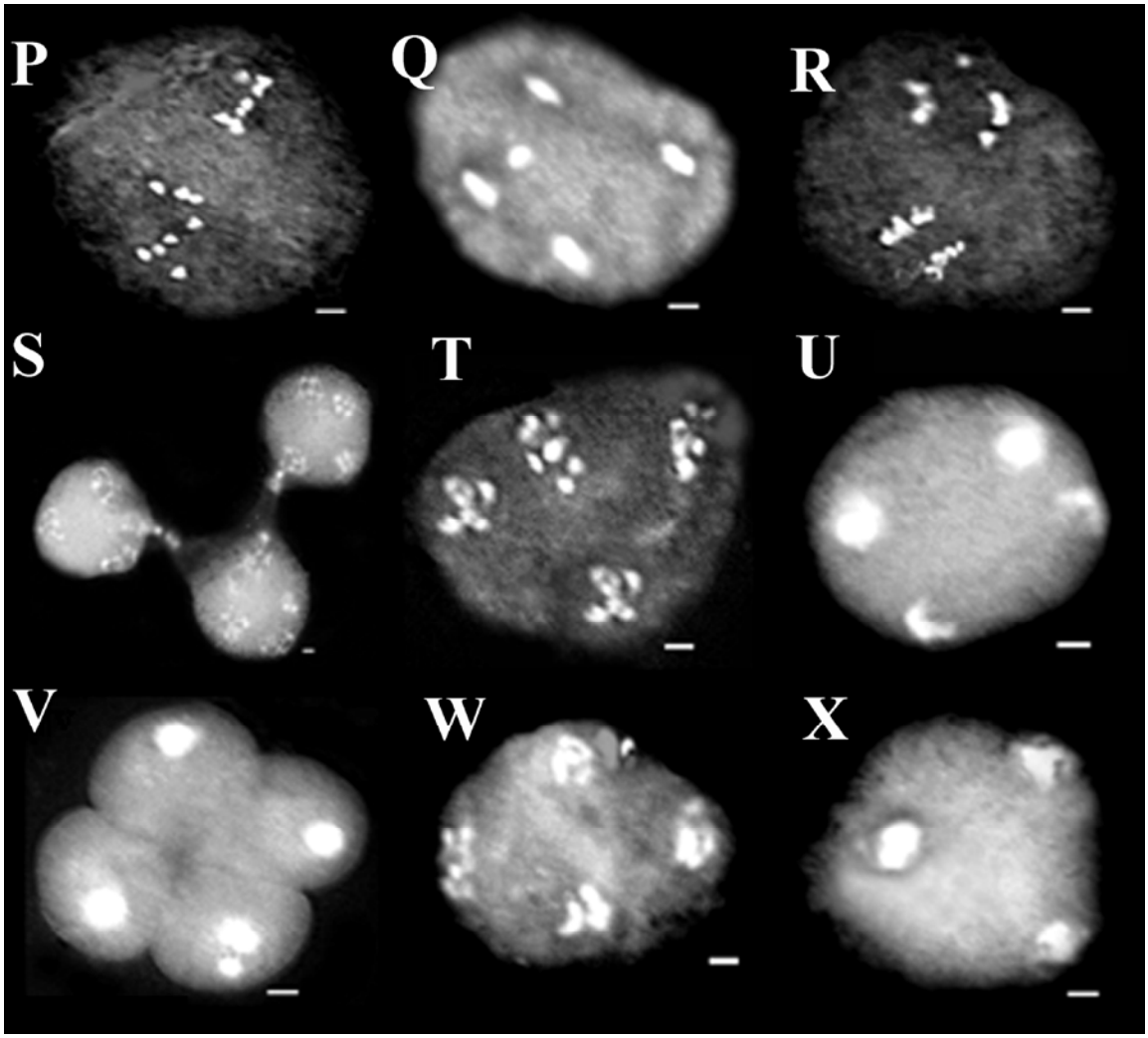
کروموزوم‌های سرگردان

کروموزوم‌های سرگردان، کروموزوم‌هایی هستند که از تفکیک آنافازی عقب مانده‌اند. در مقابل کروموزوم‌های پیشرو به علت حرکت زود هنگام کروموزوم‌ها در آنافاز مشاهده می‌شوند. سرگردانی کروموزوم‌ها به علت عدم اتصال صحیح کروموزوم‌ها به رشته دوک و عدم انتقال آنها به قطبین است. Pagliarini در سال ۱۹۹۰ گزارش داد که کروموزوم‌های سرگردان ممکن است در نتیجه دیر خاتمه یافتن کیاسما ایجاد شود. کروموزوم‌های سرگردان در صورتی که نتوانند در زمانی که باید در هسته تلوفاز باشند به قطب‌ها برسند، می‌توانند تولید میکرونوکلئوس کنند که به تشکیل دانه‌های گرده کوچک و شاید گامت‌هایی منجر شوند که تعداد کروموزوم‌های نامتعادل دارند. این حالت را می‌توان در گامت‌های آنیوپلوئیدی مشاهده کرد (Souza *et al*., 2006). کروموزوم‌های سرگردان در مرحله آنافاز I/تلوفاز I در جمعیت *O. melanotricha* 19297 با فراوانی ۰/۳ درصد و در جمعیت *O. melanotricha* 19268 با فراوانی ۰/۷۱ درصد و در جمعیت *O. melanotricha* 19258 با فراوانی ۱/۱۳ درصد و در جمعیت *O. melanotricha* 19263 با فراوانی ۲/۴ درصد و در مرحله آنافاز/تلوفاز II در جمعیت *O. melanotricha* 19268 با فراوانی ۰/۱۵ درصد مشاهده گردیدند (شکل ۲).

چسبندگی کروموزوم‌ها و پل‌ها

چسبندگی کروموزوم‌ها به یکدیگر از ایجاد انتهای چسبناک بین دو یا چند کروموزوم و تشکیل پل‌های چسبناک در آنافاز ناشی می‌شود. البته، در شرایطی ممکن است کروموزوم یا کروماتیدها به یک قطب دوک کشیده شوند. احتمال بقای سلول‌های دچار چسبندگی کم است، زیرا به طور عمده تفکیک این کروموزوم‌ها در آنافاز و تأخیر چند مرحله‌ای آنها در میوز مشاهده می‌شود. عوامل ژنتیکی و محیطی به عنوان علل چسبندگی کروموزوم‌ها در نظر گرفته می‌شوند (Souza *et al*., 2006; Ranjbar *et al*., 2009a). در این مطالعه چسبندگی کروموزوم‌ها در مرحله آنافاز I/تلوفاز I در جمعیت *O. melanotricha* 19208 با فراوانی ۰/۶۷ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19297 با فراوانی ۰/۱۶ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19268 با فراوانی ۰/۳۵ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19258 با فراوانی ۰/۲۲ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19263 با فراوانی ۰/۸ درصد مشاهده شد (شکل ۲).


A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
L
M
N
O



شکل ۲- مراحل مختلف میوز در جمعیت‌های مختلف *Onobrychis melanotricha*. A) پروفاز (19208)؛ B، C، D و E) دیاکینز (19297)؛ F) کروموزوم‌های جدا افتاده در دیاکینز (19208)؛ G) سیتومیکسی در دیاکینز (19297)؛ H) کروموزوم‌های جدا افتاده در متافاز I (19284)؛ I) کروموزوم‌های سرگردان در آنافاز I (19258)؛ J) کروموزوم‌های جدا افتاده در آنافاز I (19284)؛ K) پل در آنافاز I (19258)؛ L) کروموزوم‌های جدا افتاده در تلوفاز I (19263)؛ M) سیتومیکسی در تلوفاز I (19284)؛N) ناهمزمانی هسته در تلوفاز I (19268)؛ O) کروموزوم سرگردان در تلوفاز I (19268)؛ P) کروموزوم‌های جدا افتاده در متافاز II (19284)؛ Q) کروموزوم سرگردان در آنافاز II (19268)؛ R) کروموزوم‌های جدا افتاده در آنافاز II (19297)؛ S) سیتومیکسی در تلوفاز II (19263)؛ T) تلوفاز II (19284)؛ U) ناهمزمانی هسته در تلوفاز II (19258)؛ V) میکرونوکلئوس در تلوفاز II (19258)؛ W) کروموزوم‌های جدا افتاده در تلوفاز II (19268)؛ X) سه‌قطبی (19268) (مقیاس= ۶ میکرومتر).

میکرونوکلئوس

کروموزوم‌هایی که میکرونوکلئوس را در طی میوز ایجاد می‌کنند، از میکروسپورهای میکروسیت جدا می‌شوند. میکرونوکلئوس ممکن است واجد دیواره میکروسپوری شده، نوعی برآمدگی را ایجاد کند. این میکروسیت‌های جدا شده منشأ ایجاد دانه گرده‌های نازا و کوچک خواهند بود (Baptista-Giacomelli *et al.*, 2000). دسیناپس در بی‌والان‌ها و خاتمه زود هنگام

کیاسما دو علت برای تولید کروموزوم‌های یونی‌والان هستند. به دلیل آن که یونی‌والان‌ها اغلب در طی تقسیم اول جدا شدگی عادی ندارند، تنوع یونی‌والان‌ها در دیاکینز/متافاز I به‌عنوان معیاری برای اندازه‌گیری اختلالات میوزی در نظر گرفته می‌شود (Scoles and Kaltsikes, 1974). به طور کلی، جدا شدن زود هنگام یونی‌والان‌ها یا عملکرد آنها به‌عنوان لاگارد در آنافاز باعث ایجاد میکرونوکلئوس در تلوفاز می‌شود که معمولاً تا مرحله تتراد باقی می‌مانند (Kodura and Rao, 1981). میکرونوکلئوس در این مطالعه در طی مرحله تلوفاز II به میزان ۱/۴ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19208 و ۰/۹۸ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19297 و ۱/۰۸ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19268 و ۰/۸۴ درصد در گونه *O. melanotricha* 19258 مشاهده شد (شکل ۲).

کروموزوم‌های جدا افتاده

کروموزوم‌های جدا افتاده در مرحله دیاکینز/متافاز I در جمعیت *O. melanotricha* 19208 با فراوانی ۰/۹۷ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19297 به میزان ۱/۱ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19268 به میزان ۱۰ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19284 به میزان ۱۴/۸۶ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19258 به میزان ۹/۴ درصد و در جمعیت *O. melanotricha* 19263 به میزان ۱۴/۱ درصد و در مرحله آنافاز/تلوفاز I در جمعیت *O. melanotricha* 19208 به میزان ۰/۱۷ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19297 به میزان ۰/۳۷ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19268 به میزان ۱/۶ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19284 به میزان ۰/۳۴ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19258 به میزان ۹/۴ درصد و در جمعیت *O. melanotricha* 19263 به میزان ۱/۶۳ درصد و در مرحله آنافاز/تلوفاز II در جمعیت *O. melanotricha* 19208 به میزان ۹/۸ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19297 به میزان ۲۳/۴ درصد و در جمعیت *O. melanotricha* 19268 به میزان ۱۲/۵ درصد، در جمعیت *O. melanotricha* 19284 به میزان ۲۵ درصد و در جمعیت *O. melanotricha* 19258 به میزان ۲۵ درصد مشاهده شدند (شکل ۲).

ناهمزمانی هسته‌ها

این پدیده در مرحله آنافاز I/تلوفاز I با فراوانی ۰/۷۷ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19297، ۱/۶ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19268، ۱/۰۳ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19284 و ۰/۲۲ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19258، در مرحله متافاز II به میزان ۳۵/۳ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19297 و ۲۵ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19284 و در مرحله آنافاز II/تلوفاز II به میزان ۰/۱۴ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19208، ۰/۴۹ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19297، ۱/۸ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19268، ۰/۵۷ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19284 و ۱/۶۴ درصد در جمعیت *O. melanotricha* 19258 مشاهده شد (شکل ۲).

سلول‌های چندقطبی

رشته‌های دوک به شکل نرمال در هر دو قطب سلولی وجود دارند و به صورت مجموعه واحدی عمل کرده، نقش مهمی در تنظیم کروموزوم‌ها در طول

متافاز ایفا می‌کنند. هر گونه تغییر یا شکستگی در این مجموعه دوک ممکن است باعث شود که کروموزوم‌ها در گروه‌های تصادفی قرار گیرند. سلول‌های چندقطبی در مرحله تلوفاز II با فراوانی ۰/۳ در جمعیت *O. melanotricha* 19268 مشاهده شدند (شکل ۲).

منابع

استبینز جی. ال. (۱۳۶۸) تکامل کروموزومی در گیاهان عالی. ترجمه معصومی، ع. و خسروی، الف.، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.

حسام‌زاده حجازی، م. و ضیایی نسب، م. (۱۳۸۸) بررسی کاریولوژیکی بعضی از جمعیت‌های گونه‌های تتراپلوئید جنس اسپرس (*Onobrychis*) موجود در بانک منابع طبیعی ایران. مجله زیست‌شناسی ایران ۲۲: ۳۲۱-۳۳۲.

رنجبر، م.، حاج مرادی، ف. و کرمیان، ر. (۱۳۸۸) مطالعه میتوزی برخی از گونه های بخش *Hymenobrychis* DC. از جنس اسپرس (*Onobrychis* Mill.) در ایران. مجله زیست گیاهی ایران ۱: ۴۷-۵۴.

جونز، اس. بی. و لوچ سینگر، ای. ای. (۱۳۸۴) سیستماتیک گیاهی. ترجمه رحیمی‌نژاد رنجبر، م.، مرکز نشر دانشگاهی تهران، تهران.

مقیمی، ج. (۱۳۸۴) معرفی برخی گونه‌های مهم مرتعی. انتشارات آرون، تهران.

Abou-el-Enain M. M. (2002) Chromosomal criteria and their phylogenetic implications in the genus *Onobrychis* Mill. sect. *Lophobrychis* (Leguminosae), with special reference to Egyptian species. Botanical Journal of the Linnean Society 139: 409-414.

Ashurmetov, O. A. and Normatov, B. A. (1998) Embryology of annual species of the genus *Onobrychis* Mill. Flora 193: 259-267.

Baltisberger, M. (1991) IOPB chromosome data 3. International Organization of Plant Biosystematists Newsletter 17: 5-7.

Baptistia-Giacomelli, F. R., Pagliarini, M. S. and Almeida, J. L. (2000) Elimination of microspores in a Brazilian oat (*Avena sativa*) variety. Genetics and Molecular Biology 23(3): 681-684.

Bass, H. W., Riera-Lizarazu, O., Ananiev, E. V., Bordoli, S. J., Rines, H. W., Phillips, R. L., Sedat, J. W., Agard, D. A. and W. Z., Cande (2000) Evidence for the coincident initiation of homolog pairing and synapsis during the telomere-clustering (bouquet) stage of meiotic prophase. Journal of Cell Science 113: 1033-1042.

Falistocco, E. (1991) Chromosome study and genome relationships in perennial species of *Onobrychis*. Genetics and Breeding 45: 25-31.

Fedorov, A. A. (1969) Chromosome numbers of flowering plants. Botanical Institute, Leningrad.

Goldblatt, P. (1981) Index to plant chromosome numbers 1975-78. Monographs in Systematic Botany. V5. Saint Louis: Missouri Botanical Garden.

Goldblatt, P. and Johnson, D. E. (1991) Index to plant chromosome numbers 1988-1989. Monographs in Systematic Botany. Vol. 40. Missouri Botanical Garden, Saint Louis.

Gomurgen, A. N. (1996) Meiotic analysis of selected material of sainfoin and its progeny with branched and unbranched peduncles. Turkish Journal of Botany 20: 399-411.

Karshibaev, H. K. (1992) Chromosome numbers of some Fabaceae in Uzbekistan. Tezisy 3 Soveshchanie Po Kariologii Rastenii 27: 1-2.

Kodoru, P. R. K and Rao, M. K. (1981) Cytogenetics of synaptic mutants in higher plants. Theoretical and Applied Genetics 59:197-214.

Lock, J. M. and Simpson, K. (1991) Legumes of west Asia, a checklist. Royal Botanic Garden, Kew.

Mabberley, D. J. (1997) The plant book: a portable dictionary of the vascular plants, 2nd edition. Cambridge: Cambridge University Press, Cambridge.

Pagliarini M. S. (1990) Meiotic behavior and pollen fertility in *Aptenia cordifolia* (Aizoaceae). Caryologia 43: 157-162.

Pagliarini, M. S. (2000) Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. Genetics and Molecular Biology 23(4): 997-1002.

Ranjbar, M. (2009) *Onobrychis oshnaviyehensis* sp. nov. (sect. *Hymenobrychis*, Fabaceae) from Iran. Nordic Journal of Botany 27: 115-119.

Ranjbar, M., Amirabadizadeh, H., Karamian, R. and Ghahremani, M. A. (2004) Notes on *Onobrychis* sect. *Heliobrychis* (Fabaceae) in Iran. Willdenowia 34: 187-190.

Ranjbar, M., Karamian, R. Afsari, A. (2010) Meiotic chromosome number and behaviour of *Onobrychis avajensis* (Fabaceae): a new species from western Iran. Plant Ecology and Evolution 143(2): 1-6.

Ranjbar, M., Karamian, R. and Hadadi, A. (2009a) Biosystematic study of *Onobrychis vicifolia* Scop. and *Onobrychis altissima* Grossh. (Fabaceae) in Iran. Iranian Journal of Botany 15(1): 85-95.

Ranjbar, M., Karamian, R. and Hajmoradi, F. (2009b) Taxonomic Notes on *Onobrychis* sect. *Hymenobrychis* (Fabaceae, Hedysareae) in Iran. Novon 19: 215-218.

Ranjbar, M., Karamian, R., Tolui, Z. and Amirabadizadeh, H. (2007) *Onobrychis assadii* (Fabaceae), a new species from Iran. Annales Botanici Fennici 44: 481-484.

Romano, S., Mazzola, P. and Raimondo, F. M. (1987) Numeri cromosomici perla flora Italiana. Informatore Botanico Italiano 19: 173-180.

Scoles, G. and Kaltsikes, P. J. (1974) The cytology and cytogenetics of triticale. Z. Pflanzenzuechtg 73: 13-43.

Souza, M. M., Martins, E. R., Pereira, T. N. S. and Olivera, L. O. (2006) Reproductive studies on Ipecac (*Cephalis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich, Rubiaceae): Meiotic behavior and pollen viability. Brazilian Journal of Biology 66(1A): 151-159.

Meiotic chromosome number and behavior of six populations of *Onobrychis melanotricha* Boiss. (*O.* sect. *Heliobrychis*) in Iran

Massoud Ranjbar, Fatemeh Khademi and Roya Karamian *

Department of Biology, Faculty of Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Abstract

The genus *Onobrychis* Mill. with about 130 species in 9 sections is one of the most valued legumes distributed mainly in temperate regions of north hemisphere. However, its main centers of diversity are eastern Mediterranean and southwestern Asia. *O.* sect. *Heliobrychis* is the largest section of the genus and has nearly 21 species in Iran. In this investigation, the chromosome number and meiotic behavior were studied in 6 populations of *O. melanotricha*. All taxa were diploid and had the basic chromosome number of $2n=2x=16$. Although the taxa represented regular meiosis, some abnormalities such as laggard and fragmented chromosomes in anaphase/telophase I, II and diakinesis/methaphase I, cytomixis in anaphase/telophase I, II, micronucleus in telophase II, multipolar cells in telophase II, bridges in anaphase I and asynchronous nuclei in metaphase II and telophase I and II were observed.

Key words: Chromosome number, Meiosis, *Onobrychis*, *O.* sect. *Heliobrychis*

* r_karamian@basu.ac.ir