زیست‌شناسی گیاهی، سال دوم، شماره ششم، زمستان ۱۳۸۹، صفحه ۳۹ - ۵۴
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۳/۰۴
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۸۹/۰۵/۰۱
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۸۹/۱۰/۱۱
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۸۹/۱۱/۲۶

مطالعه بیوسیستماتیک چهار جمعیت از گونه *Astragalus macrostachys* DC. از بخش *Malacothrix* Bunge در ایران

مسعود رنجبر*، رؤیا کرمیان و اقدس عنایتی اکمل
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

چکیده

در این تحقیق رفتار میوز و ویژگی‌های ریخت‌شناختی و گرده‌شناختی چهار جمعیت از گونه *Astragalus macrostachys* DC. متعلق به *Malacothrix* Bunge از جنس *Astragalus* L. در ایران مطالعه گردیده است. نتایج حاصل از مطالعه میوز در جمعیت‌های مختلف این گونه نشان داد که سه جمعیت دیپلوئید و دارای عدد کروموزومی ۲n=2x=۱۶ هستند؛ حال آن که یک جمعیت تتراپلوئید و واجد عدد کروموزومی ۲n=4x=۳۲ است. هرچند جمعیت‌های مورد مطالعه رفتار منظمی طی میوز نشان دادند، لیکن بی‌نظمی‌هایی مانند کروموزوم‌های سرگردان و جدا افتاده در آنافاز/تلوفاز I و II، دیاکینز/متافاز I، سیتومیکسی در آنافاز/تلوفاز I و II، چند قطبی در تلوفاز II، دوهستکی در پروفاز و پل در آنافاز I و تلوفاز II نیز مشاهده شدند. تحلیل داده‌های حاصل از مطالعه میوز در چهار جمعیت این گونه به روش‌های UPGMA و PCO نشان داد که تاکسون‌های مورد مطالعه در دو گروه اصلی قرار می‌گیرند. نتایج حاصل از مطالعه ویژگی‌های ریخت‌شناختی و گرده‌شناختی نیز این گروه‌بندی را تأیید نمود.

واژه های کلیدی: *Astragalus* L.، بخش *Malacothrix*، رفتار میوز، ریخت‌شناسی، گرده‌شناسی

مقدمه

جنس *Astragalus* L. با حدود ۲۵۰۰ گونه بزرگترین جنس گیاهان گل‌دار در دنیاست. ایران به تنهایی با ۸۵۰ گونه یکی از مراکز اصلی تنوع این جنس است. بخش *Malacothrix* Bunge یکی از بزرگترین و پیچیده‌ترین بخش‌های جنس *Astragalus* است که اغلب گونه‌های آن در دنیای قدیم و به طور عمده در محدوده فلور ایران (بیش از ۹۰ گونه) پراکنش دارند. اگرچه برخی از آن‌ها در کشورهای همسایه، از جمله آذربایجان، ارمنستان، ترکمنستان، ترکیه، عراق و افغانستان نیز می‌رویند. ایران یکی از مهمترین مراکز گونه‌زایی و تنوع بخش *Malacothrix* است و این بخش به لحاظ سیستماتیک یکی از پیچیده‌ترین بخش‌ها به شمار می‌رود (Maassoumi 1989; Maassoumi 1993; Ranjbar *et al*., 2002; Podlech and Maassoumi 2003; Ranjbar and Karamian, 2004; Ranjbar 2007).

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: ranjbar@basu.ac.ir، شماره تماس: ۰۸۱۱۸۲۷۳۰۷۹

اغلب مطالعات سیتولوژیک در این جنس بر روی شمارش عدد کروموزومی متمرکز شده است (Aryavand, 1983; Maassoumi, 1987; Maassoumi, 1989; Ranjbar *et al*., 2010). این جنس دارای عدد پایه کروموزومی x=۸ با دو سطح پلوییدی ۲n=۴x=۳۲ و ۲n=۲x=۱۶ در دنیای قدیم است (Maassoumi, 1987, Maassoumi, 1989, Ranjbar *et al*., 2010). دانه‌های گرده در این بخش منفرد، با اندازه کوچک یا متوسط، بیضی تا مستطیلی، سه شیاره و منفذدار هستند. در اکثر گونه‌ها، دانه‌های گرده دارای تزیینات شبکه‌ای هستند. گونه *A. macrostachys* یکی از گونه‌های چند ساله بخش *Malacothrix* است. از آنجا که هر قسمت و یا هر اندام از گیاه در همه مراحل رشد و نموی خود می‌تواند ویژگی‌های تاکسونومیک خاصی داشته باشد، به دست آوردن اطلاعات از منابع متنوع در مطالعات تاکسونومی گیاهی ارزشمند است. کاربرد اطلاعات حاصل از مطالعات مختلف اعم از ریخت‌شناسی، سیتولوژی، گرده‌شناسی و ... اساساً باعث ارتقای سیستم‌های رده‌بندی جدید در این بخش شده و در نهایت، آنالیز آماری داده‌ها به منظور ارائه روابط فنتیک بسیار سودمند است.

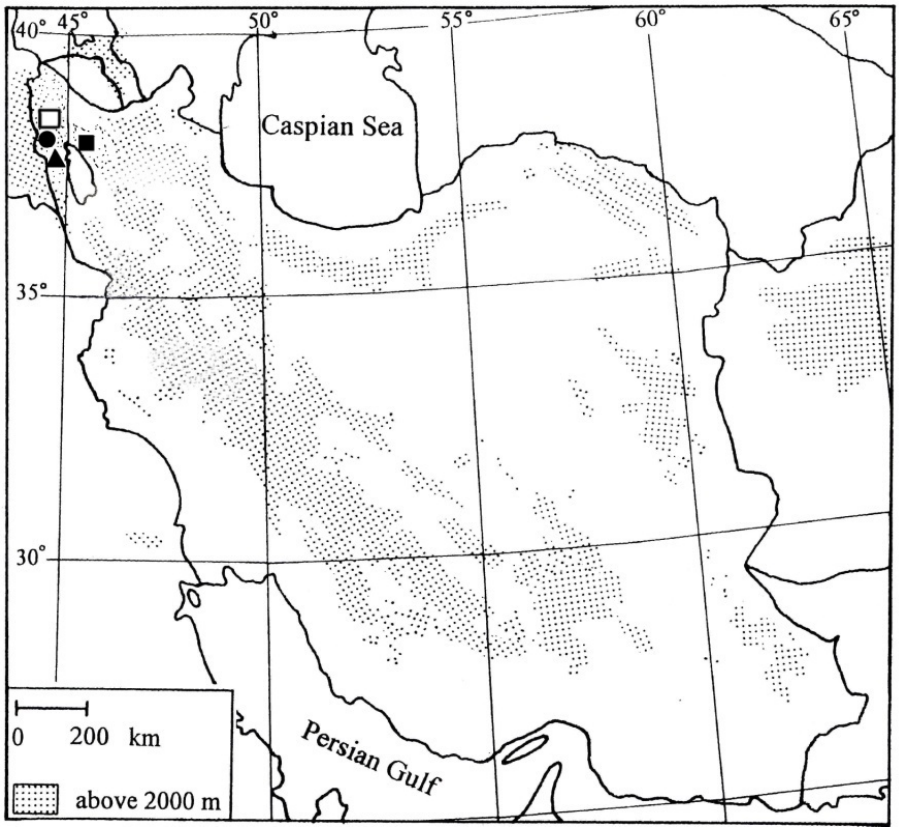
مواد و روش‌ها

مطالعه ریخت‌شناسی

مطالعه ریخت‌شناسی بر روی ۴ فرد از جمعیت متعلق به گونه *A. macrostachys* (18739)، ۴ فرد از جمعیت متعلق به گونه *A. macrostachys* (18740)، ۲ فرد از جمعیت متعلق به گونه *A. macrostachys* (18741) و ۱ فرد از جمعیت متعلق به گونه *A. macrostachys* (18742) انجام شد. نمونه‌ها از مناطق شمال غرب ایران جمع‌آوری شدند (جدول ۱). نقشه پراکنش گونه‌های مورد مطالعه در ایران در شکل ۱ و ویژگی‌های ریخت‌شناختی مربوط به اندام‌های رویشی و زایشی مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه شده‌اند. در نهایت، داده‌های حاصل از مطالعه ویژگی‌های ریخت‌شناختی، به روش UPGMA و با استفاده از نرم‌افزار MVSP تحلیل و سپس بهترین دندروگرام انتخاب شد. تحلیل داده‌های ریخت‌شناختی به روش PCO نیز انجام شد.

جدول ۱- اطلاعات مربوط به جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys* در این مطالعه

گونه	محل جمع‌آوری	نام جمع‌آوری کننده	تاریخ جمع‌آوری	ارتفاع (متر)	شماره هرباریومی
A. macrostachys	آذربایجان غربی: ارومیه به سلماس، گردنه قوشچی، قره‌باغ	رنجبر و عنایتی اکمل	۱۳۸۷/۲/۲۵	۱۲۹۶	BASU18740
A. macrostachys	آذربایجان غربی: جاده قطور، ۲ کیلومتر به دره‌خان	رنجبر و عنایتی اکمل	۱۳۸۷/۲/۲۵	۱۳۷۵	BASU18742
A. macrostachys	آذربایجان غربی: قطور به رازی	رنجبر و عنایتی اکمل	۱۳۸۷/۲/۲۶	۱۷۵۰	BASU18741
A. macrostachys	آذربایجان شرقی: مرند به صوفیان	رنجبر و عنایتی اکمل	۱۳۸۷/۲/۲۷	۱۶۲۶	BASU18739



شکل ۱- پراکنش جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys* در ایران: جمعیت ۱۸۷۴۱ (□)، جمعیت ۱۸۷۴۰ (■)، جمعیت ۱۸۷۴۲ (●) و جمعیت ۱۸۷۳۹ (▲).

مطالعه گرده‌شناسی

به منظور مطالعه گرده‌شناسی از روش استولیز استفاده شد (Erdtman, 1960). گل‌های جدا شده از نمونه‌ها توسط انتهای همزن شیشه‌ای تا حدی خرد شد و سپس به آن ۶ میلی لیتر محلول استولیز اضافه گردید. زمان لازم برای تیمار دانه‌های گرده با محلول استولیز به مقاومت دانه‌های گرده و بویژه به ضخامت اگزین بستگی دارد. این روش برای از بین بردن محتوای سیتوپلاسمی، انتین و هر نوع پوشش سطحی به کار برده می‌شود. محلول استولیز تقریباً همه بخش‌ها را حل می‌کند، ولی اسپوروپولنین در مقابل آن مقاوم است. پس از اضافه کردن محلول استولیز، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری حرارت داده شد. هنگام حرارت دادن، محلول مرتب به هم زده شد. آنگاه لوله‌های آزمایش محتوی محلول فوق با دستگاه سانتریفیوژ Hettich مدل D-7200 با ۳۰۰۰ تا ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس محلول رویی دور ریخته شد و به باقیمانده آب مقطر اضافه و مجدداً سانتریفیوژ گردید. این کار سه بار تکرار شد. در نهایت، چند قطره محلول حاوی گرده روی لام قرار داده شد و پس از خشک شدن و قرار دادن قطره‌ای از محلول گلیسیرین- ژل روی آن، پس از ۲۴ ساعت با میکروسکوپ نوری مطالعه گردید. ویژگی‌های مختلف دانه گرده مانند قطر قطبی، قطر استوایی، طول شیار، عرض شیار، فاصله بین دو شیار و ضخامت اگزین برای ۲۰ دانه گرده از هر تاکسون با

اوکولر مدرج اندازه‌گیری شد. ویژگی‌های طول قطر قطبی، قطر استوایی، ضخامت اگزین، طول شیار، فاصله بین دو شیار، ضخامت گرانول و نسبت طول قطر قطبی به قطر استوایی برای ۲۰ دانه گرده از هر نمونه با استفاده از میکروسکوپ نوری اندازه‌گیری شد. در نهایت، تحلیل داده‌های گرده‌شناختی مربوط به گونه‌های مورد مطالعه به روش‌های UPGMA و PCO انجام شد.

مطالعه میوز

به منظور مطالعه میوز، غنچه‌های گل جمعیت‌های مختلف گونه *A. macrostachys* از اواسط اردیبهشت تا اواسط تیر ماه از مناطق مختلف جمع‌آوری شد. برای دستیابی به تمام مراحل میوز، از غنچه‌هایی با اندازه‌های مختلف و در ساعات مختلف روز نمونه‌برداری شد. در این مطالعه از سلول‌های مادر دانه گرده در بساک پرچم‌ها استفاده شد. غنچه‌های جوان به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در محلول پینار تثبیت و پس از شستشو با استوکارمن رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت، مراحل مختلف میوز به همراه بی‌نظمی‌های هر مرحله توسط میکروسکوپ Olympus BX-41 بررسی و عکس‌برداری با دوربین دیجیتال Olympus انجام شد. در پایان، تحلیل داده‌های حاصل از رفتار میوز در چهار جمعیت مورد مطالعه به روش‌های UPGMA و PCO انجام شد.

نتایج

مطالعه ریخت‌شناسی

در مطالعه ریخت‌شناسی، ۲۸ ویژگی کمّی و کیفی مختلف از چهار جمعیت ارزیابی گردید. این ویژگی‌ها شامل موارد زیر بود:

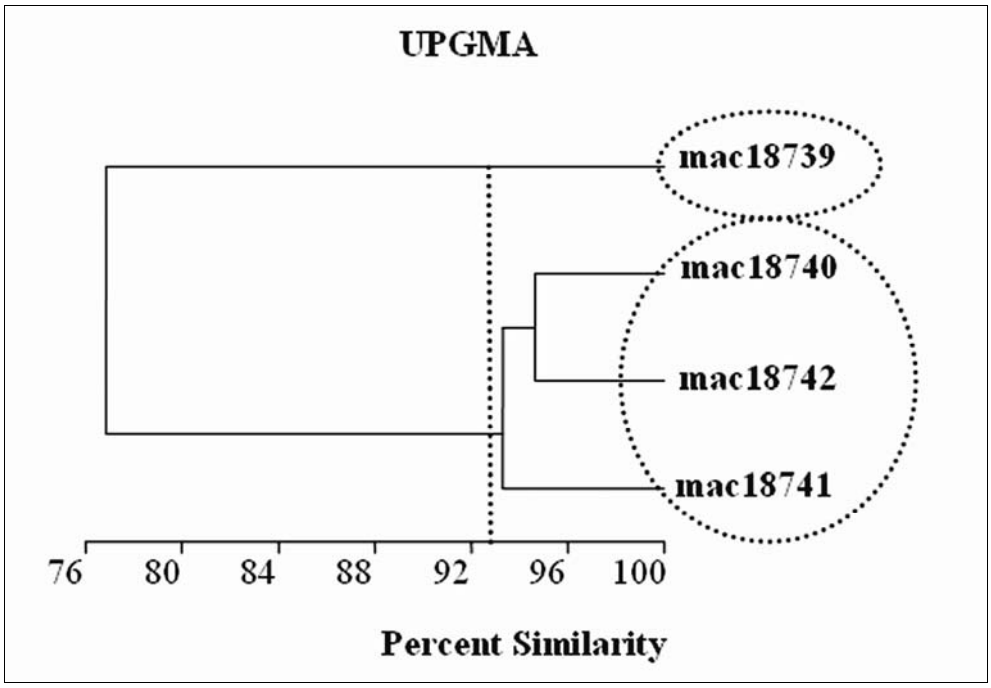
طول گیاه، طول ساقه، کرک ساقه، طول برگ، طول دمبرگ، تعداد جفت برگچه، طول دم‌گل‌آذین، طول کرک دم‌گل‌آذین، طول براکته، عرض براکته، طول کرک براکته، طول دمگل، طول کرک دمگل، طول کاسه، عرض کاسه، طول دندانه کاسه، طول لوله کاسه، طول کرک کاسه، طول درفش، عرض درفش، طول ناو، عرض ناو، ناخنک ناو، طول بال، عرض بال، ناخنک بال، گوشک بال و طول پایک مادگی.

در دندروگرام حاصل از نرم‌افزار MVSP به روش UPGMA که بر اساس ۲۸ ویژگی ریخت‌شناختی به دست آمد، اگر خط فرضی تقریباً در سطح ۹۳ رسم شود، تاکسون‌های مورد مطالعه در دو گروه قرار می‌گیرند (شکل ۲). جمعیت *A. macrostachys* (18739) در گروه اول و جمعیت‌های *A. macrostachys* (18740)، *A. macrostachys* (18741) و *A. macrostachys* (18742) در گروه دوم قرار می‌گیرند. جمعیت *A. macrostachys* (18739) به دلیل دارا بودن برگ، دمبرگ، دم‌گل‌آذین و دندانه کاسه بلندتر، تعداد جفت برگچه‌های کمتر و بال و ناو کوتاه‌تر از دیگر جمعیت‌های *A. macrostachys* جدا می‌شود. گروه‌های فنتیکی حاصل از تحلیل PCO بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی نیز این گروه‌بندی را تأیید می‌کند (شکل ۳) که حاکی از ارزشمندی ویژگی‌های مربوط به برگ (طول برگ، طول دمبرگ و تعداد جفت برگچه) و گل (طول دندانه کاسه، طول بال و طول ناو) در تعیین روابط میان تاکسون‌های مورد مطالعه است.

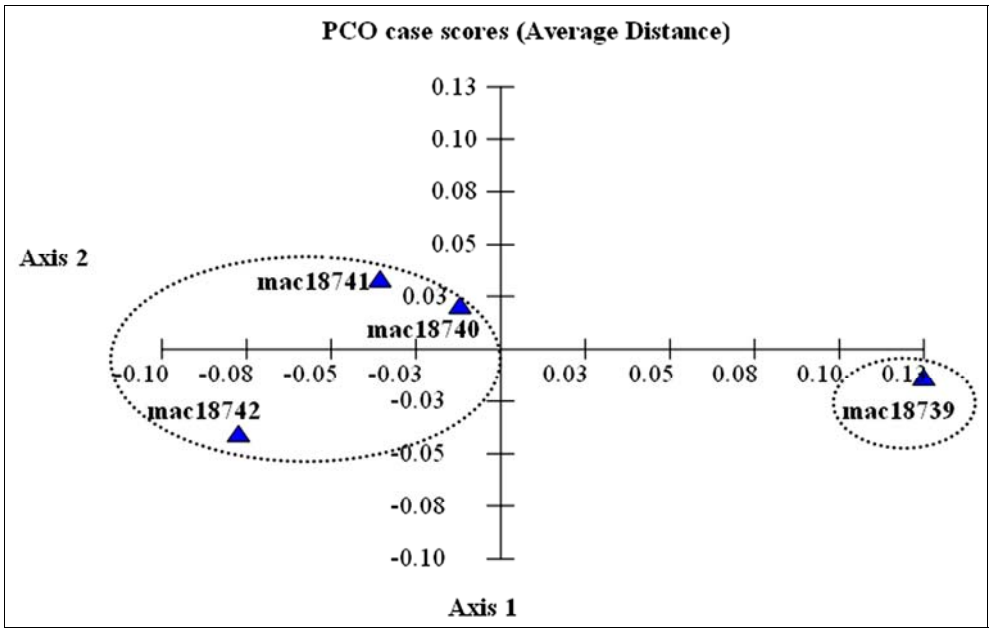
جدول ۲- ویژگی‌های ریخت‌شناختی مورد مطالعه در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*

ویژگی‌های ریخت‌شناختی*	mac18740	mac18742	mac18741	mac18739
طول گیاه (میلی‌متر)	۲۶۵	۲۶۰	۲۲۰	۶۰۰
اندازه کرک کاسه (میلی‌متر)	۰/۵	۰/۶	۰/۵	۰/۳۵
طول ساقه (میلی‌متر)	۵۵	۴۵	۴۰	۴۰
طول برگ (میلی‌متر)	۹۵	۱۰۷/۵	۹۸/۲	۱۲۰
طول دمبرگ (میلی‌متر)	۲۴/۹	۱۶/۵	۲۶	۳۷/۸۷
تعداد جفت برگچه	۱۴	۱۶	۱۳	۱۱
طول دم‌گل‌آذین (میلی‌متر)	۱۱۲	۱۰۵	۱۱۷	۱۳۹
اندازه کرک دم‌گل‌آذین (میلی‌متر)	۰/۴	۰/۶	۰/۵	۰/۴
طول براکته (میلی‌متر)	۳	۳	۳/۷	۴
عرض براکته (میلی‌متر)	۰/۵	۰/۵	۰/۴	۰/۲
اندازه کرک براکته (میلی متر)	۰/۶	۱/۱	۰/۵	۱/۱
طول دمگل (میلی‌متر)	۰/۷	۰/۱	۰/۸	۰/۹
اندازه کرک دمگل (میلی‌متر)	۱/۱۵	۰/۴۵	۰/۳۵	۰/۱۵
طول کاسه (میلی‌متر)	۱۱/۷	۱۱	۱۱/۵	۱۱/۸
طول دندانه کاسه (میلی‌متر)	۵	۳/۵	۴/۵	۵/۴
طول لوله کاسه (میلی‌متر)	۷	۵/۵	۷	۷
عرض لوله کاسه (میلی‌متر)	۵/۶	۴/۵	۵	۵
اندازه کرک کاسه (میلی‌متر)	۱	۱/۲۵	۰/۴۵	۱/۰۵
طول درفش (میلی‌متر)	۱۷	۱۶/۵	۱۸	۱۶/۱
عرض درفش (میلی‌متر)	۷/۱	۶/۵	۶/۷	۶/۴
طول ناو (میلی‌متر)	۱۴/۵	۱۴	۱۴/۵	۱۳/۵
عرض ناو (میلی‌متر)	۲/۳	۲	۲/۳	۱/۹
طول ناخنک ناو (میلی‌متر)	۷/۷	۶/۵	۶/۸	۷/۴
طول بال (میلی‌متر)	۱۶	۱۵	۱۷/۳	۱۴/۹
عرض بال (میلی‌متر)	۲/۲	۲/۵	۲	۱/۷
طول ناخنک بال (میلی‌متر)	۸/۱	۷	۷/۲	۷/۱
طول گوشک بال (میلی‌متر)	۱/۶	۱/۲	۱/۷	۱/۳
طول پایک مادگی (میلی‌متر)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۷

* داده‌ها میانگین مقادیر مطالعه شده در افراد هر جمعیت است.



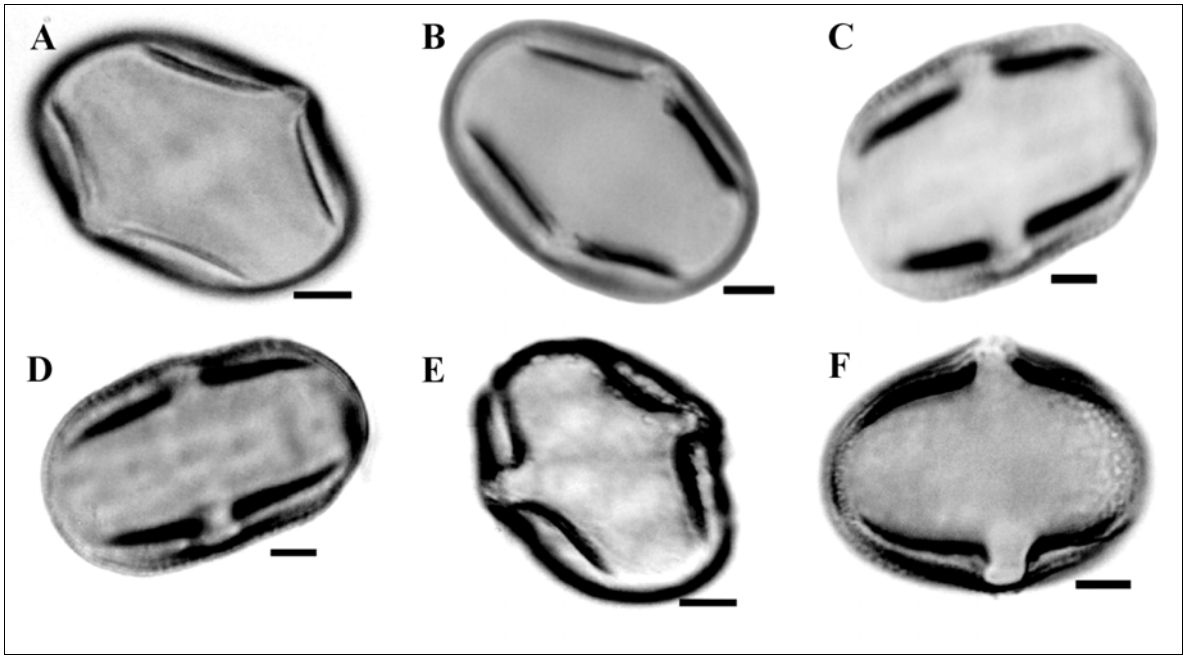
شکل ۲- دندروگرام حاصل از تحلیل داده‌های ریخت‌شناختی با استفاده از MVSP به روش UPGMA در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*



شکل ۳- گروه‌های فنتیکی حاصل از تحلیل PCO داده‌های ریخت‌شناختی در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*

مطالعه گرده‌شناسی

نتایج حاصل از مطالعه گرده‌شناختی در چهار جمعیت از گونه *A. macrostachys* در جدول ۳ و تصاویر دانه گرده در شکل ۴ ارائه شده‌اند. به طورکلی، دانه‌های گرده در گونه *A. macrostachys* بیضوی و سه‌شیاری هستند و بر اساس اندازه طول قطبی می‌توان آن‌ها را به دو گروه تقسیم کرد. در تحلیل داده‌های حاصل از مطالعه گرده‌شناسی، جمعیت *A. macrostachys* (18739)، به دلیل دارا بودن قطر قطبی ۳۸/۴۷ میکرون، قطر استوایی ۲۵/۵۳ میکرون، طول شیار ۳۰/۴۷ میکرون، فاصله دو شیار ۱۷/۳ میکرون، ضخامت گرانول ۴/۷۶ میکرون و ضخامت اگزین ۲/۶۶ میکرون در یک گروه مجزا قرار گرفت (شکل ۵). گروه دوم با دارا بودن گرده‌هایی با قطر قطبی ۴۲-۴۳/۸۷ میکرون و قطر استوایی ۲۷/۲۷-۳۱/۱۴ میکرون، شامل جمعیت‌های *A. macrostachys* (18740)، *A. macrostachys* (18741) و *A. macrostachys* (18742) است. در دانه‌های گرده این گروه، فاصله دو شیار ۱۸/۴-۱۹/۸۳ میکرون و ضخامت اگزین ۱/۱۸-۱/۲ میکرون است (جدول ۳). در مجموع قطر قطبی، قطر استوایی و فاصله دو شیار، ویژگی‌های گرده‌شناختی متمایزکننده‌تری در مقایسه با سایر ویژگی‌ها هستند.

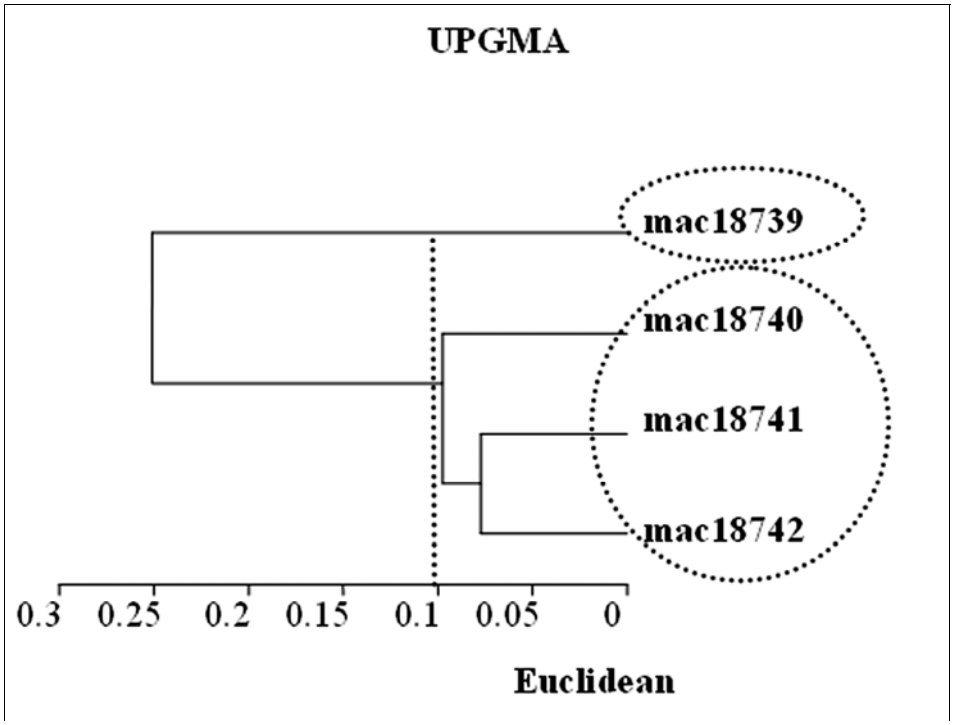


شکل ۴- دانه گرده در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*

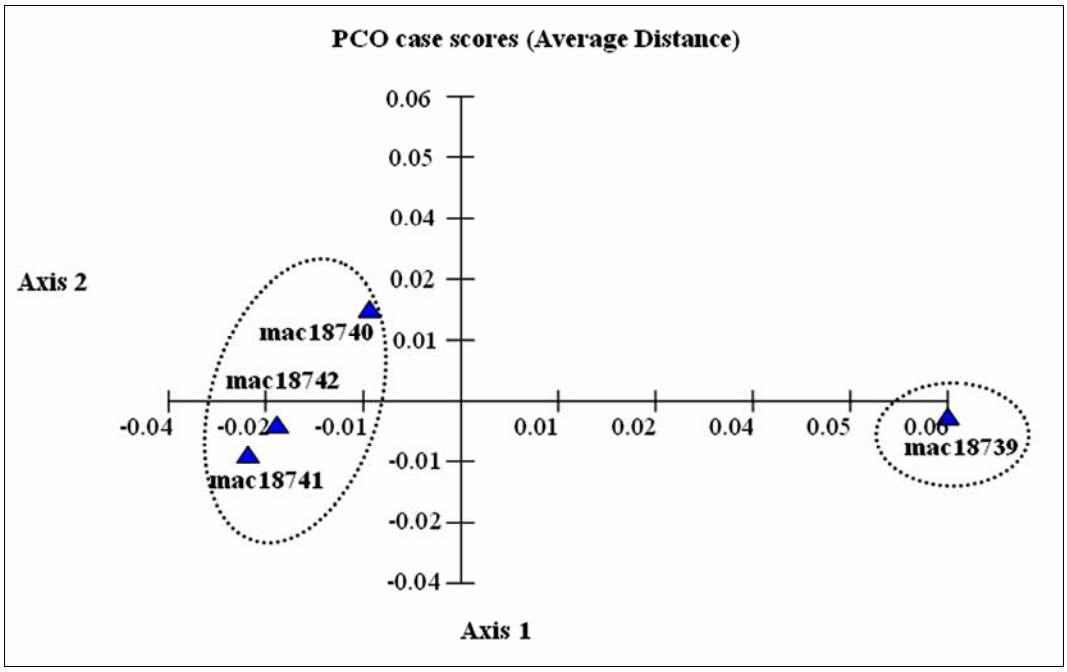
(A *A. macrostachys* (18740) (B ؛*A. macrostachys* (18740) (C ؛*A. macrostachys* (18742) (D ؛*A. macrostachys* (18742) (E ؛*A. macrostachys* (18741) (F ؛*A. macrostachys* (18739) (مقیاس= ۳ میکرومتر).

جدول ۳- داده‌های گرده‌شناختی مربوط به جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*

ویژگی‌های گرده‌شناختی	mac18739	mac18741	mac18740	mac18742
قطر قطبی (µm)	۳۸/۴۷	۴۲/۹۳	۴۲	۴۳/۸۷
قطر استوایی (µm)	۲۵/۵۳	۳۱/۱۴	۲۷/۲۷	۲۹/۲۸
فاصله بین گرانول‌ها (µm)	۳۰/۶۲	۳۱/۷۳	۳۱/۲	۲۹/۵
طول شیار (µm)	۳۰/۴۷	۳۱/۷۳	۳۰/۶	۳۰/۴۷
طول شیار تا رأس (µm)	۴/۴۷	۵/۵۳	۴/۶	۵/۶۸
فاصله دو شیار (µm)	۱۷/۸	۱۹/۸۳	۱۸/۴	۱۹/۴
ضخامت اگزین (µm)	۲/۶۶	۱/۱۹	۱/۲	۱/۱۸
ضخامت گرانول (µm)	۴/۷۶	۵/۶۷	۵/۱۳	۴/۸۲
قطر قطبی/ قطر استوایی	۱/۵	۱/۴	۱/۵۴	۱/۵



شکل ۵- دندروگرام حاصل از تحلیل داده‌های گرده‌شناختی با استفاده از MVSP به روش UPGMA در جمعیت‌های مختلف *A. macrostach*.



شکل ۶- گروه‌های فنتیکی حاصل از تحلیل PCO داده‌های گرده‌شناختی در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*

مطالعه میوز

مطالعه میوز بر روی جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys* نشان داد که سه جمعیت *A. macrostachys* (18739)، *A. macrostachys* (18740) و *A. macrostachys* (18742) دارای عدد کروموزومی n=۸ و دیپلوییـد هستند، درحالی‌که تنها جمعیت *A. macrostachys* (18741) تتراپلوییـد و دارای عدد کروموزومی *n*=۱۶ است. این جمعیت آلوتتراپلوییـد است زیرا در حالت متافاز I (شکل ۷F) دارای ۱۶ کروموزوم و در تلوفاز I و II (شکل ۷M) نیز دارای ۱۶ کروموزوم است. گزارش کروموزومی گونه *A. macrostachys* برای اولین بار ارائه می‌شود.

در این مطالعه از بین ۸۰۸۰ سلول شمارش‌شده، ۲۸۹۹ سلول مرحله زیگوتن/پاکی‌تن، ۹۸۷ سلول مرحله دیاکینز/متافاز I، ۱۵۶۵ سلول مرحله آنافاز Iتلوفاز I، ۸۱ سلول مرحله متافاز II و ۲۶۲۹ سلول مرحله آنافاز II/تلوفاز II را نشان دادند. بعلاوه، بی‌نظمی‌های متعددی مانند وقوع دوهستکی، سیتومیکسی، چسبندگی کروموزوم‌ها، جدا افتادگی کروموزوم‌ها، کروموزوم‌های سرگردان، ناهمزمانی هسته‌ها، دسیناپس، سه‌هسته‌ای، پنج‌هسته‌ای و ... در مراحل مختلف میوز مشاهده شد که به تفصیل در زیر ارائه شده است (شکل ۷). از نظر رفتار کروموزوم‌ها طی میوز، ۳ جمعیت *A. macrostachys* (18740)، *A. macrostachys* (18741) و *A. macrostachys* (18742) در مقایسه با جمعیت *A. macrostachys* (18739) شباهت بیشتری به یکدیگر نشان دادند (جدول ۴).

سیتومیکسی

سیتومیکسی پدیده‌ای است که به طور عمده در نهاندانگان توصیف می‌شود. مهاجرت اجزای کروماتینی بین سلول‌های میوزی مجاور از طریق اتصالات سیتوپلاسمی که توسط پیش‌ساختارهای پلاسمودسماتایی موجود در بافت بساک صورت می‌گیرد، سیتومیکسی نامیده می‌شود. این پدیده به ایجاد گیاهان آنوپلوییدی یا گامت‌های کاهش‌نیافته (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 پلوییدی 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). این پدیده در مرحله پروفاز با فراوانی ۰/۱۶ درصد در جمعیت (18742) *A. macrostachys*، در مرحله دیاکنیز/متافاز I با فراوانی ۰/۳۵ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18742) و در مرحله آنافاز I/تلوفاز I با فراوانی ۰/۱۳ درصد در جمعیت (18740) *A. macrostachys* مشاهده شد (جدول ۴).

کروموزوم‌های سرگردان

کروموزوم‌های سرگردان به معنی عقب افتادن یک یا چند کروموزوم از تفکیک آنافازی است و در مقابل اصطلاح کروموزوم پیشرو به معنی حرکت زود هنگام کروموزوم در آنافاز استفاده می‌شود. علت این عارضه عدم اتصال صحیح کروموزوم‌ها به رشته دوک و منتقل نشدن آنها به قطبین است و چون تمام این مراحل دارای ژن‌های مشخصی است که بر اثر برنامه‌های القایی جهش ژنی شناسایی شده است، علت این پدیده، جهش در ژن‌هایی ویژه است. Pagliarini (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 قطب ها برسند، می‌توانند تولید میکرونوکلئوس کنند که به تشکیل دانه‌های گرده کوچک و شاید گامت‌هایی منجر شود که تعداد کروموزوم‌های نامتعادل دارند. این حالت را می‌توان در گامت‌های آنوپلوییدی مشاهده کرد (Souza *et al.*, 2006). این پدیده در مرحله آنافاز I/تلوفاز I در جمعیت (18740) *A. macrostachys* با فراوانی ۰/۰۸ درصد مشاهده شد (جدول ۴).

چسبندگی کروموزوم‌ها

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 علت چسبندگی کروموزوم‌ها در نظر گرفته می‌شوند. به علت تفاوت در سلول‌هایی که چسبندگی را نشان می‌دهند، به نظر می‌رسد برهم کنش ژنوم- محیط دلیل اصلی وقوع این پدیده باشد (Pagliarini, 2000). این پدیده در مراحل آنافاز/تلوفاز I و II در جمعیت (18739) *A. macrostachys* با فراوانی ۱/۲۹ درصد مشاهده شد (جدول ۴).

دسیناپس

بسیاری از ناهمتایی‌ها و ناهمگنی‌های ژنومی ناشی از جفت نشدن در میوز (اسیناپس) و یا جفت شدن بدون تشکیل کیاسما (دسیناپس) است، به گونه‌ای که بی‌والان‌ها پیش از متافاز کاهش می‌یابند. در حقیقت، اسیناپس حالتی است که در آن کروموزوم‌های همتا در مراحل زیگوتن و پاکی‌تن جفت نمی‌شوند و به صورت یونی‌والان باقی می‌مانند. نتیجه اسیناپس ایجاد تعداد زیادی یونی‌والان در مرحله متافاز است. دسیناپس حالتی است که در آن کروموزوم‌هایی که طی مراحل زیگوتن و پاکی‌تن جفت شده بودند، پیش از رسیدن به مرحله متافاز از هم جدا می‌شوند و در نتیجه، تعداد بسیاری یونی‌والان در این مرحله پدید می‌آید. به علت شباهت تأثیرات این دو پدیده و تولید یونی‌والان‌ها، به منظور تشخیص و تفکیک این دو، بررسی رفتار کروموزوم‌ها در مرحله پاکی‌تن ضروری است. این پدیده در مرحله دیاکینز در جمعیت‌های *A. macrostachys* (18739) و *A. macrostachys* (18740) مشاهده شد (شکل ۷).

دوهستکی

این پدیده در مرحله پروفاز I با فراوانی ۰/۳۴ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18741)، ۳/۲۴ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18739)، ۰/۴۹ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18742) و ۰/۷۶ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18740) مشاهده شد (جدول ۴).

کروموزوم‌های جدا افتاده

این پدیده در مرحله دیاکینز/متافاز I با فراوانی ۲/۰۷ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18741)، ۲/۶۲ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18739)، ۱/۷۳ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18740) و ۶/۸۴ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18742)، در مرحله آنافاز/تلوفاز I با فراوانی ۰/۳۱ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18739)، ۰/۱۶ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18742)، ۰/۶۷ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18740) و ۰/۲۸ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18741) مشاهده شد (جدول ۴).

ناهمزمانی هسته‌ها

این پدیده در مرحله آنافازI/تلوفازI با فراوانی ۱/۲۲ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18740)، ۰/۸۸ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18741) و ۰/۵۱ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18742) مشاهده شد (جدول ۴).

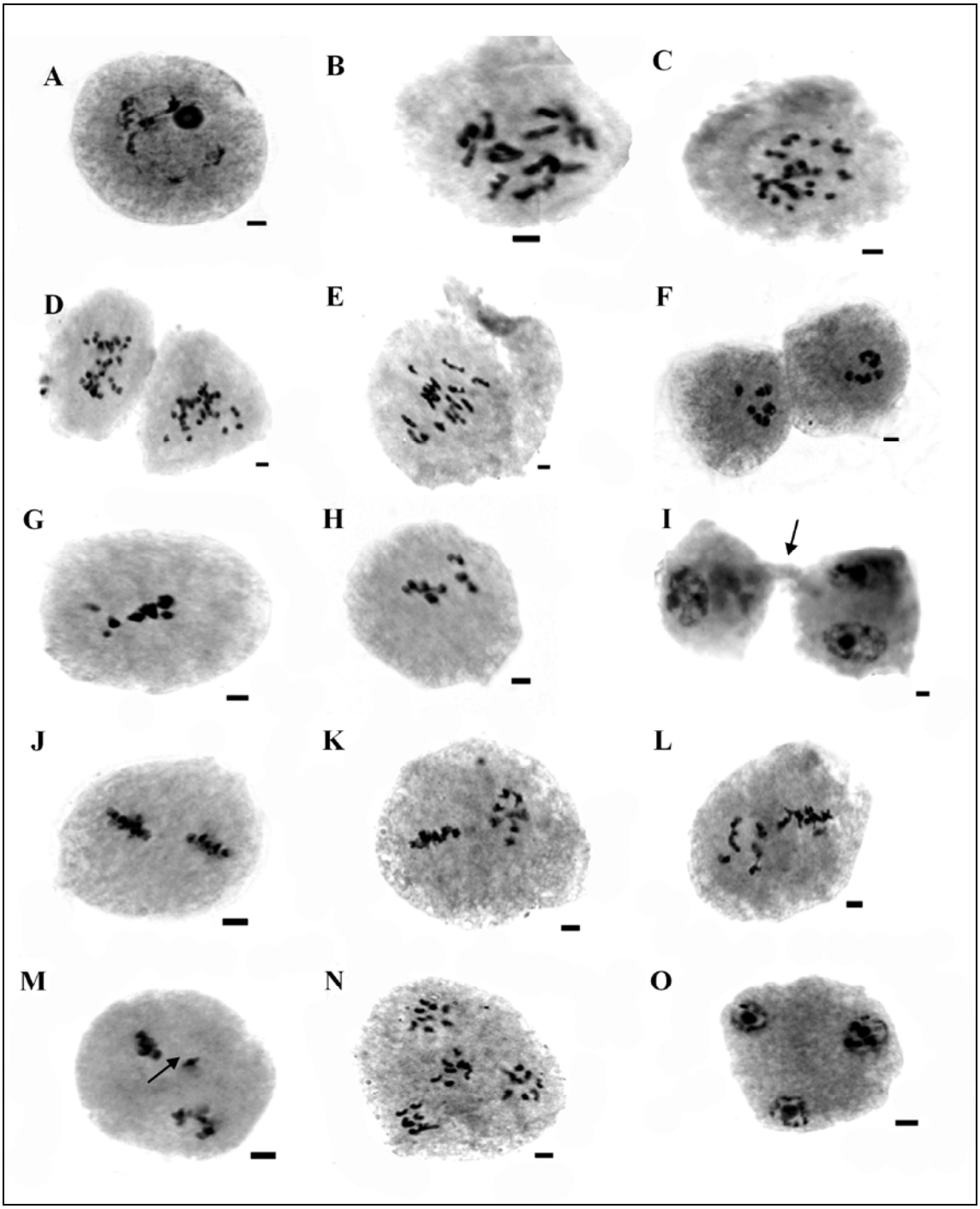
بی‌والان‌های حلقوی

بی‌والان‌های حلقوی در مرحله متافاز I با فراوانی ۰/۶۲ درصد در جمعیت *A. macrostachys* (18739) و ۰/۳۴ در جمعیت *A. macrostachys* (18740) مشاهده شد (جدول ۴).

به طورکلی، نتایج حاصل از تحلیل داده‌های مربوط به رفتار میوز، دو گروه را مشخص نمود. جمعیت *A. macrostachys* (18739) در گروهی مجزا و جمعیت‌های *A. macrostachys* (18740)، *A. macrostachys* (18741) و *A. macrostachys* (18742) در گروهی دیگر قرار گرفتند. جمعیت *A. macrostachys* (18739) در مقایسه با سایر جمعیت‌های مطالعه شده، بیشترین فراوانی سیتومیکسی و چندقطبی بودن را نشان داد.

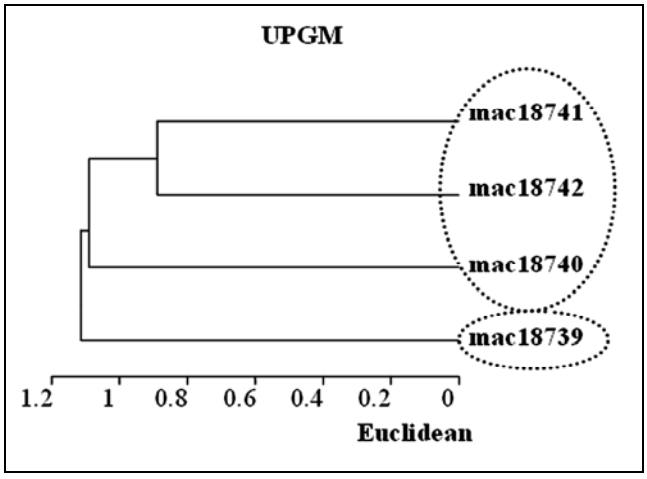
جدول ۴- داده‌های مربوط به عدد کروموزومی و رفتار میوز در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*

ویژگی‌های کروموزومی طی میوز	mac18741	mac18742	mac18740	mac18739
تعداد سلول‌های شمارش شده	۳۱۸۵	۱۲۲۷	۲۳۷۲	۱۲۹۶
پروفاز	۴۱/۱۶	۳۲/۱۱	۲۷/۱۵	۴۲/۳۷
دوهستکی	۰/۳۴	۰/۴۹	۰/۷۶	۳/۲۴
اتصالات سیتوپلاسمی	۵/۶۸	۸/۰۷	۱/۵	۵/۲۵
پل سیتوپلاسمی	۰/۲۲	۰/۵۷	۰/۸۸	۰/۷۷
سیتومیکسی	۰	۰/۱۶	۰/۱۳	۰
دیاکنیز و متافاز I	۱۴/۱۴	۲۰/۸۶	۵/۶۴	۳۴/۱۱
بی‌والان حلقوی	۰	۰	۰/۳۴	۰/۶۲
بی‌والان میله‌ای	۰	۰	۰/۳۸	۰/۶۲
جدا افتادگی کروموزوم	۲/۰۷	۶/۸۴	۱/۷۳	۲/۶۲
اتصالات سیتوپلاسمی	۱/۲۹	۱/۹۵	۰/۶۳	۱
پل سیتوپلاسمی	۰	۰	۰/۵۹	۰
سیتومیکسی	۰	۰/۳۵	۰	۰
آنافاز I و تلوفاز I	۲۱/۹۱	۹/۴۵	۲۲/۳۱	۱۲/۴۱
اتصالات سیتوپلاسمی	۲/۴۲	۲/۹۳	۱/۶۹	۱/۳۱
پل سیتوپلاسمی	۰/۶۳	۰/۰۸	۱/۹۴	۱/۳۸
سیتومیکسی	۰	۰	۰/۱۳	۰
جدا افتادگی کروموزوم	۰/۲۸	۰/۱۶	۰/۶۷	۰/۳۱
کروموزوم سرگردان	۰	۰	۰/۰۸	۰
متافاز II	۱/۹۷	۰/۸۳	۱/۵۱	۰/۰۷
ناهمزمانی هسته‌ها	۰/۸۸	۰/۴۱	۱/۲۲	۰
جدا افتادگی کروموزوم	۰/۰۳	۰	۰/۰۸	۰
آنافاز II و تلوفاز II	۲۰/۸۲	۳۶/۷۵	۴۳/۳۸	۳۳/۸
اتصالات سیتوپلاسمی	۲/۰۷	۲/۳۶	۳/۳۳	۰/۵۴
پل سیتوپلاسمی	۰/۸۵	۰/۹	۰/۵	۱
سه هسته‌ای	۰/۰۶	۰/۲۴	۰/۸۴	۱/۳۱
پنج هسته‌ای	۰/۰۶	۰/۱۶	۰/۴۶	۰/۱۵
عدد کروموزومی	۱۶	۸	۸	۸

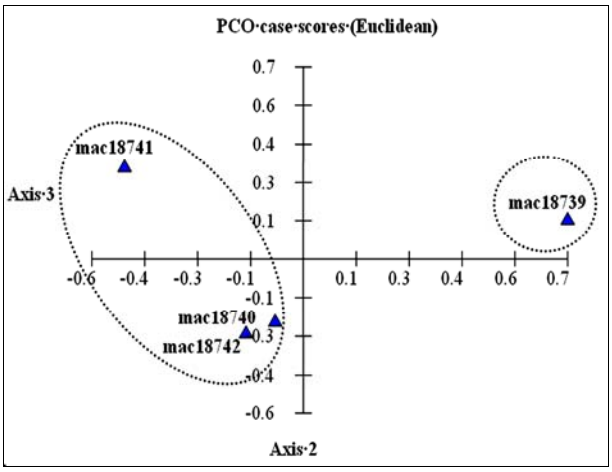


شکل ۷- مراحل مختلف میوز در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*

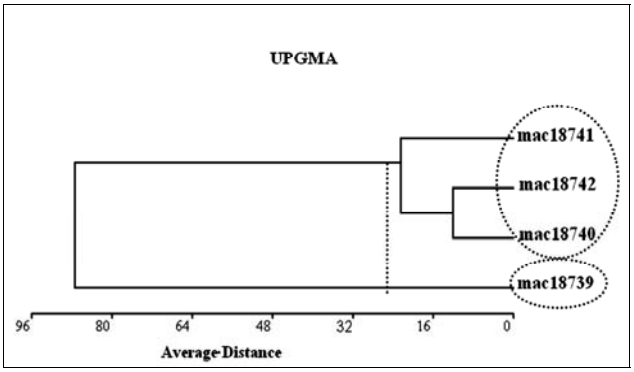
A) پروفاز در (18739) *A. macrostachys*؛ B) دیاکینز در (18741) *A. macrostachys*؛ D-C) دسیناپس در دیاکینز در *A. macrostachys* (18741)؛ E) دیاکینز در (18741) *A. macrostachys*؛ F) متافاز I در (18740) *A. macrostachys*؛ G) جداافتادگی کروموزوم در متافاز I در (18742) *A. macrostachys*؛ H) چسبندگی کروموزوم در متافاز I در (18740) *A. macrostachys*؛ I) سیتومیکسی در تلوفاز I در (18742) *A. macrostachys*؛ J) متافاز II در (18742) *A. macrostachys*؛ L-K) ناهمزمانی هسته‌ها در (18740) *A. macrostachys*؛ M) کروموزوم سرگردان در تلوفاز I در (18740) *A. macrostachys*؛ O) سلول سه‌هسته‌ای در تلوفاز II در (18740) *A. macrostachys*



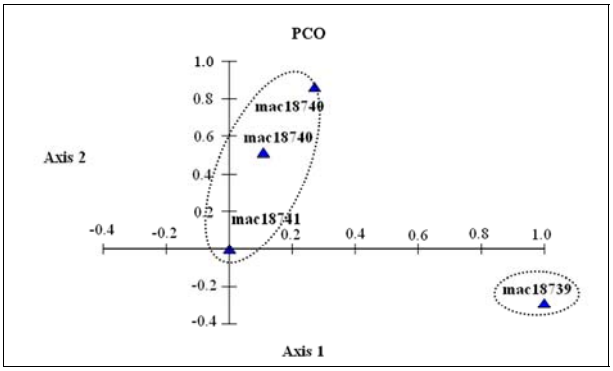
شکل ۸- دندروگرام حاصل از تحلیل داده‌های میوز با استفاده از MVSP به روش UPGMA در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*



شکل ۹- گروه‌های فنتیکی حاصل از تحلیل PCO داده‌های میوز در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*



شکل ۱۰- دندروگرام حاصل از تحلیل کلی ویژگی‌ها با استفاده از MVSP به روش UPGMA در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*



شکل ۱۱- گروه‌های فنتیکی حاصل از تحلیل کلی ویژگی‌ها به روش PCO در جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys*

بحث

در این تحقیق نتایج حاصل از مطالعه میوز بر روی جمعیت‌های مختلف *A. macrostachys* نشان داد که سه جمعیت از چهار جمعیت مورد مطالعه دیپلوییـد و دارای عدد کروموزومی ۲n=2x=۱۶ هستند، درحالی‌که تنها یک جمعیت تتراپلوییـد و دارای عدد کروموزومی ۲n=4x=۳۲ است. عدد کروموزومی این گونه در این مطالعه برای اولین بار گزارش می‌شود. نتایج حاصل از تحلیل داده‌های حاصل از مطالعات ریخت‌شناسی، میوز و گرده‌شناسی در توافق با یکدیگر نشان دادند که اعضای چهار جمعیت مورد مطالعه در دو گروه قرار می‌گیرند. جمعیت *A. macrostachys* (18739) در گروه اول و جمعیت‌های *A. macrostachys* (18740)، *A. macrostachys* (18741) و *A. macrostachys* (18742) در گروه دوم قرار می‌گیرند. جمعیت *A. macrostachys* (18739) از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی، به دلیل داشتن برگ، دمبرگ، دم‌گل‌آذین و دندانه کاسه بلندتر، تعداد جفت برگچه‌های کمتر و بال و ناو کوتاه‌تر، از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی دانه گرده،

به دلیل دارا بودن قطر قطبی و قطر استوایی کوچک‌تر و فاصله بین دو شیار کوتاه‌تر و در نهایت،از نظر ویژگی‌های رفتاری میوز، به دلیل برخی بی‌نظمی‌های میوزی با فراوانی بیشتر مانند دوهستکی در پروفاز، پل سیتوپلاسمی و سه هسته‌ای در آنافاز II و تلوفاز II و عدم ناهمزمانی هسته‌ها در متافاز II از دیگر جمعیت‌های *A. macrostachys* جدا می‌شود.

منابع

Aryavand, A. (1983) IOPB Chromosome Number Reports LXXX. Taxon 32: 504-511.

Erdtman, G. (1960) The acetolysis method. Svensk Botanisk Tidskrift 54: 561-564.

Maassoumi, A. A. (1987) Notes on the genus *Astragalus* in Iran I, cytotaxonomic studies on some species. Iranian Journal of Botany 3: 117-128.

Maassoumi, A. A. (1989) The genus *Astragalus* in Iran. Vol. 2, Research Institute of Forests and Rangelads, Tehran.

Maassoumi, A. A. (1993) Revision of *Astragalus* L. sect. *Malacothrix* Bunge (Leguminosae) in Iran. Sendtnera 1: 157-240.

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.

Podlech, D. and Maassoumi, A. A. (2003) New species of *Astragalus* L. (Fabaceae) from Iran, mainly of sects. *Incani* and *Malacothrix*. Feddes Repertorium 11: 320-349.

Ranjbar, M. (2007) A new species of *Astragalus* sect. *Malacothrix* (Fabaceae) from Iran, with supplementary notes on the section. Nordic Journal of Botany 24: 533-538.

Ranjbar, M. and Karamian, R. (2004) Taxonomic study of *Astragalus* sect. *Erioceras* (Fabaceae) in Iran, additional notes and key to the species. Nordic Journal of Botany 22: 177-181.

Ranjbar, M., Karamian, R. and Enayati Akmal, A. (2010) Meiotic behavior and chromosome number of 5 species of the *Astragalus* sect. *Megalocystis* Bunge (Fabaceae) in Iran. Cytologia 75(1): 49-58.

Ranjbar, M., Maassoumi, A. A. and Podlech, D. (2002) *Astragalus* sect. *Alopecuroidei* (Fabaceae) in Iran, complementary notes with a key to the species. Willdenowia 32: 85-91.

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.

Biosystematic study of 4 populations of *Astragalus macrostachys* DC. of *Astragalus* sect. *Malacothrix* Bunge in Iran

Massoud Ranjabr*, Roya Karamian and Aghdas Enayati Akmal

Department of Biology, Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan

Abstract

In this investigation, meiotic behavior, morphological and pollen morphological characters of 4 populations belonging to *A. macrostachys* DC. of *Astragalus* sect. *Malacothrix* Bunge in Iran were studied. Results showed that 3 populations were diploid and represented 2n=2x=16 chromosome number and the only tetraploid population showed 2n=4x=32 chromosome number. Although the taxa represented regular bivalent pairing at meiosis, some abnormalities such as laggard and fragmented chromosomes in anaphase/telophase I, II and diakinesis/methaphase I, cytomixis in anaphase/telophase I, II, multipolar cells in telophase II, binuclei cells in prophase I and bridges in anaphase I and telophase II were observed. Data analysis from meiotic study of four populations in the species using UPGMA and PCO methods, showed that, in the taxa studied, there were two main groups.

Key words: *Astragalus* L., sect. *Malacothrix*, Meiotic behavior, Morphology, Pollen morphology

* Correspong Author: ranjabr@basu.ac.ir