بررسی کروموزومی گونه‌های جنس خلّر (*Lathyrus sp*) در شمال غربی ایران

محمدحسن صادقی[۱]، محسن سبزی نوجه‌ده[۲*]، محمد اسماعیل‌پور[۲] و احمد رزبان حقیقی[۳]

[۱] **ایران، تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات**

[۲] **ایران، تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، گروه جنگل‌داری و باغبانی**

[۳] **ایران، تبریز، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵

چکیده

جنس خلّر (*Lathyrus*) به‌سبب مصرف علوفه‌ای، تثبیت نیتروژن هوا، حفاظت از خاک، زینتی بودن، کشت آن به‌عنوان کود سبز و خواص دارویی از اهمیت زیادی برخوردار است. سه گونه از جنس خلّر (*Lathyrus cicera*، *L. incurvus* و *L. pratensis*) از مناطق شمال غربی ایران انتخاب شدند و بر اساس صفات کروموزومی مورد مطالعه قرار گرفتند. از بین این گونه‌ها، ویژگی-های کاریوتیپی دو گونه *L. incurvus* و *L. pratensis* برای اولین‌بار مورد بررسی قرار گرفتند. پنج صفحه متافازی برای هر گونه بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که هر سه گونه مورد مطالعه دیپلوئید و دارای 2n=2x=14 می‌باشند. میانگین طول کروموزومی‌های گونه *L. cicera* ۷/۶۰ میکرومتر و فرمول کاریوتیپی آن 5m+2sm بود. میانگین طول کروموزومی‌های *L. incurvus* و *L. pratensis* به‌ترتیب ۶/۱۶ و ۶/۳۰ میکرومتر و هر دو دارای فرمول کاریوتیپی مشابه 1m+6sm بودند. از نظر شاخص تقارن استبینز همه کاریوتیپ‌ها نسبتا متقارن بودند و در کلاس 2A قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس برای صفات طول بازوی کوتاه و طول کروموزوم در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری را نشان داد. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح پنج درصد نشان داد که *L. cicera* دارای بیشترین طول کروموزوم است. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای، گونه‌ها را در دو خوشه قرار داد. خوشه اول شامل گونه یک‌ساله *L. cicera* و خوشه دوم شامل گونه‌های چندساله *L. incurvus* و *L. pratensis*بود. با توجه به تشابه کاریوتیپی این دو گونه، به نظر می‌رسد تولید دورگه آن‌ها بتواند در برنامه‌های به‌نژادی جنس خلّر مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تعداد کروموزوم، سیتوژنتیک، کاریوتیپ، کاریوتیپ متقارن، جنس خلّر

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۷۳۴۶۲۵۹ ، پست الکترونیکی: m.sabzinojedeh@gmail.com

مقدمه

جنس خلّر (*Lathyrus*) از تیره *Fabaceae* بوده و دارای ۱۶۰ گونه یک‌ساله و چندساله و حدود ۳۰ زیرگونه است (۷ و۲۳). گونه‌های این جنس در مناطق معتدل نیمکره شمالی پراکنش داشته و تا مناطق گرم‌سیر آفریقای شرقی و آمریکای جنوبی گسترش یافته‌اند. مرکز تنوع اصلی آن مدیترانه شرقی است و دو مرکز کوچک‌تر نیز در شمال و جنوب آمریکا دارد (۷ و ۲۰). به‌سبب مصرف علوفه‌ای آن، در گذشته تلاش‌های اندکی در جهت اصلاح و توسعه آن به‌عنوان محصول غذایی صورت گرفته است (۲۸). برخی از گونه‌های این جنس جهت تغذیه انسان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۷). به‌سبب دارا بودن سیستم ریشه‌ای گسترده، گیاهان این گونه جهت حفاظت خاک و کنترل فرسایش نیز کشت می‌شوند. باکتری‌های همزیست با ریشهٔ این گیاهان، نیتروژن موجود در هوا را تثبیت می‌کنند. بعضی از گونه‌های این جنس به عنوان گیاه زینتی به‌کار می‌روند (۱۲). همچنین از این گیاهان به‌عنوان کود سبز

جهت غنی‌سازی خاک استفاده می‌گردد (۹). خلّر با داشتن رشد رویشی سریع، اندام‌های آب‌دار، نسبت کربن به نیتروژن پایین، نیاز آبی کم، داشتن تحمل به سرما و پرشاخ و برگ بودن از امتیازات ویژه‌ای به‌عنوان کود سبز برخوردار است (۲۱). بسیاری از گونه‌های این جنس به‌علت مقاوم بودن به محیط‌های کم‌باران، مزیت خوبی جهت استفاده در تناوب زراعی دارند (۱۴). به‌طوری‌که تناوب این گیاهان با جو سبب افزایش عملکرد شده و مخصوصاً زیست‌توده کل را افزایش می‌دهند. افزون‌برآن، این گیاهان با کاهش بیماری‌ها و تغذیهٔ نیتروژنی باعث پایداری سیستم کشاورزی می‌گردند (۶).

مطالعات سیتوژنتیکی اطلاعات وسیعی در مورد ساختار ژنتیکی گیاهان بدست می‌دهد که به‌عنوان اطلاعات بنیادی در روش‌های به‌نژادی مفید واقع می‌گردند (۲۷). از کاربردهای مطالعات کروموزومی می‌توان به استفاده از این اطلاعات در دورگه‌گیری، یاخته‌آرایه‌شناسی (سیتوتاکسونومی)، تعیین سطح پلوئیدی و مطالعه ناهنجارهای کروموزومی اشاره کرد. در اکثر گونه‌های جنس خلّر عدد کروموزومی پایه x=۷ است (۸ و ۱۰ و ۲۶) ولی منابع موجود، غالباً اطلاعات کافی در مورد وضعیت کاریوتیپی گونه‌های مختلف این جنس را مشخص نمی‌کنند. از طرفی انجام مطالعات سیتوژنتیک در گیاهان بومی و وحشی اهمیت زیادی دارد (۱ و ۳ و ۴ و ۵). به‌منظور شناخت ساختار سیتوژنتیکی گونه‌های مختلف جنس خلّر بررسی‌هایی روی سه گونه از این جنس شامل *L. cicera, L. incurvus* و *L. pratensis* انجام گردید (شکل ۱). از سه گونه مورد مطالعه در این تحقیق، ویژگی‌های کاریوتیپی دو گونه *L. incurvus* و *L. pratensis* برای اولین‌بار در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

در این تحقیق بذر گونه‌های مورد مطالعه از مناطق شمال غربی ایران جمع‌آوری و از لحاظ ویژگی‌های کاریوتیپی مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱).

شکل ۱ – گل‌های سه گونه از جنس خلّر

جدول۱ – مشخصات گونه‌های خلّر مورد مطالعه

گونه	محل جمع‌آوری‌شده	فرم رویشی	ارتفاع محل (متر)
Lathyrus cicera	مرند، روستای پیام، میشوداغی	یک‌ساله	۱۶۰۰
L. incurvus	میانه، بخش مرکزی	چندساله	۱۷۵۰
L. pratensis	خداآفرین، عباس‌آباد	چندساله	۱۸۵۰

برای مطالعه کروموزومی، از یاخته‌های مریستمی در حال تقسیم میتوزی نوک ریشه‌های کمتر از یک سانتی‌متر استفاده شد. بذور جهت ریشه‌دار شدن در پتری‌دیش روی کاغذ صافی مرطوب‌شده قرار داده شدند. در این تحقیق از پیش‌تیمار آلفابرمونفتالین به منظور مختل کردن فعالیت رشته‌های دوک، صاف و شفاف نمودن سیتوپلاسم، پخش نمودن و وضوح ساختمان کروموزومی‌های منقبض شده، جداسازی تیغه میانی یاخته‌ها و برطرف‌سازی ذرات

نامطلوب و ناخواسته از سطح بافت‌ها جهت نفوذ و جذب سریع‌تر مواد تثبیت‌کننده استفاده شد (۱۵). ریشه‌ها در محلول تثبیت‌کننده لویتسکی (Lewitsky) به‌مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شدند. سپس ریشه‌ها به‌مدت ۲۴ـ۱۶ ساعت در دمای ۳۴ـ۳۰ درجه سلسیوس در رنگ هماتوکسیلین قرار داده شدند. برای از بین بردن ضمائم دیواره یاخته‌ای از آنزیم سیتاز استفاده شد. نوک ریشه از آنزیم سیتاز خارج و در روی لام، عمل له‌کردن (squashing) نمونه‌ها در داخل یک قطره اسیداستیک ۴۵٪ انجام گردید. درنهایت، نمونه‌های آماده‌شده با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. صفحه‌های متافازی با استفاده از نرم‌افزار Adobe premiere ثبت شدند. اندازه‌گیری طول بازوهای کروموزوم‌ها در برنامه Micro measure انجام شد. ابعاد کروموزوم‌ها از جمله طول بازوی بزرگ، طول بازوی کوچک، طول کل کروموزوم، نسبت بازوها (بازوی بلند به بازوی کوتاه) و شاخص سانترومری (CI) با نسبت طول بازوی‌کوتاه به مجموع طول بازوها اندازه‌گیری شدند. سپس ایدیوگرام همه گونه‌ها رسم شد. به‌منظور تشخیص تفاوت بین گونه-ها از لحاظ صفات موردمطالعه از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به روش دانکن استفاده شد. برای بررسی تقارن کاریوتیپی از شـاخص‌هـای زیـر استفاده شده است:

طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم (S%) با رابطه ۱۰۰× (طول کل کروموزوم‌ها/ طول کوتاه‌ترین کروموزوم) محاسبه شد. شاخص عدم‌تقارن درون کروموزومی (A_1) با رابطه ($A1 = 1 - \frac{\left(\sum_{i=1}^{n} \frac{Si}{Li}\right)}{n}$) که مقدار آن بین ۰ تا ۱ است. در این رابطه n تعداد جفت کروموزوم‌های همولوگ، S_i طول متوسط بازوهای‌کوچک و L_i طول متوسط بازوهای بزرگ است. شاخص عدم‌تقارن بین کروموزومی با رابطه (A_2= Sd/ $\bar{x}$) محاسبه شد که Sd انحراف استاندارد طول کروموزوم‌ها برای هر گونه و $\bar{x}$ میانگین طول کروموزوم‌ها است (۲۴). شکل کلی کاریوتیپ (TF%) که با رابطه ۱۰۰× (مجموع طول کل کروموزوم‌ها / مجموع طول بازوهای‌کوتاه) محاسبه شد. دامنه طول نسبی کروموزوم (DRL) که بیانگر اختلاف حداقل و حداکثر طول نسبی کروموزوم‌ها در یک کاریوتیپ است. دسته‌بندی کروموزوم‌های هر کاریوتیپ براساس روش لوان (۲۲) انجام شد. همچنین مقایسه تقارن کاریوتیپ به روش جدول دوطرفه استبینز (SC) صورت گرفت (۲۹). میزان کروماتین نسبی (value of relative chromatin (VRC)) از تقسیم مجموع طول کل کروموزوم‌ها بر تعداد کروموزوم‌ها بدست آمد. درنهایت تجزیهٔ خوشه‌ای بر اساس صفات کروموزومی به روش Ward انجام شد. برای انجام آنالیزهای آماری و رسم نمودارها از نرم‌افزارهای Excel و SAS نسخه ۹/۱ استفاده شد.

نتایج

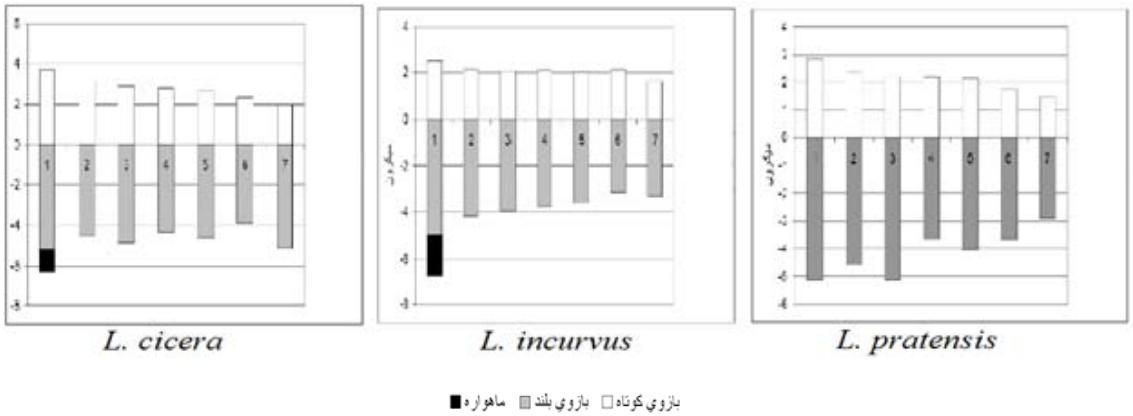
شمارش کروموزومی و تعیین کاریوتیپ: نتایج بررسی میکروسکوپی نشان داد عدد کروموزومی کلیه یاخته‌های مورد بررسی از هر گونه این جنس ۷ و همگی دیپلوئید بودند (شکل ۲ و ۳).

L. cicera *L. incurvus* *L. pratensis*

شکل ۲- کروموزوم‌های متافازی گونه‌های جنس خلّر

شکل ۳ – کاریوتیپ گونه‌های جنس خلّر

ترسیم ایدیوگرام: پس از اندازه‌گیری آماره‌های کروموزومی، با استفاده از میانگین طول بازوی‌بلند و کوتاه در هر گونه، ایدیوگرام کروموزومی مربوط به هر گونه رسم شد (شکل ۴).



شکل۴ – ایدیوگرام گونه‌های جنس خلّر

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات کاریوتیپ: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های کاریوتیپی گونه-های مورد بررسی نشان داد که این گونه‌ها از نظر صفات طول بازوی‌کوتاه و طول کروموزوم در سطح یک درصد تفاوت معنی‌دار داشتند. اما از نظر طول بازوی‌بلند، نسبت طول بازوها و شاخص سانترومری تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲ – تجزیه واریانس صفات مورفولوژی کروموزوم‌ها در گونه‌های مورد مطالعه

منابع تغییر	L	S	L/S	L + S	CI
بین‌گونه‌ها	۰/۸۲۱۷ ns	۰/۷۹۶ **	۰/۱۰۴ ns	۳/۱۴۱ **	۰/ ۳۶ ns
اشتباه آزمایشی	۰/۰۲۵۸	۰/۰۶۷۵	۰/۰۳۶۹	۰/۵۱۰۴	۰/۰۰۰۸
ضریب تغییرات	۳/۹۴	۱۱/۲۶	۱۰/۳۸	۱۰/۶۷	۸/۳۵

ns و ** به‌ترتیب اختلاف غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

مقایسه میانگین گونه‌های مورد مطالعه از لحاظ ویژگی‌های کاریوتیپی توسط آزمون دانکن نشان داد که گونه *L. incurvus* از نظر صفات طول کروموزوم، طول بازوی-بلند و طول بازوی‌کوتاه مقدار کمتری را نسبت به گونه‌های دیگر به خود اختصاص داده است (جدول ۳). نتایج همچنین نشان داد که گونه *L. incurvus* با ۶/۱۶ و گونه *L. cicera* با ۷/۶۰ به‌ترتیب کمترین و بیشترین طول کروموزوم را داشتند. گونه *L. incurvus* نیز با ۳/۸۵ و گونه

L. cicera با ۴/۶۵ به‌ترتیب کمترین و بیشترین طول بازوی‌بلند را به خود اختصاص دادند و گونه‌های *L .incurvus* و *L. cicera* به ترتیب با ۱/۹۹ و ۲/۷۹ کمترین و بیشترین طول بازوی کوتاه را نشان دادند (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین گونه‌های مورد مطالعه از نظر صفات کروموزومی

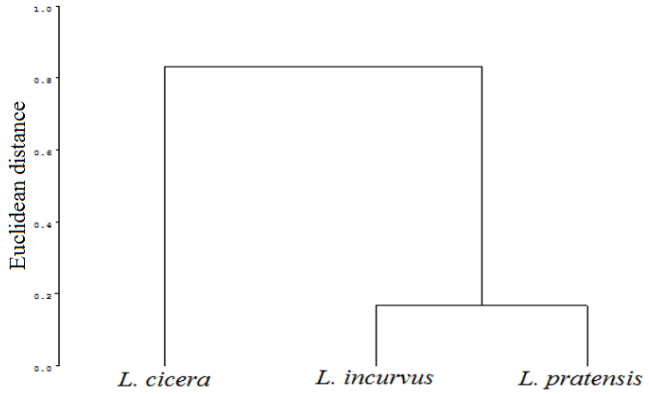
گونه	میانگین طول کروموزوم‌ها (میکرومتر)	میانگین طول بازوی بلند (میکرومتر)	میانگین طول بازوی کوتاه (میکرومتر)	نسبت طول بازوها	شاخص سانترومری
L. cicera	۷/۶۰ ^{a}	۴/۶۵^{a}	۲/۷۹^{a}	۱/۷۲^{a}	۰/۳۷^{a}
L .incurvus	۶/۱۶^{b}	۳/۸۵^{b}	۱/۹۹^{b}	۱/۸۶^{a}	۰/۳۴^{a}
L. pratensis	۶/۳۰^{b}	۳/۷۴^{ab}	۲/۱۳^{b}	۱/۹۶^{a}	۰/۳۴^{a}

شاخص‌های تقارن کاریوتیپ در هر گونه: شاخص‌های تقارن کاریوتیپی شامل طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (S٪)، دامنه طول نسبی کروموزوم (DRL)، شاخص‌های A1 و A2، درصد شکل کلی (TF٪)، فرمول کاریوتیپی لوان و کلاس تقارن استبینز در هر گونه محاسبه شد (جدول ۴). فرمول کاریوتیپی بر اساس روش لوان در گونه *L. cicera* به‌صورت ۵m+۲sm و در گونه‌های *L .incurvus* و *L. pratensis* به فرم ۱m+۶sm بدست آمد. کروموزوم‌ها از نوع متاسانتریک و ساب-متاسانتریک بوده و همگی در یک سطح از تقارن کاریوتیپی (2A) قرار داشتند. دسته‌بندی بر اساس روش استبینز نیز نشان داد که همه گونه‌ها دارای کلاس تقارن کاریوتیپی 2A بودند (جدول ۴).

جدول ۴ – مشخصات تقارن کاریوتایپی در گونه‌های مورد مطالعه

گونه	طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم(S٪)	فرمول کاریوتیپی (لوان)	دسته‌بندی تقارن کاریوتیپی(SC)	(A_1)	(A_2)	(%TF)	DRL	VRC
L. cicera	۱۰/۰۵	۵m+۲sm	۲A	۰/۳۹	۰/۱۷	۳۶/۷۲	۷/۵۹	۷/۶۰
L .incurvus	۱۱/۳۶	۱m+۶sm	۲A	۰/۴۴	۰/۲۳	۳۳/۸۸	۹/۷۷	۶/۱۷
L. pratensis	۱۰/۰	۱m+۶sm	۲A	۰/۴۷	۰/۱۹	۳۳/۹۱	۷/۹۸	۶/۳۱

تجزیه خوشه‌ای گونه‌های مورد مطالعه: نتایج تجزیه خوشه‌ای که با استفاده از صفات کروموزومی مورد مطالعه به روش Wards انجام شد، نشان داد گونه‌های مورد مطالعه در دو خوشه مجزا گروه‌بندی شدند (شکل ۵). گونه یک-ساله *L. cicera* در یک گروه و دو گونه *L. incurvus* و *L. pratensis* که چندساله هستند، در گروه دیگر قرار گرفتند.



شکل ۵ – دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر پایه ویژگی‌های کاریوتیپی در گونه‌های مورد مطالعه

بحث و نتیجه گیری

همه گونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق دیپلوئید بودند و فرمول ژنومی آن‌ها ۲n=۲x=۱۴ می‌باشد. در تحقیقی که بروی کاریوتایپ ۱۶ گونه از جنس خلّر در ترکیه نیز انجام شد، فرمول ژنومی همه گونه‌ها 2n=2x=14 بود به استثنای *L. palustris* که دارای 2n=2x=42 بود (۱۶). ماهواره‌ای به طول ۱/۰۸ میکرومتر در بازوی‌بلند کروموزوم شماره یک گونه *L. cicera* وجود داشت (شکل ۴). این گونه دارای پنج کروموزوم متاسنتریک (m) و دو کروموزوم ساب‌متاسنتریک (sm) بود. ماهواره‌ای به طول ۱/۷۱ میکرومتر در بازوی‌بلند کروموزوم شماره یک گونه *L. incurvus* مشاهده گردید. در کروموزوم‌های گونه *L. pratensis* ماهواره‌ای مشاهده نگردید. مطالعه سیتوژنتیک گیاهان به‌منظور تعیین سهم هریک از صفات کاریوتیپی در ایجاد تنوع گونه‌های مختلف گیاهان انجام می‌گیرد. تجزیه واریانس براساس چهار ویژگی طول بازوی‌بلند (L)، طول بازوی‌کوتاه (S)، نسبت بازوها (L/S) و طول کروموزوم (L+S) نشان داد در بین گونه‌های جنس خلّر در شمال غربی ایران، در طول بازوی‌کوتاه (S) و طول کروموزوم (L+S) اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود دارد که دلالت بر تنوع ژنتیکی کافی به‌منظور گزینش برای صفات موردنظر می‌باشد.

مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد برای چهار صفت طول بازوی‌بلند (L)، طول بازوی-کوتاه (S)، نسبت بازوها (L/S) و طول کروموزوم (L+S) انجام گردید که از بین این صفات، دو صفت L وL/S غیرمعنی‌دار شدند. در هر دو صفت S و L+S، گونه *L. cicera* بیشترین مقدار و گونه *L. incurvus* کمترین مقدار را دارا می‌باشد. بنابراین در گزینش براساس دو صفت بازوی‌کوتاه (L) و طول کروموزوم (L+S)، گونه *L.cicera* الویت خواهد داشت.

از لحاظ کلاس تقارن استبینز سه گونه مورد بررسی تفاوتی نشان ندادند و همه در کلاس 2A قرار گرفتند. از منظر شاخص A_1 که نشان‌دهنده عدم‌تقارن درون‌کروموزومی است، بیشترین مقدار (A_1=۰/۴۷) در *L. pratensis* و کمترین مقدار (A_1=۰/۳۹) در *L. cicera* مشاهده شد. بنابراین کاریوتیپ *L. cicera* متقارن‌تر از دو گونه *L. incurvus* و *L. pratensis* است. فرمول کاریوتیپی نیز این موضوع را تأیید کرده است. گونه *L. cicera* با فرمول کاریوتیپی ۵m+۲sm دارای پنج جفت کروموزوم متاسنتریک و دو جفت کروموزوم ساب‌متاسنتریک است درحالی‌که گونه‌های *L. incurvus* و *L. pratensis* با فرمول کاریوتیپی ۱m+۶sm هر کدام دارای یک جفت کروموزوم متاسنتریک و شش جفت کروموزوم ساب‌متاسنتریک هستند. وجود کروموزوم‌های ساب‌متاسنتریک دلیل بر عدم‌تقارن کاریوتیپ و حرکت گونه به سوی تکامل بیشتر است.

با توجه به این که هرچه میزان شکل کلی کاریوتیپ (TF%) به عنوان شاخص عدم‌تقارن درون کروموزومی به عدد ۵۰ نزدیک‌تر باشد نشانگر تقارن بیشتر کاریوتیپ است، بنابراین گونه *L. cicera* با مقدار ۳۶/۷۲ متقارن‌تر از دو گونه دیگر می‌باشد. از لحاظ شاخص‌های A_2 و DRL که هر دو دلالت بر اختلاف بین کروموزومی گونه‌ها دارند، *L. cicera* متقارن‌تر از سایر گونه‌ها است. هرچه اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها (DRL) بیشتر باشد کاریوتیپ از تقارن کمتری برخوردار است. در گونه‌های مورد بررسی بین روند تغییرات دو شاخص فوق رابطه مستقیم و مثبتی وجود دارد. از منظر میزان کروماتین نسبی، *L. cicera* بیشترین VRC را داراست که نشان‌دهنده تکامل کمتر و تقارن بیشتر (۱۱و۱۹و۲۵) گونه بوده و با نتایج سایر شاخص‌های ارزیابی تقارن کاریوتایپ مطابقت دارد. گونه‌های مختلف جنس *Vicia* که با جنس خلّر در تیره Fabaceae قرار دارند، نیز از نظر طول کروموزوم و شاخص‌های تقارن کاریوتایپ با هم متفاوت بوده به-

طوری‌که *V. articulate* متقارن‌ترین و *V. villosa* نامتقارن‌ترین کاریوتایپ را داشت (۲۳).

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد که گونه یک‌ساله *L. cicera* در یک گروه و دو گونه *L. incurvus* و *L. pratensis* که چندساله هستند، در گروه دیگر قرار گرفتند. گونه‌هایی که از لحاظ پارامترهای کاریوتایپی و خواص کروموزومی به هم شبیه هستند، در دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای در یک گروه واقع می‌شوند و در بحث روابط بین‌گونه‌ای قرابت بیشتری دارند و در صورت وجود صفات مطلوب در این گونه‌ها امکان تلاقی بین‌گونه‌ای برای جمع‌آوری ژن‌های مطلوب در یک گیاه وجود خواهد داشت (۲ و ۳۰). هم‌گروه‌شدن دو گونه *L. incurvus* و *L. pratensis* این نکته را می‌رساند که جهت تولید دورگه‌های بین‌گونه‌ای در طرح‌های به‌نژادی، احتمال ناسازگاری کروموزومی این دو گونه کمتر خواهد بود. قرابت نزدیک *L. cicera* با *L. sativus* براساس مطالعات ریخت‌شناختی (۱۸) و نشانگری (۱۲) و امکان تولید دورگه‌های بین‌گونه‌ای *L. sativus* × *L. cicera* (۳۰) و نیز ارتباط نزدیک *L. cicera* با *L. gorgoni* (۱۳) در تحقیقات قبلی گزارش شده است. طبق بررسی‌های انجام شده توسط محققین این پژوهش، در مورد امکان تولید دورگه‌های بین‌گونه‌ای *L. pratensis* و *L. incurvus* گزارشی مشاهده نشده است. بنابراین به نظر می‌رسد مطالعه حاضر بتواند سرآغازی برای تولید موفق دورگه یادشده برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی جنس خلّر باشد.

منابع

۱- حیدری پ. ۱۳۹۰. آنالیز کاریوتیپ و بررسی تنوع سیتوژنتیکی توده‌های بومی گیاه دارویی بادرنجبویه در ایران، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام.

۲- شریعت، آ. ۱۳۸۰. بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌هایی از یونجه یک‌ساله با تکیه بر مطالعات سیتوژنتیکی، الکتروفورزی و مورفولوژیکی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد کشاورزی، دانشگاه سیستان و بلوچستان.

۳- قاسمی، ف.، جلیلی، ع.، میرزاده واقفی، س. و کاظمی، س. ۱۳۹۵. بررسی سیتوژنتیک جمعیت‌های گونه *Plantago major* در شمال غرب ایران. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۲۴ (۲): ۳۰۵ – ۳۱۳.

۴- مازوجی ع.، سلیم‌پور، ف. و طلایه‌پور، ف، ۱۳۹۵. مطالعه کاریوتیپ سه ژنوتیپ از گونه (*Achillea millefolium*) در ایران، زیست‌شناسی تکوینی ۴: ۳۹-۴۴.

۵- یوسفی، و، نجفی ع، زبرجدی، ع، صفری، ه. ۱۳۹۳. بررسی تنوع کاریوتیپی گونه‌های جنس *Thymus* از نقاط مختلف ایران، پژوهش های ژنتیک گیاهی ۱: ۶۵-۷۶.

6- Abd El-Moneim, A. M., Cocks, P. S. 1993. Adaptation and yield stability of selected lines of *Lathyrus spp*. under rain fed conditions in West Asia. Euphytica 66: 89-97.

7- Alkin, R., Goyder, D.G., Bisby F.A., White, R.G. 1986. Names and synonyms of species and subspecies in the Vicieae. Vicieae Database Project 7: 1-75.

8- Battistin, A., Biondo, E., Coelho, L. G. M. 1999. Chromosomal characterization of three native and one cultivated species of *Lathyrus* in South Brazil. Genet. Mol. Biol. 22 (4): 557-563.

9- Brahim, B. N., Combes, D., Marrachi, M. 2001. Autogamy and allogamy in genus *Lathyrus*. Lathyrus Lathyrism Newsletter 2.

10- Campbell, C.G., Mehra, R. B., Agrawal, S. K., Chen, Y. Z., Abd El Moneim, A. M., Kawaja, H. I. T., Yadov, C. R., Tay, J. V., Araya, W. A. 1994. Current status and future strategy in breeding grass pea (*Lathyrus sativus*). Euphytica 73: 167-175.

11- Chandola, R. P., Jain, S. N. 1979. Karyomorphological studies in *Pennisetium typhoides L*. Caryologia 35: 181-196.

12- Chtourou-Ghorbel, N., Lauga Combes, B., Marrakehi, M. 2001. Comparative genetic diversity studies in genus *Lathyrus* using RFLP and RAPD markers. Lathyrus Lathyrism Newsletter 2. 61-68.

13- Croft, A. M., Pang, E. C. K., Taylor, P.W. J. 1999. Molecular analysis of *Lathyruss sativus L.*

(grass pea) and related *Lathyrus* species. Euphytica 107: 167-176.

14- Elci, S. 1965. Determination and comparison of chromosome numbers and morphologies of certain vetch species in Turkey. University of Ankara, Publication of Agriculture Faculty, 254, Research publication, 158: 1-30.

15- Gennur, M.N., Habib, A.F., Kadapa, G. 1988. Karyomorphological studies nine Asiatic cotton I. Karyotypic analysis of species and races of Asiatic cottons based on chromatin content. Cytologia, 53:97-106.

16- Gunes, F., Ali, C. 2008. Karyotype analysis of some *Lathyrus* L. species (Fabaceae) from the Thrace region (Turkey-in-Europe), Caryologia. 61 (3): 269-282.

17- Hedric, U. P. 1972. Stutevants edible plants of the world. Dover Publications, New York, USA, 775 p.

18- Jackson, M.T., Yunus, A. G. 1984. Variation in the grass pea (*Lathyrus sativus L.*) and wild species. Euphytica, 33 (2): 549-559.

19- Klamt, A., Schifino-Wittmann, M.T. 2000. Karyotype morphology and evolution in some *Lathyrus* (Fabaceae) species of southern Brazil. Genet. Mol. Biol. 23: 463- 467.

20- Kupicha, F.K. 1983. The inferageneric structure of *Lathyrus*. Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh. 41(2): 209- 244.

21- Lazanyi, J. 2000. Grass pea and green manure effects in the Great Hungarian Plain. Lathyrus Lathyrism Newsletter 1: 28-30.

22- Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Herditas 52: 201-220.

23- Martin E., Hatice, K. Y., Kahraman, A., Okan, K. B., Eroglu, H. E. 2018. Detailed chromosome measurements and karyotype asymmetry of some *Vicia* (Fabaceae) taxa from Turkey. Caryologia. 71 (3): 1-10.

24- Romero Zarco, C. 1980. A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxan 35: 526-630.

25- Schifino-Wittmann, M. T. 2000. The cytogenetics and evolution of forage legumes from Rio Grande do Sul. Genet Mol Biol, 23, 4: 989-995.

26- Senn, H.A. 1938. Experimental data for a revision of genus *Lathyrus*. Am. J. Bot. 25: 67-78.

27- Sheidai, M., Massoumii, A. R. Pakravan, M. 1996. Karyotypes of some Astragalus Taxa. The Nucleus 39: 111-113.

28- Smartt, J. 1984. Evolution of grain legumes. 1. Mediterranean pluses. Experimental Agriculture 20: 275-296.

29- Stebbins, G. L. 1971. Chromosome evolution in higher plants. Edward Arnold Publisher. L.T.D. London, PP 216-217.

30- Yunus, A. G., Jackson, M.T. 1991. The gene pools of the grass pea (*Lathyrus sativus L.*). Plant Breed. 106: 319-328.

Karyotypic Analysis of *Lathyrus* Species in Northwestern Iran

Sadeghi M. H.[1], Sabzi Nojadeh M.[2], Esmaeilpour M.[2] and Razban Haghighi A.[3]

[1] Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Tabriz, I.R. of Iran.

[2] Dept. of Forestry and Medicinal Plant, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Ahar, I.R. of Iran.

[3] East-Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Tabriz, I.R. of Iran.

Abstract

The *Lathyrus* genus is important due to forage consumption, nitrogen fixation, soil conservation, ornamentation, cultivation as green manure and its medicinal properties. Three species of *Lathyrus* were selected from northwestern regions of Iran and the properties of chromosomes were studied in *L. cicera*, *L. incurvus* and *L. pratensis*. Of these, karyotypes of *L. incurvus* and *L. pratensis* were analyzed for the first time. Five metaphysical plates were assessed in each species. The results showed that all the three species had diploid chromosome number of 2n = 2x = 14. Total lengths of haploid chromosome in *L. cicera*, *L. incurvus* and *L. pratensis* were respectively as 7.60, 6.16 and 6.30 micrometer. The karyotype formula of *L. cicera* was 5m+2sm while karyotype formula of *L. incurvus* and *L. pratensis* was 1m+6sm. All species showed relatively symmetrical karyotype and were included in 2A classification of Stebbins. Analysis of variance showed a significant difference in short arm length and total chromosome length at 1% significance level. Duncan test results showed that *L. cicera* had the longest total chromosome length at 5% significance level. Cluster analysis classified the species into two groups; a) *L. cicera* (an annual species) and b) *L. incurvus* and *L. pratensis* (perennial species). Since these two species have similar karyotypes, the hybrids of these two species can be used in *Lathyrus* breeding programs.

Key words: Number of chromosomes, Cytogenetics, Karyotype, symmetrical karyotype, *Lathyrus*