

## روابط خویشاوندی گونه‌های یونجه (*Medicago*) در ایران Phylogenetic relationships of *Medicago* species in Iran

فرنگیس قنواتی<sup>۱</sup>

### چکیده

قنواتی، ف. روابط خویشاوندی گونه‌های یونجه (*Medicago*) در ایران. مجله علوم زراعی ایران. ۱۳۹۰، ۲(۲): ۴۲۴-۴۳۵.

آنالیز فیلوزنی ۲۳ گونه از جنس یونجه (*Medicago*) در ایران بر اساس داده‌های حاصل از ۹۰ صفت ریخت شناسی و به روش Maximum Parsimony تعییه شده در نرم افزار PAUP با استفاده از جستجوی ابتکاری (Heuristic) و گزینه تبادل شاخه دو نیمه شدن و اتصال مجدد درخت صورت گرفت. از تجزیه و تحلیل صفات با وزن دهی متوالی با استفاده از شاخص سازگاری تصحیح شده، درختانی با روابط فیلوزنی بهتر و حدود اطمینان کلادهای بیشتر نسبت به وزن دهی یکسان صفات بدست آمد. گونه *M. radiata* به عنوان برون گروه در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که برای جنس یونجه پنج گروه قابل تشخیص است که تا حدودی با بخش‌های این جنس مطابقت می‌نماید. گونه‌های چندساله *M. lupulina* و *M. sativa* با ضریب اطمینان ۹۱ درصد در مجاور هم و در میان گونه‌های یک‌ساله جای گرفتند که نشان‌دهنده پارافیلتیک بودن گونه‌های یک‌ساله *Medicago* می‌باشد و همچنین در روند تکامل، گونه‌های دگرلناح (*M. sativa*) از گونه‌های خودلناح (یک‌ساله) مشتق شده‌اند. بیشترین خویشاوندی بین گونه‌های *M. minima* و *M. coronata*، *M. lupulina* و *M. sativa*، *M. scutellata* و *M. rugosa*، *M. turbinata* و *M. tornata*، *M. arabica* و *M. polymorpha*، *M. rigiduloides* و *M. rigidula* مشاهده گردید، که می‌توان از آن‌ها در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقي‌های بین گونه‌ای استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: ایران، تلاقي، روابط خویشاوندی، ریخت شناسی و یونجه.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۱

۱- استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و نهیه نهال و بذر (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: f\_Ghanavati83@yahoo.com)

کرک در نیام *M. littoralis* می‌تواند آن را از گونه *M. truncatula* که دارای کرک می‌باشد، جدا نماید. اسمال (Small, 1980) بر اساس ۷۵ صفت رویشی و زایشی، خویشاوندی فنتیکی ۵۵ گونه جنس یونجه را با استفاده از تاکسونومی عددی مورد بررسی قرار داد. در تجزیه خوشای صورت گرفته ۱۲ گروه مشخص شدند. گونه *M. sativa* در یک گروه، یک گروه شامل گونه‌های حدواتسط *Medicago* و *Trigonella* و تحت عنوان Medicagoid در نظر گرفته شدند و گروه‌های دیگر به تفکیک گونه‌های یک ساله و چندساله *M. arborea* با سایر گونه‌ها مشاهده شد. همچنین اسمال و جامفه (Heyn, 1984) آنالیز تاکسونومی عددی ۵۵ گونه *Medicago* را بر اساس ۲۸ صفت مربوط به گل مورد مطالعه قرار دادند. در این بررسی نیز گونه *M. arborea* به عنوان یک جنس مونوتیپ از جنس یونجه جدا شد. بنا و همکاران (Bena et al., 1998) در سال ۱۹۹۸ در یک تحقیق جامع، فیلوژنی جنس یونجه را با استفاده از نشانگرهای ETS (Internal Transcribed Spacer) و مولکولی ITS (External Transcribed Spacer) دادند. بر اساس نتایج این تحقیق، گونه‌های چندساله و دگرلcação برخلاف نظر سایر محققان ابتدایی نبوده و به نظر می‌رسد در مسیر تکاملی ابتدا گونه‌های یک ساله خودلcação و در بین آنها گونه‌های چندساله با سیستم تولیدمثی دگرلcação تشکیل شده باشند. این محققان در پژوهش دیگری عنوان کردند که نتایج فیلوژنی مولکولی حاصل از نشانگرهای ITS، ETS حاکی از تعلق داشتن گونه *M. radiata* به جنس یونجه می‌باشد (Bena et al., 1998).

بر اساس نتایج موجود تنافضاتی در خویشاوندی گونه‌های مختلف جنس *Medicago* به چشم می‌خورد. در پژوهش حاضر سعی شده است تا روابط فیلوژنتیک گونه‌های این جنس در ایران بر اساس صفات رویشی،

## مقدمه

جنس یونجه (*Medicago*) یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های تیره بقولات (Fabaceae) محسوب می‌شود که مشتمل بر ۱۲ بخش می‌باشد و پنج بخش آن شامل *Hymenocarpos*, *Orbiculares*, *Spirocarios* و *Lupularia* هستند (Heyn, 1984). پارسا (Parsa, 1948) ۱۴ گونه، موسوی (Mousavi, 1977) ۱۶ گونه، هین (Heyn, 1984) ۱۱ گونه، مهرگان و همکاران (Mehregan et al., 2001) ۱۸ گونه و قواتی (Ghanavati, 2004, Ghanavati et al., 2007) ۲۳ گونه از این جنس را در ایران گزارش نموده‌اند.

بر اساس گزارش‌های موجود تنوع زیبادی از لحاظ صفات نیام به ویژه شکل، خارداری، اندازه خار، تعداد حلقه‌های نیام و رنگ در گونه‌های جنس *M. laciniata* به ویژه گونه‌های *Medicago M. littoralis*, *M. truncatula*, *M. constricta*, *rigidula* و *M. polymorpha* دیده می‌شود. هین (Heyn, 1984) بر اساس صفات نیام به تنوع موجود در گونه *M. rigidula* اشاره کرده است و در سال ۱۹۸۴ بر اساس تنوع موجود، سه واریته از این گونه را در ایران گزارش کرده است. اسمال (Small, 1990) ۳۰ گونه از اروپایی و آسیایی گونه *M. rigidula* را بر اساس صفات نیام مورد ارزیابی قرار داد و به وسیله ۸ گونه از اروپایی و آسیایی گونه *M. rigidula* را بر اساس صفات نیام مورد ارزیابی قرار داد و به وسیله ۸ گونه از اروپایی و آسیایی را از یکدیگر تفکیک نمود. بر اساس نظر اسمال جمعیت‌های اروپایی منحصرآ گونه *M. rigidula* و جمعیت‌های آسیایی گونه *M. rigiduloides* نامگذاری شدند. اسمال و جامفه (Small and Jomphe, 1989) ۵۲ گونه از دو گونه *M. littoralis* و *M. truncatula* را بر اساس صفات بخش رویشی و زایشی مورد مطالعه قرار دادند و اظهار داشتند که به دلیل هیریداسیون بین این دو گونه، تفکیک و شناسایی تاکسونومیکی آنها در مواردی با مشکل مواجه است. در عین حال خصوصیات میوه به ویژه عدم وجود

### تجزیه و تحلیل فیلوژنیکی

از آنجا که در بررسی روابط خویشاوندی بر اساس صفات ریخت‌شناسی، تعداد صفات کم می‌باشد، جهت بررسی روند تکامل صفات، از داده‌های مربوط به توالی‌های DNA ITS + ETS ریوزومی گونه‌های مورد مطالعه استفاده شد. به همین منظور روابط خویشاوندی ۲۱ گونه بر اساس توالی‌های مذکور تعیین و درخت فیلوژنی آن ترسیم و سپس کلیه صفات ریخت‌شناسی بر روی درخت فیلوژنی مذکور منطبق و روند تکامل هر یک از صفات بررسی شد. تجزیه و تحلیل فیلوژنیکی ITS + ETS بر روی صفات ریخت‌شناسی و توالی‌های Maximum Parsimony (M.P) با از روش حداقل پارسیمونی (Maximum Parsimony) (Swofford 2000) انجام شد. استفاده از نرم افزار PAUP (Swofford 2000) در این روش از الگوریتم جستجوی ابتکاری Heuristic تحت دستورات زیر استفاده شد.

صفات هم وزن (equal weighting) و نامرتب (unordered) تکرار تصادفی از (branch swapping) درخت با روش قطع دو تایی و اتصال مجدد درخت (Tree Bisection-Reconnection) TBR درخت در هر گام به کار برده شدند. در روش Maximum Parsimony (M.P)، آنالیز Bootstrap برای به دست آوردن حدود اطمینان کلادهای مورد نظر با ۱۰۰ تکرار انجام گرفت (Felsenstein 1985). در روش Bootstrap Maximum Parsimony متعاقب وزن‌گذاری مجدد صفات و بر اساس اندیکس (شاخت) RC (Rescaled Consistency) انجام شد (Farris, 1989). سپس روند تکامل صفات بر اساس کلادوگرام حاصل از توالی DNA ریوزومی مورد بررسی قرار گرفت.

### نتایج و بحث

با بررسی صفات رویشی و زایشی بر روی جمعیت‌های جمع‌آوری شده در سراسر کشور و با

گل، نیام و بذر و نشانگرهای مولکولی ITS + ITS به منظور تعیین گونه‌های خویشاوند و امکان تلاقی این گونه‌ها و استفاده از آنها در برنامه‌های به نژادی تعیین و روند تکامل برخی صفات رویشی بررسی شود.

### مواد و روش‌ها

#### مواد گیاهی

۴۰۰ نمونه گیاهی که از نقاط مختلف کشور جمع‌آوری شده و در هرbariyom بازک ژن گیاهی ملی ایران و موسسه تحقیقات جنگلها و مرتع کشور، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، پژوهشکده علوم گیاهی و هرbariyom دانشگاه تهران نگهداری می‌شوند، در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. شناسایی نمونه‌ها با استفاده از فلورهای موجود، شامل فلور ایرانیکا (Heyn, 1984)، فلور عراق (Heyn, 1963) (Mehregan, 1989) و مقاله (Small, 1989) et al., 2001) انجام گرفت، که مجموعاً شامل ۲۳ گونه بودند (جدول ۱).

#### صفات مورد ارزیابی

۹۰ صفت کمی و کیفی در گونه‌های یونجه مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات مورد بررسی به همراه درجه بندی آنها در جدول ۲ ارائه شده است.

#### توالی‌های ITS و ETS

کلیه توالی‌های مربوط به ITS<sub>1</sub>, ITS<sub>2</sub> و ETS مربوط به شماره توode‌های Z ۹۹۲۵۴-Z ۹۹۲۰۷ و Z ۹۷۷۲۹-Z ۹۲۹۱۲ و Z ۹۷۶۵۵-Z ۹۲۹۵۰ که بنا و همکاران (Bena et al., 1998) تعیین و در سایت اینترنتی EMBL و DDBJ منتشر نمودند، اقتباس و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

#### شمارش کروموزوم‌ها

با استفاده از مریستم انتهایی ریشه و به روش (Ghanavati and Mozafari, 2008) تعداد کروموزوم‌ها در مرحله میتوزی برای هر گونه شمارش گردید.

گونه‌های یک‌ساله *Medicago* را نشان می‌دهد و مؤید این مطلب است که گونه‌های یک‌ساله به صورت موازی تکامل یافته‌اند و در طول تکامل ابتدایک‌ساله‌ها به وجود آمده و سپس چندساله‌ها و مجدداً یک‌ساله‌ها مشتق شدند و اینکه چند ساله بودن الزاماً یک صفت نیایی محسوب نمی‌شود. لسینز و لسینز (Lesins and Lesins, 1979) بر اساس صفات دوره رویشی و سیستم لقاحی بیان داشته‌اند که گونه‌های نیایی جنس *Medicago* عمدتاً گونه‌های چندساله و دگرلcação هستند. آنها معتقدند که گونه‌های یک‌ساله و خودلcação در مسیر تکامل از گونه‌های چندساله مشتق شده‌اند و نظریه مونوفیلیتیک بودن جنس را مطرح نمودند. بنا و همکاران (1998) (Bena et al., 1998) براساس نتایج تجزیه و تحلیل با استفاده از نشانگرهای ITS و ETS اظهار داشتند که صرفاً صفات مربوط به دوره زندگی و سیستم تولیدمثلی نمی‌توانند برای بیان مسیر تکاملی در نظر گرفته شوند و معتقدند که باید از صفات دیگری مثل ریخت‌شناسی و عوامل زیست محیطی در بیان روند تکامل استفاده نمود. براساس نظر این محققان در گونه‌های خودلcação به دلیل افزایش هموژیگوتی و ایزوله شدن تدریجی جمعیت و جهش ناگهانی یک ژن کشته، موجب از بین رفتن گونه‌های خودلcação می‌شود. بنابراین در این گونه‌ها درصد بسیار پائینی از دگرلcação جهت حفظ بقای گونه وجود دارد. به عنوان مثال در گونه *M. truncatula* که ۹۷ تا ۹۹ درصد خودلcação است، درصد بسیار پائین دگرلcação برای ایجاد تنوع ژنتیکی بالا در این گونه کفايت می‌کند. بر اساس این نظریه بنا و همکاران (1998) (Bena et al., 1998) معتقدند که در روند تکامل، گونه‌های دگرلcação از گونه‌های خودلcação مشتق شده‌اند که این موضوع برخلاف نظر محققان قبلی می‌باشد، در تحقیق حاضر نیز گونه *M. sativa* که چندساله و دگرلcação می‌باشد در میان گونه‌های یک‌ساله قرار دارد که موید نظر بنا و همکاران (1998) (Bena et al., 1998) می‌باشد. در گروه پنجم

بررسی نمونه‌های هرباریومی موجود در کشور، مجموعاً ۲۱ گونه یک‌ساله شامل *M. minima*, *M. coronata*, *M. laciniata*, *M. arabica*, *M. polymorpha*, *M. rigidula*, *M. ciliaris*, *M. tornata*, *sauvagei*, *M. aculeata*, *M. constricta*, *rigiduloides*, *M. noeana*, *M. truncatula*, *M. turbinata*, *dittoralis*, *M. syriaca*, *M. rugosa*, *M. scutellata*, *M. radiata* و *M. orbicularis* و دو گونه چندساله *M. lupulina* و *M. sativa* مشاهده شدند.

نتایج حاصل از تحقیق به عمل آمده بر روی گونه‌های *Medicago* نشانگر یافته‌های جدیدی درباره خویشاوندی گونه‌های این جنس می‌باشد. نتایج تجزیه و تحلیل کلادیستیک صفات ریخت‌شناسی به روش حداکثر پارسیمونی یک درخت فیلوژنی با طول  $CI = 0.398$  و  $R = 0.611$  و  $RI = 0.436$  (Rescaled Retention Index) درخت فیلوژنی نهایی با ضریب اطمینان بالای ۵۰ درصد به دست آمد (شکل ۱). بر اساس تحقیقات اسمال و همکاران (1981) (Small et al., 1981) و بنا و همکاران (1998) (Bena et al., 1998) و بررسی‌های فتیکی (Ghanavati, 2004)، گونه *M. radiata* به عنوان بروون گروه در نظر گرفته شد. بر اساس کلادوگرام ارائه شده در شکل ۱، پنج گروه عمده مشخص شدند. در ابتدایی ترین گروه، گونه *M. radiata*، در گروه دوم گونه *M. rugosa* و دو گونه یک‌ساله *M. orbicularis* و *M. scutellata* که دارای نیام بدون خار هستند و هر یک دارای ۳۰ کروموزم می‌باشند، بیشترین خویشاوندی را با ضریب اطمینان ۹۴ درصد داشته و در گروه سوم قرار گرفتند. گونه‌های چندساله *M. lupulina* و *M. sativa* با ضریب اطمینان ۹۱ درصد در مجاور هم و در میان گونه‌های یک‌ساله جای گرفتند و گروه چهارم را به خود اختصاص دادند. این نتیجه پارافیلیتیک بودن

با داشتن *M. ciliaris* و *M. arabica* و *M. polymorpha* دیواره نرم و انعطاف‌پذیر در نیام، در یک زیر‌کlad و در *M.* *M. rigidula* *M. syriaca* زیر‌کlad دیگر گونه‌های *M. aculeata* *M. constricta* *M. rigiduloides* *M. littoralis* و *M. turbinata* *M. tornata* *M. truncatula* که دارای دیواره سخت و انعطاف‌نایاب‌پذیر با بافت اسفنجی در جداره نیام می‌باشند قرار گرفت. بر اساس نتایج این تحقیق گونه‌های یک‌ساله مورد مطالعه بخش گروه پنجم را به خود اختصاص دادند و *Spirocarios* و *Leptospireae* مطابقت دارند که مؤید نظر اسمال و همکاران (Small et al., 1989) می‌باشد. گونه *M. ciliaris* با ضریب اطمینان ۵۵٪ درصد به گونه‌های زیر بخش *Leptospireae* تعلق دارد. این گونه بر اساس نظر اسمال متعلق به زیر بخش *Intertextae* می‌باشد، نتایج این تحقیق نشان دهنده خویشاوندی بسیار زیاد این گونه

که بزرگ‌ترین گروه فیلوژنی حاصل را تشکیل می‌دهد، کلیه گونه‌های یک‌ساله خاردار شامل *M. laciniata* *M. minima* *M. coronata* گونه‌های *M. ciliaris* *M. arabica* *M. polymorpha* *M. sauvagei* *M. rigiduloides* *M. rigidula* *M. syriaca* *M. tornata* *M. truncatula* *M. aculeata* *M. constricta* در یک کlad قرار گرفتند. در این بررسی گونه‌های بدون خار شامل *M. rugosa* *M. lupulina* *M. sativa* *M. noeana* در *M. radiata* و *M. orbicularis* *M. scutellata* کلادهای جداگانه در کنار این کlad قرار گرفتند و این نشان می‌دهد که احتمالاً صفت خارداری یک صفت تعیین‌کننده در مسیر تکاملی این جنس می‌باشد. پنجمین کlad بر اساس سختی نیام و با ضریب اطمینان ۷۳٪ درصد به دو زیر کlad تقسیم شد. گونه‌های *M. sauvagei* *M. laciniata* *M. minima* *M. coronata*

#### جدول ۱- اسامی گونه‌های یونجه (*Medicago*) مورد مطالعه

Table 1. The names of species of *Medicago*

ردیف Row	گونه گیاهی Species	بخش Section
1	<i>M. sativa</i> L.	Medicago
2	<i>M. lupulina</i> L.	Lupularia
3	<i>M. radiata</i> L.	Hymenocarpos
4	<i>M. orbicularis</i> Bartalini.	Orbiculares
5	<i>M. noeana</i> Boiss.	Spirocarios SubSec. Rotatae
6	<i>M. scutellata</i> (L.) All.	Spirocarios SubSec. Rotatae
7	<i>M. rugosa</i> Desr.	Spirocarios SubSec. Rotatae
8	<i>M. laciniata</i> (L.) Mill.	Spirocarios SubSec. Leptospireae
9	<i>M. minima</i> (L.) Bartalini	Spirocarios SubSec. Leptospireae
10	<i>M. polymorpha</i> L.	Spirocarios SubSec. Leptospireae
11	<i>M. sauvagei</i> Negr.	Spirocarios SubSec. Leptospireae
12	<i>M. arabica</i> (L.) Huds.	Spirocarios SubSec. Leptospireae
13	<i>M. coronata</i> (L.) Bartalini	Spirocarios SubSec. Leptospireae
14	<i>M. littoralis</i> Rhode ex Loisel.	Spirocarios SubSec. Pachyspireae
15	<i>M. tornata</i> (L.) Mill.	Spirocarios SubSec. Pachyspireae
16	<i>M. constricta</i> Durieu.	Spirocarios SubSec. Pachyspireae
17	<i>M. aculeata</i> Gaertn.	Spirocarios SubSec. Pachyspireae
18	<i>M. rigidula</i> (L.) All.	Spirocarios SubSec. Pachyspireae
19	<i>M. rigiduloides</i> Small.	Spirocarios SubSec. Pachyspireae
20	<i>M. truncatula</i> Gaertn.	Spirocarios SubSec. Pachyspireae
21	<i>M. turbinata</i> (L.) All.	Spirocarios SubSec. Pachyspireae
22	<i>M. syriaca</i> Small.	Spirocarios SubSec. Pachyspireae
23	<i>M. ciliaris</i> (L.) Krock.	Spirocarios SubSec. Intertextae

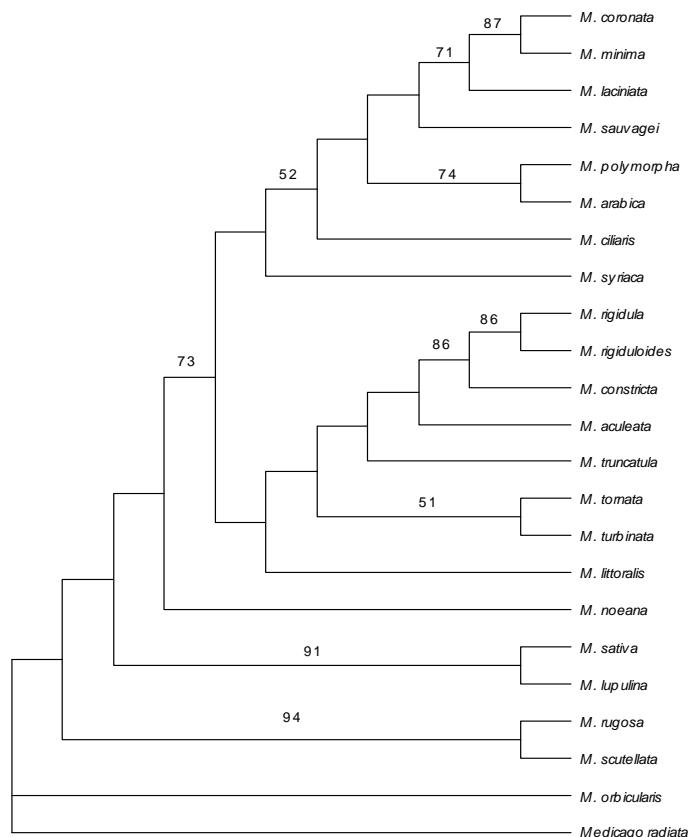
## جدول ۲- صفات گیاهی مورد ارزیابی در گونه‌های جنس *Medicago*

Table 2. Plant characteristics of *Medicago* species

Row No.	Plant characteristics	صفات گیاهی	Score	درجه
1	Longevity	دوره زندگی، 0=annual; 1= perennial; a= annual or perennial	0=annual; 1= perennial; a= annual or perennial	=بیکاله، ۱=جند ساله، a=بیکاله را جند ساله ۲=کروموزم، ۱=۱۴=۲، ۱۶=۲
2	Chromosome number	تعداد کروموزوم	0=16 ; 1=14; 2=30; 3=32	۳۲=۳
Leaf	Leaflet length	طول بر گچه	0=5-9.9; 1= 10- 14.9; 2=15-20	۱۵-۲۰=۲ ، ۱-۱۴/۹=۱
	Leaflet narrowness	عرض بر گچه	0=narrow; 1, 2, 3, 4=broad	۵-۹/۹=۱، ۴-۳/۲=پهن، ۱-۲=۲
	Number of marginal serrations on leaflet	تعداد دندانه‌های بر گچه	0=4-6; 1=7-9; 2=10-12; 3=13-15	۶-۸=۱، ۷-۹=۱
	Distribution of serrations on leaflet	توزيع دندانه‌های بر گچه	0= distal two fifths; 1= distal three fifths; 2= distal four fifths; 3= distributed over entire margin	۱۳-۱۵=۳
	Shape of marginal serrations	شکل دندانه‌های حاشیه‌ای	0=sharp; 1=very sharp	=تیز، ۱=بسیار تیز
	Uniformity of serrations	همشکل، دندانه‌ها	0=uniform; 1=middle; 2=nonuniform	=همشکل، ۱=متوسط، ۲=ناهمشکل
	Presence of leaf blotches	لک بر گچه	0= absent; 1= presence	=نادرد، ۱=۱-۴=دارد
	Evidence of anthocyanin stain	وجود رنگ آنتوساینی	0= never; 1, 2, 3, 4= frequent	=خراوان
	Number of abaxial veins	تعداد رگ‌های پشتی	0= indistinct; 1, 2, 3, 4= distinct	=نامشخص، ۱=۱-۴=مشخص
	Leaflet apex shape	شکل راس بر گچه	0= acute; 1= truncate; 2= slightly cordate; 3= deeply cordate	=خونک کند، ۱=سرپریده، ۲=ستینتی قلی، ۳=کاملاً قلبی شکل
	Length of terminal tooth	طول دندانه انتهایی مرکزی	0= 20-30; 1= 40- 50; 2=>50	۰=۰-۳۰=۰، ۴۰-۵۰=۱، ۵۰-۶۰=۲، ۶۰-۷۰=۳
	Mirroredness of terminal tooth compared to remaining serrations	میزان نمایش دادن انتهایی از دندانه‌های حاشیه‌ای	0= uniform; 1,2,3,4= nonuniform	=همشکل، ۱، ۲، ۳، ۴=غیر همشکل
15	Number of abaxial hairs per square millimetre	تعداد کرک‌های سطح پشتی در میلی مترمربع	0=absent; 1=1-10; 2=11-20; 3=>20	>۲۰=۳، ۱-۱۰=۲
16	Number of adaxial hairs per square millimetre	تعداد کرک‌های سطح شکمی در میلی مترمربع	0= 1-10; 1= 11-20; 2= 21-30; 3= 31-40; 4= 41- 50; 5=51-60	۵۱-۶۰=۵، ۴۱-۵۰=۴، ۳۱-۴۰=۳، ۲۱-۳۰=۲، ۱۱-۲۰=۱
17	Presence of multicellular hairs	کرک چندسلولی	0=absent; 1, 2, 3, 4=presence	=نادرد، ۱، ۲، ۳=دارد
Stipule	Length of stipule	طول گوشواره	0=4-5; 1=6-7; 2=>2	>۷=۲، ۴-۵=۱
	Number of lobes on outer side of stipule	تعداد دندانه در پخش، خارجی	0=absent; 1=2-4; 2= 5-7; 3=>2	=بدون دندانه، ۱، ۲-۴=۱
	Length of middle internode	طول میانگره میانی	0=<30; 1=30-50; 2=>50	>۵۰=۲، ۳۰-۵۰=۱
	Length	طول	0=<20; 1= 20-30; 2=>30	>۳=۲، ۲۰-۳۰=۱
	Frequency of simple hairs	فرانک، کرک‌های ساده	0=absent; 1, 2, 3, 4=abundant	=نادرد، ۱، ۲، ۳=خراوان
Fruit	Frequency of multicellular hairs	کرک چندسلولی	0=absent; 1, 2, 3, 4=abundant	=نادرد، ۱، ۲، ۳=خراوان
	Thickness of dorsal suture	ضخامت درز پشتی	0=<10; 1=10-20; 2=20-30; 3=30-40; 4=40-50; 5=50-60; 6=60-70 7=>70	=کمتر از ۱۰=۱، ۱۰-۲۰=۱، >۷۰=۷، ۶۰-۷۰=۶
	Color	رنگ	0=light; 1=medium brown; 2=dark	=روشن، ۱=قهوه‌ای روشن، ۲=تیره
	Intersuture distance	فاصله درز میانی	0=<20; 1=10-30; 2=30-40; 3=40-50; 4=50-60; 5=>60	>۶۰=۵، ۴۰-۵۰=۳، ۳۰-۴۰=۲، ۱۰-۲۰=۱
	Rigidity of mature wall	سختی، دیواره	0=easily bent; 1=moderately tough; 2=very stiff	=نم، ۱=سخت، ۲=خیلی سخت
28	Number of fruits persisting on mature infructescence	تعداد میوه در یک گل آذن	0=1; 1=2-3; 2=5; 3=8; 4=>10	>۱۰=۱، ۱=۱، ۲-۳=۱
29	Density of simple hairs on young fruit	ترکم کرک‌های ساده روی میوه جوان	0=absent; 1, 2, 3, 4=abundant	=نادرد، ۱، ۲، ۳=خراوان
30	Density of multicellular hairs on young fruit	ترکم کرک‌های چندسلولی روی میوه جوان	0=absent; 1, 2, 3, 4=abundant	=نادرد، ۱، ۲، ۳=خراوان
31	Presence of fimbriations or appendages on ventral suture	وجود زانه روی درز شکمی	0=absent; 1=present	=نادرد، ۱=دارد
32	Vein relief on face of pod	وجود رگ‌های آزاد روی نیام	0=not evident; 1=obscurely evident; 2, 3, 4=notably raised	=نامشخص، ۱=تفصیلی مشخص، ۲، ۳، ۴=مشخص
33	Vein reticulation on face of pod	رگ‌بندی شبکه رگ روی سطح نیام	0=absent; 1=poorly defined; 2=well defined	=نادرد، ۱=اتاحدی مشخص، ۲=کاملاً مشخص
34	Presence of submarginal vein on face of pod	وجود رگ زیر حاشیه‌ای روی سطح نیام	0=absent; 1=poorly defined; 2=well defined	=نادرد، ۱=اتاحدی مشخص، ۲=کاملاً مشخص
35	Presence of distinctive vein-free area on face of pod	وجود ناحیه بدون رگ روی سطح نیام	0=absent; 1=present	=نادرد، ۱=دارد
36	Mirroredness of radial veins on face of pod	میزان خمیدگی رگ‌های شعاعی روی نیام	0=uncurved; 1, 2, 3=highly curved	=تفصیلی مستقیم، ۱، ۲، ۳=کاملاً خمیده
37	Number of seeds per fruit	تعداد دانه در میوه	0=10; 1=10-20; 2=40-60; 3=60-80; 4=80-100	>۱۰۰=۵، ۸۰-۱۰۰=۴، ۶۰-۸۰=۲، ۱۰-۲۰=۱
38	Presence of septa separating seeds in fruit	وجود دیواره جدا کننده دانه در میوه	0=not distinct; 1=poorly developed; 2=highly distinct	=نامشخص، ۱=غشایی نازک، ۲=کاملاً مشخص
39	Seed length	طول دانه	0=<20; 1=20-30; 2=30-40; 3=40-50; 4=>50	>۵۰=۴، ۴۰-۵۰=۳، ۳۰-۴۰=۲، ۲۰-۳۰=۱

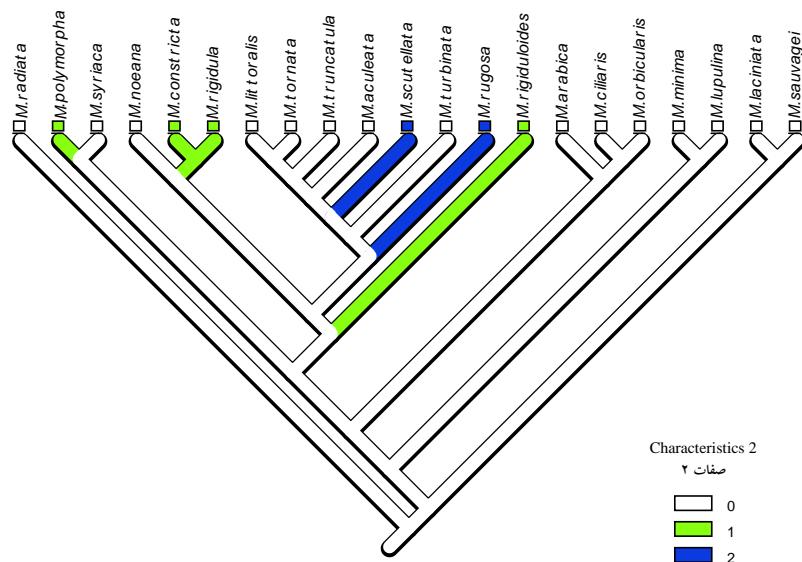
" روابط خویشاوندی گونه های یونجه....."

Row	Plant characteristics	صفات گیاهی	Score	درجه
40	Seed darkness	رنگ دانه	0=light yellow; 1=yellowish orang; 2=redish brown	=زرد روشن، ۱=زرد نارنجی، ۲=قرمز قهوه ای
41	Seed tubercularity	میزان جو کیدگر، دانه	0=smooth; 1=tubercular	=حضاف، ۱=جف و کبد
42	Ratio of radicle length to seed length	نسبت طول ریشه به طول دانه	0=<½; 1=½; 2=>½; 3=semiequal	=کمتر از نصف، ۱=نصف، ۲=بیشتر از نصف، ۳=تقريباً مساوی
43	Angle of seed axis and ventral suture of fruit	زاویه محور دانه و درز شکمی میوه	0=0; 1=90degrees	=۰، ۱= درجه
44	Growth of cellular tissue on mature pod face	رشد بافت سلولی روی سطح نیام رسیده	0=absent; 1=present	=ندارد، ۱=دارد
45	Presence of clockwise coils	جهت حلقه های نیام	0=opposite of clockwise; 1=clockwise	=در خلاف جهت عقربه ساعت، ۱=در جهت عقربه ساعت
46	Number of veins per pod face	تعداد رگه در سطح نیام	0=<10; 1=10-30; 2=30-50; 3=50-70; 4=70-90	=۰-۱۰، ۱۰-۳۰، ۳۰-۵۰، ۵۰-۷۰، ۷۰-۹۰=۳
47	Direct distance from proximal to distal ends of pod	فاصله سطح پشتی و شکمی نیام	0=<50; 1=50-100; 2=>100	=کمتر از ۵۰، ۵۰-۱۰۰=۲
48	Ratio of axis length to widest width of pod	نسبت طول به عرض نیام	0=somewhat shorter; 1=approximately equal; 2=somewhat longer	=تا حدی کوتاهتر، ۱=تقریباً برابر، ۲=تا حدی بلندتر
49	Number of coils	تعداد حلقه	0=<10; 1=10-20; 2=20-40; 3=40-60; 4=>60	=کمتر از ۱۰، ۱۰-۲۰، ۲=کمتر از کاسه خارج شده، ۲=از کاسه خارج شده، ۳=کاملاً داخل کاسه حلقه دار شده، ۴=کمی از کاسه خارج شده، ۵=کاملاً خارج شده
50	Presence of legume and calyx	وضعیت نیام و کاسه	0=highly contracted while within calyx, 1=slightly to moderately coiled within calyx; 2=emerging	=سبیل آزاد، ۱=نیام و کاسه، ۲=کاملاً فشرده
51	Degree of adpression of coils	درجه فشردنگ، نیام	0=very loosely coiled; 1, 2, 3, 4=very tightly coiled	=ندارد، ۱=خده، ۲=نیام
52	Presence of appendages on dorsal suture	وجود زانه روی درز پشتی	0=None; 1=merely tubercles; 2=spine	=>۲۵-۳۰
53	Spine length	طول خار	0=None; 1=<10; 2=10-25; 3=>25	=ندارد، ۱=مستقیم، ۲=کاملاً مستقیم
54	Spine curvature	خمیدگر، خار	0=None; 1=uncurved; 2, 3, 4=highly curved	=ندارد، ۱=مستقیم، ۲=کاملاً مستقیم
55	Spine tip hooking	درجه قابل در شدن خار	0=None; 1=uncurved; 2, 3, 4=strongly hooked	=ندارد، ۱=بدون شماره، ۲=شماره دار
56	Interspine sulation	شمار روی خار	0=None; 1=ungrooved; 2, 3, 4=strongly grooved	=ندارد، ۱=جایزک، ۲=ضخیم
57	Spine stockiness near base	ضخامت پایه خار	0=None; 1=slim; 2, 3, 4=socky	=ندارد، ۱=با انشعاب کم، ۲، ۳، ۴=با انشعاب زیاد
58	Degree of spine branchs	ضخامت پایه خار	0=None; 1=little; 2, 3, 4=abundant	=ندارد، ۱، ۲=با کم کی زیاد
59	Density of simple trochomes on spines	میزان انتسابات خار	0=absent; 1, 2, 3, 4=many hairs present	=ندارد، ۱، ۲=با کم کی زیاد
60	Density of multicelled trichomes on spines	میزان کرک چندسلولی روی خار	0=absent; 1, 2, 3, 4=many hairs present	=ناهمگن، ۱، ۲=یکنواخت
61	Spine uniformity	یکنواختی خار	0=highly variable; 1, 2, 3, 4=highly uniform	=ندارد، ۱=یک درجت، ۲=دو درجت
62	Number of rows of spines on dorsal suture	تعداد درجت های خار روی درز پشتی	0=None; 1=one row; 2=two rows	=ندارد، ۱=۱، ۲=۲، ۳=۳، ۴=۴
63	Number of spines per coil face	تعداد خار در سطح حلقه	0=None; 1=<10; 2=10-20; 3=20-30; 4=>20	=>۲۰=۴
<b>Flower گل</b>				
64	Number of flowers per raceme	تعداد گل در گل آذین	0=1-3; 1=2-4; 2=5-6; 3=7-8; 4=9-10; 5=>10	>۱۰=۵، ۹-۱۰=۴، ۸-۸=۳، ۵-۶=۲، ۲-۴=۱، ۱-۳=۰
65	Peduncle lenght	طول دمکن	0=mm	۶-۷=۲، ۴-۵=۱، ۲-۳=۰
66	Calyx length	طول کاسه گل	0=2-3; 1=4-5; 2=6-7	=مساوی، ۱=مساوی، ۲=بیشتر از ۱، ۳=دو برابر
67	Calyx teeth	دندانه های کاسه	0=equal; 1=unequal	=کمتر از ۱، ۱=مساوی، ۲=بیشتر از ۱، ۳=دو برابر
68	Ratio of teeth to calyx tube	نسبت دندانه به لوله کاسه	0=<1; 1=equal; 2=>1; 3=twice	=ندارد، ۱=مساوه پراکنده، ۲=مساوه متراکم، ۳=مساوه و غده ای
69	Hairness of calyx	کرک داری کاسه گل	0=None; 1=simple scattered; 2=simple compressed; 3=simple and glandular	=بنفش، ۱=زرد روشن، ۲=زرد، ۳=زرد مایل به نارنجی
70	Flower colur	رنگ گل	0=none; 1=purple; 2=light yellow; 3=yellow; 4=yellowish orange	=مساوی، ۱=کمی پیشتر، ۲=برابر، ۳=برابر
71	Ratio of corolla to calyx	نسبت جام به کاسه	0=equal; 1=little more; 2=1.5 times; 3=twice	=کمتر از ۱/۵، ۱/۵-۱/۴=۱
72	Vexillum length	طول درشت	0=<2.5; 1=2.5-5.5; 2=>5.5	=کمتر از ۱/۵-۱/۴=۱
73	Vexillum width	عرض درشت	0=<2.5; 1=2.5-5.5; 2=>5.5	=کمتر از ۱/۵-۱/۴=۱
74	Vexillum shape	شکل درشت	0=subcircular, 1=ovat; 2=obovate	=بنیمه گروی، ۱=تخم مرغی، ۲=تخم مرغی واژگون
75	Vexillum at base	قاعده درشت	0=attenuate; 1=small claw; 2=long claw	=جایزک شونده، ۱=ناخنک کوتاه، ۲=ناخنک بلند
76	Vexillum apex	رأس، درشت	0=emarginate; 1=entire	=جاله دار، ۱=کام
77	Vexillum to wing ratio	نسبت درشت به بال	0=equal; 1=little more; 2=1.5 times; 3=twice	=مساوی، ۱=مساوی، ۲=پیشتر، ۳=برابر
78	Wing length	اندازه بال	0=<2.5; 1=2.5-5.5; 2=>5.5	=کمتر از ۱/۵-۱/۴=۱
79	Wing shape	شکل پهنگ بال	0=deltoid; 1=oblong; 2=obovate	=دلایل، ۱=مستقیم، ۲=واژ تخم مرغی
80	Curvation of wing blade	خمیدگر پهنگ بال	0=uncurved; 1=curved	=مستقیم، ۱=خمیده
81	Wing blade to claw ratio	نسبت پهنگ بال به ناخنک	0=equal; 1=> 1.5times; 3=twice	=مساوی، ۱=بیشتر از ناخنک، ۲=برابر، ۳=برابر
82	Auricule wing	گوشک بال	0=small; 1=medium; 2=large; 3=very large	=کوچک، ۱=متوسط، ۲=بزرگ، ۳=خوبی بزرگ
83	Pocket	دانه راط	0=smaller; 1=equal; 2=longer	=کوچکتر، ۱=مساوی، ۲=بزرگتر
84	Keel to wing ratio	نسبت ناو به بال	0=<2.5; 1=2.5-5.5; 2=>5.5	=کمتر از ۱/۵-۱/۴=۱
85	Keel length	اندازه ناو	0=<1; 1=equal; 2=>1; 3=twice	=کمتر از ۱، ۱=مساوی، ۲=بیشتر از ۱، ۳=برابر
86	Keel blade to claw ratio	نسبت پهنگ ناو به ناخنک	0=<2; 1=2-5; 2=>5	=<۲=۰
87	Fossette of keel apex	فرو رفته بالای ناو	0=<2.5; 1=2.5-5; 2=>5	=کمتر از ۱/۵-۱/۴=۱
88	Pistil length	اندازه مادگر	0=small; 1=large	=کوچک، ۱=بزرگ
89	Degree of pubescence of pistil	کرکاری مادگر	0=glabrous; 1=pubescence	=بدون کرک، ۱=کرکدار
90	Stamen length	اندازه پرچم	0=<2.5; 1=2.5-5; 2=>5	=کمتر از ۱/۵-۱/۴=۱



شکل ۱- درخت فیلوجنی حاصل از آنالیز کلادیستیک گونه‌های *Medicago* بر اساس صفات ریخت شناسی پس از وزن‌گذاری صفات با (طول ۶۱۱،  $CI=0.398$ ،  $RI=0.436$ ،  $RC=0.173$ )، مقادیر Bootstrap بیش از ۵۰ درصد بر روی شکل نشان داده شده است

Fig.1. Phylogenetic tree resulting from cladistic analysis of morphological characters after successive weighting with (length=611, CI= 0.398, RI, 0.436, RC= 0.173), Bootstrap values greater than 50% were shown above the branches



شکل ۲- تکامل کاریولوژیکی در جنس *Medicago* بر اساس درخت فیلوجنی حاصل از DNA ریبوzومی

Fig. 2. Karyological evolution in the *Medicago* genus based on phylogenetic tree of ribosomal DNA

یونجه به صورت موازی تکامل یافته‌اند. از نظر تعداد کروموزوم، چهار گونه *M. polymorpha*, *M. rigiduloides* و *M. rigidula constricta* دارای ۱۴ گونه‌های *M. rugosa* و *M. scutellata* با ۳۰ کروموزوم و سایر گونه‌ها دارای ۲n = ۲۶ کروموزوم بودند (Ghanavati and Mozafari, 2008). در بررسی تکامل کاریولوژیکی، گونه‌های *M. constricta* و *M. rigidula* با عدد پایه کروموزمی مشابه در یک کلاد انتهایی مجاور هم قرار گرفتند. سایر گونه‌های ۱۴ کروموزمی در کنار گونه‌های ۱۶ کروموزمی و گونه *M. polymorpha* با ضریب اطمینان ۷۷ درصد در کنار گونه *M. syriaca* با ۱۶ کروموزم در یک کلاد قرار گرفتند. بنابراین به نظر می‌رسد که کاهش کروموزمی در این گونه‌ها هم زمان صورت نگرفته و به صورت موازی می‌باشد و در مسیر تکاملی حداقل ۲ بار ۱۴ کروموزمی‌ها از ۱۶ کروموزمی‌ها مشتق شده‌اند. همچنین دو گونه *M. rugosa* و *M. scutellata* با ۳۰ کروموزم در مجاورت هم قرار دارند و طبق نظر بچان و الگین (Bauchan and Mariani et al., 1984) و ماریانی و همکاران (Elgin, 1996) از هیریداسیون بین دو گونه ۱۴ و ۱۶ کروموزمی حاصل شده‌اند. نتایج نشان می‌دهد که در مسیر تکامل ابتدا گونه‌های ۱۴ کروموزمی از ۱۶ کروموزمی مشتق شده و سپس از تلاقی یک گونه ۱۴ کروموزمی با یک گونه ۱۶ کروموزمی، گونه‌های با ۳۰ کروموزم بوجود آمدند (شکل ۲).

ایران به علت داشتن شرایط اقلیمی متنوع یکی از بزرگ‌ترین مراکز پیدایش و تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای جنس یونجه محسوب می‌شود و شناسایی این گونه‌ها امکان انتخاب ژن‌های مناسب و سازش یافته با هر محیط و انتقال آنها به گونه زراعی به منظور تولید ارقام متحمل به تنش را برای بهبود گران و متخصصین بیوتکنولوژی فراهم می‌کند. بررسی روابط خویشاوندی بین گونه‌ها و تکاماً صفات، می‌تواند به عنوان ابزاری

با گونه‌های زیر بخش Leptospireae می‌باشد که نظر اسماں (Small, 1990) را تائید نمی‌کند. دو گونه *M. rigiduloides* و *M. rigidula* مورفولوژیکی بسیار زیادی با یکدیگر می‌باشند با ضریب اطمینان ۸۶ درصد از یکدیگر تفکیک شدنند. تفاوت عمدۀ در تشخیص دو گونه فوق در این است که در گونه *M. rigidula* خارها بلند و فاصله بین حلقه‌های نیام زیاد است، در حالی که در گونه *M. rigiduloides* نیام فاقد خار یا بار خار کوتاه بوده و فاصله حلقه‌های نیام بسیار کم می‌باشد. در عین حال این دو گونه دارای شbahت مورفولوژیکی بسیار نزدیکی با گونه *M. constricta* می‌باشند که در دنдрوغرام حاصل با ضریب اطمینان ۸۶٪ مشخص شده است. اسماں (Small, 1990) بیان نمود که گونه *M. rigidula* گونه اروپایی بوده و *M. rigiduloides* در کشورهای آسیایی دیده می‌شود. در این بررسی، با مطالعه ویژگی‌های ریخت شناسی، این دو گونه به راحتی از یکدیگر تفکیک گردیدند. با این حال برخلاف نظر اسماں (Small, 1990) در ایران هر دو گونه *M. rigidula* و *M. rigiduloides* در مناطق سردسیر کشور وجود داشته و به خوبی گسترش یافته است.

در طبیعت علت مشاهده جمعیت‌هایی که از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناسی، دارای صفاتی حد واسطه گونه‌های ذکر شده می‌باشند، بویژه بین گونه‌های *M. tornata* و *M. rigiduloides* و *M. rigidula* احتمالاً به دلیل هیریداسیون بین گونه‌های طبیعی می‌باشد. در این بررسی بیشترین خویشاوندی بین گونه‌های *M. sativa*، *M. scutellata* و *M. rugosa* و *M. rigidula*، *M. minima* و *M. coronata*، *lupulina* *M.*، *M. arabica* و *M. polymorpha*، *M. rigiduloides* و *M. turbinata* مشاهده گردید که می‌تواند بیانگر احتمال هیریداسیون بین این گونه‌ها باشد. بررسی روابط خویشاوندی بین گونه‌ها و تکامل صفات نیز موبدان مطلب است که گونه‌های یک‌ساله

شدت مورد توجه به نژادگران قرار گرفته‌اند بنابراین مطالعات فیلوجنتیکی جهت اطمینان از ثبات و پایداری نتاج حاصل از دورگ‌های بین گونه‌های دیپلوئید و تترابلوئید ضرورت دارد.

در تعیین احتمال موفقیت در انجام تلاقي‌های بین گونه‌ای به کار گرفته شود. از آنجا که یونجه‌های یکساله به طور بالقوه منابع ژنتیکی مطمئنی برای اصلاح یونجه چندساله می‌باشند، در طول چند سال گذشته به

## References

## منابع مورد استفاده

- Bena, B., J. M. Prosperi, B. Lejeune and I. Olivieri. 1998.** Evolution of annual species of the Genus *Medicago*: A molecular phylogenetic Approach. *J. Mol. Evol.* 3: 552-559.
- Bena, G., M. F. Jubier, I. Olivieri and B. Lejeune. 1998.** Ribosomal external and internal transcribed spaces: Combined use in the phylogenetic analysis of *Medicago* (Leguminosae). *J. Mol. Evol.* 46: 299-306.
- Bauchan, G. R. and J. H. Elgin. 1984.** A new chromosome number for the genus *Medicago*. *Crop Sci.* 24: 193-195.
- Farris, J. S. 1989.** The retention index and the rescaled consistency index. *Cladistics*, 5: 417-419.
- Felsenstein, J. 1985.** Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783-791.
- Fitch, W. M. 1971.** Towards defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *System. Zoology*, 20: 406-416.
- Ghanavati, F. 2004.** Genetic diversity and phylogenetic realationships in *Medicago* species of Iran. Ph.D. Dissertation. Islamic Azad university, Science and Research branch, Tehran. ( In Persian).
- Ghanavati, F., J. Mozaffari, A. A. Masoumi and S. Kazempour. 2007.** Morphological studies of pollen grains of *Medicago* species in Iran. *Iran. J. Crop Sci.* 34: 184-199. ( In Persian with English abstract).
- Ghanavati, F. and J. Mozaffari. 2008.** Cytogenetic study of *Medicago* species in Iran. *Iran. J. Crop Sci.* 38: 136-145. (In Persian with English abstract).
- Lesins, K. A. and I. Lesins. 1979.** Genus *Medicago* (Leguminosae). A taxogenetic study. The Netherlands, Dr. W. Junk Publishers. 342 p.
- Heyn, C. C. 1963.** The annual species of *Medicago*, Vol XII, Jerusalem. 145 p.
- Heyn, C. C. 1984.** *Medicago*. In: K. H. Rechinger (Ed.). *Flora Iranica*. Axademische Druch-U. Verlagsanstalt, Graz. 157: 253-271.
- Mariani, A., F. Pulpili and O. Calderining, 1996.** Cytological and molecular analysis of annual species of the genus *Medicago*. *Can. J. Bot.* 74: 341-346.
- Mehregan, I., M. R., Rahiminejad, D. Azizian. 2002.** A taxonomic revision of the genus *Medicago*. L. (Fabaceae) in Iran. *Iranian. J. Bot.* 9(2): 207-221. (In Persian with English abstract).
- Moussavi, M. 1977.** Identification of *Medicago* species in Iran. Ministry of Agriculture, Tehran. 45 p. ( In Persian).
- Parsa, A. 1948.** *Medicago* in Flora de l'Iran. Publication du Ministere de l'Education, Museum l'Histoire Naturelle de Tehran, Iran. 2: 171-181.
- Small, E. 1990.** *Medicago rigiduloides* a new species segregated from *M. rigidula*. *Can. J. Bot.* 68: 2614-2617.

- Small, E. 1980.** A numerical analysis of major groupings in *medicago* employing traditionally used characters. Can. J. Bot. 59: 1553-1577.
- Small, E., I. J. Bassett, and C. W. Crompton. 1981.** Pollen variation in tribe *Trigonelleae* (Leguminosae) with special reference to *Medicago*. Pollen Spores. 23: 295-320.
- Small, G., and M. Jomphe. 1989.** A note on *Trigonella (Melilotus)* bicalor. Can. J. Bot. 67: 1604-1606.
- Small, G., 1989.** A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae). Can. J. Bot. 67: 3260-3294.

## Phylogenetic realationships of *Medicago* species in Iran

Ghanavati, F<sup>1</sup>.

### ABSTRACT

**Ghanavati, F.** Phylogenetic realationships of *Medicago* species in Iran. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 13(2): 424-435.  
**(In Persian).**

Phylogenetic analysis of 23 species of *Medicago* (Fabaceae) was performed based on 90 morphological characteristics by maximum parsimony approach as implemented in PAUP software-using heuristic search and branch swapping option of tree bisection-reconnection. Analysis of the characters with successive weighting using rescaled consistency index generated more reasonable phylogentic trees than the analysis with equally weighting characters. *M. radiata* was as outgroup. The analyses showed that there are five clades in *Medicago* that to some extent are in accordance with sections in *Medicago* genus. Perennial species, *M. sativa* and *M. lupulina*, with 91% confident intervals grouped together in the clade and among annual medics. This implies that annual medics are paraphyletic and in evolutionary process cross-pollinated species (*M. sativa*) have been evolved from self-pollinated species (annual medics). The most phylogenetical relationships was observed between *M. rugosa* and *M. scutellata*, *M. sativa* and *M. lupulina*, *M. coronata* and *M. minima*, *M. rigidula* and *M. rigiduloides*, *M. polymorpha* and *M. arabica*, *M. tornata* and *M. turbinata*. This information can be used in determining the dgree of success of inter-specific hybridization between different species in *Medicago* genus.

**Key words:** Inter-specific hybridazatio, *Medicago*, Morphology and Phylogeny.

---

**Received: December, 2009   Accepted: December, 2010**

1- Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran (Corresponding author)  
(Email: f\_Ghanavati83@yahoo.com)