

## مطالعه سیتوزنتیکی و موقعیت تکاملی دو گونه *Somniferum* و *Bracteatum* از جنس *Papaver*

### Cytogenetic study and evolution situation of species *Bracteatum* and *Somniferum* from genus *Papaver*

زینب محسنی<sup>\*</sup>، بابک عبدالهی مندولکانی<sup>۱</sup>، ایرج برنوسی<sup>۱</sup>، رضا درویشزاده<sup>۱</sup>، حمید حاتمی‌ملکی<sup>۱</sup> و مهناز حیدری‌ریکان<sup>۲</sup>

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی‌ارشد، دانشیار و استادیاران دانشکده کشاورزی ارومیه

۲- استادیار، دانشگاه مراغه

۳- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی

Mohseny Z<sup>\*</sup>1, Abdollahi Mandoulakani B<sup>1</sup>, Bernousi I<sup>1</sup>, Darvishzadeh R<sup>1</sup>, Hatami Maleki H<sup>2</sup>, Heidari Rikan M<sup>3</sup>

1. MSc Student, Associate Professor and Assistant Professors, Urmia University, Iran

2. Assistant Professor, Maragheh University

3. Graduate MSc Student, Agricultural and Natural Resources Research Center of West Azarbayjan

\* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: zmohsenib88@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۸ - تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۵)

#### چکیده

از میان گونه‌های موجود در جنس *Papaver*، گونه‌ی *P. bracteatum* با دارا بودن تباین فراوان و گونه‌ی *P. somniferum* با برخورداری از انواع آلکالوئیدها از اهمیت دارویی ویژه‌ای برخوردار هستند. در این تحقیق ویژگی‌ها و تقارن کاریوتیپی در این دو گونه مطالعه شده است. نتایج نشان دادند دو گونه دیپلوئید بوده ولی دارای عدد پایه کروموزومی متفاوتی می‌باشند. گونه *P. bracteatum* با عدد پایه کروموزومی  $X=7$  و گونه *P. somniferum* با عدد پایه کروموزومی  $X=11$  می‌باشند. براساس جدول دو طرفه Stebbins گونه‌ی *P. somniferum* در کلاس ۳A و گونه‌ی *P. bracteatum* در کلاس ۳B قرار گرفتند. نتایج نشان داد که گونه *P. somniferum* در مقایسه با گونه *P. bracteatum* در درجه‌ی بالاتری از تکامل کاریوتیپی قرار دارد.

#### واژه‌های کلیدی

تباین

کاریوتیپ

کروموزوم

*Papaver bracteatum*  
*Papaver somniferum*

تکاملی و مطالعه تقارن از پارامترهای اختلاف درصد طول نسبی بزرگترین و کوچکترین کروموزوم<sup>۱</sup> (Alishah and Omid) (2008)، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم<sup>۲</sup> (Alishah and Omid) (2008)، شاخص نامتقارن بودن درون کروموزومی<sup>۳</sup> (Romero Zarco 1986)، شاخص نامتقارن بودن بین کروموزومی<sup>۴</sup> (Romero Zarco 1986) و شاخص شکل کلی کاریوتیپ<sup>۵</sup> (Huziwar 1962) استفاده شد.

با توجه به نتایج حاصله هر دو گونه دیپلوئید بوده اما در تعداد کروموزوم‌ها و تعداد کروموزوم پایه بین دو گونه مورد مطالعه تنوع وجود داشت به طوری که گونه *P. bracteatum* با تعداد کروموزوم  $2n=2x=14$  و عدد پایه کروموزومی  $x=7$  و گونه *P. somniferum* با تعداد کروموزوم  $2n=2x=22$  و عدد پایه کروموزومی  $x=11$  می‌باشند (شکل ۱). این نتایج با مطالعات (Lavana and Srivastava 1999) در دو گونه مشابه بود. در هیچ یک از گونه‌های مورد مطالعه، کروموزوم B و کروموزوم حاوی فرورفتگی ثانویه مشاهده نشد در حالی که وجود کروموزوم B و کروموزوم حاوی فرورفتگی ثانویه در گونه *P. fugax* از این جنس توسط (Azimi Motem et al. 2010) گزارش شده است.

a) *P. bracteatum*b) *P. somniferum*

شکل ۱- تصاویر متافازی دو گونه *Bracteatum* (a) و *Somniferum* (b) از جنس *papaver*

جنس *Papaver* از بزرگترین و مهمترین جنس‌ها در خانواده Papaveraceae می‌باشد. اکثر گونه‌های این جنس از لحاظ دارویی بسیار مفید می‌باشند. گونه *Papaver bracteatum* به علت محتوای بالای تبائین و عدم وجود مورفین مورد توجه قرار گرفته است (Bara et al. 2007). (Goldblatt 1974) با استفاده از مطالعات تاکسونومی، شیمیایی، اکولوژی و سیتوژنتیکی گزارش کردند که گونه *P. bracteatum* دارای فرمول کروموزومی  $2n=14$  و فرمول کروموزومی گونه *P. somniferum* به صورت  $2n=22$  می‌باشد.

در مطالعات سیتوژنتیکی گونه‌هایی که از لحاظ پارامترهای سیتوژنتیکی و خصوصیات کاریوتیپی بهم شبیه هستند در روابط بین‌گونه‌ای نیز قرابت بیشتری داشته و در صورت وجود صفات مطلوب در این گونه‌ها، امکان تلاقی بین گونه‌ای، برای جمع‌آوری ژن‌های مطلوب وجود خواهد داشت (Hesamzadeh Hejazi and Ziaei Nasab 2006). هدف از این مطالعه بررسی پارامترهای مختلف کروموزومی دو گونه *P. bracteatum* و *P. somniferum* و تعیین مشخصات کروموزومی آنها و بررسی میزان تقارن و تکامل کاریوتیپ‌ها بود.

بذور مربوط به دو گونه *P. bracteatum* و *P. somniferum* تهیه شده از مرکز تحقیقات و منابع طبیعی ارومیه در تراکم مناسب در پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ فیلتر مرطوب چیده شده و در ژرمیناتور در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و روشنایی ۱۶ ساعت قرار داده شدند تا طول ریشه به  $1/5-1$  سانتی‌متر برسد. سلول‌های متافازی مناسب گونه‌های *P. bracteatum* و *P. somniferum* با استفاده از روش اسکواش، پیش تیمار ۸- هیدروکسی کینولین  $0/002$  مولار و استواورسئین دو درصد (w/v) تهیه شدند.

ویژگی‌های کروموزومی طول بازوی کوتاه (S)، طول بازوی بلند (L)، طول کل کروموزوم (TL)، درصد طول نسبی هر کروموزوم (% of set) و شاخص نسبت بازو (L/S) با استفاده از نرم‌افزار Micromasure 3.3 (Reeves 2001) در ۵ سلول متافازی مناسب از هر گونه محاسبه شد. برای تعیین نوع کروموزوم‌ها از روش Levan استفاده شد (Levan et al. 1964). برای تعیین وضعیت

<sup>1</sup> Difference of relative length of chromosome:  $\text{DRL} = \text{RL}\%_{\text{Max}} - \text{RL}\%_{\text{Min}}$

<sup>2</sup>  $\%S = \text{MaxS}/\text{MaxL}$

<sup>3</sup> Intrachromosomal asymmetry index:  $A1 \left( 1 - \frac{\sum_{i=1}^n \frac{qi}{pi}}{n} \right)$

<sup>4</sup> Interchromosomal asymmetry index  $A2 \left( \frac{sd}{\bar{x}} \right)$

<sup>5</sup> Total form percentage of karyotype:  $\text{TF}\% = \left( \frac{\Sigma S}{\Sigma \text{TL}} \right) \times 100$

کروموزومی ۱۱ از گونه‌های با عدد پایه کروموزومی ۷ بوجود آمده‌اند. بر اساس جدول دو طرفه Stebbins، *P. bracteatum* در کلاس کاریوتیپی ۳A و *P. somniferum* در کلاس کاریوتیپی ۳B قرار گرفتند (جدول ۳). در تحقیقی که توسط Lavania (1999) و Srivastava انجام شده، گونه *P. bracteatum* در کلاس ۳B و گونه *P. somniferum* در کلاس ۲B طبقه‌بندی شدند.

مطالعات سیتوژنتیکی می‌تواند بطور موثری در شناسایی و تعیین روابط و تفاوت‌های بین گونه‌های جنس *Papaver* استفاده شود. با توجه به دامنه وسیع اکولوژیک این جنس در ایران، مطالعات بیشتر به صورت بررسی ویژگی‌های کاریوتیپ در گروه‌های سیستماتیک، جغرافیایی و اکولوژیک می‌تواند به برخی روابط بدست آمده در این تحقیق کمک کند.

نتایج پارامترهای کروموزومی نشان داد که در گونه *P. bracteatum* طول کروموزوم بین ۶/۵ میکرومتر تا ۴/۷۸ میکرومتر (جدول ۱) و در گونه *P. somniferum* بین ۴ میکرومتر تا ۸ میکرومتر (جدول ۲) متغیر بود. فرمول کروموزومی گونه *P. bracteatum* بصورت  $2m+5sm$  و گونه *P. somniferum* بصورت  $1m+9sm+1st$  بودند (جدول ۳) که با گزارشات قبلی مطابقت داشت (Srivastava and Lavania 1999).

با توجه به نتایج این بررسی، گونه *P. somniferum* در مقایسه با گونه *P. bracteatum* با داشتن مقادیر پایین %TF و %S و مقادیر بالای DRL،  $A_1$  و  $A_2$  کاریوتیپ نامتقارنی داشته و در درجه بالاتری از تکامل کاریوتیپی قرار دارد (جدول ۳). Espinasse and Dosba (1982) نیز گزارش کردند که گونه‌های با عدد پایه

جدول ۱- ویژگی‌های کلی کاریوتیپ گونه *P. bracteatum*

| شماره کروموزوم | طول کل کروموزوم (میکرومتر) | طول نسبی هر کروموزوم (میکرومتر) | طول بازوی بلند (میکرومتر) | طول بازوی کوتاه (میکرومتر) | نسبت بازوها |
|----------------|----------------------------|---------------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------|
| ۱              | ۶/۵±۰/۰۷                   | ۸/۲±۰/۰۹                        | ۴/۴±۰/۰۸                  | ۲/۰۳±۰/۰۱                  | ۲/۲±۰/۰۵    |
| ۲              | ۶/۲±۰/۰۸                   | ۷/۸±۰/۱۳                        | ۴/۲±۰/۰۹                  | ۱/۲±۰/۰۰۷                  | ۲/۱±۰/۰۴    |
| ۳              | ۵/۸±۰/۰۱                   | ۷/۳±۰/۱۲                        | ۳/۳±۰/۰۱                  | ۲/۵±۰/۰۱                   | ۱/۳±۰/۰۳    |
| ۴              | ۵/۶±۰/۰۳                   | ۷±۰/۰۴                          | ۳/۸±۰/۰۸                  | ۱/۸±۰/۰۴                   | ۲/۲±۰/۰۹    |
| ۵              | ۵/۴±۰/۰۸                   | ۶/۸±۰/۰۱                        | ۳/۶±۰/۰۱                  | ۱/۷±۰/۰۱۷                  | ۲/۰۴±۰/۰۷   |
| ۶              | ۵/۲±۰/۰۴                   | ۶/۶±۰/۰۵                        | ۳/۴±۰/۰۴                  | ۱/۷±۰/۰۰۳                  | ۲±۰/۰۳      |
| ۷              | ۴/۷±۰/۰۱۶                  | ۶/۱±۰/۰۱۹                       | ۲/۶±۰/۰۱۶                 | ۲/۰۸±۰/۰۰۳                 | ۱/۳±۰/۰۰۷   |

جدول ۲- ویژگی‌های کلی کاریوتیپ گونه *P. somniferum*

| شماره کروموزوم | طول کل کروموزوم (میکرومتر) | طول نسبی هر کروموزوم (میکرومتر) | طول بازوی بلند (میکرومتر) | طول بازوی کوتاه (میکرومتر) | نسبت بازوها |
|----------------|----------------------------|---------------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------|
| ۱              | ۸±۰/۱۴                     | ۶/۴±۰/۱۲                        | ۵/۲±۰/۲۵                  | ۲/۷±۰/۱۱                   | ۱/۹±۰/۱۵    |
| ۲              | ۷/۳±۰/۱۹                   | ۵/۸±۰/۱۹                        | ۵/۰±۰/۱۸                  | ۲/۲±۰/۰۱                   | ۲/۳±۰/۰۳    |
| ۳              | ۶/۶±۰/۱۵                   | ۵/۳±۰/۰۹                        | ۴/۶±۰/۰۸                  | ۲±۰/۰۶                     | ۲/۳±۰/۰۲    |
| ۴              | ۶/۲±۰/۰۵                   | ۴/۹±۰/۰۴                        | ۴/۷±۰/۰۴                  | ۱/۴±۰/۰۰۴                  | ۳/۲±۰/۰۰۸   |
| ۵              | ۶/۱±۰/۰۴                   | ۴/۶±۰/۱۲                        | ۰/۰±۰/۰۸                  | ۲/۰±۰/۱۲                   | ۲/۰±۰/۱۴    |
| ۶              | ۵/۶±۰/۱۹                   | ۴/۵±۰/۲۲                        | ۳/۸±۰/۲۵                  | ۱/۷±۰/۰۶                   | ۲/۲±۰/۲۲    |
| ۷              | ۵/۰±۰/۱۶                   | ۴/۰±۰/۱۱                        | ۳/۳±۰/۱۱                  | ۱/۷±۰/۰۵                   | ۱/۹±۰/۰۵    |
| ۸              | ۴/۷±۰/۰۶                   | ۳/۸±۰/۰۴                        | ۳/۲±۰/۰۰۶                 | ۱/۵±۰/۰۵                   | ۲/۱±۰/۰۸    |
| ۹              | ۴/۵±۰/۰۷                   | ۴/۵±۰/۰۹                        | ۳/۰±۰/۰۰۹                 | ۱/۵±۰/۰۷                   | ۲/۰±۰/۰۷    |
| ۱۰             | ۴/۲±۰/۰۴                   | ۳/۳±۰/۰۳                        | ۲/۷±۰/۰۳                  | ۱/۴±۰/۰۰۸                  | ۱/۹±۰/۰۱    |
| ۱۱             | ۴±۰/۰۸                     | ۳±۰/۰۶                          | ۲/۳±۰/۰۱                  | ۱/۶±۰/۰۷                   | ۱/۳±۰/۰۵    |

جدول ۳- فرمول کروموزومی و پارامترهای تقارن و تکامل کاریوتیپ در دو گونه *P. bracteatum* و *P. somniferum*

| SC | AR     | A <sub>2</sub> | A <sub>1</sub> | %S   | DRL  | %TF   | فرمول کاریوتیپی | 2n | نام گونه            |
|----|--------|----------------|----------------|------|------|-------|-----------------|----|---------------------|
| ۳A | ۱:۱/۳۵ | ۰/۱۱           | ۰/۴۴           | ۵/۸۴ | ۱/۷۶ | ۳۵/۱۴ | ۲m+۵Sm          | ۱۴ | <i>P.bracteatum</i> |
| ۳B | ۱:۲    | ۰/۲۲           | ۰/۵۱           | ۳/۴  | ۳/۴  | ۳۲/۱۹ | ۱m+۹sm+۱st      | ۲۲ | <i>P.somniferum</i> |

## منابع

Alishah O, Omidi M (2008) Laboratory methods of cytogenetics. University of Tehran Press, Tehran, Iran. (In Farsi).

Azimi Motem F, Carapetian J, Bakhshi Khaniki G, Talai R (2010) Karyotypic characteristics of several *Papaver* species in Ardabil province. Iranian Journal of Plant Biology 1, 77-90. (In Farsi).

Bara II, Bara C, Capraru G, Truta E (2007) The possible ways of speciation in Papaveraceae family. Molecular Biology Tom VIII: 223-233.

Espinasse A, Dosba F (1982) Cytological analysis of hybrids between *Papaver somniferum* L. and *Papaver bracteatum* Lindl.; phylogenetic relationships between the two species. Agronomie 2: 281-286.

Goldblatt P (1974) Biosystematic studies in *Papaver section Oxytona*. Annals of the Missouri Botanical Garden 61: 264-296.

Hesamzadeh Hejazi SM, Ziaei Nasab M (2006) Karyological Study on Some of Species of *Trifolium* genus Iranian Journal of Biology 19:3 (In Farsi).

Huziwara Y (1962) Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosomes of Aster. American Journal of Botany 49: 116-119.

Lavana UC, Srivastava S (1999) Quantitative delineation of karyotype variation in *Papaver* as a measure of phylogenetic differentiation and origin. Current Science 77: 3-10.

Levan A, Fredga K, Sandberg AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52: 201-220.

Reeves A (2001) Micro measure: A new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. Genome 44: 439-443.

Romero Zarco C (1986) A new method for estimating karyotype asymmetry. Taxon 35: 526-530.

Stebbins GL (1971) Chromosome evolution in higher plants. Edward Arnold limited, London 219.