

بررسی خصوصیات کروموزومی و کاریوتیپ در گونه بومی ریواس

Rheum ribes

فهیمة معظم^۱، آقا فخر میرلوحی^{۲*}، مهدی بصیری^۳

۱، ۲ و ۳- کارشناس ارشد، استاد و دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mirlohi@cc.iut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۶ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۲۹)

چکیده

ریواس با نام علمی *Rheum ribes* گیاهی است پایا از خانواده علف هفت‌بند که به‌طور طبیعی می‌روید اما در مناطق زاگرس رویشگاه‌های آن رو به کاهش است. ساقه ریواس خاصیت مسهلی دارد و از عصاره ریشه آن برای درمان ناراحتی‌های معده، دیابت، سرخچه و آبله استفاده می‌شود. برگ و ساقه تازه آن به عنوان سبزی مصرف می‌شود و همچنین برای تهیه انواع مربا، دسر و ترشی استفاده می‌گردد. تاکنون مطالعات سیتوژنتیکی بر روی این گونه صورت نگرفته است. این پژوهش به‌منظور بررسی خصوصیات کروموزومی این گونه و تهیه کاریوتیپ آن اجرا گردید. به‌همین منظور سه توده ریواس از مناطق مختلف زاگرس جمع‌آوری و مطالعات سیتوژنتیکی بر روی آن‌ها انجام گرفت. مطالعات سیتوژنتیکی شامل جوانه‌دار کردن بذور، پیش‌تیمار، تثبیت، هیدرولیز، رنگ‌آمیزی کروموزوم‌ها و تهیه نمونه بود که منجر به تهیه کاریوتیپ و آیدیوگرام توده‌ها گردید. نتایج شمارش کروموزومی نشان داد که هر سه توده ریواس مورد مطالعه دارای ۴۲ کروموزوم می‌باشند. بر اساس نتایج مشخصات کاریوتیپ و دسته‌بندی کاریوتیپ‌ها به روش استبینز، توده ریواس اصفهان ۱ و اصفهان ۲ در گروه کاریوتیپی ۱A با تقارن کاریوتیپی بیش‌تر و توده ریواس قم در دسته کاریوتیپی ۲A با تقارن کاریوتیپی کم‌تر قرار گرفتند. همچنین بررسی‌ها نشان داد که توده ریواس اصفهان ۲ دارای تقارن درون کروموزومی بیش‌تر و توده ریواس اصفهان ۱ دارای تقارن بین کروموزومی بیش‌تری است.

واژه‌های کلیدی

ریواس،
عدد کروموزومی،
کاریوتیپ،
متافاز.

مقدمه

ریواس با نام علمی *Rheum ribes* گیاهی است پایا از خانواده علف هفت‌بند (*polygonaceae*) که به رواش، ریواس و ریواند معروف است. برگ‌های آن چرمی و ضخیم به رنگ سبز مایل به سرخ و در سطح پشتی آن دارای رگبرگ‌های برجسته و زیر است (۹). گل‌های این گیاه به‌صورت نر و ماده و به رنگ سفید مایل به سبز و مجموعاً به‌صورت گل آذین پانیکول بسیار گسترده دیده می‌شوند (۹، ۲۱ و ۲۲). گونه *Rheum ribes* به‌طور طبیعی در غرب آسیا، شرق ترکیه (شرق و جنوب آنتالیا)، شمال عراق، لبنان و ایران دیده می‌شود (۱۴، ۱۵ و ۲۱). رویش‌گاه ریواس در ایران در استان‌های کردستان، خراسان، آذربایجان غربی، کرمان، کرمانشاه و همدان می‌باشد (۹ و ۱۰). ریواس خاک عمیق، حاصلخیز و غنی از هوموس را ترجیح می‌دهد و در خاکی که خوب زه‌کشی شده باشد با شرایط نیمه سایه از رشد خوبی برخوردار است (۲۳). در منطقه زاگرس در واریزه‌های کوه‌ها نیز می‌روید که نمایانگر توان رقابتی ضعیف این گونه می‌باشد. ریواس یکی از گونه‌های دارویی، صنعتی و خوراکی است که متأسفانه به دلیل عدم وجود تحقیقات لازم در جهت زراعی کردن آن در حال حاضر فقط در مراتع و رویشگاه اصلی می‌روید که برداشت شده و به بازار مصرف عرضه می‌گردد (۷ و ۸). ساقه ریواس خاصیت مسهلی دارد و برای درمان یبوست به‌کار می‌رود و از عصاره ریشه آن برای درمان دیابت، ناراحتی‌های معده، کبد، آبله و سرخچه استفاده می‌شود (۱۴ و ۱۵). به‌علاوه برگ و ساقه تازه آن برای تهیه انواع خورش، مربا، دسر و ترشی استفاده می‌گردد (۱۵). برای بهره‌برداری صحیح از مراتع کشور نیاز به برنامه‌ریزی دقیق و مناسبی می‌باشد تا به نحو مطلوب بتوان تنوع‌زیستی کم‌نظیر این مراتع را حفظ کرد. این درحالی است که در کشور ما به تولید، مدیریت و اصلاح گیاهان مرتعی در مقایسه با سایر محصولات زراعی کمتر توجه شده‌است. یکی از روش‌های حفاظت از گیاهان، زراعی کردن آن‌هاست تا از برداشت مستقیم آن‌ها از رویشگاه‌های طبیعی جلوگیری شود. در تحقیقات به‌نژادی انجام مطالعات سیتوژنتیک از اقدامات اولیه است زیرا که شناخت تعداد کروموزوم‌ها در انتخاب روش به‌نژادی موثر است (۶). از کاربردهای دیگر مطالعات کروموزومی استفاده از این اطلاعات در

شناسایی و طبقه‌بندی گیاهان در سیستم جدید به عنوان بخشی از تاکسونومی است. تنوع زیاد در کروموزوم‌ها، ثابت بودن تعداد کروموزوم‌ها در افراد یک گونه و تنوع تعداد، اندازه و ساختمان کروموزوم‌ها در گونه‌های متفاوت شاخص‌های مفیدی برای اهداف تاکسونومیک هستند (۳). ریواس از گونه‌های مهم مرتعی محسوب می‌شود که از نظر صنایع غذایی و دارویی حائز اهمیت می‌باشد، با این وجود هنوز مطالعات اصلاحی و ژنتیکی بر روی آن صورت نگرفته است و توده‌ها و جمعیت‌های آن از نظر ژنومی ناشناخته باقی مانده‌اند. گونه مورد مطالعه برای اولین بار شمارش کروموزومی و مطالعه کاریوتیپی می‌شود. اهداف به‌نژادگران در مورد گیاه ریواس، رسیدن به رقمی است که بتواند صفات مهمی نظیر دمبرگ گوشتی با رنگ قرمز تیره، فقدان گل‌دهی، درصد پایین اگرالات و اسیدیته قابل عیارسنجی بالا را داشته باشد. از آنجا که ریواس از نظر تجاری گیاه زراعی کم‌اهمیتی است، کار به‌نژادی آن به‌صورت حاشیه‌ای بوده و روش‌های ساده‌ای بکار رفته است. اما با وجود کارهای به‌نژادی اندک تعداد زیادی از ارقام زراعی ریواس تولید شده‌اند. در آخرین رده‌بندی گیاهی، ۴۹ گونه جنس *Rheum* به نه بخش تقسیم شده است. مرکز توزیع جنس *Rheum* قسمت‌های مرکزی و شمال آسیا است اما گونه *R. rhaponticum* ممکن است منشأ اروپایی داشته باشد. در بیش‌تر گونه‌های *Rheum* تعداد کروموزوم‌ها $2n = 22$ دیپلوئید، $2n = 44$ تتراپلوئید و $2n = 66$ هگزاپلوئید است و هم‌چنین گزارش‌هایی برای سطوح بالاتر پلی‌پلوئیدی وجود دارد. ارقام جدید ریواس تتراپلوئید ($2n = 44$) هستند و *R. haponticum* یکی از گونه‌های احتمالی سر منشأ آن‌ها و دیپلوئید ($2n = 22$) است (۶ و ۱۶). Zhao و همکاران (۲۴) با بررسی گونه *R. rhaponticum* گزارش کرد این گونه تتراپلوئید ($2n = 44$) است. در بعضی موارد حتی تفاوت در تعداد کروموزوم‌ها می‌تواند به عنوان یک دلیل قابل قبول برای جداکردن گیاهان مختلف به گونه‌های متمایز به‌کار رود. از سوی دیگر تعداد کروموزوم‌ها می‌تواند موانع ژنتیکی برای ارتباط گونه‌های خویشاوند که به‌طور تکاملی جدا شدند، ایجاد کند (۲۰). کاریوتیپ هر موجود براساس خصوصیات مورفولوژیک کروموزوم‌ها تعیین می‌گردد که این خصوصیات شامل طول کروموزوم‌ها، موقعیت سانترومر، طول بازوی بلند،

ساعت و در دمای ۴ درجه قرار گرفتند. پس از طی این مدت ریشه‌ها به مدت ۳ ساعت با آب معمولی شسته شده و سپس در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. در مرحله رنگ‌آمیزی ریشه‌ها پس از هیدرولیز با سود یک نرمال و در حمام بن‌ماری با دمای ۶۰ درجه به مدت ۴۰ دقیقه، در داخل رنگ هماتوکسیلین در دمای ۳۰ تا ۳۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت قرار گرفتند. در مطالعه نمونه میکروسکوپی ۳ عدد متافاز مناسب برای هر توده ضبط و سپس کاریوتیپ تهیه گردید. برای اندازه‌گیری صفات کروموزومی از نرم افزار میکرومتر نسخه ۳/۳ استفاده شد (۱۷). برای مقایسه و تجزیه و تحلیل مشاهدات کروموزومی و دسته‌بندی آن‌ها از پارامترهای نسبت طول بازوی بلند به کوتاه، نسبت طول بازوی کوتاه به بلند، شکل کلی کاریوتیپ TF٪، طول نسبی کروموزوم، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم S٪، شاخص سانترومری (s/l+s)، اندیس عدم تقارن درون کروموزومی A₁ و اندیس عدم تقارن بین کروموزومی A₂ با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید (۱، ۲، ۴، ۱۳ و ۱۸).

طول کروموزوم

$$\times 100 = \frac{\text{طول نسبی کروموزوم}}{\text{مجموع طول کروموزوم‌ها}}$$

مجموع طول بازوی کوتاه

$$\text{TF} \% = \frac{\text{مجموع طول بازوی کوتاه}}{\text{مجموع طول کروموزوم‌ها}} \times 100$$

مجموع طول کروموزوم‌ها

طول کوتاه‌ترین کروموزوم

$$\text{S} \% = \frac{\text{طول بلندترین کروموزوم}}{\text{طول کوتاه‌ترین کروموزوم}} \times 100$$

$$A_1 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n \left(\frac{b_i}{B_i} \right)}{n}$$

n تعداد جفت کروموزوم‌های هومولوگ، b_i میانگین طول بازوی کوتاه در هر جفت کروموزوم هومولوگ و B_i میانگین طول بازوی بلند در هر جفت کروموزوم هومولوگ می‌باشد.

(S) انحراف معیار استاندارد

$$A_2 = \frac{\text{انحراف معیار استاندارد}}{\text{میانگین طول (X)}}$$

میانگین طول (X)

طول بازوی کوتاه، در صورت وجود مکان فرورفتگی ثانویه، طول نسبی کروموزوم و شاخص سانترومری است و خصوصیات کاریوتیپ که شامل شکل کلی کاریوتیپ، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم، ضریب تغییرات، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی و شاخص عدم تقارن بین کروموزومی می‌باشد (۱). هدف اصلی از طرح حاضر بررسی ساختار ژنومی ریواس با استفاده از خصوصیات کروموزومی (تعداد، مورفولوژی، سطوح پلوئیدی و به‌طور کلی کاریوتیپ آن‌ها) می‌باشد. این یافته‌ها می‌تواند در حفاظت، زراعی‌کردن و برنامه‌های اصلاحی این گیاهان کاربرد داشته باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق سه توده ریواس مورد بررسی قرار گرفت که توده شماره ۱ از منطقه پشت‌کوه فریدون‌شهر، توده شماره ۲ از میدانک فریدون‌شهر هر دو واقع در استان اصفهان و توده شماره ۳ از روستای پلنگ‌دره سلفچگان واقع در استان قم جمع‌آوری گردید. جهت تهیه کاریوتیپ از مریستم نوک ریشه استفاده شد. آزمایشات مقدماتی بر روی بذره‌های ریواس نشان داد بذره‌های این گونه به راحتی جوانه نمی‌زنند و برای انجام مراحل جوانه‌زنی به نحوی باید موانع جوانه‌زنی بذور برطرف شود. از هر توده ریواس تعداد زیادی بذر سالم انتخاب و سپس بذور با محلول هیپوکلرید سدیم^۱ ۱۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی شدند. پس از ضد عفونی کردن، بذرها در قیف‌های حاوی فیلتر کاغذی به مدت دو تا پنج شبانه‌روز در برابر جریان آب قرار گرفتند تا مواد بازدارنده جوانه‌زنی از بذرها شسته شود. سپس بذرها درون پتری دیش و روی کاغذ صافی قرار داده شد و در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه در داخل ژرمیناتور نگهداری شدند. نمونه‌برداری از نوک ریشه زمانی که طول ریشه‌چه به بیش از ۲ سانتی‌متر رسید انجام گرفت. برای مشاهده متافاز باید سلول‌ها را وادار به تقسیم کرد و سپس در مرحله متافاز تثبیت نمود. در این پژوهش از پیش‌تیمار آلفامونوبرمونفتالین به مدت ۵ ساعت و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. ریشه‌ها پس از خارج شدن از پیش-تیمار جهت تثبیت تقسیم سلولی در محلول لویتسکی به مدت ۴۰

¹ NaOCl

جدول شماره ۱- بررسی خصوصیات کاریوتیپ کروموزوم‌های پایه توده‌های ریواس

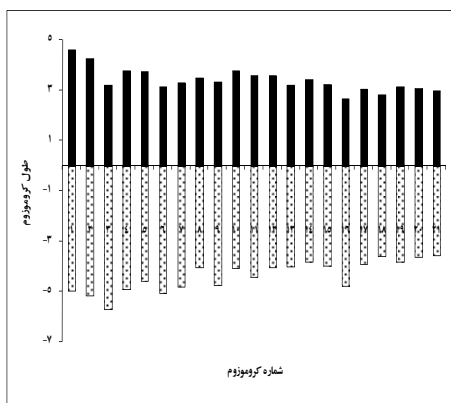
فرمول کاریوتیپی	طول کل ژنوم هاپلوئید	تفاوت دامنه طول نسبی	طول نسبی کوچکترین کروموزوم	طول مطلق کوچکترین کروموزوم	طول نسبی بزرگترین کروموزوم	طول مطلق بزرگترین کروموزوم	محل جمع آوری	توده
۲۰ m + ۱ sm	۱۶۲/۹۱	۱/۸۵	۴/۰۱	۶/۵۳	۵/۸۶	۹/۵۵	پشتکوه	اصفهان ۱
۲۱ m	۱۵۰/۷۸	۳/۰۷	۳/۸۴	۵/۷۹	۶/۹۱	۱۰/۴۲	میدانک	اصفهان ۲
۱۹ m + ۲ sm	۱۷۶/۴۷	۲/۳۳	۳/۹۶	۶/۹۸	۶/۲۹	۱۱/۰۹	روستای پلنگ دره	قم

طبقه‌بندی کروموزوم‌ها براساس روش استاندارد Levan و همکاران (۱۲) و بررسی تقارن کاریوتیپی از روش دسته‌بندی Stebbins (۱۹) استفاده گردید. تاکنون گزارشی در مورد کاریوتیپ گونه *Rheum ribes* ارائه نشده است. انجام مطالعات سیتوژنتیک بر روی ریواس مشخص نمود که این گونه دارای ۴۲ کروموزوم است ($2n = 42$). اشکال شماره ۱ تا ۳ کروموزوم‌های متافازی و شکل‌های شماره ۴ تا ۶ آیدیوگرام هاپلوئید توده‌ها را نشان می‌دهد. در توده اصفهان ۱ ریواس بزرگ‌ترین کروموزوم دارای طول مطلق ۹/۵۵ میکرون، طول نسبی ۵/۸۶ و از نوع متاستریک بود. طول کل ژنوم هاپلوئید این توده ۱۶۲/۹۱ میکرون محاسبه گردید. کوچک‌ترین کروموزوم متاستریک و دارای طول مطلق ۶/۵۳ میکرون و طول نسبی ۴/۰۱ بود. اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم برابر با ۱/۸۵ به‌دست آمد. فرمول کاریوتیپی این توده به‌صورت $20m + 1sm$ بود و کروموزوم شماره ۳ ساب متاستریک و بقیه کروموزوم‌ها از نوع متاستریک تعیین شدند. در توده اصفهان ۲ ریواس بزرگ‌ترین کروموزوم دارای طول مطلق ۱۰/۴۲ میکرون، طول نسبی ۶/۹۱ و از نوع متاستریک بود. طول کل ژنوم هاپلوئید ۱۵۰/۷۸ میکرون محاسبه گردید. فرمول کاریوتیپی این توده به‌صورت $21m$ بود و همه کروموزوم‌ها از نوع متاستریک تعیین شدند. کوچک‌ترین کروموزوم متاستریک و دارای طول مطلق ۵/۷۹ میکرون و طول نسبی ۳/۸۴ بود. اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم برابر با ۳/۰۷ به‌دست آمد بزرگ‌ترین کروموزوم در توده قم دارای طول مطلق ۱۱/۰۹ میکرون، طول نسبی ۶/۲۹ و از نوع متاستریک بود. طول کل ژنوم هاپلوئید ۱۷۶/۴۷ میکرون محاسبه گردید. فرمول کاریوتیپی این توده به‌صورت $19m + 2sm$ بوده و کروموزوم‌های شماره ۱۰ و ۲۱ ساب متاستریک و بقیه کروموزوم‌ها از نوع متاستریک با سانترومر در ناحیه میانی تعیین

شدند. کوچک‌ترین کروموزوم ساب متاستریک و دارای طول مطلق ۶/۹۸ میکرون و طول نسبی ۳/۹۶ بود. اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم برابر با ۲/۳۳ به‌دست آمد. بنابراین بلندترین کروموزوم و بلندترین ژنوم به توده ظم مربوط می‌باشد و کوتاه‌ترین کروموزوم در توده اصفهان ۲ (میدانک) ۵/۷۹ میکرون مشاهده شد. (جدول شماره ۱). در جدول شماره ۲ شاخص عدم تقارن درون کروموزومی A_1 ، شاخص عدم تقارن بین کروموزومی A_2 ، درصد فرم کلی TF، طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم S٪ و دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها DRL٪ و فرمول کاریوتیپی توده‌ها آورده شده است. از لحاظ کلاس استینز درجه تقارن توده اصفهان ۱ و اصفهان ۲ ریواس گروه A تعیین گردید و توده قم در دسته کاریوتیپی ۲A جای گرفت. از نظر درجه تقارن کاریوتیپ توده اصفهان ۱ و اصفهان ۲ ریواس از توده قم متقارن‌تر بودند. طبق نظر Huziwarra درصد TF شاخصی برای بیان وضعیت تقارن کاریوتیپ است، رسیدن این شاخص به ۵۰ درصد نشان دهنده قرار گرفتن سانترومرها در وسط کروموزوم می‌باشد (۱۱). کم‌ترین مقدار TF را توده اصفهان ۱ دارا بود. وجود کروموزوم‌های ساب متاستریک دلیل بر عدم تقارن کاریوتیپ است. توده اصفهان ۱ یک جفت و توده قم دو جفت کروموزوم متاستریک داشت. نامتقارن بودن کاریوتیپ توسط فاکتور S٪ نیز مشخص می‌گردد، هرچه درصد S کم‌تر باشد تقارن کاریوتیپ نیز کم‌تر است. توده قم کم‌ترین مقدار S را دارا بود. توده اصفهان ۲ (میدانک) با داشتن مقادیر کمتر و TF٪ بیشتر، دارای تقارن درون کروموزومی A_1 بیش‌تری نسبت به توده‌های اصفهان ۱ و قم بود. توده اصفهان ۱ (پشت‌کوه) با دارا بودن مقدار A_2 ، C.V٪ و DRL٪ کمتر و S٪ بیش‌تر دارای تقارن بین کروموزومی بیش‌تری نسبت به توده اصفهان ۲ و توده قم بود.

جدول شماره ۲- مقایسه صفات کاریوتیپ توده‌های ریواس مورد مطالعه

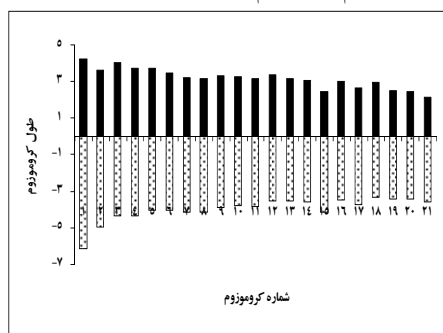
توده	محل جمع آوری	A ₁	A ₂	SC	%S	%TF	%DRL
اصفهان ۱	پشتکوه	۰/۲۱	۰/۱۱	۱A	۶۸/۴۳	۴۴/۰۱	۱/۸۵
اصفهان ۲	میدانک	۰/۲۰	۰/۱۵	۱A	۵۵/۵۹	۴۴/۵۳	۳/۰۷
قم	روستای پلنگ دره	۰/۲۴	۰/۱۰	۲A	۶۲/۹۳	۴۳/۳۰	۲/۳۳



شکل ۱- نمایش صفحه متافازی کروموزوم‌های ریواس توده اصفهان ۱



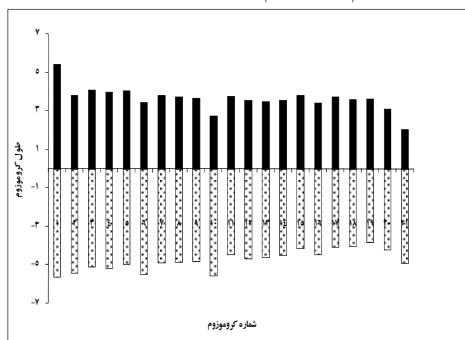
شکل ۴- آیدیوگرام کروموزوم‌های متافازی ریواس توده اصفهان ۱



شکل ۲- نمایش صفحه متافازی کروموزوم‌های ریواس توده اصفهان ۲



شکل ۵- آیدیوگرام کروموزوم‌های متافازی ریواس توده اصفهان ۲



شکل ۳- نمایش صفحه متافازی کروموزوم‌های ریواس توده قم

شکل ۶- آیدیوگرام کروموزوم‌های متافازی ریواس توده قم

بحث

برای اولین بار در این پژوهش تعداد کروموزوم‌های *Rheum ribes* که برابر با $2n = 42$ بود، مشخص گردید. طاهری (۱۳۷۹) با تجزیه SDS-PAGE پرولامین‌های بذر تفاوت‌های آشکاری را در جمعیت‌های ریواس نشان داد. نتایج تحقیق مذکور بیانگر آن بود که تغییر ارتفاع از سطح دریا و جهت‌های مختلف شیب در مناطق مختلف مورد بررسی بر تنوع ژنتیکی توده‌های ریواس موثر است (۵). نتایج تجزیه کاریوتیپی سه توده ریواس بیانگر تنوع کروموزومی قابل توجهی در توده‌های آن بود. در مورد ریواس، شناخت تعداد و ساختمان کروموزوم‌ها و تعیین سطح پلوئیدی گیاه در انتخاب روش‌های بهنژادی، تلاقی‌های بین گونه‌ای، بررسی تغییرات تکاملی گیاه و طبقه‌بندی و شناسایی آن حائز اهمیت می‌باشد.

منابع

۱. آهک‌پز ف (۱۳۷۹) تجزیه و تحلیل کاریوتیپی جمعیت‌های بومی گیاه فستوکا ارون‌دیناسه، پایان‌نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۲. جابراالانصار ز (۱۳۸۹) تجزیه و تحلیل چند متغیره صفات سیتوژنتیک جمعیت‌های مختلف کرفس کوهی، مجله ژنتیک نوین ج ۵، ش پاییز.
۳. خسروی ا (۱۳۷۵) تاکسونومی گیاهی و سیستماتیک زیستی (ترجمه)، انتشارات دانشگاه شیراز.
۴. سالارن، مداح عارفی ح، اسدی م و نصیرزاده ع (۱۳۸۲) مطالعه کاریوتیپی گونه‌هایی از جنس *Salsola*، فصل‌نامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ج ۱۱، ش ۴: ۴۴۳-۴۶۳.
۵. طاهری ق (۱۳۷۵) بررسی تاثیر تغییر عوامل اکولوژیک بر چگونگی پراکنش و تنوع ژنتیکی ریواس، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه.
۶. عرشی ع (۱۳۷۹) اصلاح ژنتیکی سبزی‌های زراعی (ترجمه)، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

۷. غلامی ع و آخوندی م (۱۳۸۳) بررسی مورفولوژیکی و خواص دارویی گیاه ریواس در استان خراسان، دومین همایش ملی گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران.
۸. غلامی ع، عسکرزاده ع و نگاری ع (۱۳۸۵) گزارش نهایی طرح تحقیقاتی بررسی برخی خصوصیات اکولوژیکی ریواس و امکان کشت زراعی آن در مشهد، مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان.
۹. قهرمان ا (۱۳۶۷) فلور ایران، جلد ۱۰، انتشارات سازمان جنگل‌ها و مراتع ایران.
۱۰. مبین ص (۱۳۵۸) رستنی‌های ایران (فلور گیاهان آوندی)، جلد ۲، انتشارات دانشگاه تهران.
11. Huziwar Y (1962) Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosome of Aster. Am. J. Bot, 49:116-119.
12. Levan A, Fredga K and Sanders A.A (1965) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52:201-220.
13. Naranjo C A, Ferrari M R, Palermo A M and Poggio L (1998) Karyotype, DNA content and meiotic behaviour in five south American species of Vicia. Annals of Botany, 82: 757-764.
14. Ozbek H, Ceylan E, Kara M, Ozgokce F and Koyuncu M (2004) Hypoglycemic effect of *Rheum ribes* roots in alloxan induced diabetic and normal mice. Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science, 31(2): 113-115.
15. Ozturk M, Aydogmus-Ozturk F, Duru M E and Topcu G (2007) Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): an edible medicinal plant. Food Chemistry, 103: 623-630.
16. Persson H (2001) Estimating genetic variability in horticultral crop species at different stage of domestication. Department of Crop Science Alnarp, Swedish University of Agricultural.
17. Reeves A (2001) Micromasure: A new computer program for the collection and analysis of the cytogenetic data. Genome, 44: 439-443.
18. Seijo J G and Fernandez A (2003) Karyotype analysis and chromosome evolution in south American species of Lathyrus. American Journal of Botany, 90(7) : 980-987.
19. Stebbins G L (1950) Chromosomal evolution in higher plant. London.
20. Sybenga J (1992) Cytogenetics in plant breeding. Springer-Verlage, Berlin.
21. Thomas G S (1990) Perennial garden plants. Saga Press.
22. Turkmen O, Crika M and Sensoy S (2005) Initial evaluation of a new edible wild Rhubarb species (*Rheum ribes*) with a modified weighted scaling index

24. Zhao Y, Grout B W W and Roberts A V (2005) Abnormal chromosomes and DNA content in micropropagated Rhubarb (*Rheum raphaniticum*) PC49. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 83: 335-338.

method. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 8(5): 763-765.

23. historical survey of their cultivation in Britain. *Journal of the Royal Horticultural Society*, 63: 355-370.