

مشخصات کاربوتیپی گونه‌های جنس *Papaver* در رویشگاه‌های استان اردبیل

فرزانه عظیمی مطعم^{۱*}، ژیرایر کاراپنتیان^۲، غلامرضا بخشی خانیکی^۳، رضا طلایی^۱

^۱ مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، ایران

^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران

^۳ دانشگاه پیام نور تهران، ایران

چکیده

پنج گونه از جنس *Papaver* L. متعلق به تیره *Papaveraceae*، به نام‌های *Papaver orientale* L.، *Papaver dubium* L.، *Papaver fugax* Poir. (با ۲ زیر گونه)، *Papaver glaucum* Boiss. & Hausskn. و *Papaver gaubae* Cullen. & Rech. از رویشگاه‌های استان اردبیل جمع‌آوری شدند و از نظر صفات کاربوتیپی، از قبیل: طول بازوی بلند کروموزوم، طول بازوی کوتاه کروموزوم و طول ماهواره‌ها مطالعه شدند. بر اساس این اطلاعات، طول کل کروموزوم‌ها، نسبت طول بازوی بلند به کوتاه، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، اندیکس سانترومر، شکل کلی کاربوتیپ (TF/.)، طول ماهواره‌ها در صورت موجود بودن و مجموع طول کروموزوم‌ها برحسب میکرومتر محاسبه گردید. نتایج نشان داد که گونه‌های مورد مطالعه، دارای ۲ عدد پایه کروموزومی هستند که برای *Papaver gaubae* Cullen. & Rech. و *Papaver glaucum* Boiss. & Hausskn.، $x=4$ و برای سایر گونه‌ها $x=7$ تعیین گردید. عدد پایه کروموزومی $x=4$ اولین بار در این پژوهش گزارش می‌شود. گونه *Papaver fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. دارای کروموزوم B است. از نظر تکاملی *Papaver fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. نامتقارن‌ترین و متکامل‌ترین گونه تعیین گردید. دامنه طول کروموزوم‌ها در گونه‌های مورد بررسی بین $23/57 \pm 0/81$ و $7/53 \pm 0/64$ میکرومتر به دست آمد. تجزیه واریانس برای تمام صفات فوق در سطح ۱٪ نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گونه‌ها و صفات مورفولوژیک کروموزوم‌ها وجود دارد. در نتیجه، ویژگی‌های کاربوتیپی اختلاف بین گونه‌های مختلف را تأیید می‌کند. تجزیه خوشه‌بندی با تکیه بر این صفات، گونه‌ها را در ۴ گروه مجزا قرار داد.

واژه‌های کلیدی: اردبیل، تیره خشخاش، جنس خشخاش، کاربوتیپ، کروموزوم

مقدمه

جنس‌های این تیره به خود اختصاص داده است (قهرمان، ۱۳۷۲). گیاهان دارویی مهمی در این جنس وجود دارند که ارزش درمانی ارزنده آنها (آرام بخش، معرق،

جنس *Papaver* L. از خانواده *Papaveraceae* با بیش از ۴۰ گونه در ایران، بیشترین تنوع گونه‌ای را در بین

P. nudicaule L., *P. hybridum* L.,
P. pilosum Sibth. & Sm. *P. alpinum* L.
P. somniferum L.، *P. radicum* Rottb.
P. orientale L. و *P. rhoeas* L.، *P. dubium* L.
 نشان داد که بجز گونه‌های *P. somniferum* L. و
P. setigerum DC. که دارای عدد پایه کروموزومی $x=11$
 $(2n=2x=22)$ هستند، بقیه گونه‌ها، دارای عدد پایه
 کروموزومی $x=7$ هستند (Ljungdahl, 1922).
 برای گونه‌های *P. lateritium* Koch. و
P. bracteatum Lindl.، و *P. orientale* L. عدد پایه
 کروموزومی $x=7$ و برای *P. somniferum* L. عدد پایه
 کروموزومی $x=11$ ارائه شده است (Yasui, 1991).
 برای گونه *P. rhoeas* L. عدد پایه کروموزومی $x=7$
 $(2n=2x=14)$ و $(2n=4x=28)$ گزارش شده است (Sugiura,
 1940).
 برای گونه‌های *P. rhoeas* L.، *P. commutatum*،
P. glaucum Boiss. & Hausskn. و *Fische & Meyer*.
 توسط افراد مختلف، عدد پایه کروموزومی $x=7$ ارائه شده
 است (Löve and Löve, 1944; Sugiura 1937, 1940).
 مطالعات کاربیلوژنیک بر روی گونه‌های
P. somniferum و *P. glaucum* Boiss. & Hausskn.
 L. نشان داد که اولی دارای عدد پایه کروموزومی $x=7$ و
 دومی دارای عدد پایه کروموزومی $x=11$ هستند (Sugiura,
 1938).
 برخی معتقد بودند که *P. glaucum* Boiss. &
 Hausskn. و *P. gracile* Boiss. پروژنیاتورهای
 (Progenitors) گونه *P. somniferum* L. هستند، چون که

خلط آور، مسکن، خواب آور، ملین و رفع کننده التهاب‌های
 پوستی) سبب گردیده که در مداوای بسیاری از بیماری‌ها
 (درمان بیماری قند، پایین آورنده فشارخون، صفرابر،
 تصفیه کننده قلب، ملین ملایم، رفع بی‌خوابی و ...) با اثر
 قاطع به کار روند. از بعضی از آنها، مواد مؤثره بسیار مهمی،
 مانند: تبائین، مورفین، کدئین و پاپاورین استخراج
 می‌گردند که در پزشکی اهمیت فراوان دارند. عده‌ای از
 گیاهان جنس *Papaver* L. زینتی هستند و به همین منظور
 پرورش داده می‌شوند (زرگری، ۱۳۷۱). در طی عملیات
 صحرایی مشاهده شد، که برخی از گونه‌های مرتعی جنس
 مذکور مانند: *P. orientale* L. (پس از خشک شدن)، به
 همراه یونجه و سایر علوفه‌ها، به منظور تعلیف دام استفاده
 می‌شوند (عظیمی، ۱۳۸۷).

اندازه‌گیری دقیق نسبت بازوها و طول نسبت
 کروموزوم‌ها، محل قرار گرفتن سانترومرهای اولیه، ثانویه و
 ماهواره‌ها در کروموزوم‌های سلول‌های مرحله متافازی
 میتوزی مریستم نوک ریشه، می‌تواند در تعیین سطح
 پلوئیدی و شباهت‌های کروموزومی گونه‌ها، استفاده گردد
 (Sharma and Sharma, 1989).

بر اساس مطالعات انجام شده، عدد پایه کروموزومی
 $x=7$ $(2n=2x=14)$ و $(2n=4x=28)$ برای *P. rhoeas* L. عدد
 پایه کروموزومی $x=7$ $(2n=3x=21)$ برای
P. orientale L. و عدد پایه کروموزومی $x=11$
 $(2n=2x=22)$ برای *P. somniferum* L. ارائه شده است
 (Tahara, 1915). نتایج مطالعات کاربیلوژنی بر روی
 گونه‌های *P. lateritium*، *P. atlanticum* Bal Cos.،
P. tauricum Boiss.، *P. persicum* Lindl.، Koch.

و گونه‌های مورد نظر به ۵ گروه مجزا تفکیک شده‌اند (Lavania and Sangeeta, 1999).

هدف از چنین مطالعه‌ای، تعیین عدد پایه کروموزومی و بررسی صفات مورفولوژیک کروموزوم‌ها در گونه‌های جنس مورد نظر، در استان اردبیل، به منظور مقایسه گونه‌ها بر اساس صفات مذکور بود. شایان ذکر است که با توجه به فقدان پژوهش مشابه بر روی این گونه‌ها در داخل کشور، چنین مطالعه‌ای ضروری به نظر می‌رسید.

مواد و روش‌ها

با توجه به مطالعات انجام شده قبلی و منابع موجود در این زمینه، با مراجعه به محل‌های رویش گونه‌های مورد نظر در استان، نسبت به جمع‌آوری و شناسایی آنها اقدام گردید (جدول ۱). همچنین، به منظور مطالعات کاربوتیبی (میتوز) مقداری بذر از هر گونه نیز جمع‌آوری شد. برای مطالعات سیتوژنتیکی و کاربوتیبی، از مرحله میتوز در سلول‌های مریستم نوک ریشه استفاده شد. پس از آزمایش‌های متوالی، بهترین طول ریشه‌چه از ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر و بهترین زمان قطع ریشه‌چه و شروع پیش‌تیمار بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح تشخیص داده شد. در این پژوهش، از محلول کلشیسین ۰/۰۵ درصد جهت پیش‌تیمار و از محلول لویسکی که مخلوطی از اسید کرومیک (۱٪) و فرمالدئید (۱۰٪) به نسبت ۱:۱ است، برای تثبیت مریستم‌ها استفاده شد (Agayev, 1996). هیدرولیز نمونه‌ها توسط هیدروکسید سدیم در دمای ۶۰°C انجام شد. برای رنگ‌آمیزی ریشه‌ها، محلول رنگی استو-آهن-هماتوکسیلین به آنها اضافه گردید. مدت نگهداری نمونه‌ها در رنگ، بین ۲۰-۱۶

P. glaucum Boiss. & Hausskn. دارای ۷ کروموزوم میوتیک (۴+۳) و *P. somniferum* L. دارای ۱۱ کروموزوم میوتیک (۴+۴+۳) بوده، از طرفی عدد پایه کروموزومی تیره *Papaveraceae*، ۷ است (Tishchler, 1950). در بررسی گونه‌های *Papaver* L. ترکیه (۳۵ گونه) بر اساس نوع آلکالوئیدهای آنها، به عدد پایه کروموزومی ۷ برای چهار گونه: *P. orientale* L. ($2n=4x=28$)، *P. bracteatum* Lindl. ($2n=2x=14$ و $2n=6x=42$) و *P. pesudeo orientale* Goldblatt. ($2n=4x=28$) اشاره شده است (Sariyar, 2002).

بر اساس مطالعات آلکالوئیدی، مورفولوژیک و کروموزومی، تیره خشخاش را به دو بخش *Mecones* B. و *Ernh. Glauca* J. N. Ovak. تقسیم نمودند. بخش *Glauca* J. N. Ovak. شامل گونه‌هایی، مانند: *P. gracile* Boiss.، *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. و *P. decaisnei* H. Ochst. Et S. Teud. و بخش *Mecones* B. Ernh. فقط شامل گونه‌های *P. somniferum* L. و *P. setigerum* DC. است. آلکالوئیدهای مهمی چون مورفین و کدئین در گونه‌های بخش *Mecones* B. Ernh. بوده، این بخش دارای عدد پایه کروموزومی ۱۱ است. بخش *Glauca* J. N. Ovak. دارای روئیدن (Rhoibden) و با عدد پایه کروموزومی ۷ است (Preininger et al., 2008).

در مطالعه‌ای با عنوان توصیف کمی تنوع کاربوتیبی در *Papaver*، برای تعیین تفاوت‌های فیلوژنتیکی و منشأ گونه‌ها، قرابت و دوری ۳۰ گونه از جنس مورد نظر با توجه به رده‌گونه‌ها که نشان‌دهنده تقارن و عدم تقارن است و صفات تاکسونومیکی و پراکنش جغرافیایی بررسی گردیده

ساعت در دمای 30°C متغیر بود. برای حذف دیواره سلولی و مشاهده بهتر کروموزوم‌ها، روی ریشه‌چه‌ها آنزیم سلولاز و 4% اضافه گردید. در مرحله آخر از سلول‌های متافازی مناسب عکس تهیه شد.

جدول ۱- موقعیت محل رویشی گونه‌های مورد مطالعه در استان اردبیل

ارتفاع از سطح دریا (متر)	محل جمع‌آوری	نام گونه گیاهی
۱۴۳۴	۳۰ کیلومتری اردبیل به طرف آستارا، جنگل فندق‌لو	<i>Papaver dubium</i> L.
۲۹۲۰	اردبیل، سرعین، نرسیده به پیست اسکی آلوارسی، منطقه گورگور	<i>Papaver orientale</i> L.
۲۵۰۰ - ۲۶۲۰	۴۵ کیلومتری اردبیل - خلخال، اطراف دریاچه نور	<i>Papaver fugax</i> Poir. var. <i>platydiscus</i> Cullen.
۹۵۳	جنوب خلخال، قزل‌اوزن	<i>Papaver gaubae</i> Cullen. & Rech.
۹۴۸	دشت مغان، قره‌آغاج	<i>Papaver glaucum</i> Boiss. & Hausskn.
۱۷۸۳	مشگین‌شهر، دامنه شمالی سیلان، آبگرم قینرجه	<i>Papaver fugax</i> Poir. var. <i>fugax</i> Cullen.

با استفاده از نرم‌افزار فتوشاپ، کروموزوم‌های همولوگ کوتاه و بازوی بلند کروموزوم‌ها توسط نرم‌افزار Micro در کنار هم چیده شدند (شکل ۲) و سپس طول بازوی measure اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

جدول ۲- متغیرهای اندازه‌گیری شده با استفاده از نرم‌افزار Micro measure

طول کل هر کروموزوم (L)	طول بازوی بلند (Q)
نسبت بازوی بلند به بازوی کوتاه $R = (Q/P)$	اندیکس سانترومر (CI)
طول ماهواره‌ها	مجموع طول کروموزوم‌ها
طول بازوی کوتاه (P)	درصد شکل کلی کاربوتیب ($\%TF$)

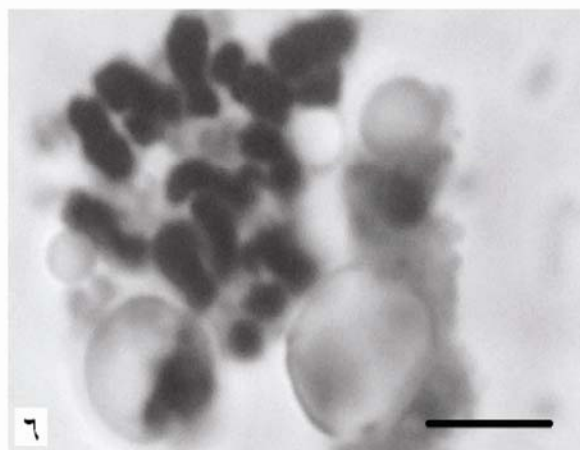
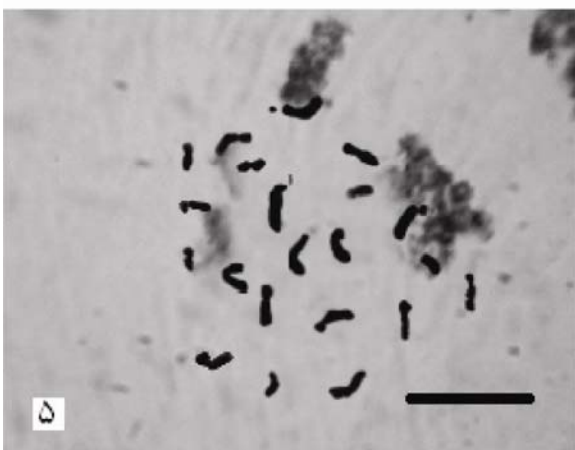
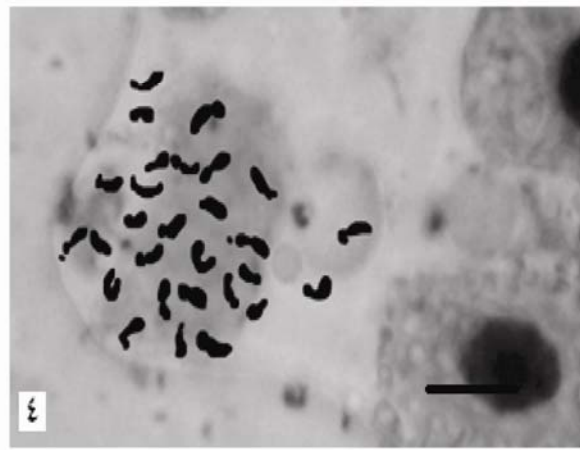
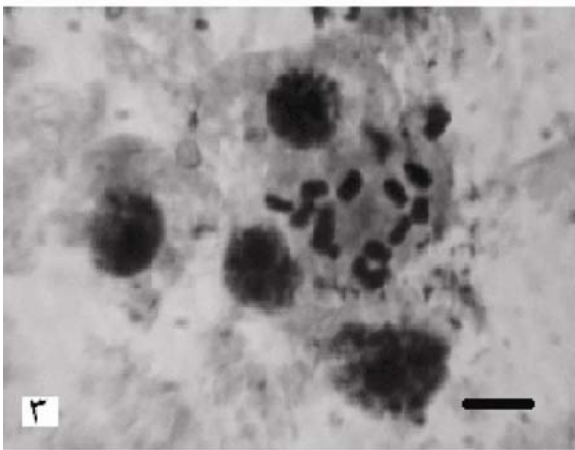
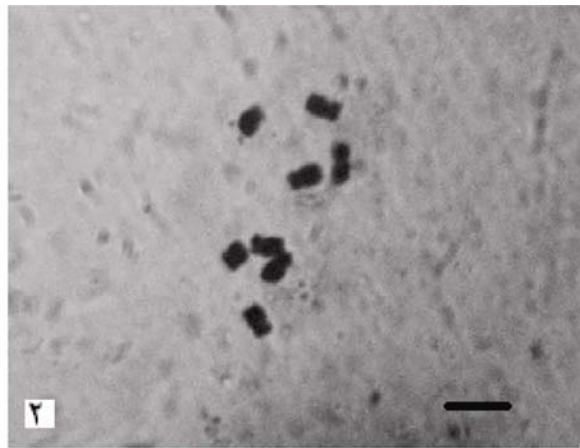
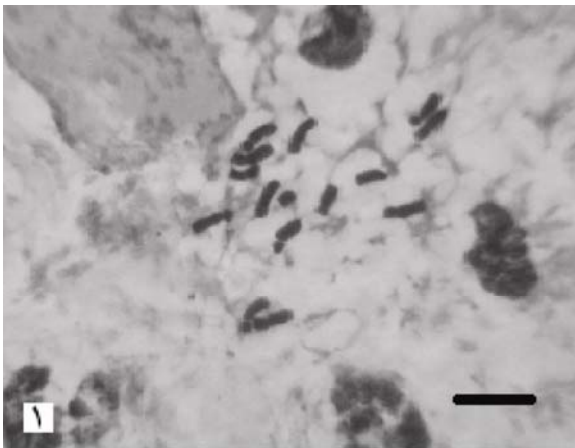
بر اساس روش Levan و همکاران (۱۹۶۴)، فرمول کاربوتیبی گونه‌ها مشخص شد. از درصد شکل کلی کاربوتیب، به عنوان شاخص دسته‌بندی کاربوتیبی، و از طول متوسط یک دسته کروموزوم هاپلوئید (X) نیز به منظور تعیین میزان تقارن کاربوتیب استفاده شد (Huziwara, 1962). برای دسته‌بندی کاربوتیب، از روش دو طرفه استینز استفاده شده است (Stebbins, 1950). در این روش، مقایسه کاربوتیب‌ها بین گونه‌های یک جنس از طریق مقایسه تقارن آنها انجام می‌گیرد (Lakshmi and Venkateswara, 1984). تجزیه و تحلیل داده‌های سیتوژنتیکی براساس تجزیه واریانس یک طرفه انجام گرفت، که در آن تنوع درون گروهی و بین گروهی محاسبه گردید (رضایی، ۱۳۷۴). گروه‌بندی گونه‌ها بر اساس صفات مورد مطالعه با استفاده از روش دندروگرام یا خوشه‌نگار Ward انجام گرفت.

بر اساس روش Levan و همکاران (۱۹۶۴)، فرمول کاربوتیبی گونه‌ها مشخص شد. از درصد شکل کلی کاربوتیب، به عنوان شاخص دسته‌بندی کاربوتیبی، و از طول متوسط یک دسته کروموزوم هاپلوئید (X) نیز به منظور تعیین میزان تقارن کاربوتیب استفاده شد (Huziwara, 1962). برای دسته‌بندی کاربوتیب، از روش دو طرفه استینز استفاده شده است (Stebbins, 1950). در این روش، مقایسه کاربوتیب‌ها بین گونه‌های یک جنس از

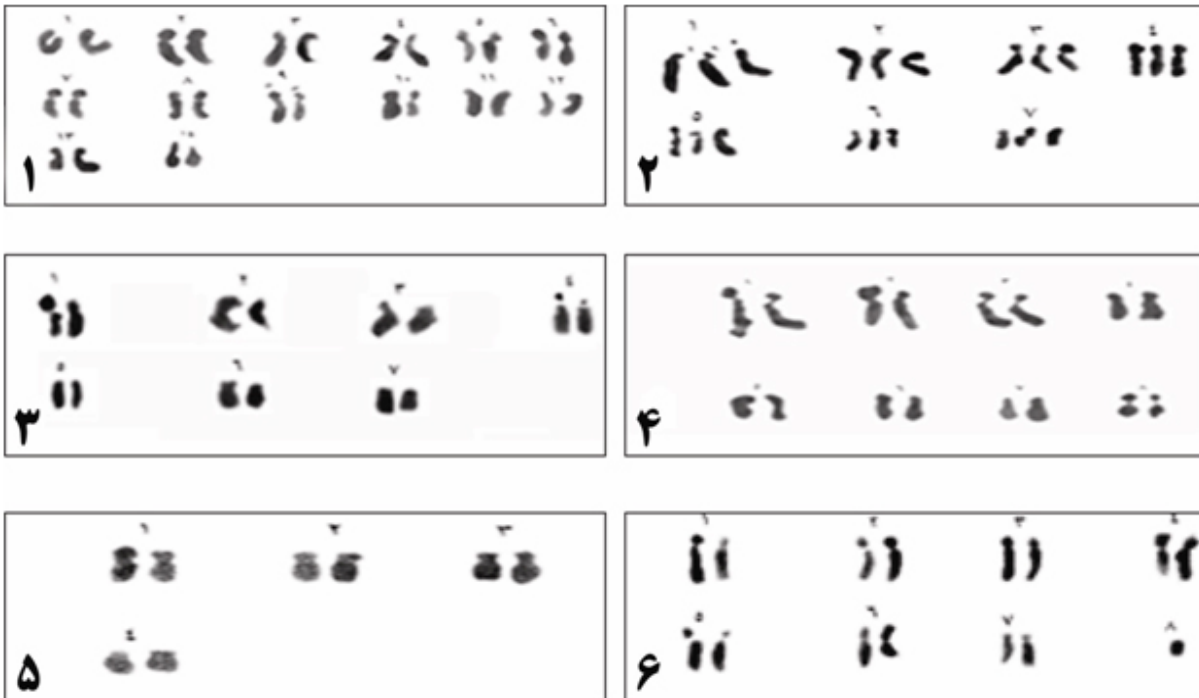
نتایج

پس از بررسی‌های کروموزومی گونه‌های مورد نظر، عدد پایه کروموزومی $x=4$ برای گونه‌های *P. glaucum* *P. gaubae* Cullen. و *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. ($2n=2x=8$) و *P. gaubae* Cullen. & Rech. ($2n=4x=16$) و عدد پایه کروموزومی $x=7$ برای گونه‌های *P. dubium* L. ($3n=3x=21$) *P. orientale* L. ($2n=4x=28$) *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. ($2n=2x=14$) *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. و *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. ($2n=2x=14$) تشخیص داده شد (شکل ۱). با مطالعه روی نمونه‌های متعدد از گونه *P. orientale* L. مشخص گردید که این گونه تری پلوئید بوده و با توجه به این که تقسیم میوز بررسی نشده است، نمی‌توان در مورد عقیم بودن یا نبودن این گونه، نظری داد. کاربوتیب گونه‌ها بر اساس اندازه و محل سانترومرها تهیه گردید (شکل ۲). بر روی کروموزوم شماره ۱ گونه *P. orientale* L. ماهواره‌ای به طول 0.24 ± 0.04 میکرومتر، بر روی کروموزوم شماره ۹ گونه *P. dubium* L. ماهواره‌ای به طول 0.24 ± 0.04

میکرومتر و بر روی کروموزوم شماره ۵ گونه *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. ماهواره‌ای به طول 0.19 ± 0.02 میکرومتر مشاهده شد (جدول ۱). در گونه‌های *P. gaubae* Cullen. & Rech. و *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. ماهواره‌ای *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. مشاهده نشد (شکل ۲). در بین گونه‌ها، فقط گونه *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. دارای کروموزوم B بود. گونه‌های مورد مطالعه از نظر تمامی صفات کاربوتیبی با هم کاملاً اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ داشتند (جدول ۵). محاسبه تقارن کاربوتیبی گونه‌ها بر اساس فرمول Stebbins (۱۹۵۸) و سایر فاکتورهای سنجش تقارن انجام شد. نتایج نشان داد که متقارن‌ترین گونه‌ها *P. dubium* L. و *P. orientale* L. و *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. و نامتقارن‌ترین گونه *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. هستند (جدول ۳). در جدول ۳ و ۴ تمامی فاکتورهای کاربوتیبی مورد مطالعه نشان داده شده است.



شکل ۱- کروموزوم‌های متافازی گونه‌های مورد مطالعه: ۱- *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. ۲- *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. ۳- *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. ۴- *P. dubium* L. ۵- *P. orientale* L. و ۶- *P. gaubae* Cullen. & Rech. طول خطوط مقیاس در تمام تصاویر برابر ۱/۵ میکرومتر است.



شکل ۲- کاربوتیبی گونه‌های مورد مطالعه: ۱- *P. dubium* L.، ۲- *P. orientale* L.، ۳- *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen.، ۴- *P. gaubae* Cullen. & Rech.، ۵- *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. و ۶- *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen.

جدول ۳- خلاصه‌ای از خصوصیات کروموزومی گونه‌های مورد مطالعه

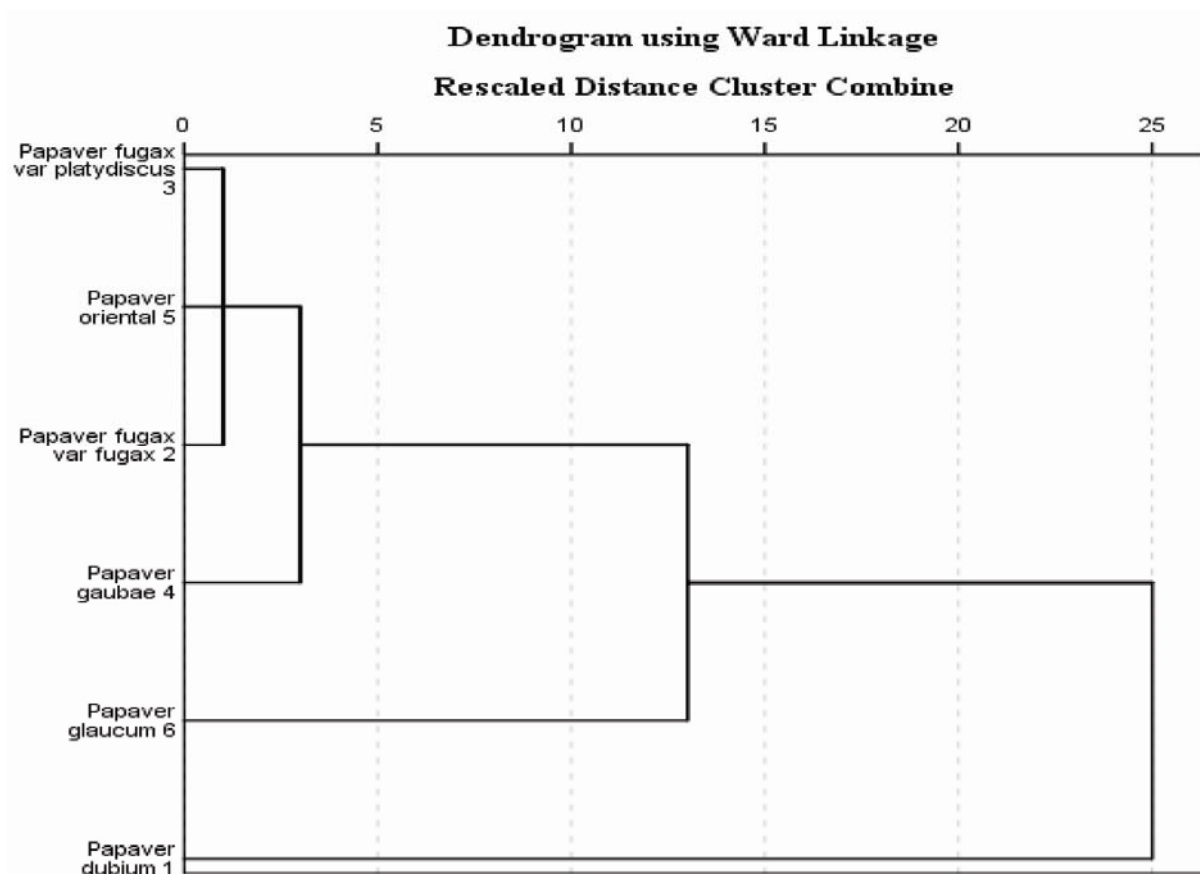
نام گونه	مجموع طول کل کروموزومها (μm)	مجموع طول کل بازوهای بلند (μm)	مجموع طول کل بازوهای کوتاه (μm)	نسبت کل بازوی بلند به کوتاه	مجموع شاخص سانترومری (μm)	بلندترین کروموزوم در هر متافاز (μm)	کوتاهترین کروموزوم در هر متافاز (μm)	عدد پایه کروموزومی	طول ماهواره (μm)
<i>Papaver dubium</i> L.	۲۳/۵۷±۰/۸۱۱	۱۶/۴۳±۰/۰۱۷	۷/۱۴±۰/۰۲۰۴	۳۳/۲۷±۳/۱۹۴	۴/۲۹±۰/۲۷۰	۲/۲۵±۰/۹۵۵	۱/۲۳±۰/۵۹۴	۷	۰/۲۴±۰/۰۴
<i>Papaver orientale</i> L.	۱۰/۶۴±۰/۹۰۷	۷/۳۱±۰/۷۵۳	۳/۲۵±۰/۱۹۸	۱۶/۶۳±۱/۵۷۲	۲/۲۰±۰/۱۳۵	۱/۹۶±۰/۲۶۳	۱/۰۶±۰/۰۹۱	۷	۰/۲۴±۰/۰۴
<i>Papaver fugax</i> Poir. var. <i>platydiscus</i> Cullen.	۷/۵۴±۰/۶۴۷	۵/۴۹±۰/۵۲۵	۲/۰۴±۰/۲۳۵	۱۵/۱۹±۲/۰۳۴	۱/۷۵±۰/۱۰۳	۱/۴۲±۰/۱۴۵	۰/۷۹±۰/۰۸۲	۷	-
<i>Papaver gaubae</i> Cullen. & Rech.	۱۵/۹۸±۰/۱۰۴۶	۱۱/۲۸±۰/۸۸۹	۴/۶۹±۰/۲۵۶	۱۹/۵۷±۱/۱۱۲	۲/۴۴±۰/۸۱۱	۳/۱۰±۰/۳۴۳	۱/۴۱±۰/۰۶۸	۴	-
<i>Papaver glaucum</i> Boiss. & Hausskn.	۸/۲۰±۰/۱۱۹	۵/۶۲±۰/۵۷۵	۳/۳۴±۱/۴۳۶	۹/۵۴±۱/۹۷۷	۱/۲۳±۰/۱۵۸	۲/۳۹±۰/۳۱۶	۰/۸۱±۰/۰۹۳	۴	-
<i>Papaver fugax</i> Poir. var. <i>fugax</i> Cullen.	۱۰/۵۸±۰/۸۴۷	۷/۷۸±۰/۷۷۸	۲/۸۰±۰/۲۳۱	۲۰/۴۵±۲/۴۹۰	۱/۸۷±۰/۱۷۰	۱/۶۶±۰/۹۳۹	۱/۱۵±۰/۱۳۷	۷	۰/۱۹±۰/۰۲

جدول ۴- آمارهای سنجش تقارن کاریوتیپی

نام گونه	فرمول کاریوتیپی	طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (μm)	طول کل یک دسته کروموزوم هاپلوئید (μm)	درصد شکل کلی کاریوتیپ (μm)	اختلاف مجموع طول کل دو بازو (μm)	کلاس گونه بر اساس روش استینیز
<i>Papaver dubium</i> L.	۱m+۱۳Sm	۱۱/۳۲±۰/۹۱۰	۳/۳۶±۰/۱۲۲	۳۰/۳۶±۱/۸۸۶	۹/۲۸±۱/۸۹۴	۲A
<i>Papaver orientale</i> L.	۲m+۴Sm+۱St	۱۰/۰۸±۰/۵۳۵	۱/۵۲±۰/۱۹۲	۳۰/۶۶±۲/۰۸۸	۴/۱۲±۰/۷۷۰	۲A
<i>Papaver fugax</i> Poir. var. <i>platydiscus</i> Cullen.	۲m+۴Sm+۱T	۸/۲۴±۰/۲۱۰	۱/۰۷±۰/۹۳۹	۲۷/۱۲±۲/۲۳۸	۳/۴۵±۰/۴۸۷	۳A
<i>Papaver gaubae</i> Cullen. & Rech.	۲m+۵Sm+۱St	۱۲/۳۷±۱/۷۵۹	۳/۹۹±۰/۵۴۲	۲۹/۴۳±۱/۳۴۷	۶/۵۸±۰/۷۸۵	۲B
<i>Papaver glaucum</i> Boiss. & Hausskn.	۳Sm+۱St	۱۰/۰۹±۰/۱۶۴	۲/۰۴±۰/۲۸۱	۴۱/۰۰±۱۸/۸۷۸	۲/۸۳±۰/۱۰۰	۲A
<i>Papaver fugax</i> Poir. var. <i>fugax</i> Cullen.	۳Sm+۴St+۱B	۱۰/۸۶±۰/۵۹۵	۱/۵۱±۰/۱۱۹	۲۶/۵۳±۲/۳۱۳	۴/۹۸۴±۰/۷۷۵	۲B

جدول ۵- نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه پیرامون صفات مورفولوژیک کروموزوم‌ها

سطح معنی‌داری (Sig)	میانگین مربعات		F	صفات
	درون گروه‌ها (df=۲۳)	بین گروه‌ها (df=۶)		
۰/۰۰۰	۰/۸۵	۱۵۳/۸۳	۱۸۰/۹۴۹**	مجموع طول کل کروموزوم‌ها
۰/۰۰۰	۰/۶۲	۷۳/۷۳	۱۱۷/۷۳۷**	مجموع طول کل بازوی بلند
۰/۰۰۰	۰/۰۹	۱۵/۰۰	۱۶۵/۱۹۴**	مجموع طول کل بازوی کوتاه
۰/۰۰۰	۴/۴۳	۲۶۴/۸۶	۵۹/۷۵۱**	مجموع کل نسبت بازوی بلند به کوتاه
۰/۰۰۰	۰/۰۲	۴/۶۹	۱۸۴/۲۷۵**	مجموع کل اندیکس سانترومر
۰/۰۰۰	۰/۰۵	۱/۴۷	۲۶/۳۱۹**	بلندترین کروموزوم در هر متافاز
۰/۰۰۰	۰/۰۰۷	۰/۱۹۰	۲۵/۷۰۴**	کوتاه‌ترین کروموزوم در هر متافاز
۰/۰۰۰	۰/۶۵	۲۴/۹۲	۳۸/۳۶۴**	طول نسبی کوتاه‌ترین کروموزوم
۰/۰۰۰	۰/۰۳	۰/۵۶	۱۵/۷۲۶**	میانگین طول
۰/۰۰۰	۴/۳۶	۳۴۹/۲۲	۸۰/۰۷۱**	شکل کلی کاریوتیپ
۰/۰۰۰	۰/۶۱	۲۳/۷۴	۳۸/۵۰۸**	اختلاف مجموع طول کل دو بازو



شکل ۳- دندروگرام گونه‌های جنس خشخاش بر اساس صفات مورفولوژیک کروموزوم‌ها به روش آنالیز خوشه‌ای Ward

نتیجه‌گیری و بحث

نتایج نشان می‌دهد که گونه‌های مطالعه شده از نظر عدد پایه کروموزومی در دو دسته قرار می‌گیرند. گونه‌های *P. gaubae* و *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. با Cullen. & Rech. با عدد پایه کروموزومی $x=4$ با سایر گونه‌ها که دارای عدد پایه کروموزومی $x=7$ هستند، قابل تفکیک‌اند. با توجه به این که فقدان پایه کروموزومی $x=4$ تا به حال در تیره *Papaveraceae* گزارش نشده بود، برای اطمینان حاصل کردن از این نتیجه، نمونه‌های متافازی بیشتری از این دو گونه بررسی گردید، که در همه آنها وجود چنین عدد پایه‌ای مشخص گردید. عدد پایه

کروموزومی $x=7$ برای *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. در مطالعات قبلی انجام شده گزارش شده است (Sugiura, 1937; Tischler, 1950; Löve & Löve, 1994).

پژوهش حاضر نشان داد که گونه *P. dubium* L. دارای عدد پایه کروموزومی $x=7$ و عدد کروموزومی سوماتیک $2n=4x=28$ است، که با نتایج مطالعات قبلی (Ljungdahl, 1922) انجام گرفته، کاملاً مطابقت دارد. برای *P. orientale* L. نیز عدد پایه کروموزومی $x=7$ گزارش شده است (Tahara, 1915; Ljungdahl, 1922; Yasui, 1991; Sariyar, 2002). در طی بررسی کاربوتیبی گونه اخیر مشاهده شد که این گونه تری‌پلوئید ($3n=3x=21$)

Cullen. بود. کروموزوم نوع تلوسانتریک با ۱۴ درصد، فقط در گونه *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. مشاهده شد.

بیشترین اختلاف در طول دو بازو مربوط به جفت کروموزوم شماره یک متعلق به گونه *P. dubium* L. با $9/28 \pm 1/89$ و کمترین اختلاف مربوط به جفت کروموزوم شماره شش گونه *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. با $2/83 \pm 0/10$ میکرومتر اختلاف است.

بیشترین میزان طول متوسط یک دسته کروموزوم هاپلوئید (X) مربوط به گونه *P. gaubae* Cullen. & Rech. با $3/99 \pm 0/542$ میکرومتر و کمترین آن متعلق به گونه *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. با میانگین $1/07 \pm 0/93$ میکرومتر بود. این نشان می‌دهد که این گونه نامتقارن‌ترین و در نتیجه تکامل یافته‌ترین گونه است. بررسی وضعیت تکاملی گونه‌های مختلف بر اساس جدول دو طرفه استیبنز (Stebbins, 1950) نیز نشان می‌دهد که گونه‌های مورد نظر در سه کلاس مختلف قرار می‌گیرند. *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. با قرار گرفتن در کلاس ۳A، در بین گونه‌های مطالعه شده نامتقارن‌ترین و تکامل یافته‌ترین گونه است و گونه‌های *P. gaubae* Cullen. & Rech.، *P. dubium* L. و *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. با قرار گرفتن در کلاس ۲A متقارن‌ترین کاریوتیپ را داشتند و از نظر تکاملی کمتر تکامل یافته هستند. گونه‌های *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. و *P. orientale* L. در کلاس ۲B قرار گرفتند که از نظر تکاملی بین دو رده ۳A و ۲A قرار دارند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش تقارن کاریوتیپ‌ها، مقدار میانگین طول کروموزوم، افزایش

است و این مسأله نیز قبلاً گزارش گردیده است (Tahara, 1915). عدد پایه کروموزومی $x=7$ برای دو زیر گونه *Pappaver fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. و *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. نیز به دست آمد. این عدد پایه قبلاً نیز برای گونه *P. fugax* Poir. گزارش شده است (Lavania and (Srivastava, 1999).

نتایج حاکی از آن است که بیشترین مقدار طول کل کروموزوم متعلق به گونه *P. dubium* L. با $23/57 \pm 0/81$ میکرومتر و کمترین آن مربوط به گونه *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. با $7/53 \pm 0/64$ میکرومتر است.

با توجه به نسبت طول بازوی بلند به کوتاه و اختلاف طول دو بازوی بلند و کوتاه کروموزومی، و بر اساس روش Levan و همکاران (۱۹۶۴) فرمول کاریوتیپی گونه‌ها تعیین گردید. چهار نوع کروموزوم شامل متاسانتریک، ساب متاسانتریک، ساب تلوسانتریک و تلوسانتریک در گونه‌های مورد بررسی دیده شد. بیشترین فراوانی کروموزوم نوع ساب متاسانتریک با $92/8$ درصد متعلق به گونه *P. dubium* L. و کمترین آن با $42/8$ درصد مربوط به گونه *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. به همین ترتیب، بیشترین فراوانی کروموزوم نوع متاسانتریک با $28/5$ درصد متعلق به دو گونه *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. و *P. orientale* L. و کمترین آن با صفر درصد مربوط به گونه‌های *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. و *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. بود. بیشترین فراوانی کروموزوم نوع ساب تلوسانتریک با $57/2$ درصد متعلق به گونه *P. fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. و کمترین آن با صفر درصد مربوط به گونه‌های *P. fugax* Poir. var. *platydiscus* و *P. dubium* L.

گروه چهارم: *P. dubium* L.

مطالعه ارتباط گونه‌های جنس *Papaver* L. بر اساس توالی DNA نشان داده که سه گونه *P. orientale* L.، *P. dubium* L. و *P. glaucum* Boiss. & Hausskn. در سه گروه مجزا قرار می‌گیرند (James et al., 2006). در مطالعه‌ای که با عنوان توصیف کمی تنوع کاربوتیپی *Papaver* L. جهت تعیین تفاوت‌های فیلوژنتیکی و منشأ گونه‌ها صورت گرفته است (Lavania and Sangeeta, 1999)، قرابت و دوری ۳۰ گونه از جنس مورد نظر با توجه به تقارن و عدم تقارن گونه‌ای، صفات تاکسونومیکی و همچنین پراکنش جغرافیایی مورد بررسی شده و گونه‌های مورد نظر به پنج گروه مجزا تفکیک شده‌اند. در این گروه‌بندی، گونه *P. fugax* Poir. در یک گروه و گونه‌های *P. glaucum* Boiss. & *P. orientale* L. و *P. dubium* L. در گروه دیگری قرار گرفتند. مقایسه نتایج نشان داد که گروه‌بندی با استفاده از صفات کاربوتیپی در منطقه با نتایج گروه‌بندی بر اساس توالی DNA کاملاً مشابه بوده، اما با نتایج گروه‌بندی بر اساس ترکیب صفات کاربوتیپی، تاکسونومیکی و موقعیت جغرافیایی تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد.

تشکر و قدردانی

از سرکار خانم مهندس ژیلایا بالایی، محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی که در انجام این تحقیق از همراهیشان بهره بسیار برده‌ام، صمیمانه تشکر می‌کنم.

می‌یابد و گونه‌ها هر چه به طرف نامتقارن بودن پیش می‌روند، از میزان طول متوسط کروموزوم کاسته می‌شود. در نتیجه، در روند تکامل کاربوتیپی و تغییر از متقارن به نامتقارن در اندازه کروموزوم کاهش روی می‌دهد. با بررسی‌هایی که بر روی سویه‌های مختلف دو گونه شبلیله انجام شده (Lakshmi and Venkateswara, 1984) و بررسی سیتوژنتیکی بر روی ۸ گونه از شبلیله (ریاست، ۱۳۸۰) نشان داده است که مسیر تکاملی از کروموزوم‌های بلند به کوتاه و از کاربوتیپ‌های متقارن به نامتقارن است.

نتایج تجزیه واریانس برای تمام صفات فوق نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گونه‌ها از لحاظ صفات مورفولوژیک در سطح زیر ۱٪ وجود دارد. در نتیجه، صفات مورفولوژیک کروموزوم‌ها اختلاف بین گونه‌های مختلف را تأیید می‌کنند.

باید توجه داشت که نوع پارامترهای استفاده شده در کلاسترینگ، تعیین‌کننده نتایج آن است. در پژوهش حاضر، هدف گروه‌بندی گونه‌های مورد مطالعه فقط بر اساس صفات کاربوتیپی بوده است.

نتایج تجزیه خوشه‌ای Ward بر اساس صفات مورفولوژیک کروموزوم‌ها (شکل شماره ۴) در گونه‌های مورد بررسی نشان داد که این گونه‌ها بر مبنای این صفات و در فاصله بین ۵-۳ دندروگرام به چهار گروه اصلی تقسیم می‌شوند که عبارتند از:

گروه اول: *P. orientale* L.، *P. fugax* Poir. var. *P. fugax* Poir. var. *fugax* و *platydiscus* Cullen. Cullen.

گروه دوم: *P. gaubae* Cullen. & Rech.

گروه سوم: *P. glaucum* Boiss. & Hausskn.

منابع

- رضائی، ع. (۱۳۷۴) مفاهیم آمار و احتمالات. نشر مشهد، مشهد.
- ریاست، م. (۱۳۸۰) مطالعه سیتوژنتیک برخی از گونه‌های شنبلیله (*Trigonella*) در ایران. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ارومیه، ایران.
- زرگری، ع. (۱۳۷۱) گیاهان دارویی جلد اول. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.
- chromosome numbers of Juncaceae. *Arkiv Botany* 1: 1-6.
- Preininger, V., Novak, J. and Santavy, F. (2008) Isolation and chemistry of the alkaloids from plants of *Papaver aceae*, Lxxxii *Glauca*- a new Section of Genus *Papaver*. *Plant medicine* 41(2):119-23
- Sariyar, G. (2002) Biodiversity in the alkaloids of Turkish *Papaver* species. *Pure and Applied Chemistry* 74: 557-574.
- Sharma, A. K., and Sharma, A. (1972) *Chromosome Techniques Theory and Practice*. Butterworth Baltimore, University Park, London.
- Stebbins, G. L. (1950) *Variation and evolution in plants*. Columbia University Press, New York.
- Sugiura, T. (1937) Studies on the chromosome numbers in higher plants *cytologia*, Fujii Jub 2: 845-849.
- Sugiura, T. (1940) Chromosome studies on *Papaveraceae* with special reference to the phylogeny. *Cytologia* 10: 558-576.
- Sugiura, T. (1938) A list of chromosome numbers in angiospermous plants V. *Proceedings of the Imperial Academy, Tokyo* 10: 391-392.
- Tahara, M. (1915) The chromosomes of *Papaver* (Japanes). *Botany Magazine Tokyo* 29: 254-257.
- Tischler, G. (1950) Die chromosomenzahlen der Gefäßpflanzen Mitteleuropas. W. Junk. Gravenhage.
- Agayev, Y. M. (1996) Advanced squash method for investigation of plant chromosomes. Fourth Iranian congress in crop production and breeding sciences. Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
- Huziwar, Y. (1962) Karyotype analysis in some genera of compositae VIII. Further studies on the chromosome of *Aster*. *American Journal of Botany* 49:116-119.
- James, C., Ingrid, L., Mark, W., Joachim, W. and Trevor, R. (2006) Phylogenetics of *Papaver* and related genera based on DNA sequences from ITS nuclear ribosomal DNA and plastid *trnL* intron and *trnL-F* intergenic spacers. *Annals of Botany* 98: 141-155.
- Lakshmi, N., Rao, T. and Venkateswara, R. (1984) Karyological and morphological investigations on some inbred strains of *Trigonella*. *Genetica-Iberica* 36: 187-200.
- Lavania, U. C. and Srivastava, S. (1999) Quantitative delineation of karyotype variation in *Papaver* as a measure of phylogenetic differentiation and origin. *Current Science* 77: 429-435.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes, *Hereditas* 52:201-220.
- Ljungdahl, H. (1922) Zur Zytologie der Gattung *Papaver*. *Vor Lauffie Mitterilung Svensk Botany* 1: 103-114.
- Löve, A. and Löve, D. (1944) Cytotaxonomical studies on boreal plants. II. Some notes on the

Yasui, K. (1991) Cytogenetic studies in artificially raised interspecific hybrids of *Papaver* VII *P. somniferum* L. × *P. bracteatum* Lindl. *Cytologia* 8: 331-342.

Archive of SID

Karyotypic characteristics of several *Papaver* species in Ardabil province

^{1*} Farzaneh Azimi Motem, ² Jirair Carapetian, ³ Gholamreza Bakhshi Khaniki and ¹Reza Talai

^{1*} Reasearch Center Agriculture and Natural Source, Ardabil province, Iran

² Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, West Azarbaijan, Iran

³ Department of Biology, Faculty of Science, Payamenur University, Tehran, Iran

Abstract

Five species of *Papaver* L. genus, belonging to the Papaveraceae family, namely *Papaver dubium* L., *Papaver orientale* L., *Papaver fugax* Poir. (with two subspecies), *Papaver glaucum* Boiss & Hausskn. and *Papaver gaubae* Cullen. & Rech. were collected from rangelands across Ardabil province. Several karyotypic characteristics such as long arm, short arm and satellite length were studied then, total length of the chromosomes, long arm to short arm and others characteristics were estimated. Result showed that, there were two types of basic chromosome numbers, $x=4$ and $x=7$. This is the first record of basic chromosome numbers of $x=4$ observed on *Papaver glaucum* Boiss & Hausskn. and *Papaver gaubae* Cullen. & Rech.. The species *Papaver fugax* Poir. var. *fugax* Cullen. contained B-chromosome. From evolution point of view, *Papaver fugax* Poir. var. *platydiscus* Cullen. was considered as the most asymmetric and thus the most evolved species. The range of total chromosome length was 23.57 ± 0.81 to 7.53 ± 0.64 μm . Analysis of variance showed highly significant differences between the studied species for all of the traits at ($\alpha=0.01$). Based on these characteristics, cluster analysis classified the species in four distinct groups.

Key word: Ardabil, Papaveraceae, *Papaver*, Karyotype, Chromosome

* Corresponding Author: farzanehazimi@yahoo.com