

مطالعه ویژگی‌های کاربولوژیکی در چند توده از خشخاش ایرانی (*Papaver bracteatum* Lindl.)

رضا فرجامی نژاد¹، رسول اصغری زکریا^{2*}، ناصر زارع³، منوچهر فرجامی نژاد⁴

¹ دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

² دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

³ استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

⁴ مربی گروه شیمی تجزیه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

تاریخ دریافت: 1390/05/18، تاریخ پذیرش: 1390/12/28

چکیده

گیاه خشخاش ایرانی (*Papaver bracteatum* Lindl.) یکی از مهمترین گیاهان دارویی می‌باشد که آلکالوئید اصلی آن تبائین است. در این مطالعه ویژگی‌های کاربولوژیکی پنج توده خشخاش ایرانی با استفاده از روش رنگ آمیزی استو - فریک - هماتوکسیلین مورد بررسی قرار گرفت. ویژگی‌های کروموزومی شامل تعداد و طول کروموزوم، طول بازوی بلند و کوتاه، طول کل مجموعه کروموزومی، شاخص نسبت بازو و طول نسبی کروموزوم‌ها بر اساس میانگین 10 سلول متافازی مختلف اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که هر پنج توده دیپلوئید ($2n = 2x = 14$) بوده و کاربوتیپ آنها از دو جفت کروموزوم متاسانتریک و پنج جفت کروموزوم ساب‌متاسانتریک تشکیل شده است که بر روی کروموزوم شماره یک دارای ماهواره هستند. بر اساس جدول تقارن کاربوتیپی استینز کاربوتیپ سه توده 14299، 16986 و 23157 در گروه 2A و دو توده 14305 و 14307 در گروه 3A قرار گرفتند.

کلمات کلیدی: خشخاش ایرانی، رنگ آمیزی استو - فریک - هماتوکسیلین، کاربوتیپ، *Papaver bracteatum* Lindl.

در مناطق خشک و دامنه‌های سنگلاخی، در ارتفاعات 1200-2500 متری از سطح دریا یافت می‌شود. در ایران در کوه‌های شمال، شمالغرب البرز و کردستان رشد می‌کند (Goldblatt, 1974; Mallinckrodt, 1974; Fairbairn & Helliwel, 1977).

بررسی شکل ظاهری، تعداد و ساختمان کروموزوم‌ها از لحاظ اندازه، محل قرار گرفتن سانترومر و سایر جزئیات کروموزومی را بررسی کاربوتیبی می‌گویند (Sachan & Tanka., 1976). از جمله ویژگی‌هایی که در مطالعات سیتوژنتیکی مورد بررسی قرار می‌گیرد می‌توان به اندازه و نوع کروموزوم‌ها که با توجه به محل سانترومر آنها مشخص می‌شود، تعداد کروموزوم‌های ماهواره‌دار، موقعیت فرورفتگی ثانویه و محاسبه شاخص‌های سنجش تقارن کاربوتیبی برای نمایش تقارن کاربوتیبی اشاره کرد.

مطالعات سیتوژنتیکی در بررسی سیستماتیک، روابط خویشاوندی و ارزیابی تنوع ژنتیکی از اهمیت زیادی برخوردار است. به طوری که عقیده بر این است بررسی‌های کروموزومی همراه با بررسی‌های ژنتیکی و مورفولوژیکی می‌تواند شاخص قابل اعتمادی در ارزیابی روابط خویشاوندی گونه‌های یک جنس باشد. بررسی تفاوت در تعداد کروموزوم، مورفولوژی آن و همچنین تفاوت سطح پلوئیدی به عنوان شاهدهی برای تلاقی بین گونه‌ای و هیبرید سوماتیکی حاصل از ادغام سلولی بکار می‌رود (Lewis, 1980;)

خشخاش ایرانی با نام علمی *Papaver bracteatum* Lindl. از تیره *Papaveraceae* است که برای اولین بار توسط لیندلی در سال 1821 شناخته شد (Coffman *et al.*, 1975). این گیاه متعلق به بخش درون جنسی *Oxytona* یا *Macrantha* از جنس *Papaver* است و قرابت نزدیکی با گونه‌های *P. pseudo-* و *P. orientale* دارد (Goldblatt, 1974). حدود 98% از کل آلکالوئیدهای این گیاه را تبائین تشکیل می‌دهد. تبائین به صورت شیمیایی به کدئین تبدیل می‌شود ولی تبدیل آن به مورفین و هروئین مشکل می‌باشد (Milo *et al.*, 1987; Seddigh *et al.*, 1982). خشخاش ایرانی گیاهی دیپلوئید ($2n=14$) و مقاوم به خشکی است. غنچه گل عمودی و دارای براکته است. گل آن دارای گلبرگ‌هایی به رنگ قرمز، بلند، دراز و باریک با یک یا دو لکه سیاه در پایین و کلاله مخروطی شکل است (Mihalik, 1988). این گیاه دگرگشن بوده و دارای خودناسازگاری گامتوفیتیک است که گرده افشانی آن توسط حشرات انجام می‌گیرد. این گیاه زمستان را به صورت رزت سپری کرده و در اوایل بهار به سرعت رشد رویشی خود را آغاز می‌کند. در سال اول هر گیاه یک گل و در سال دوم تا 5 گل و در سال سوم و چهارم تا 20 گل را تولید می‌کند. تخمین زده شده است که بوته‌های این گیاه به مدت 8-10 سال فعال باشند. این گونه بومی آسیا بوده و

محیط کشت موراشیگ و اسکوک (MS) کشت گردید. بعد از یک هفته وقتی طول ریشه‌ها به 2-1/5 سانتیمتر رسیدند، پیش‌تیمار توسط کلشی‌سین 0/05% به مدت 3 ساعت انجام گرفت. ریشه‌ها پس از اعمال پیش‌تیمار در آب مقطر شستشو داده شده و بلافاصله به محلول تثبیت کننده لویتسکی (نسبت 1:1 حجمی از فرمالدئید 10% و اسید کرومیک 1%) منتقل و به مدت 24 ساعت در دمای 4 درجه سانتیگراد نگهداری و سپس به مدت 3 ساعت در زیر جریان آب معمولی شسته شدند. برای نگهداری، ریشه‌ها به محلول اتانول 70% منتقل و در دمای 20- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. هیدرولیز ریشه‌ها در هیدروکسید سدیم یک نرمال به مدت 8 دقیقه در حمام آب گرم در دمای 60 درجه سانتیگراد انجام گرفت. برای رنگ آمیزی نیز از محلول استو فریک هماتوکسیلین به مدت 16 ساعت در دمای اتاق استفاده شد. به منظور نرم شدن کامل بافت ریشه و تهیه لام، نوک ریشه‌ها به مدت 2 ساعت در آنزیم سینتاز قرار گرفتند (Asghari-Zakaria et al., 2002). سلول‌های متافازی با میکروسکوپ لایکا مدل Gallen III مشاهده و عکسبرداری صورت گرفت. ویژگی‌های کارپولوژیکی شامل طول کروموزوم، طول بازوی بزرگ و کوچک، شاخص نسبت بازوها و طول نسبی هر کروموزوم در پنج توده مورد مطالعه براساس میانگین 10 سلول متافازی توسط نرم افزار Micromesure اندازه گیری شدند. کروموزوم‌های

(Bauchan & Hossein, 1998; Sessions, 1996). پیشرفت سیتوژنتیک مولکولی و امکان استفاده از نرم‌افزارهای کامپیوتری و آنالیز تصویری مربوط به اندازه‌گیری کروموزوم‌ها و روش‌های نوآریندی باعث افزایش اطلاعات سیتوژنتیکی شده‌اند. تعداد کروموزوم‌های پایه (x) در جنس *Papaver* 6، 7 و 11 می‌باشد. در گونه‌های *P. P. pseudo orientale bracteatum* Lindl.، *P. rhoeas dubium*، $x=7$ ، در گونه *P. pavoninum* و $x=6$ *P. somniferum* $x=11$ است (Bara et al., 2007). عدد پایه 6 و 11 کمیاب می‌باشند. گزارش شده است که عدد پایه‌ی 6 از عدد پایه‌ی 7 که دو کروموزوم آن امتزاج یافته بوجود آمده است (Espinasse & Dosba, 1982). این تحقیق با هدف بررسی ویژگی‌های کارپولوژیکی گونه *Papaver bracteatum* Lindl. با استفاده از روش رنگ آمیزی استو-فریک-هماتوکسیلین در چند توده این گونه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه سیتوژنتیک دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی انجام گرفت. بذور گیاه *P. bracteatum* Lindl. از بانک ژن موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه گردید. بذور مورد مطالعه پس از ضد عفونی توسط الکل 70% به مدت 30 ثانیه و هیپوکلریت سدیم 2/5% به مدت 12 دقیقه در ظروف پتری حاوی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده (جدول 1) نشان داد که توده‌های مورد مطالعه از نظر طول کروموزوم، طول بازوی بلند و کوتاه و شاخص نسبت بازوها اختلاف معنی‌داری با همدیگر دارند. گستره متافازی و کاریوگرام توده‌های مورد مطالعه در شکل 2 آمده است. در همه توده‌ها ماهواره روی کروموزوم شماره 1 قرار داشت که میانگین طول آن‌ها $0/86 \pm 0/08$ میکرومتر بود (جدول 2).

بیشترین طول کل کروموزوم متعلق به توده 14307 با 57/07 میکرومتر و کمترین آن مربوط به توده 14299 با 41/66 میکرومتر بود. بین توده‌ها از نظر این صفت نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت (شکل 1). در فرمول کاریوتیپی توده‌ها بر اساس روش لوان و همکاران (1964) دو نوع کروموزوم ساب متاسانتریک و متاسانتریک مشاهده گردید. کاریوتیپ هر پنج توده از دو جفت کروموزوم متاسانتریک و پنج جفت کروموزوم ساب متاسانتریک تشکیل شده بود. در مطالعات قبلی نیز وجود دو جفت کروموزوم متاسانتریک و پنج جفت ساب متاسانتریک در این گونه گزارش شده بود (Lavania & Srivastava, 1999) در حالی که کاریوتیپ گونه *Papaver dubium* از هفت جفت کروموزوم ساب متاسانتریک تشکیل شده است (Madadi et al., 2009).

همتا بر اساس محل سانترومر، شاخص نسبت بازوها (نسبت طول بازوی بزرگ به طول بازوی کوچک) و وجود یا عدم وجود ماهواره شناسایی و به منظور تهیه کاریوگرام به ترتیب از بزرگ به کوچک در کنار هم چیده شدند و نام‌گذاری آنها نیز طبق روش لوان و همکاران (1964) انجام گرفت.

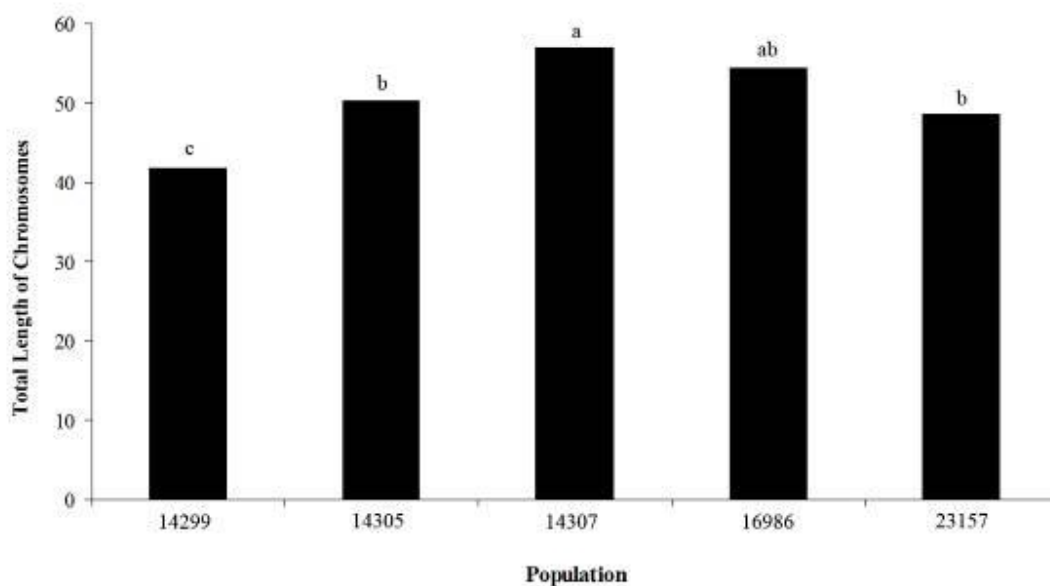
نتایج و بحث

نتایج نشان داد که گونه *P. bracteatum* Lindl. دیپلوئید و دارای عدد پایه کروموزومی $x=7$ است که کروموزوم شماره 1 دارای ماهواره بود. لاوانیا و سریواستاوا (1999) با مطالعه گونه‌های *P. bracteatum*، *P. orientale* L.، *fugax* Poir. و *P. rhoeas* L. گزارش دادند که این گونه‌ها دیپلوئید با عدد پایه کروموزومی $x=7$ هستند (Lavania & Srivastava, 1999). مددی و همکاران (2009) نیز با مطالعه بر روی گیاه *Papaver dubium* گزارش دادند که این گونه دیپلوئید و دارای 14 کروموزوم با عدد پایه کروموزومی $x=7$ است که بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره یک نیز ماهواره دارد (*Madadi et al.*, 2009). اصغری زکریا و همکاران (2011) نیز با مطالعه بر روی گیاه *Papaver rhoeas* گزارش دادند که این گونه دیپلوئید با 14 عدد کروموزوم است که بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره دو دارای ماهواره است (Asghari-Zakaria et al., 2011).

جدول 1- تجزیه واریانس ویژگی‌های کروموزومی در توده‌های مورد مطالعه *P. bracteatum* Lindl

Table 1- Analysis of variance for chromosomal characteristics in studied accessions of *P. bracteatum* Lindl.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	بازوی کوتاه Shoramt arm	بازوی بلند Long arm	طول کروموزوم Length of chromosome	طول نسبی Relative length	شاخص نسبت بازو Arm ratio index
توده Accession	4	4.096**	26.601**	50.294**	0.000 ^{ns}	0.822**
کروموزوم Chromosome	6	10.412**	16.923**	12.865**	53.220**	15.526**
کروموزوم در توده Pop×Chr	24	0.438**	0.469 ^{ns}	0.925 ^{ns}	3.804**	0.325*
خطا Error	315	0.190	0.802	1.335	1.154	0.160
ضریب (%)						
تغییرات CV		18.05	18.69	16.03	7.52	19.03



شکل 1- تغییرات میانگین طول کلی کروموزوم‌ها در توده‌های مختلف *Papaver bracteatum* Lindl

Figure 1- Average of total length of chromosomes in accessions of *Papaver bracteatum* Lindl.

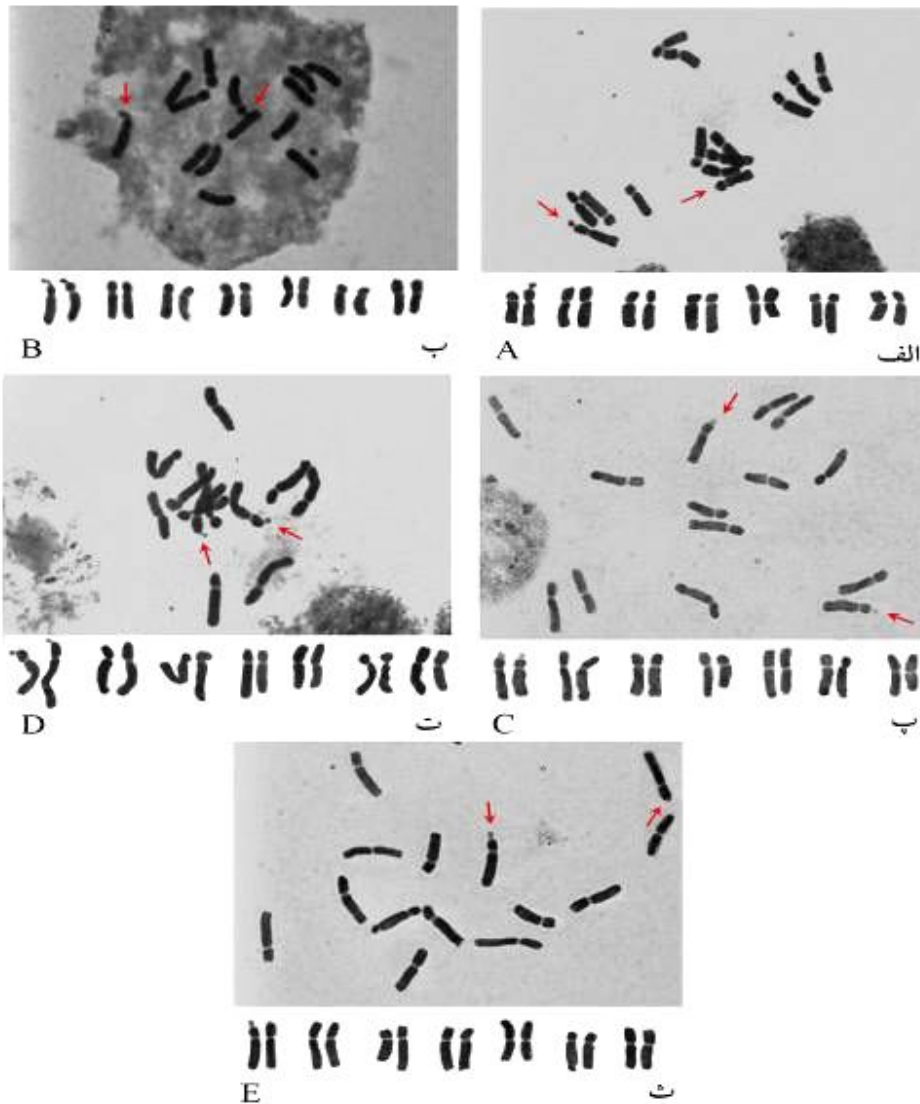
2/87 و کمترین آن مربوط به کروموزوم شماره پنج با میانگین 1/26 بود. بیشترین اختلاف در طول دو بازوی کروموزوم مربوط به جفت کروموزوم شماره سه توده 16986 با 4/11 میکرومتر و کمترین اختلاف مربوط به جفت کروموزوم شماره پنج توده 14299 با 0/63 میکرومتر است. اثر متقابل جمعیت و کروموزوم نیز از نظر طول نسبی کروموزوم و طول بازوی کوتاه در سطح احتمال 1% و از نظر شاخص نسبت بازوها در سطح احتمال 5% معنی دار بود (جدول 1). معنی دار بودن اثر متقابل بیانگر این است که طول بازوی کوتاه و شاخص نسبت بازوها می‌تواند به عنوان یک عامل اختصاصی در بین توده‌ها در نظر گرفته شود. بررسی وضعیت تکاملی توده‌ها بر اساس جدول دو طرفه استیپنز (1950) نشان داد که توده‌های مورد نظر را می‌توان در دو گروه مجزا قرار داد. توده‌های 14305 و 14307 با قرار گرفتن در گروه 3A، در بین توده‌های مطالعه شده نامتقارن‌ترین و تکامل یافته‌ترین توده‌ها بودند. ولی توده‌های 14299، 16986 و 23157 با قرار گرفتن در گروه 2A کاریوتیپ متقارن‌تری داشته و از نظر تکاملی کمتر تکامل یافته بودند (جدول 3). مطالعات قبلی روی گونه‌های *Papaver dubium*, *Papaver bracteatum* Lindl. و *Papaver rhoeas* نشان داده بود که این گونه‌ها به ترتیب در گروه‌های 3B، 3A و 4A جدول دو طرفه استیپنز قرار دارند (Lavania & Srivastava, 1999; Madadi et al., 2007; Asghari-Zakaria et al., 2011). بیشترین مقدار آماره درصد کل فرم

بیشترین مقدار میانگین طول هر کروموزوم و طول بازوی بلند و کوتاه مربوط به توده 14307 به ترتیب با میانگین 8/15، 5/52 و 2/03 میکرومتر و کمترین آن متعلق به توده 14299 با میانگین 5/95، 3/92 و 2/63 میکرومتر بود. از نظر شاخص نسبت بازوها نیز همانند صفات قبلی بیشترین مقدار میانگین نسبت بازوها مربوط به توده 14307 با میانگین 2/20 میکرومتر ولی کمترین آن مربوط به توده 23157 با میانگین 1/95 میکرومتر بود.

کروموزوم‌ها از نظر طول کروموزوم، طول نسبی کروموزوم، طول بازوی بلند و کوتاه و شاخص نسبت بازوها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند (جدول 1). با توجه به میانگین پنج توده مطالعه شده، بیشترین میانگین طول کروموزوم و طول نسبی کروموزوم مربوط به کروموزوم شماره یک به ترتیب با میانگین 7/95 میکرومتر و 15/78% و کمترین آن مربوط به کروموزوم شماره هفت به ترتیب با میانگین 6/66 میکرومتر و 13/16% بود. از نظر طول بازوی بلند، بیشترین میانگین مربوط به کروموزوم شماره سه با میانگین 5/46 میکرومتر و کمترین مربوط به کروموزوم شماره پنج با میانگین 3/83 میکرومتر بود. از نظر طول بازوی کوتاه، بیشترین میانگین مربوط به کروموزوم شماره پنج با میانگین 3/05 میکرومتر و کمترین آن مربوط به کروموزوم شماره شش با میانگین 1/72 میکرومتر بود. از نظر شاخص نسبت بازوها نیز بیشترین میانگین مربوط به کروموزوم شماره شش با میانگین

14305، 16986 و 23157 از نظر این شاخص مشابه هم هستند ولی این شاخص برای توده 14307 به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از چهار توده دیگر بود (جدول 3).

(%TF) در جمعیت 23157 با 35/10 و کمترین مقدار آن در توده 14307 با 32/33 محاسبه گردید که نشان می‌دهد پنج توده مورد مطالعه اختلاف زیادی باهم ندارند. بررسی شاخص دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها نشان داد که چهار توده 14299،



شکل 2- گستره متافازی و کاریوگرام کروموزوم‌های پنج توده *Papaver bracteatum* Lindl. (الف) توده 14299، (ب) توده 14305، (پ) توده 14307، (ت) توده 16986 و (ث) توده 23157.

Figure 2- Somatic metaphase chromosomes and karyograms of five accessions from *Papaver bracteatum* Lindl. A) Accession 14299, B) Accession 14305, C) Accession 14307, D) Accession 16986 and E) Accession 23157.

جدول 2- ویژگی‌های کاربولوجیکی پنج توده *Papaver bracteatum* Lindl.

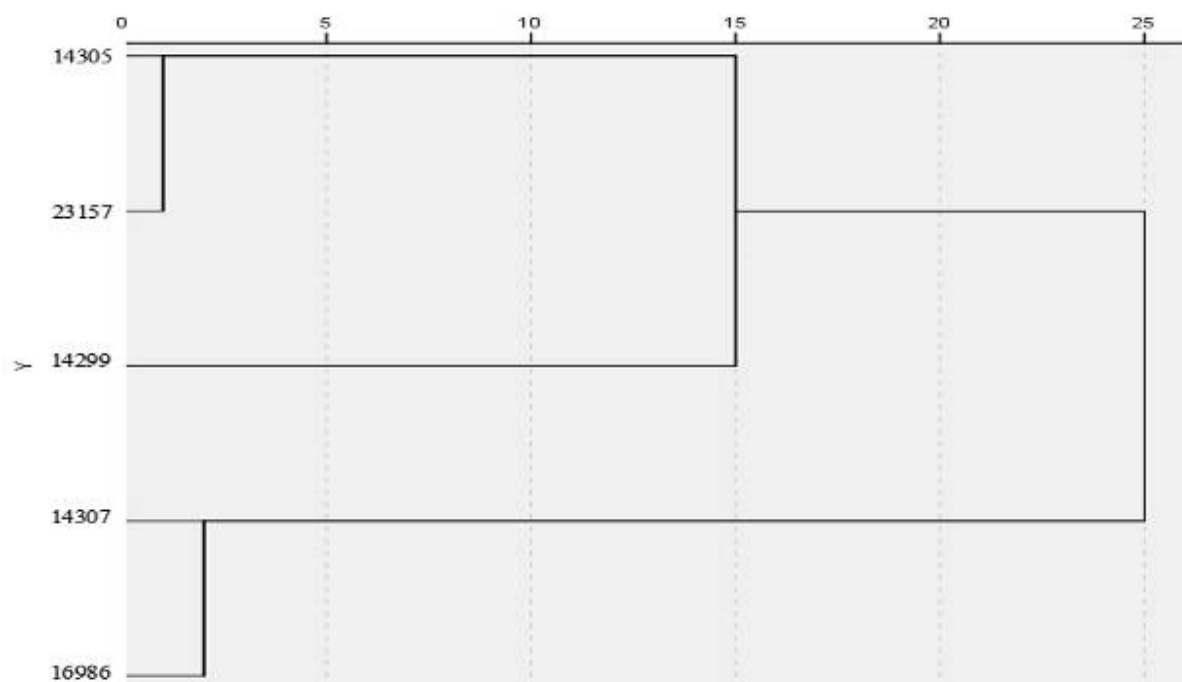
Table 2- Karyological characteristics of five accessions of *Papaver bracteatum* Lindl.

کروموزوم Chr.	توده Pop.	نوع Type	بازوی کوتاه Shoramt arm (μm)	بازوی بلند Long arm (μm)	طول کروموزوم Length of chromosome (μm)	طول نسبی Relative length (%)	شاخص نسبت بازو Arm ratio index	ماهواره SAT (μm)
1*	14299	m	2.42±0.15	4.00±0.32	6.42±0.24	15.42±0.41	1.65±0.07	0.71±0.09
	14305	sm	2.99±0.17	5.07±0.40	8.06±0.53	16.02±0.53	1.69±0.10	0.91±0.07
	14307	sm	2.85±0.13	5.75±0.46	8.60±0.57	15.03±0.28	2.02±0.10	0.86±0.09
	16986	sm	3.14±0.17	5.55±0.42	8.69±0.44	15.94±0.47	1.77±0.16	1.00±0.11
	23157	sm	2.76±0.10	5.24±0.19	8.00±0.26	16.46±0.24	1.90±0.08	0.83±0.06
	mean	sm	2.83±0.14	5.12±0.36	7.95±0.41	15.78±0.38	1.81±0.10	0.86±0.08
2	14299	sm	2.31±0.10	4.21±0.25	6.52±0.28	15.66±0.33	1.82±0.13	
	14305	sm	2.23±0.10	5.09±0.18	7.32±0.26	14.55±0.37	2.29±0.08	
	14307	sm	2.63±0.23	6.02±0.42	8.65±0.54	15.16±0.38	2.28±0.26	
	16986	sm	2.85±0.16	5.66±0.27	8.51±0.31	15.61±0.32	1.98±0.14	
	23157	sm	2.63±0.10	4.56±0.21	7.19±0.29	14.78±0.31	1.73±0.06	
	mean	sm	2.53±0.14	5.11±0.26	7.64±0.34	15.15±0.34	2.02±0.13	
3	14299	sm	1.99±0.12	4.55±0.17	6.54±0.17	15.69±0.43	2.29±0.14	
	14305	sm	1.98±0.10	5.66±0.28	7.63±0.36	15.17±0.39	2.86±0.11	
	14307	sm	2.25±0.08	6.09±0.31	8.34±0.39	14.73±0.33	2.70±0.06	
	16986	sm	2.08±0.11	6.19±0.39	8.27±0.44	15.19±0.25	2.97±0.22	
	23157	sm	2.05±0.11	4.82±0.23	6.87±0.33	14.09±0.43	2.35±0.05	
	mean	sm	2.07±0.10	5.46±0.28	7.53±0.34	14.98±0.37	2.63±0.12	
4	14299	sm	1.78±0.06	4.01±0.14	5.79±0.15	13.90±0.14	2.25±0.12	
	14305	sm	1.99±0.05	4.98±0.22	6.98±0.26	13.86±0.35	2.49±0.10	
	14307	sm	2.29±0.13	5.56±0.39	7.85±0.51	13.76±0.38	2.42±0.06	
	16986	sm	2.45±0.14	5.24±0.27	7.69±0.40	14.11±0.29	2.14±0.09	
	23157	sm	2.37±0.11	4.70±0.17	7.07±0.27	14.52±0.25	1.98±0.05	
	mean	sm	2.18±0.10	4.30±0.24	7.08±0.32	14.03±0.28	2.26±0.08	
5	14299	m	2.51±0.08	3.14±0.13	5.65±0.18	13.58±0.13	1.25±0.05	
	14305	m	3.18±0.21	4.08±0.23	7.26±0.41	14.43±0.26	1.28±0.07	
	14307	m	3.51±0.24	4.49±0.20	8.00±0.40	14.10±0.29	1.28±0.07	
	16986	m	2.88±0.13	3.99±0.26	6.87±0.34	12.60±0.20	1.38±0.09	
	23157	m	3.16±0.10	3.45±0.12	6.61±0.21	13.60±0.21	1.09±0.02	
	mean	m	3.05±0.15	3.83±0.19	6.68±0.31	13.66±0.22	1.26±0.06	
6	14299	sm	1.48±0.07	4.19±0.24	5.67±0.28	13.62±0.38	2.83±0.14	
	14305	sm	1.67±0.05	4.95±0.41	6.62±0.40	13.15±0.40	2.96±0.29	
	14307	sm	1.98±0.14	5.88±0.52	7.86±0.64	13.63±0.41	2.96±0.14	
	16986	sm	1.78±0.05	4.99±0.26	6.77±0.29	12.43±0.26	2.80±0.16	
	23157	sm	1.71±0.04	4.77±0.17	6.48±0.19	13.35±0.22	2.79±0.10	
	mean	sm	1.72±0.07	4.96±0.32	6.68±0.36	13.24±0.33	2.87±0.17	
7	14299	sm	1.71±0.09	3.33±0.17	5.04±0.18	12.11±0.29	1.95±0.14	
	14305	m	2.52±0.25	3.92±0.23	6.45±0.42	12.81±0.39	1.55±0.14	
	14307	m	2.93±0.19	4.83±0.34	7.76±0.49	13.58±0.28	1.65±0.10	
	16986	m	3.00±0.18	4.68±0.26	7.68±0.36	14.10±0.33	1.56±0.11	
	23157	m	2.40±0.14	4.00±0.11	6.40±0.21	13.19±0.36	1.67±0.10	
	mean	m	2.51±0.17	4.15±0.22	6.66±0.33	13.16±0.33	1.67±0.12	

جدول 3- فرمول کاریوتیپی (KF)، اختلاف دامنه طول نسبی (DRL)، درصد کل فرم (%TF)، نسبت بلندترین کروموزوم به کوتاهترین کروموزوم (R)، نامتقارنی درون کروموزومی (A_1)، مقادیر شاخص‌های طول نسبی کوتاهترین کروموزوم (%S) و شاخص تقارن استینز (ST).

Table 3- Karyotype formulae (KF), Difference between relative length of the longest and the shortest chromosomes (DRL), Total form percentage (TF), Ratio of the longest to the shortest chromosome (R), the intra-chromosomal asymmetry index (A_1), and Stebbin's asymmetry category (ST) in five accessions of *papaver bracteatum*.

توده Pop.	KF	DRL	TF	R	%S	A1	Total Length	ST
14299	2m+5sm	3.58	34.10	1.29	12.11	0.471	41.66	2A
14305	2m+5sm	3.20	32.91	1.25	12.81	0.494	50.34	3A
14307	2m+5sm	1.59	32.33	1.11	13.58	0.508	57.07	3A
16986	2m+5sm	3.51	33.37	1.28	12.43	0.486	54.50	2A
23157	2m+5sm	3.26	35.10	1.25	13.19	0.442	48.64	2A
mean	2m+5sm	3.03	33.56	1.24	12.82	0.480	50.44	



شکل 3- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای توده‌های *Papaver bracteatum* Lindl. بر اساس ویژگی‌های کاریولوژیکی به روش Ward.

Figure 3- Dendrogram of *Papaver bracteatum* Lindl. accessions based on karyological characters using Ward Linkage method.

نسبت بازوها در دو توده گروه اول کمتر از میانگین پنج توده بود. در حالی که توده 14305 بیشتر از میانگین بود. توده‌های گروه دوم نیز شاخص نسبت بازوی بیشتری از میانگین پنج توده داشتند. به طور کلی، توده‌های مطالعه شده دیپلوئید بوده و دارای 14 کروموزوم هستند و از فرمول کاریوتیپی یکسانی برخوردار می‌باشند. از نظر شاخص‌های تقارن کاریوتیپی اختلاف زیادی بین این توده‌ها وجود نداشت.

تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و بر اساس طول نسبی کروموزوم‌ها، شاخص نسبت بازو و شاخص‌های تقارن کاریوتیپی جمعیت‌ها را به دو گروه اصلی تقسیم کرد. در گروه اول توده‌های 14305، 23157، 14299 و در گروه دوم توده‌های 16986 و 14307 قرار گرفت. طول کروموزوم، طول بازوی بلند، کوتاه و طول کل کروموزوم‌ها در هر سه توده گروه اول کمتر از میانگین پنج توده مورد مطالعه بود. در حالی که مقدار این شاخص‌ها در دو توده گروه دوم بیشتر از میانگین بود. شاخص

منابع

- Asghari-Zakaria R, Kazemi H, Aghayev YM, Valizadeh M, Moghaddam M (2002). Karyotype and C-banding patterns of mitotic chromosomes in *Henrardia persica*. *Caryologia* 57: 289-293.
- Asghari-Zakaria R, Razmi Sh, Madadi R, Fathi M (2011). Karyological study of the medicinal plant *Papaver rhoeas* from northwest of Iran. *African Journal of Biotechnology* 10: 11173-11177.
- Azimi-Mottem F, Karaptiyan Zh, Bakhshi-Khaniki GR, Talaei R (2010). Karyotypic characteristics of several *Papver* species in Ardabil province. *Iranian Journal of Plant Biology* 3: 77-90.
- Bara II, Bara C, Capraru G, Truta E (2007). The possible ways of specification in Papaveraceae family. *Analele Stiintifice ale Universitatii "Al.I.Cuza" din Iasi (serie noua), Sectiunea I, Genetica si Biologie Moleculara VIII*. 223- 233 ...
- Bauchan GR, Hossein MA (1998). Karyotype analysis of N-banded chromosomes of diploid Alfalfa: *Medicago sativa* ssp. *caeruleo* and ssp. *falcata* and their hybrid. *The Journal of Heredity* 98: 191-193.
- Coffman CB, Bare CE, Genter WA (1975). Thebaine variations between germplasm sources within one collection of *papaver bracteatum*. *Bulletin on Narcotics* 27: 41-46.
- 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.
- Fairbairn JW, Helliwel K. (1977). *Papaver bracteatum* Lindley: thebaine content in relation to plant development. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 29: 65-69.
- Goldblatt P (1974). Biosystematic studies in *Papaver* section *Oxytona*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61: 264-296.
- Lavana UC, 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, Sandberg A (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Lewis HL (1980). Polyploidy in Species. In: Lewis WH. (ed). Polyploidy. Basic Life Science.
- Madadi R, Asghari-zakaria R, Fathi M (2009). Karyotype study in several populations of *Papaver dubium* from North West of Iran. *Biological Diversity and Conservation* 2: 18-22
- Mihalik E (1998). Biology of poppy. 1. Taxonomy. In Bernath, J. (ed.) Poppy: the genus *Papaver*. Harwood Academic Publishers. Australia. pp 7-47.
- Milo J, Alvy A, Palevitch D, Ladizinsky G (1987). Thebaine content and yield in induced tetraploid and triploid plants of *Papaver bracteatum* Lindl. *Euphytica* 36: 361-367.
- Sachan T, Tanka J (1976). Modified C-banding procedure for *Zea* chromosomes. *Japanes Journal of Genetics* 51: 139-141.
- Seddigh, MD, Jolliff G, Calhoun WM, Carne J (1982). *Papaver bracteatum* potential commercial source of codeine. *Economic Botany* 36: 433-441.
- Sessions, SK (1996). Chromosome: molecular cytogenetics. In: Hillis, DM (eds). *Molecular systematics*. pp: 156-203. Sinauer, Sunderland. Massachusetts.
- Stebbins GL (1950). *Variation and evolution in plants*. Columbia University Press, New York.

Study of karyological characteristics in several accessions of *Papaver bracteatum* Lindl.

Farjaminezhad R.¹, Asghari R.^{2*}, Zare N.³, Farjaminezhad M.⁴

¹ M.Sc. Student of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran.

² Associate Professor of Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran.

³ Assistant Professor of Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran.

⁴ Chemistry Department, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran.

Abstract

Iranian poppy (*Papaver bracteatum* Lindl.) is one of the most important medicinal plants which its main alkaloid is thebaine. In this study karyological characteristics of five accessions of *Papaver bracteatum* Lindl were investigated using Aceto-Iron-Hematoxylin staining. Karyological characteristics including chromosomes number, chromosomes length, long and short arms length, arm ratio index, relative length of chromosomes and total length of chromosome set were measured in 10 mitotic cells. The results showed that all of the five accessions were diploid ($2n=2x=14$), with two pairs of metacentric and five pairs of submetacentric chromosomes. Chromosome 1 had a secondary constriction and satellite at the end of its short arm. According to the Stebbin's asymmetric categories of Karyotype, the 14299, 16986 and 23157 accessions were located in 2A class and 14305 and 14307 accessions were located in 3A class.

Key Words: *Aceto-Iron-Hematoxylin staining, Iranian Poppy, Karyotype, Papaver bracteatum Lindl.*

* Corresponding Author: Asghari Zakaria R.

Tel: 09143541783

Email: rrasghari@yahoo.com