



## بررسی کاربوتیپی گونه لاله *Tulipa pulchella*

مهشید فخرایی لاهیجی<sup>۱\*</sup>، سلاله صلاحی<sup>۲</sup> و اردشیر رحیمی میدانی<sup>۳</sup> و فرنگیس قنواتی<sup>۴</sup>

عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات ثبت و گواهی نهال و بذر

کرج، کارشناس ارشد شرکت

\* نویسنده مسئول: مهشید فخرایی لاهیجی fakhraie1000@yahoo.com

### چکیده

تنوع کاربوتیپ کروموزومی گل لاله که متعلق به گونه *T. pulchella* بود و از دامنه رشته کوه‌های البرز و خرم آباد، و کندوان جمع آوری شدند، مورد بررسی قرار گرفت. مشخصات کاربوتیپی با توجه به پارامترهای کروموزومی هر جمعیت شامل طول بازوی بلند و کوتاه، عرض کروموزوم، بیشترین و کمترین عرض اندازه گیری شدند. پارامترهایی مانند متوسط طول بازوها، طول کل کروموزوم، متوسط عرض کروموزوم و کل عرض کروموزومها در جمعیت‌های هر گونه نیز محاسبه شد. نتایج نشان داد که جمعیت‌های دو گونه لاله مورد بررسی که از مناطق مختلف ایران جمع آوری شده بودند، این گونه دیپلوئید و دارای تعداد کروموزوم  $2n = 2x = 36$  بودند. متوسط طول کروموزوم در داخل گونه بین  $1/10$  میکرومتر در جمعیت البرز و کندوان تا  $2/24$  میکرومتر در جمعیت کندوان متغیر بود. تنوع کاربوتیپی موجود در جمعیت‌های لاله-های وحشی ایران موید تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی قابل توجه در بین آنها می باشد، بنابراین تحقیقات بعدی برای شناسایی صفات مطلوب در جمعیت‌های گونه‌های وحشی و انتقال آنها به کالتیوارهای زراعی حائز اهمیت می باشد.

واژگان کلیدی: کاربوتیپ، کروموزوم، جمعیت، لاله

### مقدمه

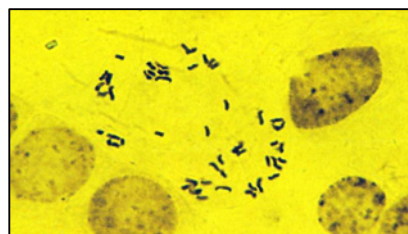
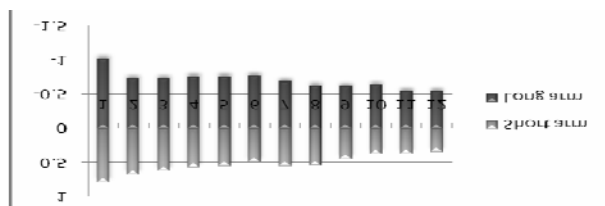
ویژگی‌های مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی کروموزومها و تعداد آنها، به عنوان شاخص ثابت و مهم در روند تکاملی گیاهان بسیار حائز اهمیت است و معیاری برای جداسازی گونه‌های از گونه‌ها و یا نژادهای دیگر می باشد (Bauchana & Hossain, 1998). بررسی اختلاف بین تعداد کروموزوم و سطح پلوئیدی یک گونه می تواند در ایجاد تلاقی‌های ممکن بین گونه ای و یا هیبریدهای سوماتیکی حاصل از ادغام سلولی به کار می رود و در پژوهش‌های بهنژادی، سیتوژنتیکی و انتقال ژن از موارد اولیه محسوب می شود (Mizuochi, et al., 2009). پژوهش‌های سیتوژنتیکی در گونه‌های گیاهی به ویژه جمعیت‌های وحشی و بومی آنها اهمیت زیادی دارد و دارای یک نقش عمومی در اصلاح گیاهان مختلف زراعی و باغی و همچنین نقش‌های اختصاصی مختلفی بر حسب ساختار سیتولوژیکی و اهداف اصلاحی در گونه‌های خاص می باشد (Sheidai, et al., 2002).

### مواد و روش‌ها

برای بررسی سیتوژنتیکی مناسب ترین مرحله تقسیم سلولی می باشند، و از طرفی بافت مورد مطالعه نیز باید در مرحله ای از رشد باشد که فعالیت سلولی بیشتر و اکثر سلول ها در مرحله تقسیم سلولی قرار داشته باشند. در این مطالعه، نمونه ها در محلول ۸- هیدروکسی کینولین ۱/۰۰۳ به مدت ۳/۵ ساعت در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  پیش تیمار شدند (Agayev, 2002). نمونه ها با آب مقطر شستشو و برای تثبیت کروموزوم ها به مدت ۳۰ ساعت در محلول تثبیت کننده لویستیکی در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  قرار داده شدند. پس از این مرحله نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. نمونه ها در سود یک نرمال در دمای  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه در بن ماری هیدرولیز شده و در رنگ استوآهن هماتوکسیلین به مدت ۱۸ ساعت در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  قرار گرفتند. برای رنگ آمیزی بهتر و افزایش کیفیت اسلاید ها، نمونه ها در آنزیم سینتاز به مدت دو ساعت قرار گرفتند. تکه ای از مریستم انتهایی روی لام و دو قطره محلول شامل، ده قسمت اسید استیک ۴۵٪ (حجمی / حجمی) و یک قسمت اسید لاکتیک خالص، چهار گوشه لامل اضافه شد که پس از نفوذ به زیرلامل و خارج نمودن هوای زیر لامل، مقدار محلول اضافی با کاغذ صافی خارج گردید. محلول فوق به مدت یک ساعت از نفوذ هوا به زیر لامل جلوگیری نموده و فرصت مناسبی برای مطالعه نمونه ها فراهم می نماید. با انتهای یک سوزن طی ضربات مکرر بافت گیاهی له شده و آنگاه متافازهای مناسب زیر عدسی میکروسکوپ با بزرگنمایی مورد نظر مشاهده گردید. در صورت مشاهده نمونه متافازی و یا آنافازی مناسب، کروموزوم‌ها رویت و شمارش شدند. نمونه‌هایی که کروموزوم‌های آنها روشن و مشخص بود، توسط فتومیکروسکوپ از آنها عکس برداری شد. برای بررسی های سیتولوژیکی، با استفاده از نرم افزار میکرومیتر ۲ (ver.3.3)، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، عرض کروموزوم ها در محدوده سانترومتر و طول کامل کروموزوم ها اندازه گیری شد.

### نتایج و بحث

شمارش تعداد کروموزوم های متافازی جمعیت‌های متعلق به گونه *T. pulchella* نشان داد همگی دارای ۳۶ کروموزوم و به صورت دیپلوئید بودند. تعداد کروموزوم پایه در *T. pulchella* عدد ۱۸ است بطور کلی، بررسی تعداد کروموزوم گونه های خویشاوند مربوط به یک جنس، بیانگر تعداد کروموزوم در گونه های آن جنس می باشد که بیشترین اختلافات بین گونه ها ناشی از پدیده پلی پلوئیدی است. این گونه *T. pulchella* از ارتفاعات البرزکندوان جمع آوری شد و تعداد کروموزوم های آن ۳۶ می باشد. در این گونه ۱۸ جفت کروموزوم همتا (هومولوگ)، از طریق مورفولوژی و اندازه کروموزوم ها تشخیص داده شد. معیار سنجش نوع کروموزوم ها براساس طول بازوی نسبی ۳ می باشد که براساس بازوی نسبی بالاتر از  $1/70$  میکرومتر به عنوان کروموزوم ساب متاستریک، ۱ دقیقاً میانی و ما بین ۱ تا  $1/70$  میانی شناخته می شود. در کروموزوم های این گونه ۱ جفت ساب متاستریک، ۱ جفت دقیقاً میانی و مابقی میانی بودند. میانگین طول کروموزوم های هاپلوئید  $1/12 \pm 0/019$  میکرومتر و میانگین طول بازوی بلند به بازوی کوتاه در این گونه  $1/385 \pm 0/019$  میکرومتر برآورد گردید. حداقل عرض کروموزومی از نمونه کوههای البرز یعنی  $0/16 \pm 0/05$  میکرون محاسبه شده است. به نظر می رسد که در گونه بین طول و عرض کروموزوم‌ها یک رابطه مثبتی برقرار است یعنی هرچه طول کروموزوم‌ها بیشتر باشد، عرض آنها نیز بیشتر است.



#### منابع

- Agayev, Y. M. 2002: New Features in karyotype structure and origin of Saffron; *Crocus Sativus* L. Cytologia 67: 245-252.
- Bauchan, G.R. & Hossain, M. A.1998. Karyotypic analysis of N-banded chromosomes of diploid alfalfa. Journal of Heredity ;98:191-193
- Mizuochi, H.; Matsuzaki, H.; Moue, T. & Okazaki, K.; 2009: Diploid endosperm formation in *Tulipa* spp. and identification of a 1:1 maternal-to-paternal genome ratio in endosperms of *T. gesneriana* L.; Sex Plant Reproduction 22:27-36.
- Sheidai, M., Zogagi-far, Sh., Khanafshar, Sh & Zehzad, B. 2002. Karyotypic study in some Iranian species and populations of *Tulipa* L. (Liliaceae). Caryologia 55 (1): 81-89.

### Karyotypic study in *T. pulchella*

Mahshid Fakhraie Lahijie<sup>1\*</sup>, Solaleh salahe<sup>2</sup>, Ardeshir Rahimi Midani<sup>3</sup>, Farangis ghanavati<sup>4</sup>  
1corresponding author affiliations

\* Corresponding E-mail address: for example fakhraie1000@yahoo.com

#### Abstract

This study was carried out to evaluate the cytogenetic properties of genotypes belonging to *Tulipa pulchella* collected from natural regions of Iran (Alborz mountains and Kandevan). Several karyological characteristics such as number of chromosomes, average of chromosome length/width, the largest and smallest chromosome and total chromosome length/width were recorded for each genotype by Micromeasure software and Excel. Results shown that, number of chromosome in all genotype of *T. pulchella* were 36. Also chromosome numbering shown that genotypes 1,2 were diploid. Among the genotypes of *T. pulchella* average length of chromosome genotype 1/10 to 2/24 micrometer.

**Key words: Chromosome, Karyotype, Tulipa**