شمارش کروموزومی و بررسی کاریوتیپی ژنوتیپ هایی از فلفل سبز

مهیار رهامی*[۱] عبداله محمدی[۲] محمود خسروشاهلی[۳] نفیسه دارنده[۴]

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج ۲. عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی و مرکز تحقیقات کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج ۳. عضو هیأت علمی دانشکده کشاوزری و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات ٤. دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

* نویسنده مسئول mahyar_irana@yahoo.com

چکیده

فلفل(*capsicum spp.*) گیاهی است از تیره ی سیب زمینی که دارای ارزش اقتصادی فراوانی با کاربردهای غذایی، دارویی وادویه می باشد. طی این مطالعه تعداد ۱۰ اکوتیپ جهت بررسی کاریوتیپی و شمارش کروموزومی انتخاب شدند. به منظور مشاهده کروموزوم ها، ابتدا آزمایشات مختلفی جهت تهیه ی بهترین پروتکل رنگامیزی صورت گرفت، و بعد از آن تمامی ژنوتیپ ها با استفاده از روش بدست آمده مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این بررسی نشان داد که تمامی ژنوتیپ های مورد بررس دارای ۲۴ کروموزوم (2n=2x=24) بودند و کاریوتیپ متقارن داشتند.

واژگان کلیدی: کروموزوم، فلفل، کاریوتیپ متقارن ، پروتکل رنگامیزی.

مقدمه

فلفل سبز گیاهی علفی و یکساله، از جنس *Capsicum* و تیره ی *Solanaceae* است. بخش مورد استفاده ی فلفل، میوه ی آن است که درصنایع غذایی و دارویی از مصرف بالایی برخوردار است. طی دو دهه اخیر مطالعات ژنتیکی و سیتوژنتیکی زیادی بر روی گیاهان تیره ی *Solanaceae* انجام پذیرفته است که بخشی از این مطالعات مربوط به جنس *Capsicum* می باشد. بررسی های متعددی نشان دادند که در جنس *Capsicum* دو گروه گونه ای از یکدیگر متمایز شدند به طوری که تعدادی ازگونه ها ۲٤ کروموزوم (2n=2x=24) و سایرگونه ها ۲٦ کروموزوم (2n=2x=26) دارند. گونه های ۲٤ کروموزومی دارای کاریوتیپ تقریباً متقارن هستند و اکثراً دارای یازده جفت کروموزوم متاسنتریک و یک جفت کروموزوم ساب متاسنتریک می باشند. در مقابل گونه های ۲٦ کروموزومی از نظر کاریوتیپی بیشتر نامتقارن هستند و اکثراً دارای جفت کروموزوم های ساب متاسنتریک و در بیشتر موارد هم یک جفت کروموزوم تلوسنتریک دارند (De Teodoro-Pardo, 2007; Moscone et al, 2007; Acosta, 2005). تحقیق پیش رو اولین بررسی سیتوژنتیکی و مطالعه کاریوتیپی بر روی توده های بومی شده و ارقام وارداتی گونه های مختلف فلفل در ایران است و هدف از انجام این مطالعات بررسی کاریوتیپی و شمارش کروموزومی تعدادی از ژنوتیپ های موجود در کشور بوده است.

مواد و روش ها

طی این مطالعه بذور اکوتیپ های مختلف از فلفل(*capsicum spp.*) از بانک ژن گیاهی مؤسسه اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج، تهیه شد. بذر ها در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج کشت شدند و طی چندین ماه مراحل مختلف رشد و صفات مورفولوژیکی آن ها ثبت و مورد مطالعه قرار گرفتند. بر اساس تفاوت های موجود در مورفولوژی و شکل میوه ها، تعداد ۱۰ ژنوتیپ جهت شمارش کروموزومی انتخاب شدند. جهت جوانه دار کردن بذور، پیش تیمار، تثبیت، هیدرولیز و رنگامیزی نمونه ها، آزمایشات مختلفی با مواد متفاوت و در شرایط دمایی و زمانی مختلف صورت گرفت. برای آزمایش جوانه زنی تیمار های اسید جیبرلیک ۱۰۰ppm و ۵۰۰ppm و آب خالص در دمای یخچال و در مدت زمان های ۱۲ ساعت مورد آزمون قرار گرفتند. جهت تعیین بهترین پیش تیمار نیز از محلول های ۸-هیدروکسی کینولئین ۰/۰۰۲ مولار، کلشی سین ۰/۱٪ و ۰/۵٪ و محلول آلفا برمونفتالین به مدت ۲/۵ ساعت در دمای اتاق و دمای یخچال و هچنین مخلوط آب و یخ به مدت ۲٤ ساعت، استفاده شد. جهت تثبیت نمونه ها از محلول کارنوی(نسبت ۳ به ۱ اتانول و اسید استیک گلایسال) استفاده شد. همچنین آزمایشات متعددی نیز جهت تعیین بهترین زمان هیدرولیز در اسید کلریدریک یک نرمال ٦۰ درجه سانتیگراد انجام شد. به منظور رنگ آمیزی کروموزوم ها، نمونه در محلول رنگ استواورسئین قرار گرفتند. به منظور عکسبرداری از صفحات متافازی از دوربین دیجیتال Panasonic مدل DMC-FX55 استفاده شد. عکس ها ی تمامی نمونه ها با کیفیت ۸ مگاپیکسل تهیه شدند. شناسایی کروموزوم های همتا(Homologous) بر اساس تشابه محل سانترومر، شاخص نسبت بازو ها و وجود یا عدم وجود ماهواره انجام گرفت.جهت تهیه کاریوتیپ، کروموزوم های مربوط به یک متافاز به ترتیب بزرگی (از بزرگ به کوچک) در کنار هم چیده شدند و نام آن ها نیز بر طبق روش لوان و همکاران مشخص گردید.

نتایج و بحث

قرار دادن بذور در آب به مدت ۱۲ ساعت در دمای یخچال به عنوان بهترین روش جهت تسریع در جوانه زنی انخاب شد. نتایج بدست آمده از مقایسه انوع پیش تیمارها، بسیار متفاوت بود. نتایج نشان داد که استفاده از محلول ۸-هیدروکسی کینولئین ۰/۰۰۲ مولار به مدت ۲/۵ ساعت در دمای اتاق می تواند باعث ایجاد صفحه های متافازی مناسب به همراه تشخیص آسانتر ماهواره ها شود. استفاده از ۸-هیدروکسی کینولئین ۰/۰۰۲ مولار در دمای اتاق به عنوان پیش تیمار در مطالعات سیتوژنتیکی فلفل توسط گواوارا نیز گزارش شده بود. همچنین گزارشات دیگری مبنی بر استفاده از ۸-هیدروکسی کینولئین ۰/۰۰۲ مولار در دمای یخچال و در زمان های طولانی (١٦ ساعت) وجود دارد (Acosta, 2005; Guevara, 2000). البته شایان ذکر است که بکار بردن پیش تیمار آلفابرومونفتالین نیز باعث مشاهده ی صفحات متافازی مناسبی می شد اما استفاده از این پیش تیمار باعث می شد که ماهواره ها به خوبی قابل تشخیص نباشند. رنگ مورد استفاده در این آزمایش استواورسئین ۰/۱٪ بود که باعث رنگامیزی مناسب

کروموزوم ها می شد. استفاده از غلظت ۰/۱٪ امکان قرار دادن نمونه ها در زمان های طولانی (بیش از یک هفته) و رنگامیزی بهتر کروموزوم ها بدون آنکه اجزاء دیگر سلول رنگامیزی شوند را فراهم می کرد. در رابطه با بهترین زمان هیدرولیز نیز مشخص شد که هیدرولیز با اسید کلریدریک ۱ نرمال در دمای ٦٠ درجه سانتیگراد و به مدت ۱۳ دقیقه باعث حذف مناسب دیواره ی سلولی می شود که این امر باعث می شد عملیات اسکواش با سهولت و موفقیت بیشتری انجام گیرد.

تمامی ژنوتیپ های مورد بررسی در این مطالعه دارای ٢٤ کروموزوم(2n=2x=24) بودند و کاریوتیپ در همه ی ژنوتیپ های مورد مطالعه بصورت متقارن مشاهده شد که حداقل یک جفت از کروموزوم ها در هر ژنوتیپ ساب متاسنتریک تشخیص داده شدند. این نتیجه مشابه سایر نتایج بدست آمده از مطالعات سیتوژنتیکی در فلفل می باشد که نشان می دهند فلفل های اهلی دارای کاریوتیپ های متقارن به همراه ۱۲ جفت کروموزوم می باشند (De Teodoro-Pardo, 2007; Moscone et al, 2007).

تمامی ژنوتیپ ها مورد بررسی حداقل دارای یک جفت کروموزم ماهواره دار بودند که در تمامی این کروموزوم ها ماهواره ها درانتهای بازوی کوتاه قرار داشتند. ماهواره ها در ژنوتیپ های مختلف در انتهای بازوی کوتاه جفت کروموزوم های ۱۱،۱۰ و ۱۲ قابل تشخیص بودند که اغلب این کروموزوم ها از سایر کروموزوم ها کوچکتر بوده و بیشتر بصورت ساب متاسنتریک دیده شدند که این مشاهدات مشابه نتایج بدست آمده در بررسی های کروموزومی انجام شده برروی ۳۲ توده بومی *capsicum annuum* در مکزیک توسط پادرو می باشد (De Teodoro-Pardo, 2007; Moscone et al, 2007; Guevara,2000).

نتیجه گیری کلی

این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ های فلفل موجود در کشور دارای تعداد ٢٤ کروموزوم هستند. از تنایج این آزمایش که حاکی از وجود تنوع کروموزومی بین ژنوتیپ های فلفل بومی شده در کشور بود می توان در کنار سایر مطالعات مزرعه ای انجام شده جهت تدوین برنامه اصلاحی مناسب برای این گیاه استفاده کرد.

منابع

Acosta.M.C, G.Bernardello, M.Guerraande, A.Moscone. 2005. Karyotype analysis in several South American species of Solanum and Lycianthes rantonnei (Solanaceae). Taxon. 54(3). 713-723.

De Teodoro-Pardo, C.V., A. García-Velázquez and T. Corona-Torres (2007). Chromosome Polymorphism in *Capsicum annuum* L. (*Solanaceae*) In Collections from Puebla, Morelos and Queretaro, Mexico. AGROCIENCIA. 41(8): 873-881.

Guevara. M., M .Siles and O. Bracamonte.2000. ANÁLISIS CARIOTÍPICO DE CAPSICUM PUBESCENS (SOLANACEAE) "ROCOTO". Revista Peruana de Biología. 7(2).

Moscone, E.A., M.A. Scaldaferro, M. Grabiele, N.M. Cecchini, Y. Sánchez García, R. Jarret, J.R. Daviña, D.A. Ducasse, G.E. Barboza and F. Ehrendorfer (2007). The evolution of chili peppers (*Capsicum- Solanaceae*): a cytogenetic perspective. Acta Hort. (ISHS).745:137-170.

Chromosomal Enumeration and Kryotype Analysis in some Genotypes of Pepper

Mahyar ROHAMI[1*], Abdollah MOHAMMADI[1], Mahmood KHOSROSHAHLI [2], Nafiseh DARANDEH[1]

[1)] Department of Plant Breeding, Islamic Azad University-Karaj Branch, Iran [2)] Department of Plant Biotechnology, Islamic Azad University-Research and Science Branch, Iran

*** E-mail address of Corresponding Author: mahyar_irana@yahoo.com**

Abstract

Capsicum (pepper) is a member of the Solanaceae family and this genus has a great economic important in food, drug and spices. In this study, seeds of ten ecotypes of *capsicum spp.* were prepared for Chromosomal Enumeration and Kryotype Analysis. In order to view chromosomes, different tests were performed to provide the best staining protocol and after that all genotypes were studied with prepared protocol. Apparently the somatic number of chromosomes of all genotypes has illustrated 24(2n=2x=24) and all genotypes had symmetrical karyotypes.

Keywords: chromosome, *capsicum*, symmetrical karyotype, staining protocol.