

## همبستگی سطح پلوئیدی و تعداد کلروپلاستهای سلولهای محافظ روزنه در جنس زعفران

هاجر صیادی، جواد مظفری، غلامرضا بخشی خانیکی

موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، بخش تحقیقات ژنتیک، بانک ژن ملی گیاهی ایران

تعیین سطح پلوئیدی اهمیت فراوانی در مطالعه روابط خویشاوندی گونه ها، تهیه هیبریدهای بین گونه ای و برنامه های به نژادی گیاهان دارد. این کار معمولا از طریق شمارش کروموزومی در سلولهای مریستم ریشه انجام میشود که نیازمند مهارت بالا، هزینه زیاد و صرف زمان بیشتر میباشد. لذا در این تحقیق برای اولین بار امکان استفاده از شمارش تعداد کلروپلاست سلولهای محافظ روزنه به عنوان یک روش آسان و ساده برای تعیین سطح پلوئیدی در این جنس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دهنده همبستگی مستقیم عدد پایه کروموزومی با تعداد کلروپلاست های سلولهای محافظ روزنه بود. به طوریکه با افزایش تعداد کروموزوم و سطح پلوئیدی، تعداد کلروپلاست سلولهای محافظ روزنه نیز افزایش یافت.

کلمات کلیدی: زعفران، کلروپلاست، سطح پلوئیدی، سلول محافظ روزنه

مقدمه

زعفران زراعی با نام عمومی Saffron گیاهی است که گرانترین ادویه جهان را تولید می کند. جنس *Crocus* را معمولا به خاطر وجود گونه ی زراعی آن *Crocus sativus* که مهمترین گونه ی اقتصادی این جنس می باشد می شناسند، با این وجود گونه های دیگری هم در این جنس وجود دارند که به دلیل گلهای زیبا و رنگارنگ از لحاظ باغبانی با ارزش بوده و مورد توجه قرار میگیرند. حدود صد گونه از این جنس وجود دارد که اکثر آنها در ترکیه و بالکان گزارش شده است. در ایران ۸ گونه وجود دارد که شامل ۷ گونه وحشی و یک گونه زراعی است، این گونه ها در دو دسته پاییز گل و بهار گل قرار میگیرند. گونه های وحشی موجود در یک منطقه یا یک کشور گنجینه ژرم پلاست آن محدوده محسوب میشوند که درتأمین ژنهای لازم برای ایجاد صفات مطلوب در گونه های زراعی میتوانند نقش داشته باشند. این جنس دارای سطوح پلوئیدی متفاوت دیپلوئید و تریپلوئید میباشد که موجب پیچیدگی کار اصلاح آن با استفاده از این منابع ژنتیکی میشود و تعیین سریع سطوح پلوئیدی در جمعیتهای اصلاحی را ضروری می نماید. مطالعات اخیر نشان داده است که تقسیم کلروپلاست و تعداد آن در سلولهای برگ تحت تاثیر ژنوم هسته میباشد، (Leech, 1981) و رابطه مستقیم تعداد کلروپلاست در سلولهای محافظ روزنه در برخی از گونه های گیاهی اثبات شده است. با توجه به سهولت و کم هزینه بودن شمارش کلروپلاستهای سلولهای محافظ روزنه در مقایسه با روش معمول شمارش کروموزومهای سلولهای مریستم انتهایی ریشه، از این روش برای تعیین سطح پلوئیدی در آنها استفاده شده است. همبستگی تعداد کلروپلاستها در سلولهای محافظ روزنه و سطح پلوئیدی در گیاهان سیب زمینی (Mozafari et al, 1995) و گندم گونه *T. monococcum* (Hawke and Leech, 1990) و یونجه (قنواتی و همکاران) اثبات شده است.

مواد و روش ها:

مواد گیاهی: کورمهای ۱۱ جمعیت از ۳ گونه وحشی جنس زعفران شامل *C. speciosus*، *C. pallasii*، *C. caceallatus* و گونه زراعی *C. sativus* (کلکسیون زعفران بانک ژن گیاهی ملی ایران) در فصل پاییز در گلخانه کشت گردیدند. شمارش تعداد کلروپلاست سلولهای محافظ روزنه: با استفاده از تیغ جراحی قطعه ای کوچک از اپیدرم سطح زیرین برگ برداشته و روی یک لام قرار داده و پس از چند دقیقه قرار گرفتن در آب مقطر به منظور آماس سلولهای نگهبان، با محلول لوگول رنگ آمیزی شدند. پس از قرار گرفتن لامل روی لام، در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده و تعداد کلروپلاست ها

شمارش گردید و میانگین برای هر گونه تعیین شد. شمارش کروموزومی: کورمهای کاشته شده در گلدان هر ۴ روز یکبار از خاک خارج و زمانی که طول ریشه ها به ۱/۵-۱ سانتی متر رسیدند، ریشه چه ها جدا شدند و در محلول پیش تیمار ۸- هیدروکسی کوئینولین قرار داده و پس از مراحل تثبیت، هیدرولیز و رنگ آمیزی، نمونه ها اسکواش و حداقل ده پهنه متافازی برای هر گونه مطالعه گردید.

### نتایج و بحث:

مشاهدات نشان داد اگرچه گونه زراعی زعفران تریپلوئید و دارای ۲۴ کروموزوم با عدد پایه کروموزومی ۸ است، ولی گونه های وحشی دارای عدد پایه کروموزومی متغیر از ۴ تا ۸ می باشند. گونه *C. cancellatus*، زعفران زاگرس ۸ کروموزوم مشاهده گردید که نشان می دهد این گونه دیپلوئید و عدد پایه کروموزومی آن ۴ می باشد. (ابراهیم زاده و همکاران ۱۹۹۸). در دو جمعیت مورد بررسی از زعفران جو قاسم (*C. pallasii*)، ۱۴ کروموزوم مشاهده گردید و این در حالی است که در مطالعات جمعیت های دیگر آن، تعداد کروموزوم ۱۲، ۱۴ و ۱۶ نیز گزارش شده است (برایتون، ماتيو ۱۹۷۸ و صانعی ۱۳۸۵). گونه *C. speciosus* دارای ۱۲ کروموزوم و عدد پایه کروموزومی آن ۶ میباشد، که گزارشات قبلی این یافته را تایید میکنند (برایتون، ابراهیم زاده و صانعی ۱۳۸۵). حداقل، حداکثر و میانگین تعداد کلروپلاستهای سلولهای محافظ روزنه در جمعیت های ذکر شده در جدول ۱ آمده است. نتایج نشان میدهد که تعداد کلروپلاست در جمعیت های ۸ کروموزوم بین ۱۶-۱۲ است و در گونه های دیگر دیپلوئید ۱۲ و ۱۴ کروموزوم بین ۲۰-۱۶ عدد متغیر است. با افزایش تعداد کروموزوم، تعداد کلروپلاست سلول محافظ روزنه افزایش می یابد، به طوریکه در گونه تریپلوئید زعفران زراعی، بین ۲۵-۲۲ عدد متغیر است. با افزایش سطح پلوئیدی، میانگین تعداد کلروپلاست سلول محافظ روزنه نیز افزایش پیدا می کند به طوریکه تعداد کلروپلاست سلول محافظ روزنه در گونه تریپلوئید زراعی تقریباً دو برابر گونه دیپلوئید با کمترین تعداد کروموزوم می باشد. بنابراین می توان گفت تعداد کلروپلاست های سلول های محافظ روزنه در این جنس با عدد پایه کروموزومی همبستگی مستقیم دارد.

جدول ۱- تعداد کروموزوم، تعداد کلروپلاست و سطح پلوئیدی در گونه های زعفران

شماره گونه No. species	تعداد کروموزوم No. chromosome	سطح پلوئیدی Ploidy level	تعداد کلروپلاست No. chloroplast		
			حداقل Minimum	حداکثر Maximum	میانگین Mean
<i>C. sativus</i> -6	24	3x	22	25	23.5
<i>C. pallasii</i> -21	14	2x	18	22	20
<i>C. pallasii</i> -63	14	2x	16	20	18
<i>C. speciosus</i> -26	12	2x	17	20	18.5
<i>C. cancellatus</i> -31	8	2x	12	16	14
<i>C. cancellatus</i> -37	8	2x	10	14	12
<i>C. cancellatus</i> -49	8	2x	10	14	12
<i>C. cancellatus</i> -71	8	2x	12	16	14
<i>C. cancellatus</i> -73	8	2x	14	16	15
<i>C. cancellatus</i> -78	8	2x	15	16	15.5
<i>C. cancellatus</i> -14	8	2x	12	16	14

### منابع

صانعی، م. آقایی، ی. ۱۳۸۵. بررسی سیتوژنتیکی برخی از گونه های جنس زعفران در ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد - اصلاح نباتات. دانشکده کشاورزی ساری

- قنواتی، ف. مظفری، ج. و معصومی، ع. ۱۳۸۳. ارتباط میان سطح پلوئیدی و تعداد کلروپلاستهای سلولهای محافظ روزنه در سرده یونجه

- Angela Rubio-Moraga, Raquel Castillo-Lopez, Lourdes Gomez-Gomez and Qussama Ahrazem. Saffron is a monomorphic species as revealed by RAPD, ISSR and microsatellite analyses. *Biomed central* (2009), 2:189.
- Fatemeh N, Ehsan S, Zahra S, Seyed Morteza K and Jalal V. saffron (*Crocus stivus*) increase gastric acid and pepsin secretions in rats: Role of nitric oxid (NO). *African Journal of pharmancy and pharmacology* (2009), Vol. 3(5). pp.181-184.
- Shahin A, Mehdi S, Mohammad H, Mansoreh T, Hamed C, Soodeh R. A 22- week , multicenter, randomized, double- blind controlled trail of *Crocus sativus* in the treatment of mild- to- moderate Alzheimer`s disease. *Psychopharmacology* (2010).270:637-643.

### **Correlation between the ploidy level and chloroplast number in stomatal guard cells of *Crocus* sp.**

Hajar Sayadi, Javad Mozafari, Gholamreza Bakhshi khaniki

Department of Genetics and National Plant Gene-Bank of Iran, Seed and Plant Improvement Institue, Mahdasht RD, Karaj, Iran

#### **Abstract**

Determination of ploidy level is often required in studies dealing with genetic relationship among species, breeding and production of interspecific hybrids. Ploidy level is generally determined by counting the number of chromosomes in the root tip cells, which is costly, technically demanding and time consuming. In this research we have examined, the possibility of using chloroplasts number in the stomatal guard cells, for the first time as an easy and simple method for determination of ploidy level in the genus *Crocus*. Results showed a positive correlation between the ploidy level and the number of chloroplast, so that higher number of chromosomes and ploidy level was associated with the increase of chloroplast number in the stomata guard cells.