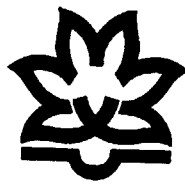


۳۹۰۹۹



دانشگاه ارومیه
دانشکده علوم

گروه زیست شناسی ۱۷۰-۲

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

عنوان:

بررسی سیتورژنیکی جنس شنبلیله (*Trigonella*) در استان فارس

استاد راهنما: 015815

دکتر ژیرایر کاراپتیان

استاد مشاور:

مهندس عبدالرضا نصیرزاده

نگارش:

مهرناز ریاست

پائیز ۱۳۸۰

۳۹۰۹۹

تقدیم به لطف بی‌انتہای خداوندی،
محبوبه حق،
که نام زیبایش همواره آرامش جان من است،
حضرت زهرا سلام‌الله‌علیها.

تقدیم به کسانی که بی‌شائبه‌ترین محبت‌ها را نثارم کرده‌اند،
آنهایی که لبخند پرمهر و فداکاری بی‌دریغشان، سختی‌های این مرحله را
بر من آسان گردانید:

مادرم، همسرم، فرزندم و تنها برادرم.

سپاسگزاری

پس از سپاسگزاری از خداوند بزرگ، در ابتدا از زحمات افرادی که به نحوی مرا در انجام این پایان نامه یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایم :

از جناب آقای دکتر کاراپتیان استاد راهنمای مهربان و صبورم به خاطر راهنماییهای ارزشمندشان صمیمانه سپاسگزارم، از استاد مشاورم جناب آقای مهندس نصیرزاده به خاطر زحماتی که در تمامی مراحل این پایان نامه متقبل شدند، قدردانی می‌نمایم. از آقای مهندس کیتی‌بان و خانم مهندس صادقیان به خاطر زحمات بی‌شائبه و کمک‌های بی‌دریغشان متشکرم. از مسؤولان محترم مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام فارس به ویژه از همکاری ارزشمند و حمایت‌های جناب آقای دکتر سعادت کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از آقای مهندس حاتمی که زحمت جمع‌آوری و شناسایی گونه‌های گیاهی را کشیده‌اند صمیمانه تشکر می‌نمایم. از آقای مهندس انصاری که در مراحل مختلف، همکاری موثر داشته‌اند متشکرم.

همچنین از جناب آقای دکتر احمدی و جناب آقای دکتر مرتضوی، جناب آقای مهندس مبادرتانی، آقای مهندس ولی، خانم مهندس جانی قربان، خانم مهندس جعفری، خانم موسوی، آقای اسکندرنیا و خانم کهربایی کمال تشکر را دارم.

این تحقیق با همکاری دفتر طرح و برنامه ریزی و هماهنگی
امور پژوهشی معاونت آموزش و تحقیقات وزارت جهاد
کشاورزی انجام گرفته است

چکیده

بررسی سیتوژنتیکی جنس شنبلیله (*Trigonella*) در استان فارس

جنس شنبلیله (*Trigonella*) از خانواده پروانه آسا (*Papilionacea*) می باشد که براساس فلورایرانیکا ۳۲ گونه آن در نقاط مختلف ایران پراکنش دارد. شنبلیله به عنوان یک گیاه دارویی، زراعی و مرتعی حائز اهمیت فراوان می باشد و در طب سنتی از آن استفاده زیادی به عمل می آید.

به منظور تعیین پراکنش گونه های جنس شنبلیله در استان فارس در اوایل فصل رویش سالهای ۷۹-۱۳۷۸ مسافرت هایی به نقاط استان صورت گرفت و حاصل آن شناسایی ۴۰ رویشگاه بود که در مراحل بعدی از این رویشگاهها نمونه کامل گیاهی و بذر جهت شناسایی گونه ها و مطالعات سیتوژنتیکی جمع آوری گردید. پراکنش گونه ها در کلیه مناطق استان، نشان داد که آنها از قدرت سازگاری بالایی برخوردار می باشند. بررسیهای گیاه شناسی نشان دهنده وجود هشت گونه در این رویشگاهها می باشد که گونه *T. elliptica* چند ساله و گونه های *T. Spruneriana*، *T. Foenum-graecum*، *T. monspeliaca*، *T. uncata*، *T. anguina*، *T. stellata* و *T. astroites* یکساله هستند. مطالعات سیتوژنتیکی که بر روی مریستم ریشه، انجام گرفت مشخص ساخت که کلیه گونه ها دیپلوئید بوده و از نظر تعداد کروموزوم $2n=16$ با عدد پایه ۸ می باشند. در مرحله بعد تجزیه و تحلیل ژنوم گونه ها شامل تعیین طول هر کروموزوم، طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه، نسبت بازوی بلند به کوتاه انجام و با استفاده از اطلاعات فوق کاربوتیپ گونه ها به صورت ایدیوگرام رسم گردید. فرمول کاربوتیپی گونه ها براساس جدول لوان و

همکاران تعیین و مطابق روش استیبنز تقارن کاریوتیپی گونه‌ها بررسی گردید و مشخص شد که گونه T.stellata در کلاس ۲A و سایر گونه‌ها در کلاس ۱A قرار می‌گیرند. در پایان با استفاده از نرم‌افزار SPSS، میزان قرابت و دوری گونه‌های مورد مطالعه از لحاظ صفات کروموزومی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصله به صورت دندورگرام ارائه گردید.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه	
۱-۱- اهمیت مطالعات سیتوژنتیکی	۳
۲-۱- اهمیت جنس سنبليله	۳
۱-۲-۱- تركيب شيميايى گياه	۴
۱-۱-۲-۱- تركيب شيميايى برگ	۴
۲-۱-۲-۱- تركيب شيميايى دانه	۴
۲-۲-۱- اهميت دارويى سنبليله	۷
۳-۲-۱- اهميت سنبليله از نظر مرتعى	۹
۳-۱- رويشگاه‌هاى طبيعى گياه در ايران	۱۰
۴-۱- اهداف	۱۱
فصل دوم: مرورى بر تحقيقات گذشته	
۱-۲- منابع گياه‌شناسى	۱۲
۱-۱-۲- ويژگى‌هاى گياه‌شناختى تيرهٔ بقولات	۱۲
۲-۱-۲- ويژگى‌هاى گياه‌شناختى جنس سنبليله	۱۳
۲-۲- جوانه‌زنى	۱۶
۱-۲-۲- خواب (ركود) بذر	۱۶
۲-۲-۲- روش‌هاى شكستن خواب در بذور	۱۶
۱-۲-۲-۲- روش مكانيكى اسكاريفيكاسيون	۱۶
۲-۲-۲-۲- روش شيميايى اسكاريفيكاسيون	۱۷
۳-۲- منابع كروموزومى	۱۹
۱-۳-۲- تاريخچهٔ مختصرى از تحقيقات كروموزومى مپتوزى	۱۹
۳-۳- منابع سیتوژنتیکی	۲۷
۱-۳-۳- آناليز كاريوتیپ	۲۷
۲-۳-۳- تعيين فرمول كاريوتیپى گونه‌ها	۲۷
۳-۳-۳- مقایسهٔ كاريوتیپ‌ها	۲۸
۴-۳-۲- دسته‌بندى كاريوتیپ براساس روش دو طرفه استينز	۳۱

فصل سوم: مواد و روشها	۳۳
۱-۳ شناسایی رویشگاه‌های شنبلیله	۳۳
۲-۳ جمع‌آوری گونه‌های گیاهی و نحوه نمونه‌برداری	۳۳
۳-۳ جمع‌آوری بذر گونه‌ها	۳۳
۴-۳ ثبت اطلاعات رویشگاهی	۳۶
۵-۳ جوانه‌دار کردن بذرها	۳۶
۶-۳ شکستن رکود بذرها	۳۶
۷-۳ آزمایش‌های سیتولوژی	۳۶
۱-۷-۳ پیش تیمار	۳۸
۲-۷-۳ تثبیت	۳۸
۳-۷-۳ نگهداری	۳۹
۴-۷-۳ هیدرولیز	۳۹
۵-۷-۳ رنگ‌آمیزی	۴۱
۱-۵-۷-۳ استواورسئین	۴۲
۲-۵-۷-۳ فولگن	۴۲
۶-۷-۳ له کردن	۴۳
۷-۷-۳ بررسی میکروسکوپی	۴۳
۸-۷-۳ دائمی کردن	۴۳
۸-۳ شمارش کروموزوم‌ها و تهیه کاریوتیپ گونه‌ها	۴۴
۹-۳ تجزیه و تحلیل داده‌ها	۴۴
۱۰-۳ تهیه محلول‌ها	۴۶
۱-۱۰-۳ پیش تیمار	۴۶
الف - هیدروکسی کینولئین ۰/۰۰۲ مولار	۴۶
ب - کلشی سین	۴۶
ج - آلفا بروموناتالین	۴۷
روش تهیه آلفا - برموناتالین	۴۷
۲-۱۰-۳ تثبیت کننده‌ها	۴۷
۳-۱۰-۳ اسید کلریدریک یک نرمال	۴۸

۴۸	۳-۱۰-۴- طرز تهیه الکل ۷۰ درجه
۴۸	۳-۱۰-۵- محلول های رنگ آمیزی
۴۸	الف- روش تهیه رنگ فولگن
۴۹	ب- روش تهیه رنگ اورسئین
۴۹	ج- روش تهیه رنگ استوکارمن دو درصد
۵۰	فصل چهارم: نتایج
۵۲	۴-۱- شنبلیله <i>T. Foenum - graecum</i>
۵۲	۴-۱-۱- ویژگی های گیاه شناختی
۵۵	۴-۱-۲- بررسی کاربوتیپ گونه <i>T. Foenum - graecum L.</i>
۵۸	۴-۲- شنبلیله ترکیه ای <i>T. Spruneriana Boiss</i>
۵۸	۴-۲-۱- ویژگی های گیاه شناختی
۵۸	۴-۲-۲- نواحی و مناطق رویشی
۵۸	۴-۲-۳- چرخه زندگی
۵۸	۴-۲-۴- تاریخ، ارتفاع و محل جمع آوری
۶۱	۴-۲-۵- بررسی کاربوتیپ گونه شنبلیله ترکیه ای <i>T. Spruneriana</i>
۶۴	۴-۳- شنبلیله شیرازی <i>T. elliptica Boiss</i>
۶۴	۴-۳-۱- ویژگی های گیاه شناختی
۶۴	۴-۳-۲- نواحی و مناطق رویشی
۶۴	۴-۳-۳- چرخه زندگی
۶۴	۴-۳-۴- تاریخ، ارتفاع و محل جمع آوری
۶۷	۴-۳-۵- بررسی کاربوتیپ گونه شنبلیله شیرازی <i>T. elliptica</i>
۷۰	۴-۴- شنبلیله سینوسی <i>T. astroites Fish & C.A.Mey</i>
۷۰	۴-۴-۱- ویژگی های گیاه شناختی
۷۰	۴-۴-۲- نواحی و مناطق رویشی
۷۰	۴-۴-۳- چرخه زندگی
۷۰	۴-۴-۴- تاریخ، ارتفاع و محل جمع آوری
۷۳	۴-۴-۵- بررسی کاربوتیپ گونه شنبلیله سینوسی <i>T. astroites</i>
۷۶	۴-۵- شنبلیله قلاب دار <i>T. uncata Boiss & Noe</i>
۷۶	۴-۵-۱- ویژگی های گیاه شناختی
۷۶	۴-۵-۲- نواحی و مناطق رویشی

۷۶	۴-۵-۳- چرخه زندگی
۷۶	۴-۵-۴- تاریخ، ارتفاع و محل جمع آوری
۷۹	۴-۵-۵- بررسی کاربوتیپ گونه شنبلیله قلاب دار <i>T.uncata</i>
۸۲	۴-۶- شنبلیله ماری <i>T. anguina Delile</i>
۸۲	۴-۶-۱- ویژگی های گیاه شناختی
۸۲	۴-۶-۲- نواحی و مناطق رویشی
۸۲	۴-۶-۳- چرخه زندگی
۸۲	۴-۶-۴- تاریخ، ارتفاع و محل جمع آوری
۸۵	۴-۶-۵- بررسی کاربوتیپ گونه شنبلیله ماری <i>T. anguina</i>
۸۸	۴-۷- شنبلیله مونپلیه ای <i>T.monspeliaca L.</i>
۸۸	۴-۷-۱- ویژگی های گیاه شناختی
۸۸	۴-۷-۲- نواحی و مناطق رویشی
۸۸	۴-۷-۳- چرخه زندگی
۸۸	۴-۷-۴- تاریخ، ارتفاع و محل جمع آوری
۹۱	۴-۷-۵- بررسی کاربوتیپ گونه شنبلیله مونپلیه ای <i>T.monspeliaca</i>
۹۴	۴-۸- شنبلیله ستاره ای <i>T.stellata Forssk</i>
۹۴	۴-۸-۱- ویژگی های گیاه شناختی
۹۴	۴-۸-۲- نواحی و مناطق رویشی
۹۴	۴-۸-۳- چرخه زندگی
۹۴	۴-۸-۴- تاریخ، ارتفاع و محل جمع آوری
۹۷	۴-۸-۲- بررسی کاربوتیپ گونه شنبلیله ستاره ای <i>T.stellata</i>
۱۰۳	فصل پنجم: بحث و پیشنهادات
۱۰۳	۵-۱- نواحی و مناطق رویشی
۱۰۳	۱- منطقه زاگرس
۱۰۳	۲- منطقه ایران و تورانی
۱۰۴	۳- منطقه خلیج و عمانی
۱۰۴	۵-۲- صفات کروموزومی
۱۰۹	پیشنهادات
۱۱۰	منابع

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۱۴	جدول ۱- گونه‌های شنبلیله موجود در ایران
۲۲	جدول ۲- گونه‌هایی که در برخی از منابع عدد $2n$ آنها مشخص گردیده‌است
۲۸	جدول ۳- دسته‌بندی کروموزوم‌های هر کاریوتیپ براساس روش لوان و همکاران
۳۲	جدول ۴- مقایسه کاریوتیپها به روش دوطرفه استیبنز
۵۷	جدول ۵- تجزیه کاریوتیپ گونه <i>T.Foenum-graecum</i>
۶۳	جدول ۶- تجزیه کاریوتیپ گونه <i>T.Spruneriana</i>
۶۹	جدول ۷- تجزیه کاریوتیپ گونه <i>T.elliptica</i>
۷۵	جدول ۸- تجزیه کاریوتیپ گونه <i>T.astroites</i>
۸۱	جدول ۹- تجزیه کاریوتیپ گونه <i>T.uncata</i>
۸۷	جدول ۱۰- تجزیه کاریوتیپ گونه <i>T.anguina</i>
۹۳	جدول ۱۱- تجزیه کاریوتیپ گونه <i>T.monspeliaca</i>
۹۹	جدول ۱۲- تجزیه کاریوتیپ گونه <i>T.Stellata</i>
۱۰۰	جدول ۱۳- فرمول کاریوتیپی گونه‌های شنبلیله ($2n=16$)
۱۰۱	جدول ۱۴- وضعیت تکاملی گونه‌های مختلف شنبلیله بر اساس روش دوطرفه استیبنز
۱۰۲	جدول ۱۵- نتایج تجزیه کاریوتیپ گونه‌های شنبلیله ($2n=16$)

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱- پراکنش گونه‌های سنبليله در ايران	۱۰
شکل ۲- نقشه مسيرهاي پيموده شده جهت تعيين پراکنش، جمع‌آوری نمونه گیاهی و بذر در استان فارس	۳۵
شکل ۳- بذور گونه مورد مطالعه در داخل پتری دیش	۳۷
شکل ۴- استفاده از تیمار خراش‌دهی با سمباده به منظور از بین بردن رکود در بذور	۳۷
شکل ۵- تصویر دستگاه آون جهت قرار دادن ریشه‌چه‌های محتوی اسیدکلریدریک یک نرمال (دما ۶۰C)	۴۰
شکل ۶- رنگ آمیزی: حرارت ملایم با چراغ الکی	۴۰
شکل ۷- تصویر دستگاه ژرمیناتور جهت انتقال ظروف حاوی بذر به داخل آن در دمای ۲۲C	۴۵
شکل ۸- فتومیکروسکوپ: جهت گرفتن عکس از کروموزوم‌های متافازی	۴۵
شکل ۹- محل جمع‌آوری گونه <i>T. Foenum-graecum</i> در استان فارس	۵۳
شکل ۱۰- تصویر گونه <i>T. Foenum-graecum</i>	۵۴
شکل ۱۱- تصویر کروموزوم‌های گونه <i>T. Foenum-graecum</i> در مرحله متافاز میتوز	۵۶
شکل ۱۲- کاریوتیپ گونه <i>T. Foenum-graecum</i> به صورت ایدیوگرام	۵۶
شکل ۱۳- نقاط جمع‌آوری گونه <i>T. Spruneriana</i> در استان فارس	۵۹
شکل ۱۴- تصویر گونه <i>T. Spruneriana</i>	۶۰
شکل ۱۵- تصویر کروموزوم‌های گونه <i>T. Spruneriana</i> در مرحله متافاز میتوز	۶۲
شکل ۱۶- کاریوتیپ گونه <i>T. Spruneriana</i> به صورت ایدیوگرام	۶۲
شکل ۱۷- نقاط جمع‌آوری گونه <i>T. elliptica</i> در استان فارس	۶۵
شکل ۱۸- تصویر گونه <i>T. elliptica</i>	۶۶
شکل ۱۹- تصویر کروموزوم‌های گونه <i>T. elliptica</i> در مرحله متافاز میتوز	۶۸
شکل ۲۰- کاریوتیپ گونه <i>T. elliptica</i> به صورت ایدیوگرام	۶۸
شکل ۲۱- نقاط جمع‌آوری گونه <i>T. astroites</i> در استان فارس	۷۱
شکل ۲۲- تصویر گیاه <i>T. astroites</i>	۷۲
شکل ۲۳- تصویر کروموزوم‌های گونه <i>T. astroites</i> در مرحله متافاز میتوز	۷۴
شکل ۲۴- کاریوتیپ گونه <i>T. astroites</i> به صورت ایدیوگرام	۷۴

عنوان

صفحه

- شکل ۲۵- نقاط جمع آوری گونه *T.uncata* در استان فارس ۷۷
- شکل ۲۶- تصویر گونه *T.uncata* ۷۸
- شکل ۲۷- تصویر کروموزوم‌های گونه *T.uncata* در مرحله متافاز میتوز ۸۰
- شکل ۲۸- کاریوتیپ گونه *T.uncata* به صورت ایدیوگرام ۸۰
- شکل ۲۹- نقاط جمع آوری گونه *T.anguina* در استان فارس ۸۳
- شکل ۳۰- تصویر گونه *T.anguina* ۸۴
- شکل ۳۱- تصویر کروموزوم‌های گونه *T.anguina* در مرحله متافاز میتوز ۸۶
- شکل ۳۲- کاریوتیپ گونه *T.anguina* به صورت ایدیوگرام ۸۶
- شکل ۳۳- نقاط جمع آوری گونه *T.monspeliaca* در استان فارس ۸۹
- شکل ۳۴- تصویر گیاه *T.monspeliaca* ۹۰
- شکل ۳۵- تصویر کروموزوم‌های گونه *T.monspeliaca* در مرحله متافاز میتوز ۹۲
- شکل ۳۶- کاریوتیپ گونه *T.monspeliaca* به صورت ایدیوگرام ۹۲
- شکل ۳۷- نقاط جمع آوری گونه *T.stellata* در استان فارس ۹۵
- شکل ۳۸- تصویر گونه *T.stellata* ۹۶
- شکل ۳۹- تصویر کروموزوم‌های گونه *T.stellata* در مرحله متافاز میتوز ۹۸
- شکل ۴۰- کاریوتیپ گونه *T.stellata* به صورت ایدیوگرام ۹۸
- شکل ۴۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۸ گونه شنبليله در استان فارس
براساس روش Ward ۱۰۸

فصل اول

مقدمه

منابع ژنتیکی گیاهی، علاوه بر زیر بنایی برای توسعه کشاورزی به عنوان منبعی از سازگاری ژنتیکی و نیز به مثابه سپری در برابر تغییرات محیطی عمل می‌نماید. فرسایش منابع مذکور، امنیت غذایی را در جهان با تهدید مواجه می‌کند. نیاز به حفظ و به کارگیری این منابع گیاهی به عنوان محافظی در برابر مشکلات غیر قابل پیش بینی در آینده بر همگان آشکار است و چشم انداز تنوع ژنتیکی، آنها را در مرکز توجه جهانی جای داده است.

منابع ژنتیکی گیاهی محدود و فناپذیرند. این منابع تأمین کننده مواد خام ژنتیکی (ژنها) هستند که در صورت بهره‌برداری صحیح از آنها واریته‌های جدید و مطلوب‌تر گیاهی را می‌توان تولید کرد. برخورداری از خصوصیات غیر قابل جایگزین نظیر مقاومت به بیماری، سازگاری محلی و محصول دهی از مشخصات آنهاست. این ژنها در ارقام محلی و جوامع گیاهی طبیعی پراکنده بوده و در طول هزاران سال به خاطر سازگاری، مقاومت و یا محصول دهی گزینش شده‌اند و چه در زمان حال و چه آینده از ارزش غیر قابل برآوردی برخوردار می‌باشند.

در سالهای اخیر ظهور تکنولوژی‌های جدید، جایگزین شدن واریته‌های محلی با واریته‌های جدید، تغییر روش‌های کشت و غیره، فرسایش سریع و فوق العاده‌ای را در بر داشته است. این امر علاوه بر تحت‌الشعاع قرار دادن گونه‌های زراعی، بر گونه‌های وحشی بالقوه مفید و قابل به کارگیری نیز اثر منفی گذاشته است. این فرسایش منجر به انقراض مواد با ارزشی می‌شود که هنوز مورد بهره‌برداری واقع نشده‌اند. (۵)