





دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده کشاورزی

پایان نامه دکتری علوم باغبانی - فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی

مطالعه تنوع فیتوشیمیایی، ژنتیکی و مورفولوژیکی گیاه دارویی نسترن کوهی (*Rosa canina* L.) در ایران

نگارش:

کرامت الله سعیدی

اساتید راهنما:

دکتر فاطمه سفیدکن

دکتر علیرضا بابائی

آبان ۱۳۹۲



بسمه تعالی

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت های علمی-پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفتر نشر آثار علمی دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

“ کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد کرامت الله سعیدی در رشته علوم باغبانی است که در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم دکتر فاطمه سفیدکن و جناب آقای دکتر علیرضا بابائی از آن دفاع شده است ”

ماده ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به دفتر نشر آثار علمی دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵ دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتاب های عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ اینجانب کرامت الله سعیدی دانشجوی رشته علوم باغبانی مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: کرامت الله سعیدی

تاریخ و امضاء: ۹۲/۸/۱۳

دستورالعمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان‌ها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح در مورد نتایج پژوهش‌های علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان‌نامه‌ها، رساله‌های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره‌برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین‌نامه‌ها و دستورالعمل‌های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی می‌باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما نویسنده مسئول مقاله باشند.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی به صورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه و رساله منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان‌نامه، رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و براساس آیین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه، رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم‌الاجرا است و هرگونه تخلف از مفاد این دستورالعمل از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

تقدیم بہ روح

استاد فرزانه ام زندہ یاد دکتہ رضا امیدگی

و

پدر بزرگوارم زندہ یاد ارد شیر سعیدی

تشکر و قدردانی

سپاس خداوند بی همتا را که سلامت و صحت به من ارزانی داشت تا بتوانم این اثر را به پایان برسانم. گردآوری این اثر مقدور نبود، مگر با بهره گیری از الطاف خداوندی و راهنمایی های اساتید فرهیخته و بزرگوار و کلیه سروران و عزیزانی که در این راه بنده را یاری نمودند، که بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خویش را خدمت ایشان عرض می نمایم.

از اساتید بزرگوارم سرکار خانم دکتر فاطمه سفیدکن و جناب آقای دکتر علیرضا بابائی که همواره در طول مدت تحصیل و در طی انجام این پایان نامه بنده را از راهنمایی های ارزشمند خود بهره مند ساخته اند، تشکر می کنم.

از داوران محترم پایان نامه جناب آقای دکتر غلامحسین لباسچی، دکتر محمد رضا نقوی، دکتر نورالله احمدی و دکتر کاظم سوری که داوری این پایان نامه را بر عهده داشتند تشکر می کنم. از مجموعه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور به خاطر همکاری های مستمر در مراحل مختلف انجام پایان نامه کمال تقدیر و تشکر فراوان را دارم (لازم به ذکر است بخش زیادی از این پایان نامه با همکاری موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور صورت گرفته است). از خانواده محترم و همسر عزیزم که طی مدت انجام کار زحمات زیادی را متقبل شدند کمال تشکر فراوان را دارم. از دوستان گرامی ام که همواره باعث دلگرمی بنده بودند و در انجام این اثر بنده را یاری نمودند، سپاسگزارم. کمال تشکر فراوان از همکاری مراکز منابع طبیعی استان های اصفهان، مرکزی، کرمانشاه، کردستان، آذربایجان غربی، زنجان، گیلان، مازندران و گلستان دارم. همچنین از کلیه کسانی که به نحوی در به ثمر رسیدن این پایان نامه، نگارنده را یاری و مساعدت نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می آید.

چکیده

نسترن کوهی از گیاهان دارویی ارزشمند متعلق به تیره رُزاسه است. میوه نسترن کوهی بدن را در برابر عفونت‌ها مقاوم می‌کند و برای دستگاه گوارش مفید است. این آزمایش به منظور بررسی صفات فیتوشیمیایی، مورفولوژیکی و ژنتیکی نسترن کوهی در ۶۰ منطقه از ۱۶ استان کشور طی سالهای ۱۳۸۹-۱۳۹۲ انجام شد. در این مطالعه از ۱۱ صفت مورفولوژیکی میوه و گل برای ارزیابی روابط بین توده‌های نسترن کوهی در ایران استفاده شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان دادند که تفاوت در فاکتورهای مورفولوژیکی میوه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌داری بود. تجزیه GGE biplot نشان داد بهترین مناطق به لحاظ حداکثر وزن میوه مناطق IR36، IR13 و IR3 بودند. بر اساس تجزیه خوشه‌ای نمونه‌ها به ۴ دسته تقسیم شدند. بر اساس دندوگرام حاصله کلیه توده‌های جمع‌آوری شده در جنوب غرب ایران در یک دسته قرار گرفتند. عدم وجود تطابق در تجزیه خوشه‌ای و قرار نگرفتن توده‌های که از مناطق مشابه جمع‌آوری شدند در کنار هم می‌تواند ناشی از تفاوت در فاکتورهای محیطی و ژنتیکی باشد. ضریب همبستگی پیرسون نشان داد میزان آسکوربیک اسید با طول و درصد گوشت میوه همبستگی مثبت معنی‌داری نشان داد. سایر صفات فیتوشیمیایی با ویژگی‌های مورفولوژیکی میوه همبستگی نشان ندادند. برای اندازه‌گیری میزان اسید آسکوربیک، اسید سیتریک و بتا-کاروتن میوه از دستگاه HPLC و برای اندازه‌گیری فنول کل، کربوهیدرات‌های محلول کل، کاروتنوئیدها، لیکوپن و آنتوسیانین کل از دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای کلیه صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. میزان آسکوربیک میوه از ۷۳/۵۷ تا ۲۹۵۹/۷ (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) اندازه‌گیری شد. میزان اسید سیتریک از ۸۵۲/۴ تا ۶۵۸۶/۵۲ (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) متغیر بود. میزان فنول کل و آنتوسیانین نمونه‌ها به ترتیب از ۱۹۰/۸-۵۲/۳۹ (میلی‌گرم گالیک اسید اکی والان در گرم وزن خشک) و ۲۸/۸-۷/۵۹ (میلی‌گرم در لیتر سیانیدین -۳- گلیکوزید) متفاوت بود. میزان کربوهیدرات کل و TSS میوه به ترتیب از ۳۲/۸-۵/۹۲ و

۱۱/۷۲-۴۰/۱۸ درصد متغییر بود. بیشترین میزان بتا-کاروتن، لیکوپن و کاروتنوئید کل میوه به ترتیب ۰/۶۶۵، ۰/۳۲ و ۱/۰۹۷ (میلی گرم در گرم وزن تازه) و کمترین میزان آنها به ترتیب ۰/۰۴۹، ۰/۰۲۹ و ۰/۱۹۵ (میلی گرم در گرم وزن تازه) اندازه‌گیری شد. بر اساس نمودار چند ضلعی GGE biplot، مناطق IR60 (گلستان-چهارطاق)، IR42 (آذربایجان شرقی-بستان آباد) و IR38 (آذربایجان غربی-برهان) به ترتیب بیشترین میزان آسکوربیک اسید، سیتریک اسید و بتا-کاروتن را داشتند. ضریب همبستگی پیرسون نشان داد ارتباط بین اسید سیتریک و اسید آسکوربیک معنی‌دار مثبت بود. میزان لیکوپن، بتا-کاروتن و کاروتنوئید میوه ارتباط مثبت معنی‌داری با هم داشتند. کربوهیدرات محلول با آنتوسیانین کل، فنول کل و TSS همبستگی مثبت معنی‌داری داشت. هم چنین همبستگی بین میزان فنول کل و آنتوسیانین کل معنی‌دار بود.

برای تجزیه اسیدهای چرب بذر، از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) استفاده شد. نتایج این پژوهش وجود ۵ اسید چرب عمده به ترتیب شامل لینولئیک، اولئیک، لینولنیک، پالمیتیک و استئاریک اسید را تأیید کردند. میزان لینولئیک اسید از ۴۰/۷۹ تا ۶۱/۱۴ درصد متغییر بود. در این مطالعه تعداد نه نشانگر ریزماهوراه برای بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های نسترن کوهی مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و بر اساس ضریب تشابه دایس ژنوتیپ‌ها را به هفت گروه اصلی تقسیم کرد. بیشتر توده‌های استان‌های غرب کشور در یک دسته قرار گرفتند و روابط ژنتیکی نزدیکتری داشتند. برای نمایش الگوی تنوع در بین جمعیت‌های مورد مطالعه، بای‌پلات مربوطه بر مبنای دو مختصه اصلی رسم گردید. به طور کلی نتایج تجزیه به مختصات اصلی با نتایج تجزیه خوشه‌ای به میزان زیادی سازگاری نشان داد. این پژوهش گسترده‌ترین تحقیق در زمینه تنوع ژنتیکی نسترن کوهی در ایران است. ژنوتیپ‌های شناسایی شده در این تحقیق می‌تواند در آینده در اصلاح و بهنژادی نسترن کوهی مورد استفاده قرار گیرد. نتایج این تحقیق نشان داد که میوه نسترن کوهی یک منبع غنی از آسکوربیک اسید و سایر مواد مؤثره است.

کلمات کلیدی: نسترن کوهی، فیتوشیمیایی، آسکوربیک اسید، بتا-کاروتن، تنوع ژنتیکی، مورفولوژی، ایران.

فهرست مطالب

عنوان

شماره صفحه

مقدمه	۱
آزمایش اول:	۴
ارزیابی تنوع صفات مورفولوژیکی میوه و گل نسترن کوهی	۴
۱-۱- چکیده	۵
۳-۱- مقدمه و مروری بر منابع	۷
۱-۳-۱- مشخصات گیاهشناسی	۷
۲-۳-۱- پراکنش	۷
۳-۳-۱- مطالعات پیشین	۷
۴-۱- مواد و روش ها	۸
۱-۴-۱- مناطق مورد مطالعه	۹
۲-۴-۱- جمع آوری گل و میوه	۹
۳-۴-۱- اندازه گیری فاکتورهای مورفولوژیکی میوه و گل	۹
۵-۱- تجزیه و تحلیل آماری	۱۰
۶-۱- نتایج و بحث	۱۰
۱-۶-۱- تجزیه خوشه‌ای بر اساس فاکتورهای مورفولوژیکی میوه و گل	۱۱
۳-۶-۱- بررسی همبستگی بین صفات مورفولوژیکی میوه و گل	۱۲
۴-۶-۱- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی	۱۳
۵-۶-۱- تجزیه بای پلات	۱۳
آزمایش دوم:	۲۱
مطالعه و اندازه گیری صفات فیتوشیمیایی میوه و بذر نسترن کوهی	۲۱
۱-۲- چکیده	۲۲
۳-۲- مقدمه و مروری بر منابع	۲۵
۱-۳-۲- اندام‌های دارویی	۲۵

۲۵ میوه	۱-۱-۳-۲
۲۵ بذر	۲-۱-۳-۲
۲۵ موارد استفاده	۲-۳-۲
۲۵ کاربردهای دارویی	۱-۲-۳-۲
۲۶ سایر مواد استفاده	۲-۲-۳-۲
۲۷ اسیدهای آلی	۳-۳-۲
۲۷ اسید آسکوربیک (ویتامین ث)	۱-۳-۳-۲
۳۰ اسید سیتریک	۲-۳-۳-۲
۳۱ کاروتنوئیدها	۴-۳-۲
۳۳ فنولها	۵-۳-۲
۳۵ کربوهیدراتها	۶-۳-۲
۳۵ اسیدهای چرب	۷-۳-۲
۳۸ محیط و مواد مؤثره	۸-۳-۲
۴۰ اثر کلی نور	۱-۸-۳-۲
۴۱ کیفیت نور	۲-۸-۳-۲
۴۱ شدت روشنایی	۳-۸-۳-۲
۴۲ مدت روشنایی	۴-۸-۳-۲
۴۳ درجه حرارت	۵-۸-۳-۲
۴۴ مکان رویش	۶-۸-۳-۲
۴۴ تکثیر گیاه	۹-۳-۲
۴۵ برداشت محصول و فرآیندهای پس از برداشت	۱۰-۳-۲
۴۵ مواد و روشها	۴-۲
۴۵ مواد گیاهی	۱-۴-۲
۴۵ استخراج و اندازه گیری ترکیبات فنولی	۲-۴-۲
۴۶ استخراج و اندازه گیری کربوهیدراتهای محلول	۳-۴-۲
۴۷ استخراج و اندازه گیری آسکوربیک و سیتریک اسید	۴-۴-۲
۴۸ استخراج و اندازه گیری کاروتنوئیدها	۵-۴-۲
۴۹ تعیین میزان کاروتنوئید کل و لیکوپن	۱-۵-۴-۲
۴۹ تعیین میزان بتا-کاروتن	۲-۵-۴-۲
۵۰ اندازه گیری و تعیین TSS میوه	۶-۴-۲
۵۰ ارزیابی آنتوسیانین مونومری کل	۷-۴-۲
۵۰ استخراج و اندازه گیری میزان روغن و تعیین اسیدهای چرب روغن بذر	۸-۴-۲

۵۰ ۲-۴-۸-۱- استخراج روغن
۵۱ ۲-۴-۸-۲- متیلاسیون چربی
۵۱ ۲-۴-۸-۳- تعیین نوع و مقدار اسیدهای چرب نمونه‌های متیله شده
۵۲ ۲-۴-۸-۴- مشخصات دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)
۵۲ ۲-۴-۹- تجزیه و تحلیل آماری
۵۳ ۲-۵- نتایج و بحث
۵۳ ۲-۵-۱- نتایج حاصل از تجزیه واریانس و GGE BIPLLOT صفات فیتوشیمیایی
۷۴ ۲-۵-۲- تعیین همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی در مناطق مورد مطالعه
۷۶ ۲-۶-۲- بررسی همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی میوه
۷۸ آزمایش سوم:
۷۸ ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های نسترن کوهی ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره
۷۹ ۳-۱- چکیده
۸۱ ۳-۳- مقدمه و مروری بر منابع
۸۱ ۳-۳-۱- طبقه‌بندی گیاهشناسی جنس رُز
۸۱ ۳-۳-۲- ویژگی‌های کروموزومی بخش <i>CANINAE</i>
۸۲ ۳-۳-۳- تنوع ژنتیکی
۸۳ ۳-۳-۴- اهمیت منابع و ذخایر ژنتیکی
۸۴ ۳-۳-۵- اهمیت و کاربردهای تنوع ژنتیکی
۸۵ ۳-۳-۶- روش‌های ارزیابی تنوع در گیاهان
۸۵ ۳-۳-۶-۱- تنوع مورفولوژیکی
۸۵ ۳-۳-۶-۲- تنوع بیوشیمیایی
۸۵ ۳-۳-۶-۳- تنوع کاریوتیپی
۸۶ ۳-۳-۶-۴- تنوع پروتئینی
۸۷ ۳-۳-۶-۵- تنوع در سطح DNA
۸۸ ۳-۳-۷- نشانگرهای ریز ماهوره (SSRS)
۸۸ ۳-۳-۷-۱- شناخت و تعریف ریزماهوره ها
۸۹ ۳-۳-۷-۲- پیدایش ریزماهوره‌ها
۹۰ ۳-۳-۷-۳- اعمال و فعالیت‌های ریزماهوره‌ها
۹۱ ۳-۳-۷-۴- مزایای و معایب ریز ماهوره‌ها

۹۱	۳-۳-۸- استفاده از مارکرهای مولکولی در ارزیابی تنوع ژنتیکی جنس رُز
۹۴	۳-۴-۴- مواد و روش‌ها
۹۴	۳-۴-۱- جمع‌آوری نمونه‌های برگ
۹۴	۳-۴-۲- استخراج DNA
۹۵	۳-۴-۳- تعیین کمیت و کیفیت DNA
۹۶	۳-۴-۴- آماده‌سازی نمونه‌های DNA
۹۶	۳-۴-۵- نشانگرهای ریز ماهواره مورد استفاده
۹۷	۳-۴-۶- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
۹۸	۳-۴-۷- ارزیابی فرآورده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
۹۹	۳-۴-۹- تجزیه و تحلیل داده‌ها
۱۰۰	۳-۵-۵- نتایج و بحث
۱۰۰	۳-۵-۱- ارزیابی تنوع ژنتیکی با نشانگرهای ریز ماهواره
۱۰۲	۳-۵-۲- تجزیه به مختصات اصلی
۱۰۵	۳-۵-۳- مقایسه نشانگرهای مورفولوژیک و ریز ماهواره
۱۰۷	بحث و نتیجه‌گیری کلی
۱۱۲	پیشنهادات
۱۱۴	منابع

فهرست جداول

جدول

شماره صفحه

- جدول شماره ۱-۱. خصوصیات جغرافیایی مناطق مورد مطالعه ۱۴
- جدول ۱-۲. تجزیه واریانس خصوصیات مورفولوژیکی میوه در مناطق مورد مطالعه ۱۶
- جدول ۱-۳. مقایسه میانگین‌های فاکتورهای مورفولوژیکی میوه مناطق مورد مطالعه ۱۸
- جدول ۱-۴. همبستگی بین صفات مورفولوژیکی گل و میوه نسترن کوهی ۱۹
- جدول ۱-۲-۱. میزان آسکوربیک اسید در میوه‌ها و سیزیجات ۲۹
- جدول ۲-۲. برخی از مطالعات در زمینه تأثیر مناطق مختلف کاشت یا برداشت بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی ۴۰
- جدول ۲-۳. تجزیه واریانس آسکوربیک و سیتریک اسید در مناطق مورد مطالعه ۵۴
- جدول ۲-۴. مقایسه میانگین‌های آسکوربیک و سیتریک اسید در مناطق مورد مطالعه ۵۵
- جدول ۲-۵. تجزیه واریانس کاروتنوئید کل، لیکوپن و بتا-کاروتن در مناطق مورد مطالعه ۶۰
- جدول ۲-۶. مقایسه میانگین‌های کاروتنوئید کل، لیکوپن و بتا-کاروتن در مناطق مورد مطالعه ۶۱
- جدول ۲-۷. تجزیه واریانس فنول کل، کربوهیدرات محلول کل، آنتوسیانین کل و TSS در مناطق مورد مطالعه ۶۴
- جدول ۲-۸. مقایسه میانگین‌های فنول کل، کربوهیدرات محلول کل، آنتوسیانین کل و TSS در مناطق مورد مطالعه ... ۶۵
- جدول ۲-۹. تجزیه واریانس ترکیبات اسیدهای چرب بذر مناطق مورد مطالعه ۶۸
- جدول ۲-۱۰. مقایسه میانگین‌های ترکیبات اسیدهای چرب بذر مناطق مورد مطالعه ۷۱
- جدول ۲-۱۱. همبستگی بین ترکیبات اسیدهای چرب بذر نسترن کوهی ۷۳

جدول ۲-۱۲. همبستگی بین فاکتورهای فیتوشیمیایی میوه نسترن کوهی ۷۵

جدول ۲-۱۳. همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی میوه نسترن کوهی ۷۷

جدول ۳-۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده ۹۷

جدول ۳-۲- اجزای بهینه سازی شده واکنش زنجیره ای پلیمرز ۹۷

جدول ۳-۳- ژنوتیپ‌های نسترن کوهی حاصل از تجزیه خوشه ای داده‌های نشانگر ریزماهواره ۱۰۲

فهرست شکل‌ها

شکل

شماره صفحه

- شکل ۱-۱. نقشه جغرافیایی ایران و موقعیت مناطق مورد مطالعه ۱۵
- شکل ۲-۱. نمایش گرافیکی GGE Biplot فاکتورهای مورفولوژیکی میوه نسترن کوهی در ۶۰ رویشگاه مختلف ۱۶
- شکل ۳-۱. تجزیه خوشه ای توده های نسترن کوهی بر اساس روش WARD و معیار مربع فواصل اقلیدوسی ۱۷
- شکل ۴-۱. تجزیه بای پلات ۶۰ جمعیت نسترن کوهی با استفاده از دو عامل اصلی حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی ۲۰
- شکل ۱-۲. مسیر ساخت اسید آسکوربیک (ویتامین ث) در گیاهان ۲۸
- شکل ۲-۲. تأثیر عوامل رویش بر متابولیت‌های گیاهان دارویی ۳۹
- شکل ۳-۲. دستگاه اسپکتروفوتومتر مورد استفاده برای اندازه گیری ترکیبات فنولی ۴۶
- شکل ۴-۲- دستگاه HPLC استفاده شده برای اندازه گیری اسید آسکوربیک ۴۸
- شکل ۵-۲. دستگاه GC مورد استفاده برای آنالیز اسیدهای چرب ۵۲
- شکل ۶-۲. طیف نمونه آنالیز اسکوربیک اسید نسترن کوهی با دستگاه HPLC (نمونه IR6) ۵۶
- شکل ۸-۲. نمایش گرافیکی GGE Biplot ترکیبات کاروتنوئیدی میوه در ۶۰ رویشگاه مختلف ۵۹
- شکل ۹-۲. نمایش گرافیکی GGE Biplot فنول کل، آنتوسیانین، کربوهیدرات محلول و TSS در ۶۰ رویشگاه مختلف ۶۴
- شکل ۱۰-۲. نمونه کرماتوگرام GC اسیدهای چرب بذر نسترن کوهی ۶۶
- شکل ۱۱-۲. نمایش گرافیکی GGE Biplot ترکیب اسیدهای چرب بذر نسترن کوهی در ۶۰ رویشگاه مختلف ۶۸
- شکل ۱-۳. اثرات و فعالیت‌های ریزوماواره‌ها در موجودات زنده ۹۰

شکل ۳-۲. نتیجه الکتروفورز محصول PCR تعدادی از نمونه ها بر روی ژل آگاروز ۲ درصد. ۹۹

شکل ۳-۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای UPGMA ارزیابی های نشانگر ریزماهواره در جمعیت های نسترن کوهی مورد مطالعه بر اساس ضریب تشابه دایس ۱۰۱

شکل ۳-۴. الگوی تنوع ۶۰ توده نسترن کوهی مورد مطالعه در ایران بر اساس اولین و دومین مختصه اصلی ۱۰۳

قدمت شناخت خواص دارویی گیاهان، شاید بیرون از حافظه تاریخ باشد. یکی از دلایل مهم این قدمت، حضور باورهای ریشه دار مردم سرزمین‌های مختلف در خصوص استفاده از گیاهان دارویی است. بقراط حکیم بنیان‌گذار طب یونان قدیم و شاگرد وی ارسطو از گیاهان برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌کردند. اواخر قرن نوزدهم، به دلیل پیشرفت‌های روزافزون علوم مختلف، به ویژه علم شیمی و داروسازی، اولین استخراج مواد خالص شیمیایی به منظور کاربردهای دارویی انجام گرفت و در راستای درمان بیماران، به نحو چشمگیری اعجاز نمود. تا اینکه به تدریج زمزمه‌هایی مبنی بر اثرات سوء داروهای شیمیایی شنیده شد. سرانجام، محققان با استفاده از تجربیات علمی، رفته رفته به منافع و مزایای استفاده از گیاهان دارویی با مواد مؤثره طبیعی پی بردند و تحقیقات گسترده‌ای در زمینه گیاهان دارویی آغاز شد به طوری که قرن بیستم را «قرن رنسانس گیاهان دارویی» نام نهادند (امید بیگی، ۱۳۸۴).

ایران کشوری بزرگ و با اقلیم‌های متنوع و گوناگون است. این گوناگونی در شرایط آب و هوایی سبب بوجود آمدن محیط‌های بسیار مناسب برای رشد بیشتر گیاهان دارویی شده است، به همین دلیل گونه‌های گیاهی زیادی در ایران انتشار دارد. تأثیر اوضاع اقلیمی بر گیاهان مختلف متفاوت است و همواره باید با تحقیقات مناسب به بررسی نقش عوامل اقلیمی بر رشد، نمو و مواد مؤثره گیاهان دارویی پرداخت. گرچه میزان متابولیت‌های ثانویه تحت کنترل ژنها است ولی مقدار، غلظت و تجمع آنها به طور قابل توجهی تحت تأثیر شرایط محیطی است.

نسترن کوهی از گیاهان دارویی ارزشمندی است که از میوه‌های آن برای درمان برخی بیماری‌ها استفاده می‌کنند. از میوه نسترن کوهی، میوه بدون دانه و حتی دانه آن در اکثر فارماکوپه‌ها به عنوان دارو یاد شده است. میوه این گیاه سرشار از ویتامین ث است. همچنین به دلیل داشتن ویتامین‌های مختلف و ترکیبات ارزشمند دیگر نظیر پلی فنول‌ها، کاروتنوئیدها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای چرب از نظر غذایی و دارویی

بسیار مفید و ارزشمند است (امید بیگی، ۱۳۸۴، Demire and Ozcan, 2001 ; Ercisli 2007). روغن بذر نسترن کوهی به دلیل داشتن اسیدهای چرب غیراشباع بالا در صنایع غذایی و خوراکی استفاده می‌شود (Cinar and Colakoglu, 2005). این گیاه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی، آنتی میکروبی، ضد التهابی و ضد دردی است (Cinar and Dayisoylu, 2005; Orhan *et al.*, 2007).

تنوع ژنتیکی بیانگر گوناگونی قابل وراثت در بین و درون افراد موجودات زنده است و در واقع به صورت تظاهر متفاوت صفتی در جمعیت حاصل از چند ژنوتیپ تعریف می‌شود. تنوع ژنتیکی رکن اصلی بیشتر برنامه‌های اصلاحی است و انجام انتخاب منوط به وجود تنوع ژنتیکی مطلوب در صفت مورد بررسی می‌باشد. مطالعه تنوع ژنتیکی فرآیندی است که شباهت یا تفاوت گونه‌ها، جمعیت‌ها و یا افراد را با استفاده از روش‌ها و مدل‌های آماری خاص بر اساس صفات مورفولوژیک، اطلاعات شجره ای یا خصوصیات مولکولی افراد بیان می‌کند. بنابراین امروزه آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی به عنوان اجزاء مهم پروژه‌های اصلاح گیاهان تلقی می‌شوند.

امروزه محققین اصلاح گیاهان بر اهمیت استفاده از ژرم پلاسما توده‌های وحشی به خاطر داشتن خصوصیاتی مانند مقاومت به شرایط محیطی نامناسب، مقاومت به آفات و بیماری‌ها و داشتن مواد مؤثره بالا تأکید می‌کنند. بنابراین برای انجام هر گونه برنامه بهنژادی در مورد گیاهان شناخت کافی از ژرم پلاسما، استفاده از روش‌های مناسب و نوین اصلاحی و همچنین وجود تنوع ژنتیکی بالا جهت تولید ارقام مناسب و با کیفیت لازم و ضروری است. گیاه دارویی نسترن کوهی در ایران در شمال، شمال‌غرب، غرب، جنوب‌غرب، مرکز و شرق کشور پراکنش دارد و ایران یکی از مهم‌ترین مناطق پراکنش این گیاه به حساب می‌آید (خاتم ساز، ۱۳۷۱). بنابراین اولین قدم برای شروع برنامه‌های اصلاحی گیاه دارویی نسترن کوهی، بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های مختلف آن با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی است.

به طور کلی اهداف مورد نظر در این تحقیق عبارتند از:

۱- ارزیابی مورفولوژی جمعیت‌های نسترن کوهی جهت بررسی روابط بین آنها بر اساس خصوصیات مورفولوژیک.

۲- بررسی تنوع ژنتیکی و فاصله ژنتیکی جمعیت‌های نسترن کوهی ایران.

۳- ارزیابی خصوصیات فیتوشیمیایی میوه‌های جمعیت‌های مختلف نسترن کوهی ایران.

۳- انتخاب بهترین مناطق از لحاظ دارا بودن حداکثر ترکیبات مؤثره.

۵- تعیین بهترین همبستگی بین خصوصیات فیتوشیمیایی و ژنتیکی و انتخاب ژنوتیپ‌های برتر به لحاظ داشتن حداکثر مواد مؤثره.

آزمایش اول:

ارزیابی تنوع صفات مورفولوژیکی میوه و گل نسترن کوهی