





دانشگاه الزهرا (س)

دانشکده علوم پایه

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی با گرایش سیستماتیک گیاهی

عنوان:

مطالعه سیتوژنتیکی و پروتئین ذخیره بذر در تعدادی از گونه های یکساله علف هفت

بند *Polygonum* در ایران

استادان راهنما:

دکتر مریم کشاورزی

دکتر مسعود شیدایی

استاد مشاور:

دکتر پریناز قدم

دانشجو:

محدثه شجاعی

اسفند 1389

کلیه دستاورد های این تحقیق
متعلق به دانشگاه الزهراء(س) است.

الهی

دانایی ده که در راه نیفتم و بینایی ده که در چاه نیفتم

دلی ده که در کار تو جان بازد و جانی که کار آن

جهان سازد

دلی ده که شوق طاعت افزون کند

و

توفیق طاعتی ده که به بهشت رهنمون کند

نفسی ده که حلقه بندگی تو گوش کند

و

جانی ده که ز حکمت تو نوش کند

پایی ده که با آن کوی مهر تو بیویم

و

زبانی ده که با آن شکر آلاء تو گویم

تقدیم به

پدرم به خاطر همه ی فداکاری هایش

مادرم به خاطر همه ی مهربانی هایش

و

تقدیم به

همسرم

صمیمانه ترین سپاس ها از :

"پدر و مادرم" که نغمه ی زندگی به من آموختند.

همسر مهربانم "آقای دکتر وحید شجاعی" که همسفر زندگی ام شد.

"برادر های عزیزم" که همراهان کودکی ام بوده اند.

استاد عزیزم "دکتر کشاورزی" که در پیمودن این راه به من صادقانه کمک کردند و همواره مشوق من بودند. مهربانی و حمایتشان همواره در ذهن من به یادگار می ماند.

"دکتر شیدایی" که افتخار شاگردیشان را به من دادند.

"دکتر قدم" که سرلوحه مهربانی، نظم و پشتکار بودند.

چکیده:

جنس علف هفت بند (*Polygonum s.l.*) از خانواده علف هفت بند (Polygonaceae) شامل 33 گونه در ایران است. این گیاهان یکساله و چند ساله دارای ارزش دارویی، زینتی و علف هرز در دنیا هستند. 6 گونه یکساله مورد مطالعه در این تحقیق شامل: *P. aviculare*, *P. arenastrum*, *P. olivascens*, *P. patulum*, *P. argyrocoleon*, *P. polycnemoides* باشند. زیستگاه این گیاهان چمن زار، کنار جاده ها، اراضی متروک، خرابه ها و در بین تخته سنگ ها می باشد. به علت دورگه گیری، تنوع پذیری بالای ریختی و زیستگاه مشترک تشخیص گونه ها از یکدیگر مشکل است. در این تحقیق 22 واحد جمعیتی از این گونه ها مورد مطالعه ساختمان تشریحی برش عرضی برگ قرار گرفتند و صفات افتراقی تشریحی برای تشخیص بین گونه ای به دست آمد. 16 واحد جمعیتی نیز مورد مطالعه ساختمان تشریحی برش عرضی فندقه قرار گرفت و صفات افتراقی ارائه شد. در جمعیت هایی از این 6 گونه الکتروفورز SDS-PAGE پروتئین ذخیره ای بذر بررسی شد، که نتایج الکتروفورز SDS-PAGE همگام با نتایج تشریحی جدایی گونه ها را به خوبی نشان می دهد. نتایج الکتروفورز SDS-PAGE و ساختمان تشریحی برش عرضی برگ و فندقه تحت آنالیز تجزیه خوشه ای به روش WARD قرار گرفتند. بررسی های ریخت شناسی نیز بر روی جمعیت هایی از این گونه ها انجام شد و نتایج تحت آنالیز کلادیستیک به روش های Neighbor-joining ، bootstrap ، PCA، PCO، 50% majority- rule consensus و UPGMA قرار گرفتند که در کلیه روش

ها، جدایی گونه ها محرز بوده و گونه *P. polycnemoides* دورتر از سایر گونه های مورد بررسی قرار گرفت.

فهرست مطالب:

صفحه	عنوان
	فصل اول - مقدمه
1	1-1- معرفی راسته ی علف هفت بند
2	2-1 معرفی تیره ی علف هفت بند
5	3-1 جایگاه خانواده علف هفت بند در انواع سیستم های رده بندی
6	4-1 توصیف ریخت شناسی <i>Polygonaceae</i>
7	5-1 صفات تشریحی <i>Polygonaceae</i>
11	6-1 معرفی جنس <i>Polygonum</i>
11	7-1 تاریخچه تاکسونومیکی جنس <i>Polygonum</i>
12	8-1 ریخت شناسی <i>Polygonum</i>
14	9-1 توزیع جغرافیایی و بوم شناسی جنس <i>Polygonum</i> در جهان
15	10-1 کاربرد جنس های خانواده <i>Polygonaceae</i>
16	11-1 ترکیبات و خواص دارویی جنس <i>Polygonum</i>
17	12-1 سیتولوژی <i>Polygonum</i>
19	13-1 الکتروفورز پروتئین های ذخیره ای بذر

- 20 1-13-1 استفاده از الکتروفورز پروتئین ذخیره ای بذر در مطالعات سیستماتیکی
- 23 1-1-13-1 مطالعات درون جمعیتی
- 27 2-1-13-1 تنوع بین گونه ای
- 28 3-1-13-1 پروفیل های پروتئین بذر و مطالعه دو رگ ها و پلی پلوئید ها
- 29 14-1 تاکسونومی عددی (Numerical Taxonomy)
- 34 15-1 روش های آماری چند متغیره
- 34 1-15-1 تجزیه به مؤلفه های اصلی (PCA)
- 35 1-1-15-1 مراحل تجزیه به مؤلفه های اصلی
- 38 2-15-1 تجزیه به عامل ها (Factor Analysis)
- 38 1-2-15-1 مراحل انجام تجزیه به عامل ها
- 41 3-15-1 تجزیه خوشه ای (Cluster Analysis)
- 41 1-3-15-1 انواع روش های تجزیه خوشه ای
- 43 2-3-15-1 اندازه گیری فاصله (Distance)
- 43 3-3-15-1 روش فاصله اقلیدسی (Euclidean Distance)
- 43 1-3-3-15-1 روش مربع فاصله اقلیدسی (Squared Euclidean Distance)
- 44 2-3-3-15-1 روش های مهم در خوشه بندی سلسله مراتبی
- 46 16-1 فیلوژنی چیست؟
- 47 1-16-1 تبارنماهای تکاملی و ریشه دار کردن
- 48 2-16-1 انتخاب تبارنماها
- 50 3-16-1 رجعت ها، همسویی و ارزش گذاری

52	17-1 اهداف پژوهش
	فصل دوم - مواد و روش ها
54	1-2 مطالعات تشریحی
54	1-1-2 مطالعات تشریحی برش عرضی برگ
56	1-1-1-2 صفات تشریحی مورد مطالعه در برش عرضی برگ
58	2-1-2 مطالعات تشریحی برش عرضی فندقه
59	1-2-1-2 صفات تشریحی مورد مطالعه در برش عرضی فندقه
61	2-2- مطالعات الکتروفورز پروتئین ذخیره ای بذر
61	1-2-2 گونه ها و جمعیت های مورد مطالعه
62	2-2-2 روش تهیه عصاره پروتئین
64	3-2-2 تعیین وزن مولکولی پروتئین ها
65	4-2-2 تجزیه و تحلیل باندهای پروتئینی
67	3-2- بررسی های کروموزومی
67	1-3-2 بررسی های میوزی
67	1-1-3-2 روش تهیه لام برای بررسی های میوزی
68	2-3-2 بررسی های میتوزی
68	1-2-3-2 انواع تیمارهای انجام شده بر روی بذر جهت رویش دانه
69	4-2 مطالعات ریخت شناسی
69	1-4-2 گونه ها و جمعیت های مورد بررسی
70	2-4-2 صفات ریختی مطالعه شده

فصل سوم – نتایج

- 75 1-3 نتایج بررسی ساختمان تشریحی برگ
- 76 1-1-3 گونه *Polygonum arenastrum*
- 82 2-1-3 گونه *Polygonum argyrocoleon*
- 89 3-1-3 گونه *Polygonum aviculare*
- 96 4-1-3 گونه *Polygonum patulum*
- 102 5-1-3 گونه *Polygonum polycnemoides*
- 108 6-1-3 گونه *Polygonum olivascens*
- 119 2-3 بررسی تشریحی فندقه در گونه های جنس *Polygonum* در ایران
- 120 1-2-3 گونه *Polygonum arenastrum*
- 123 2-2-3 گونه *Polygonum argyrocoleon*
- 127 3-2-3 گونه *Polygonum aviculare*
- 130 4-2-3 گونه *Polygonum olivascens*
- 135 5-2-3 گونه *Polygonum patulum*
- 138 6-2-3 گونه *polygonum polycnemoides*
- 140 7-2-3 گونه *Persicaria mites*
- 146 3-3 نتایج الکتروفورز SDS-PAGE پروتئین های ذخیره ای بذر
- 153 4-3 نتایج تعیین وزن مولکولی پروتئین های ذخیره ای بذر در گونه های *Polygonum*
- 156 5-3 نتایج تجزیه و تحلیل مشاهدات ریختی
- 158 1-5-3 نتایج آنالیز داده های ریخت شناسی با استفاده از روش Neighbor-joining

160	bootstrap 50% majority- rule consensus
162	3-5-3 نتایج آنالیز داده های ریخت شناسی با استفاده از روش PCO
165	4-5-3 نتایج آنالیز داده های ریخت شناسی با استفاده از روش PCA
168	5-5-3 نتایج آنالیز داده های ریخت شناسی با استفاده از روش UPGMA
170	6-3 نتایج بررسی های کروموزومی
	فصل چهارم - نتیجه گیری
172	1-4 نتایج نهایی بررسی های تشریحی برش عرضی برگ و فندقه
174	2-4 گیری کلی از یافته های بررسی الکتروفورز SDS-PAGE پروتئین ذخیره ای بذر
	3-4 نتیجه گیری نهایی در مورد بررسی های ریخت شناسی در گونه های یکساله
175	<i>Polygonum</i> در ایران
176	4-4 نتیجه گیری کلی بررسی های کروموزومی
178	5-4 نتیجه گیری کلی
179	6-4 اولویت های پژوهشی در آینده
180	منابع
190	پیوست

فهرست جداول

صفحه

شماره جدول

- 6 جدول 1-1 نمایش جایگاه تیره ی *Polygonaceae* در سیستم های مختلف رده بندی
- 55 جدول 1-2 گونه های مورد بررسی، محل جمع آوری آنها و کد هرباریومی
- جدول 2-2 صفات کمی و کد گذاری آنها در مطالعات ساختمان تشریحی برگ در
- 57 گونه های مورد بررسی
- 57 جدول 2-3 صفات کیفی و کد گذاری آنها در مطالعات ساختمان تشریحی برگ
- جدول 2-4 جمعیت های مورد بررسی در مطالعات تشریحی فندقه، محل جمع آوری و
- 58 کد هرباریومی
- 60 جدول 2-5 صفات کمی مورد مطالعه در بررسی های ساختمان تشریحی فندقه
- 60 جدول 2-6 صفات کیفی مورد مطالعه در بررسی های ساختمان تشریحی فندقه
- جدول 2-7 اسامی گونه های مورد استفاده در بررسی های الکتروفورز SDS-PAGE و
- 61 محل جمع آوری و کد هرباریومی آنها
- 70 جدول 2-8 گونه های مورد بررسی، محل جمع آوری آنها و کد هرباریومی
- 72 جدول 2-9 صفات کمی مورد مطالعه در بررسی های ریخت شناسی
- 73 جدول 2-10 صفات کیفی و کد گذاری آنها در مطالعات ریخت شناسی
- 80 جدول 3-1- نتایج بررسی صفات کمی برش عرضی برگ در گونه *P. arenastrum*
- 80 جدول 3-2- نتایج بررسی صفات کیفی برش عرضی برگ در گونه *P. arenastrum*
- جدول 3-3- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی برگ در
- 81 جمعیت های گونه *P. arenastrum*
- 85 جدول 3-4- نتایج بررسی صفات کمی برش عرضی برگ در گونه *P. argyrocolen*

- 85 جدول 3-5- نتایج بررسی صفات کیفی برش عرضی برگ در گونه *P. argyrocoleon*
- جدول 3-6- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی برگ در
- 86 جمعیت های گونه *P. argyrocoleon*
- 93 جدول 3-7- نتایج بررسی صفات کمی برش عرضی برگ در گونه *P. aviculare*
- 93 جدول 3-8- نتایج بررسی صفات کیفی برش عرضی برگ در گونه *P. aviculare*
- جدول 3-9- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی برگ در
- 94 جمعیت های گونه *P. aviculare*
- 99 جدول 3-10- نتایج بررسی صفات کمی برش عرضی برگ در گونه *P. patulum*
- 99 جدول 3-11- نتایج بررسی صفات کیفی برش عرضی برگ در گونه *P. patulum*
- جدول 3-12- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی برگ در
- 100 جمعیت های گونه *P. patulum*
- 105 جدول 3-13- نتایج بررسی صفات کمی برش عرضی برگ در گونه *P. polycnemoide*
- 105 جدول 3-14- نتایج بررسی صفات کیفی برش عرضی برگ در گونه *P. polycnemoide*
- جدول 3-15- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی برگ در
- 106 جمعیت های گونه *P. polycnemoides*
- 112 جدول 3-16- نتایج بررسی صفات کمی برش عرضی برگ در گونه *P. olivascens*
- 112 جدول 3-17- نتایج بررسی صفات کیفی برش عرضی برگ در گونه *P. olivascens*
- جدول 3-18- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی برگ در
- 113 جمعیت های گونه *P. olivascens*
- جدول 3-19- نتایج اولیه حاصل از تجزیه به عامل ها براساس صفات کمی و کیفی برش عرضی

- 116 برگ در گونه های مورد بررسی جنس *Polygonum* در ایران
جدول 3-20- مقادیر فاکتور اول، دوم و سوم حاصل از تجزیه به عامل ها براساس صفات کمی
- 117 و کیفی برش عرضی برگ در گونه های مورد بررسی
جدول 3-21- نتایج بررسی صفات کمی و کیفی برش عرضی فندقه
- 120 در گونه *P. arenastrum*
جدول 3-22- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی فندقه در
- 121 جمعیت های گونه *P. arenastrum*
جدول 3-23- نتایج بررسی صفات کمی و کیفی برش عرضی فندقه
- 123 در گونه *P. argyrocoleon*
جدول 3-24- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی فندقه در
- 124 جمعیت های گونه *P. argyrocoleon*
جدول 3-25- نتایج بررسی صفات کمی و کیفی برش عرضی فندقه
- 127 در گونه *P. aviculare*
جدول 3-26- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی فندقه در
- 128 جمعیت های گونه *P. aviculare*
جدول 3-27- نتایج بررسی صفات کمی و کیفی برش عرضی فندقه
- 131 در گونه *P. olivascens*
جدول 3-28- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی فندقه
- 132 در جمعیت های گونه *P. olivascens*

- جدول 3-29- نتایج بررسی صفات کمی و کیفی برش عرضی فندقه
 135 در گونه *P. patulum*
- جدول 3-30- نتایج حاصل از آنالیز واریانس صفات کمی برش عرضی برگ در
 136 جمعیت های گونه *P. patulum*
- جدول 3-31- نتایج بررسی صفات کمی و کیفی برش عرضی فندقه
 138 در گونه *P. polycnemoides*
- جدول 3-32- نتایج بررسی صفات کمی و کیفی برش عرضی فندقه
 140 در گونه *Persicaria mites*
- جدول 3-33- نتایج اولیه حاصل از تجزیه به عامل ها براساس صفات کمی و کیفی برش عرضی
 143 فندقه در گونه های مورد بررسی جنس *Polygonum* در ایران
- جدول 3-34- مقادیر فاکتور 1 و 2 حاصل از تجزیه به عامل ها براساس
 144 صفات کمی و کیفی ساختار تشریحی فندقه در گونه های مورد بررسی
- جدول 3-35- باند های حاصل از SDS-PAGE و مقادیر RF مربوط به آن ها
 149 در گونه های *Polygonum* در ایران
- جدول 3-36- ضرایب تشابه جاکارد محاسبه شده برای ویژگی های الکتروفورز
 152 SDS-PAGE پروتئین های ذخیره ای بذر در گونه های *Polygonum* در ایران
- جدول 3-37- تعیین وزن مولکولی باند های پروتئینی مشاهده شده در گونه های
 155 *Polygonum* با استفاده از منحنی استاندارد وزن مولکولی پروتئین
- جدول 3-38- ویژگی های توصیفی صفات ریختی گونه های یک ساله *Polygonum* در ایران
 157
- جدول 3-39- نتایج اولیه حاصل از تجزیه به عامل ها براساس صفات ریختی در گونه های

- 166 مورد بررسی جنس *Polygonum* در ایران
- جدول 3-40- مقادیر فاکتور های حاصل از تجزیه به عامل ها براساس صفات ریختی در
- 166 گونه های مورد بررسی جنس *Polygonum* در ایران

فهرست اشکال

شماره شکل	صفحه
شکل 1-2- نمودار استاندارد وزن مولکولی	65
شکل 1-3- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه <i>P. arenastrum</i>	78
شکل 2-3- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه <i>P. arenastrum</i>	79
شکل 3-3- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه <i>P. argyrocoleon</i>	83
شکل 4-3- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه <i>P. argyrocoleon</i>	84
شکل 3-5 : دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش WARD بر روی صفات تشریحی	
برش عرضی برگ در جمعیت های گونه ی <i>P. argyrocoelon</i>	87
شکل 3-6- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه <i>P. aviculare</i>	89
شکل 3-7- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه <i>P. aviculare</i>	90
شکل 3-8- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه <i>P. aviculare</i>	91
شکل 3-9- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه <i>P. aviculare</i>	92
شکل 3-10- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش WARD بر روی صفات تشریحی	
برش عرضی برگ در جمعیت های گونه ی <i>P. aviculare</i>	95
شکل 3-11- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه <i>P. patulum</i>	97
شکل 3-12- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه <i>P. patulum</i>	98

- شکل 3-13- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش WARD بر روی صفات تشریحی
- 101 برش عرضی برگ در جمعیت های گونه ی *P. patulum*
- شکل 3-14- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در *P. polycnemoides*
- شکل 3-16- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش WARD بر روی صفات تشریحی
- 107 برش عرضی برگ جمعیت های گونه ی *P. polycnemoides*
- شکل 3-17- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در *P. polycnemoides*
- 109
- شکل 3-18- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه *P. olivascens*
- 110
- شکل 3-19- ساختار تشریحی برش عرضی برگ در گونه *P. olivascens*
- 111
- شکل 3-20- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش WARD بر روی صفات تشریحی
- 114 برش عرضی برگ در جمعیت های گونه ی *P. olivascens*
- شکل 3-21- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش WARD بر روی صفات
- 115 تشریحی برش عرضی برگ در گونه های یکساله *Polygonum*
- شکل 3-22- نمودار رسته بندی براساس مؤلفه های اصلی PCA صفات کمی و
- 118 کیفی برش عرضی برگ در گونه های مورد بررسی
- شکل 3-23- ساختار تشریحی برش عرضی میوه در گونه *P. arenastrum*
- 121
- شکل 3-24- ساختار تشریحی برش عرضی میوه در گونه *P. arenastrum*
- 122
- شکل 3-25- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش WARD بر روی صفات تشریحی برش
- 124 عرضی فندقه در جمعیت های گونه ی *P. argyrocoleon*
- شکل 3-26- ساختار تشریحی برش عرضی میوه در گونه *P. argyrocoleon*
- 125
- شکل 3-27- ساختار تشریحی برش عرضی میوه در گونه *P. argyrocoleon*
- 126
- شکل 3-28- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای به روش WARD بر روی صفات تشریحی

- 153 شکل 3-44-منحنی استاندارد وزن مولکولی پروتئین
- 154 شکل 3-45-منحنی استاندارد وزن مولکولی پروتئین
- شکل 3-46 - درختچه رسم شده برای گونه های یکساله *Polygonum* در ایران با استفاده از آنالیز Neighbor- joining
- 159 شکل 3-47 - درختچه رسم شده برای گونه های یکساله *Polygonum* در ایران با استفاده از آنالیز bootstrap 50% majority- rule consensus
- 161 شکل 3-48 - نمودار دو بعدی رسته بندی براساس مؤلفه های اصلی PCO صفات ریختی گونه های یکساله *Polygonum* در ایران
- 163 شکل 3-49 - نمودار سه بعدی رسته بندی براساس مؤلفه های اصلی PCO صفات ریختی گونه های یکساله *Polygonum* در ایران
- 164 شکل 3-50 - نمودار رسته بندی براساس مؤلفه های اصلی PCA صفات ریختی گونه های یکساله *Polygonum* در ایران
- 167 شکل 3-51 - درختچه رسم شده برای گونه های یکساله *Polygonum* در ایران با استفاده از آنالیز UPGMA
- 169