

۸۷/۱/۱۰۰۹۸۵
۸۷/۱/۱۲۳۰

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۱۰۷۸۰۲



دانشگاه شهید بهشتی

دانشکده علوم زیستی

پایان نامه:

جهت اخذ درجه‌ی کارشناسی ارشد (M.Sc.) در رشته علوم گیاهی

گرایش سیستماتیک گیاهی

عنوان:

بررسی پیوسیستماتیکی گونه‌های جنس

Alopecurus L. (*Poaceae*) در ایران

نگارش:

سودابه جعفری

استاد راهنما:

دکتر مسعود شیدایی

اساتید مشاور:

دکتر مریم کشاورزی و مهندس طیبه امینی

شهریور ۱۳۸۷

۱۰۷۸۰۲

کتابخانه تخصصی علوم زیستی
شهریور ۱۳۸۷

۱۳۸۷ / ۱۰ / ۲

« صورتجلسه دفاع پایان نامه دانشجویان دوره کارشناسی ارشد »

برای ۱۹۸۳۹۶۳۱۱۳ اوین

ف: ۲۹۹۰۱

بازگشت به مجوز دفاع ۲۰۲۷/۲۰۰/ت/د مورخ ۸۷/۵/۱۹ جلسه هیأت داوران ارزیابی
 پایان نامه خانم سودابه جعفری به شماره شناسنامه ۱۷۶۹۶ صادره از تهران متولد
 ۱۳۵۹ دانشجوی دوره کارشناسی ارشد ناپیوسته رشته زیست شناسی علوم گیاهی -
 سیستماتیک اکولوژی

با عنوان :

بررسی بیوسیستماتیکی برخی گونه های جنس *Alopecurus* (poaceae)
 در ایران

به راهنمایی:

آقای دکتر مسعود شیدائی

طبق دعوت قبلی در تاریخ ۱۳۸۷/۶/۲۶ تشکیل گردید و براساس رأی هیأت داوری
 و با عنایت به ماده ۲۰ آئین نامه کارشناسی ارشد مورخ ۷۵/۱۰/۲۵ پایان نامه مزبور
 با نمره ۱۹٫۵ و درجه عالی مورد تصویب قرار گرفت.

۱- استاد راهنما: آقای دکتر مسعود شیدائی

۲- استاد مشاور: خانم دکتر مریم کشاورزی

۳- استاد مشاور: خانم مهندس طیبه امینی

۴- استاد داور : خانم دکتر زهرا نورمحمدی

۵- استاد داوور و نماینده تحصیلات تکمیلی: آقای دکتر حسین شاکر بازارنو

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

خواهر صبورم

برادران مهربانم

و آشنایانی که برای سربلندی ایران اسلامی می‌کوشند

تقدیر و سپاسگزاری

سپاس و ستایش مخصوص خداست که پروردگار جهانیان است.

خدایا! چگونه شکر تو را به جای آورم که به من از نشانه‌هایت چیزی نماند که به کسی نشان نداده بودی، به جایی بردی که کمتر کسی به آنجا رفته بود، صدایی به گوشم رساندی که کمتر کسی شنیده بود و جایی بردی که فقط صدای تو بود. ای باشکوه، ای مهربان آنگاه که من کوچک در جستجوی عظمت به دنبال کیاهی بودم و آن را نمی‌یافتم، تو را برای یافتنم خواندم، تو را که علمت بر همه چیز احاطه دارد و تویاری ام کردی.

خدایا! تو را سپاس می‌گویم به خاطر داشتن پدرم با اندیشه‌ای که علم را شوقی جاودانه می‌داند و به خاطر داشتن مادرم که خود را فدای چنین اندیشه‌ای کرده است و به خاطر خواهرم سیمیه و برادرانم سعید و سجاد که در راه علم گام برمی‌دارند و همواره یاریگر من بوده‌اند و به خاطر نرگس که در حتم خواهری کرد.

پروردگارا! اسادی چون دکتر شیدایی را در مسیر زندگی ام قرار دادی تا دمی تازه از علم به روی من گشوده شود و بسیار موزم.

شکر تو که مرا با خانم دکتر کشاورزی و خانم مهندس امینی از زمان فرزند سرزیم آشنا کردی و مراد محضر اساتید بزرگوار می‌چون دکتر مجد، دکتر اسدی، دکتر ریاحی، دکتر عزیزیان و دکتر ساگر قرار دادی.

پروردگارا! تو آگاهی که از خوشنام خانم زهرا و اکرم قمرلو و آقایان عباس رضایی و رسول رضایی جوزانی و در دانشگاه خانمها دکتر نورمحمدی، فدایی، باقری،

نوروزی، ایرانی، طالبان، پاریان، اذانی، خضری، نیکو و چکینی و آقایان قلی‌پور، قربانی و پروینی مرایاری کرده‌اند. تو خوب می‌دانی که نمی‌توانم از همه

محبت ایشان و آثانی که حتی برگردنم دارند برآیم پس تو خود جزایشان ده که تو بسیار نیکو جزا دهنده‌ای.

چکیده

جنس *Alopecurus* از خانواده *Poaceae* و از جنس‌های مهم مرتعی و کوهستانی ایران است. یک گونه از این جنس به نام *A. myosuroides* علف هرز مزارع و باغها محسوب می‌شود. این جنس به دو بخش علفهای یکساله و چندساله تقسیم می‌شود. بخش چندساله خود شامل دو زیربخش است. در این تحقیق از هر بخش و زیربخش یک گونه مورد مطالعه قرار گرفته است. سه گونه مطالعه شده در این تحقیق در بین یازده گونه گزارش شده از ایران در فلور ایرانیکا، دارای بیشترین پراکندگی جغرافیایی می‌باشند. امکان بررسی بقیه گونه‌ها که برای اکثر آنها یک یا دو گزارش موجود بود فراهم نشد. با توجه به اینکه تاکنون هیچ گونه بررسی بیوسستماتیکی برای جنس *Alopecurus* در ایران انجام نشده است، در این تحقیق با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره و با در نظرگیری خصوصیات ریخت‌شناسی، رفتار کروموزوم‌ها در میوز، مطالعه‌ی کاربوتیپ و بررسی تفاوت‌های ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای RAPD، ارتباط گونه‌ها بررسی شده‌اند. مطالعات ریخت‌شناسی بر روی ۱۴ جمعیت از چهار تاکسون با استفاده از ۳۷ صفت کمی و کیفی صورت پذیرفت. آنالیزهای آماری تک متغیره به منظور شناسایی اختلاف معنی‌دار در میان جمعیت‌های هر گونه بر روی صفات کمی انجام گرفت. ارتباط بین گونه‌ها از طریق تجزیه خوشه‌ای و رسته‌بندی بر اساس مؤلفه‌های اصلی بررسی شد. با کمک آنالیزهای آماری تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات مهم کلیدی در بین گونه‌ها شناسایی شدند. رفتار کروموزوم‌ها طی تقسیم میوز در شش جمعیت از سه گونه بررسی شد. گونه‌های مورد مطالعه تعداد کروموزوم $n = 7$ (دیپلوئید)، $n = 21$ (هگزاپلوئید) و $n = 28$ (دیپلوئید) را نشان دادند. از این میان یک سطح پلوئیدی جدید برای گونه *A. arundinaceus* گزارش می‌شود. مطالعه رفتار کروموزوم‌ها در تشکیل کیاسما و اتصالات کروموزومی در *A. myosuroides* var. *breviaristatus* و *A. textilis* نیز برای اولین بار گزارش می‌شود. آنالیزهای آماری اختلاف معنی‌دار در خصوصیات سیتوژنتیکی جمعیت‌های یک گونه و گونه‌های مختلف را نشان می‌دهد که بیانگر تغییرات ژنومی آنها در روند گونه‌زایی و همچنین سازش جمعیت‌های جغرافیایی یک گونه است. حضور کروموزوم B در سه تاکسون برای اولین بار گزارش می‌شود. در بررسی کاربوتیپ شمارش کروموزومی چهار جمعیت از سه گونه و یک واریته ارائه شده است. در مطالعه تفاوت‌های ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD، ۱۰ پرایمر استفاده شد که پنج پرایمر موفق به ایجاد باند شدند. در مجموع ۱۱۵ باند تولید شد. شش باند در همه گونه‌ها مشترک و بقیه پلی‌مورف بودند. همچنین تعدادی باند اختصاصی نیز در ژنوتیپ‌ها شناسایی شدند. پس از کدگذاری دو حالتی باندها و محاسبه ضریب تشابه Jaccard، دوری و نزدیکی گونه‌ها با روش‌های آماری مختلف مانند تجزیه خوشه‌ای و رسته‌بندی مورد بررسی قرار گرفت. این نتایج مؤید نتایج حاصل از داده‌های ریخت‌شناسی است. در این تحقیق تلاش شده است با استفاده از داده‌های ریخت‌شناسی، سیتوژنتیک و مولکولی روابط گونه‌ها و جایگاه تاکسونومیک آنها مورد بحث قرار گیرد.

فهرست مطالب

| | |
|---------|--|
| ۱ | مقدمه |
| ۱-۱ | پیش گفتار |
| ۱-۲ | گیاهشناسی و تاکسونومی عددی |
| ۱-۳ | اهداف اصلی مطالعه |
| ۳ | بررسی منابع |
| ۳-۱ | مروری بر مطالعات انجام شده در خانواده Poaceae و جنس Alopecurus |
| ۳-۱-۱ | مروری بر تاکسونومی خانواده Poaceae |
| ۳-۱-۲ | مطالعات فیلوژنی در خانواده Poaceae |
| ۳-۱-۳ | کلید شناسایی شاخه‌های اصلی Poaceae |
| ۳-۱-۴ | تکامل Poaceae |
| ۳-۱-۵ | تکامل ژنوم Poaceae |
| ۳-۱-۶ | مروری بر مطالعات انجام شده در جنس Alopecurus |
| ۳-۱-۷ | اختصاصات کلی خانواده Poaceae |
| ۳-۱-۸ | اختصاصات کلی طائفه Agrostideae |
| ۳-۱-۹ | جایگاه کنونی جنس Alopecurus |
| ۳-۱-۱۰ | شرح جنس |
| ۳-۱-۱۱ | کلید شناسایی گونه‌ها |
| ۳-۱-۱۲ | شرح گونه‌ها |
| ۳-۲ | مطالعات کروموزومی |
| ۳-۲-۱ | کارکرد مطالعات کروموزومی |
| ۳-۲-۲ | تقسیم میوز |
| ۳-۲-۲-۱ | مراحل تقسیم میوز |
| ۳-۲-۲-۲ | تنوع در مراحل تقسیم میوز |
| ۳-۲-۲-۳ | سیتومیکسیس |
| ۳-۲-۲-۴ | چسبندگی کروموزومها |
| ۳-۲-۲-۵ | کروموزوم‌های سرگردان |
| ۳-۲-۲-۶ | گامت‌های 2n |

| | | |
|----|--|---------|
| ۳۱ | کروموزوم‌های B | ۷-۲-۲ |
| ۳۱ | تقسیم میتوز | ۳-۲-۲ |
| ۳۲ | اهداف اصلی بررسی‌های میتوزی | ۱-۳-۲ |
| ۳۲ | تقارن کاریوتیپ | ۲-۳-۲ |
| ۳۳ | گروه‌بندی کاریوتیپ‌ها | ۳-۳-۲ |
| ۳۴ | تجزیه و تحلیل کاریوتیپ‌ها | ۴-۳-۲ |
| ۳۶ | <i>Alopecurus L.</i> جنس روی انجام شده | ۴-۲-۲ |
| ۴۱ | مطالعات مولکولی | ۳-۲ |
| ۴۱ | اصل و مبانی استخراج DNA ژنومی از گیاهان | ۱-۳-۲ |
| ۴۲ | نقش ترکیبات مورد استفاده در استخراج DNA گیاهی | ۱-۱-۳-۲ |
| ۴۲ | مشکلات استخراج DNA گیاهان و راه‌حل‌های آن | ۲-۱-۳-۲ |
| ۴۴ | واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) | ۲-۳-۲ |
| ۴۴ | چند شکلی قطعات DNA حاصل از تکثیر تصادفی (RAPD) | ۳-۳-۲ |
| ۴۴ | الکتروفورز | ۴-۳-۲ |
| ۴۵ | الکتروفورز ژل آگارز | ۱-۴-۳-۲ |
| ۴۵ | الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید | ۲-۴-۳-۲ |
| ۴۷ | تاکسونومی عددی | ۴-۲ |
| ۴۸ | روش‌های آماری چند متغیره | ۱-۴-۲ |
| ۴۸ | تجزیه به مؤلفه‌های اصلی | ۱-۱-۴-۲ |
| ۴۸ | تجزیه به عامل‌ها | ۲-۱-۴-۲ |
| ۴۹ | تحلیل خوشه‌ای | ۳-۱-۴-۲ |
| ۵۴ | مواد و روش‌ها | ۳ |
| ۵۴ | مطالعات ریخت‌شناسی | ۱-۳ |
| ۵۴ | جمعیت‌ها و گونه‌های بررسی شده | ۱-۱-۳ |
| ۵۴ | صفات ریختی مورد مطالعه | ۲-۱-۳ |
| ۵۷ | مطالعات میوزی | ۲-۳ |
| ۵۷ | جمعیت‌ها و گونه‌های بررسی شده | ۱-۲-۳ |
| ۵۷ | تثبیت | ۲-۲-۳ |
| ۵۷ | نگهداری | ۳-۲-۳ |
| ۵۷ | رنگ‌آمیزی | ۴-۲-۳ |
| ۵۸ | تهیه‌ی استوک‌ارمن | ۵-۲-۳ |
| ۵۸ | دائمی کردن نمونه‌های میکروسکوپی | ۶-۲-۳ |

| | | |
|----|-------|--|
| ۵۹ | | ۷-۲-۳. آزمون باروری گرده |
| ۵۹ | | ۸-۲-۳. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات میوزی |
| ۵۹ | | ۱-۸-۲-۳. آنالیز واریانس (ANOVA) |
| ۵۹ | | ۲-۸-۲-۳. تحلیل خوشه‌ای |
| ۵۹ | | ۳-۸-۲-۳. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی |
| ۵۹ | | ۴-۸-۲-۳. آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) |
| ۶۰ | | ۳-۳. مطالعه‌ی کاربوتیپی |
| ۶۰ | | ۱-۳-۳. جمعیت‌ها و گونه‌های بررسی شده |
| ۶۰ | | ۲-۳-۳. جوانه‌دار کردن بذرها |
| ۶۰ | | ۳-۳-۳. پیش‌تیمار |
| ۶۱ | | ۱-۳-۳. طرز تهیه‌ی پیش‌تیمار ۸- هیدروکسی کینولین (OQ) |
| ۶۱ | | ۴-۳-۳. تثبیت |
| ۶۱ | | ۵-۳-۳. نگهداری |
| ۶۱ | | ۶-۳-۳. هیدرولیز |
| ۶۲ | | ۱-۶-۳-۳. تهیه‌ی اسید کلریدریک یک نرمال |
| ۶۲ | | ۷-۳-۳. رنگ‌آمیزی |
| ۶۲ | | ۸-۳-۳. له کردن |
| ۶۲ | | ۹-۳-۳. بررسی میکروسکوپی |
| ۶۲ | | ۱۰-۳-۳. دائمی کردن لام‌ها |
| ۶۲ | | ۱۱-۳-۳. تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات کاربوتیپی |
| ۶۳ | | ۴-۳. مطالعات مولکولی با استفاده از نشانگرهای RAPD |
| ۶۳ | | ۱-۴-۳. استخراج DNA به روش موری و تامسون |
| ۶۳ | | ۱-۱-۴-۳. روش تهیه مواد و محلول‌های مورد نیاز |
| ۶۴ | | ۲-۱-۴-۳. روش استخراج |
| ۶۵ | | ۳-۱-۴-۳. ارزیابی کیفیت و کمیت DNA |
| ۶۶ | | ۲-۴-۳. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز |
| ۶۶ | | ۱-۲-۴-۳. اجزای PCR |
| ۶۷ | | ۲-۲-۴-۳. برنامه‌ی دمایی PCR |
| ۶۸ | | ۳-۴-۳. الکتروفورز ژل آگارز |
| ۶۸ | | ۱-۳-۴-۳. مواد و محلول‌های مورد نیاز برای تهیه‌ی ژل آگارز |
| ۶۸ | | ۲-۳-۴-۳. آماده‌سازی ژل آگارز |
| ۶۸ | | ۳-۳-۴-۳. الکتروفورز افقی DNA |
| ۶۹ | | ۴-۳-۴-۳. رنگ‌آمیزی ژل آگارز |

| | | |
|-----|-------|--|
| ۶۹ | | ۴-۴-۳ الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید |
| ۶۹ | | ۱-۴-۳ مواد و محلول‌های موردنیاز برای تهیه‌ی ژل پلی آکریل آمید |
| ۷۰ | | ۲-۴-۳ آماده‌سازی ژل پلی آکریل آمید شش درصد (غیر دناتوره کننده) |
| ۷۰ | | ۳-۴-۳ الکتروفورز عمودی |
| ۷۰ | | ۴-۴-۳ رنگ‌آمیزی ژل پلی آکریل آمید |
| ۷۰ | | ۵-۴-۳ آنالیزهای آماری |
| ۷۲ | | ۴ نتایج و بحث |
| ۷۲ | | ۱-۴ نتایج حاصل از مطالعه صفات ریختی |
| ۷۲ | | ۱-۱-۴ تجزیه و تحلیل صفات ریختی |
| ۷۲ | | ۱-۱-۴ واریته <i>A. Myosuroides var. myosuroides</i> Huds. |
| ۷۲ | | ۲-۱-۴ واریته <i>A. myosuroides</i> Huds. var. <i>breviaristatus</i> March. |
| ۷۳ | | ۳-۱-۴ گونه <i>A. arundinaceus</i> Poir. |
| ۷۳ | | ۴-۱-۴ گونه <i>A. textilis</i> Boiss. |
| ۷۴ | | ۲-۱-۴ بررسی روابط فنتیکی گونه‌ها |
| ۷۵ | | ۲-۴ نتایج بررسی میوز |
| ۷۵ | | ۱-۲-۴ نتایج مطالعه رفتار کروموزومی |
| ۷۵ | | ۱-۱-۲-۴ واریته <i>A. myosuroides var. myosuroides</i> Huds. |
| ۷۶ | | ۲-۱-۲-۴ واریته <i>A. myosuroides</i> Huds. var. <i>breviaristatus</i> March. |
| ۷۶ | | ۳-۱-۲-۴ گونه <i>A. arundinaceus</i> Poir. |
| ۷۶ | | ۴-۱-۲-۴ گونه <i>A. textilis</i> Boiss. |
| ۷۶ | | ۲-۲-۴ مقایسه رفتار میوزی گونه‌های مطالعه شده |
| ۷۶ | | ۱-۲-۲-۴ تنوع در زیرمراحل میوز |
| ۷۸ | | ۲-۲-۲-۴ تجزیه و تحلیل صفات میوزی |
| ۷۹ | | ۳-۴ نتایج حاصل از مطالعه کاربوتیپی |
| ۷۹ | | ۱-۳-۴ بررسی کاربوتیپ |
| ۷۹ | | ۱-۱-۳-۴ تجزیه و تحلیل داده‌های کاربوتیپی |
| ۸۰ | | ۴-۴ نتایج حاصل از بررسی‌های مولکولی |
| ۸۰ | | ۱-۴-۴ نتایج حاصل از استخراج DNA به روش موری و تامسون |
| ۸۰ | | ۲-۴-۴ نتایج حاصل از انجام آزمایش RAPD-PCR |
| ۸۰ | | ۳-۴-۴ نتایج حاصل از ارزش‌گذاری باندها |
| ۸۱ | | ۴-۴-۴ نتایج و بحث حاصل از تجزیه از آنالیزهای آماری نشانگرهای RAPD |
| ۱۲۲ | | ۵-۴ کلید شناسایی و اختصاصات کلی گونه‌های مطالعه شده |

- ۱۲۲ ۱-۵-۴. کلید شناسایی گونه‌های مطالعه شده
- ۱۲۳ ۲-۵-۴. اختصاصات کلی گونه‌های مطالعه شده
- ۱۲۶ ۶-۴. جمع‌بندی
- ۱۲۷ ۷-۴. پیشنهادات

منابع

پیوست

چکیده انگلیسی

فهرست جدول‌ها

۲. بررسی منابع

- جدول ۱-۲. جدول دوطرفه‌ی استینس..... ۳۳
- جدول ۲-۲. دسته‌بندی کروموزوم‌های هر کاربوتیپ بر اساس روش لوان..... ۳۴
- جدول ۳-۲. ترکیبات مورد استفاده در استخراج DNA..... ۴۳

۳. مواد و روش‌ها

- جدول ۱-۳. جمعیت‌های مورد بررسی در مطالعات ریخت‌شناسی و محل جمع‌آوری آنها..... ۵۵
- جدول ۲-۳. صفات ریختی مطالعه شده و کدگذاری آنها..... ۵۶
- جدول ۳-۳. گونه‌ها و جمعیت‌های بررسی شده در مطالعات میوزی..... ۵۷
- جدول ۴-۳. گونه‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه در بررسی‌های کاربوتیپی..... ۶۰
- جدول ۵-۳. گونه‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه در بررسی‌های مولکولی..... ۶۳
- جدول ۶-۳. محلول‌ها و غلظت‌های موردنیاز برای تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر TE..... ۶۴
- جدول ۷-۳. محلول‌ها و غلظت‌های موردنیاز برای تهیه ۵۰ میلی‌لیتر بافر استخراج..... ۶۴
- جدول ۸-۳. نام و مترادف پرایمرهای مورد استفاده در واکنش RAPD..... ۶۷
- جدول ۹-۳. مقدار و غلظت اجزای PCR..... ۶۷
- جدول ۱۰-۳. برنامه‌ی دمایی RAPD - PCR..... ۶۷

۴. نتایج و بحث

- جدول ۱-۴. آمار مقدماتی صفات ریختی کمی مطالعه شده در واریته *A. myosuroides var. myosuroides*..... ۸۲
- جدول ۲-۴. آنالیز واریانس صفات ریختی کمی مطالعه شده در واریته *A. myosuroides var. myosuroides*..... ۸۳
- جدول ۳-۴. نتایج آزمون LSD صفات ریختی کمی در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه..... ۸۴
- جدول ۴-۴. آمار مقدماتی صفات ریختی کمی مطالعه شده در واریته *A. myosuroides var. breviarstatus*..... ۸۵
- جدول ۵-۴. آزمون t صفات ریختی کمی مطالعه شده در واریته *A. myosuroides var. breviarstatus*..... ۸۶
- جدول ۶-۴. آمار مقدماتی صفات ریختی کمی مطالعه شده در گونه *A. arundinaceus*..... ۸۷
- جدول ۷-۴. آنالیز واریانس صفات ریختی کمی مطالعه شده در گونه *A. arundinaceus*..... ۸۸
- جدول ۸-۴. آمار مقدماتی صفات ریختی کمی مطالعه شده در گونه *A. textilis*..... ۸۹
- جدول ۹-۴. آنالیز واریانس صفات ریختی کمی مطالعه شده در گونه *A. textilis*..... ۹۰
- جدول ۱۰-۴. آنالیز واریانس صفات ریختی کمی در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه..... ۹۱

| | |
|--|-----|
| جدول ۱۱-۴. مقادیر ویژه و درصد واریانس هر عامل، حاصل از تجزیه به عامل‌ها بر روی صفات ریختی در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه | ۹۲ |
| جدول ۱۲-۴. مقادیر PCA حاصل از تجزیه به عامل‌ها بر روی صفات ریختی در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه | ۹۳ |
| جدول ۱۳-۴. میانگین و دامنه تغییرات صفات میوزی در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه | ۹۴ |
| جدول ۱۴-۴. رفتار کروموزوم‌ها در مراحل مختلف تقسیم میوز در قالب پدیده‌های مشاهده شده در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه | ۹۵ |
| جدول ۱۵-۴. آمار مقدماتی صفات میوزی در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه | ۹۶ |
| جدول ۱۶-۴. نتایج حاصل از اندازه‌گیری دانه‌های گرده n و $2n$ در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه | ۹۷ |
| جدول ۱۷-۴. نتایج حاصل از آنالیز واریانس بر روی صفات میوزی گونه‌های دارای $14 = 2n = 2x$ کروموزوم | ۹۷ |
| جدول ۱۸-۴. نتایج آزمون LSD صفات میوزی در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه | ۹۸ |
| جدول ۱۹-۴. نتایج حاصل از آنالیز واریانس بر روی صفات میوزی گونه‌های دارای $14 = 2n = 2x$ ، $42 = 2n = 6x$ و $56 = 2n = 2x$ بر اساس واحد یک کروموزوم | ۹۹ |
| جدول ۲۰-۴. مقادیر ویژه و درصد واریانس هر عامل، حاصل از تجزیه به عامل‌ها بر روی صفات میوزی در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه | ۹۹ |
| جدول ۲۱-۴. مقادیر PCA حاصل از تجزیه به عامل‌ها بر روی صفات میوزی در جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه | ۱۰۰ |
| جدول ۲۲-۴. نتایج آنالیز کاریوتیپ واریته <i>A. myosuroides</i> var. <i>myosuroides</i> | ۱۰۰ |
| جدول ۲۳-۴. جزئیات کاریوتیپ واریته <i>A. myosuroides</i> var. <i>myosuroides</i> جمعیت شهریار | ۱۰۰ |
| جدول ۲۴-۴. طبقه‌بندی کاریوتیپ واریته <i>A. myosuroides</i> var. <i>myosuroides</i> جمعیت شهریار بر اساس درجه‌ی تقارن استینیس | ۱۰۱ |
| جدول ۲۵-۴. جدول ماتریس شباهت بین جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه بر اساس ضریب تشابه Jaccard | ۱۰۱ |

فهرست شکل‌ها

۲. بررسی منابع

- شکل ۱-۲. فیلوژنی Poaceae با پنج زیر خانواده اصلی..... ۵
- شکل ۲-۲. تکامل اندازه ژنوم در Poaceae..... ۸
- شکل ۳-۲. نقشه پراکنندگی جغرافیایی گونه‌های جنس *Alopecurus* در ایران..... ۲۴
- شکل ۴-۲. ساختار مورفولوژیکی گونه‌های *A. arundinaceus* (a) و *A. myosuroides* (b)..... ۲۴
- شکل ۵-۲. دندروگرام روش خوشه‌بندی سلسله مراتبی..... ۵۰
- شکل ۶-۲. محاسبه‌ی فاصله‌ی خوشه‌ها در روش پیوستگی منفرد..... ۵۰
- شکل ۷-۲. محاسبه‌ی فاصله‌ی خوشه‌ها در روش پیوستگی کامل..... ۵۲
- شکل ۸-۲. محاسبه‌ی فاصله‌ی خوشه‌ها در روش پیوستگی متوسط..... ۵۲
- شکل ۹-۲. دندروگرام روش خوشه‌بندی سلسله مراتبی به روش تجمعی Ward..... ۵۳

۳. مواد و روش‌ها

- شکل ۱-۳. مارکر وزن مولکولی (100 bp DNA ladder)..... ۶۹

۴. نتایج و بحث

- شکل ۱-۴. نمودار جعبه‌ای صفات ریختی اندازه ساقه C1، عرض پهنک C4، طول سنبله C5 و طول پوشینه C11..... ۱۰۲
- شکل ۲-۴. نمودار جعبه‌ای صفات ریختی اندازه ساقه C1، عرض پهنک C4، طول سنبله C5، طول پوشینه C11 و اندازه سیخک C13 در واریته *A. myosuroides* var. *breviarstatus*..... ۱۰۳
- شکل ۳-۴. نمودار جعبه‌ای صفات ریختی طول سنبله C5، عرض سنبله C6، عرض سنبلک C8 و عرض پوشه C10 در گونه *A. arundinaceus*..... ۱۰۴
- شکل ۴-۴. نمودار جعبه‌ای صفات ریختی طول سنبله C5، عرض سنبلک C8 و اندازه سیخک C13 در گونه *A. textilis*..... ۱۰۴
- شکل ۵-۴. نمودار جعبه‌ای صفات ریختی اندازه ساقه C1، طول سنبله C5، طول گلوم C9 و طول پوشینه C11 در گونه‌های مورد مطالعه..... ۱۰۵
- شکل ۶-۴. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر روی صفات کمی ریختی در افراد جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه به روش UPGMA..... ۱۰۶
- شکل ۷-۴. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر روی صفات کیفی ریختی در افراد جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه به روش UPGMA..... ۱۰۷
- شکل ۸-۴. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر روی صفات ریختی در افراد جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه..... ۱۰۸
- شکل ۹-۴. نمودارهای رسته‌بندی گونه‌های مطالعه شده بر اساس دو مؤلفه اصلی PCA صفات ریختی..... ۱۰۹
- شکل ۱۰-۴. میوز در جمعیت شهریار *A. myosuroides* var. *myosuroides*..... ۱۱۰

- شکل ۱۱-۴. میوز در جمعیت نوشهر *A. myosuroides* var. *myosuroides* ۱۱۰
- شکل ۱۲-۴. میوز در جمعیت چالوس *A. myosuroides* var. *myosuroides* ۱۱۱
- شکل ۱۳-۴. میوز در جمعیت نوشهر *A. myosuroides* var. *breviarstatus* ۱۱۱
- شکل ۱۴-۴. میوز در جمعیت توچال *A. arundinaceus* ۱۱۲
- شکل ۱۵-۴. میوز در جمعیت توچال *A. textiles* ۱۱۳
- شکل ۱۶-۴. نمودار جعبه‌ای صفات میوزی در جمعیت‌های مورد مطالعه ۱۱۴
- شکل ۱۷-۴. نمودار جعبه‌ای صفات میوزی در گونه‌های مورد مطالعه ۱۱۵
- شکل ۱۸-۴. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر روی صفات میوزی در افراد جمعیت‌ها و گونه‌های مورد مطالعه بر اساس واحد کروموزوم به روش‌های Ward (شکل بالایی) و UPGMA (شکل پایینی). ۱۱۶
- شکل ۱۹-۴. نمودار رسته‌بندی گونه‌های مطالعه شده بر اساس دو مؤلفه اصلی PCA صفات میوزی ۱۱۶
- شکل ۲۰-۴. ایدیوگرام کروموزوم‌های متافازی میوز جمعیت شهریار *A. myosuroides* var. *myosuroides* ۱۱۷
- شکل ۲۱-۴. کاریوتیپ کروموزوم‌های متافازی در گونه‌های مورد مطالعه ۱۱۷
- شکل ۲۲-۴. ژل آگارز DNA ژنومی استخراج شده با روش موری و تامسون ۱۱۸
- شکل ۲۳-۴. الگوی قطعات تکثیر شده با پرایمر OPC07 بر روی ژل آگارز L= نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰bp ۱۱۸
- شکل ۲۴-۴. الگوی قطعات تکثیر شده بر روی ژل اکرلامید L= نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰bp ۱۱۹
- شکل ۲۵-۴. نمودار رسته‌بندی گونه‌های مطالعه شده بر اساس دو مؤلفه اصلی PCA صفات مولکولی ۱۲۰
- شکل ۲۶-۴. نمودار رسته‌بندی گونه‌های مطالعه شده با استفاده از آنالیز PCO صفات مولکولی در فضای دو بعدی ۱۲۱
- شکل ۲۷-۴. نمودار رسته‌بندی گونه‌های مطالعه شده با استفاده از آنالیز PCO صفات مولکولی در فضای سه بعدی ۱۲۱
- شکل ۲۸-۴. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر روی کل باندها بر اساس ضریب تشابه Jaccard به روش UPGMA ۱۲۲
- شکل ۲۹-۴. نقشه پراکندگی جمعیت‌های مطالعه شده‌ی گونه *A. myosuroides* و نمونه‌ی هرباریومی مطالعه شده از این گونه ۱۲۳
- شکل ۳۰-۴. نقشه پراکندگی جمعیت‌های مطالعه شده‌ی گونه *A. arundinaceus* و نمونه‌ی هرباریومی مطالعه شده از این گونه ۱۲۴
- شکل ۳۱-۴. نقشه پراکندگی جمعیت‌های مطالعه شده‌ی گونه *A. textilis* و نمونه‌ی هرباریومی مطالعه شده از این گونه ۱۲۵

بخش اول

مقدمه

۱. مقدمه

۱-۱. پیش‌گفتار

بررسی و مطالعه پوشش‌های گیاهی به دلیل ارزش آنها در حفظ خاک، تأمین خوراک دام، حفظ شرایط اکولوژیکی مناسب و شناخت ذخایر ژنتیکی گیاهی در عرصه‌های کشور از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است. در این میان خانواده گندمیان به دلیل تنوع گونه‌ای، دامنه گسترش وسیع در مراتع و نقش کارکردی در حفاظت خاک و تأمین علوفه، سهمی مهم در ترکیب جوامع گیاهی و نقشی اساسی در فعالیتهای اقتصادی انسان داشته است. این خانواده از نظر جنبه‌های مختلف گیاه‌شناسی، اکولوژیکی، به‌زراعی و به‌نژادی مورد توجه می‌باشد. گندمیان یکی از بزرگترین خانواده‌های گیاهان گل‌دار هستند که گیاه‌شناسان مختلف طی سالیان دراز آنها را در ۱۰۰۰۰ گونه و در بیش از ۷۰۰ جنس طبقه‌بندی کرده‌اند [۳۵، ۱۲۸، ۱۷۰ و ۱۷۲]. جنس *Alopecurus* شامل تعدادی گونه یکساله و چند ساله است. گندمیان یکساله هر چند نسبت به چندساله‌ها از ماندگاری کمتری در طبیعت برخوردارند اما به لحاظ پوشش و پراکنش زیاد و جلوتر بودن فصل رویش سهم مهمی در تغذیه دام ایفا می‌کنند. در تحقیق حاضر بررسی بیوسیستماتیکی گونه‌های جنس *Alopecurus* L. با تکیه بر تاکسونومی عددی صفات ریختی، سیتوژنتیکی و مولکولی انجام گرفته است.

۱-۲. گیاهشناسی و تاکسونومی عددی

جنس *Alopecurus* L. در سیستم رده‌بندی از کلان تا خرد، از شاخه *Magnoliophyta*، رده *Liliopsida*، زیر رده *Commelindae*، راسته *Poales*، تیره *Poaceae*، زیر تیره *Pooideae* و طایفه *Aveneae* می‌باشد [۶۵]. نام *Alopecurus* از کلمات یونانی *alopekos* به معنی روباه و *oura* به معنی دم گرفته شده است. گیاهان این جنس تقریباً در تمام مناطق غیرحاره‌ای دو نیمکره و تا حدی در مناطق مرتفع گرمسیری، با توزیع عمده در جنوب غربی آسیا پراکنده‌اند. این جنس دارای گیاهان مهم علوفه‌ای می‌باشد و بسیاری از گونه‌های کوهستانی آن از گیاهان مهم چراگاه‌ها محسوب می‌شوند.

جنس *Alopecurus* L. (دم روباهی) دارای ۲۹ گونه‌ی یکساله و چند ساله در سراسر دنیا است [۵۱]. بور [۲۱] در فلور ایرانیکا برای این جنس دو بخش یکساله (*Annui.*) و چند ساله (*Perennes.*) در نظر گرفته شده و بخش چند ساله را به دو

زیر بخش تقسیم کرده است. در بخش یکساله چهار گونه‌ی *A. aequalis* Sobol. ، *A. nepalensis* Trin. ex Steud. ، *A. myosuroides* Huds. و *A. utriculatus* Sol. in Russell قرار گرفته‌اند که از بین آنها *A. myosuroides* با دو وارسته در ایران می‌روید. در بخش چند ساله زیربخش گلوم سیخک دار (*Aristati.*) گونه‌های *A. tiflisiensis* (Westb.) Grossh. ، *A. vaginatus* (Willd.) Pall. Ex Trin. و *A. aucheri* Boiss. ، *A. himalaicus* ، *A. textilis* Boiss. ، *A. dasyanthus* Trautv. قرار دارند که به‌جز گونه *A. tiflisiensis* بقیه از ایران گزارش شده‌اند. در زیر بخش گلوم نوک تیز (*Acuti*) گونه‌های *A. pratensis* L. ، *A. seravshanicus* Ovcz. ، *A. arundinaceus* Poir. ، *A. apiatus* Ovcz. ، *A. mucronatus* Hack. و *A. geniculatus* L. و *A. glacialis* C.Koch قرار دارند که به جز دو گونه آخر بقیه از ایران گزارش شده‌اند.

استفاده از صفات متعدد ضمن طبیعی کردن رده‌بندی، در شناخت و تشخیص گونه‌ها مفید می‌باشد. به علت وجود شکل‌های مختلف و تنوعی که هر صفت در بین افراد، جمعیت‌ها و به طور کلی آرایه‌های مختلف نشان می‌دهد، استفاده از تعداد زیاد صفات، گروه‌بندی آرایه‌ها را مشکل و پیچیده می‌سازد. از این رو با به کارگیری روش تاکسونومی عددی که مبتنی بر روش‌های آماری و نرم‌افزارهای رایانه‌ای می‌باشد می‌توان این کار را به خوبی انجام داد. در این تحقیق طبقه‌بندی بر اساس شباهت فنتیک^۱ انجام گرفت. فنتیک یکی از روش‌های تجزیه و تحلیل اطلاعات سیستماتیکی است که جهت مشخص کردن شباهت‌های کلی با استفاده از حداکثر صفات به کار می‌رود [۱۵۷]. برای طبقه‌بندی واحدها در این تحقیق از روش‌های مختلف آماری از قبیل تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)^۲، تجزیه به فاکتورها^۳ و تجزیه خوشه‌ای^۴ استفاده شده است. این اولین مطالعه فنتیکی برخی از جمعیت‌های جنس *Alopecurus* در ایران می‌باشد.

۳-۱. اهداف اصلی مطالعه

- ۱- بررسی و مطالعه صفات ریخت‌شناسی اعم از کمی و کیفی در گونه‌های جنس *Alopecurus* در ایران و مقایسه آن با منابع و کلیدهای گیاه‌شناسی مرتبط با این گونه‌ها.
- ۲- شناسایی متغیرترین صفات ریختی در میان جمعیت‌ها و گونه‌ها.
- ۳- ارائه اطلاعات سیتوژنتیکی و مولکولی پایه برای گونه‌ها و جمعیت‌ها به منظور استفاده از آنها در برنامه‌های اصلاحی نباتات و مبارزه با علف‌های هرز.
- ۴- بررسی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های جنس *Alopecurus* با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD^۵
- ۵- بررسی وجود نشانگرهای اختصاصی برای شناسایی و تفکیک گونه‌ها.
- ۶- استفاده از علم تاکسونومی عددی جهت تعیین شباهت‌ها و تفاوت‌های جمعیت‌ها نسبت به یکدیگر از نظر صفات ریختی، سیتوژنتیکی و مولکولی بررسی شده.
- ۷- مقایسه نتایج حاصل از مطالعات ریختی با نتایج به دست آمده از نشانگرهای مولکولی و مطالعات رفتار کروموزومی جهت بررسی دوری و نزدیکی گونه‌ها.

¹ Phenetic

² Principal Component Analysis

³ Factor Analysis

⁴ Cluster Analysis

⁵ Random Amplified Polymorphic DNA

بخش دوم
بررسی منابع

۲. بررسی منابع

۱-۲. مروری بر مطالعات انجام شده در خانواده Poaceae و جنس Alopecurus

۱-۱-۲. مروری بر تاکسونومی خانواده Poaceae

تلاش برای تهیه یک ساختار تاکسونومیک جامع و اصولی در خانواده Poaceae بیش از ۲۰۰ سال پیش شروع شد. از لحاظ تاریخی ابتدا تصور می‌شد که خانواده Poaceae بر اساس گل‌های کاهش یافته و ترکیب شیمیایی، متعلق به راسته Cyperales می‌باشد [۳۳]. اما شواهد دو دهه گذشته (از سال ۱۹۸۵ به بعد) نشان داد که شباهت‌های آنها با جگن‌ها در شکل ظاهری و سنبلچه‌ها نشانه تکامل همگرا^۱ است. نزدیکترین خویشاوند زنده Poaceae، خانواده تک جنسی Joinvilleaceae در ناحیه اقیانوس آرام است که رابطه شاخه خواهری آن با Poaceae توسط دانشمندان زیادی تأیید شده است [۲۹، ۱۵۴]. تک‌نیایی بودن این خانواده قویاً به وسیله صفات ظاهری (وجود زبانک، سنبلچه‌های دارای پوشه، گلچه‌های متشکل از پوشینه و پوشینک، میوه گندمه و ویژگی‌های رویان و دیواره گرده) و توالی rbcL و ndhF تأیید شده است. Poaceae به راسته Poales تعلق دارد و این راسته به وسیله صفات ریختی و DNA تصدیق می‌شود؛ سین‌آپومورفی‌های ریختی شامل وجود اجسام سیلیسی، تخمک راست، ایجاد اندوسپرم هسته‌ای، ترکیب سنبلچه، صفات مربوط به میوه و اسکلتوم است [۷۹، ۱۵۴].

براون [۲۳] اولین بار گراسها را بر اساس فشردگی و مفصل‌دار بودن سنبلچه‌ها، تعداد گلچه‌ها و همچنین پراکندگی جغرافیایی آنها به دو گروه Pooid و Panicoid تقسیم کرد. این تقسیم‌بندی به وسیله بن‌نام [۱۸] و هکل [۶۷] تأیید شد و تا قرن ۲۰ پا برجا بود. از قرن ۲۰ به بعد به تدریج صفات ریزساختاری جهت طبقه‌بندی گراسها به کار گرفته شد. در اواسط قرن ۲۰ آناتومی درونی برگ [۱۰۶] و صفات جنین‌شناسی [۱۲۴ و ۱۲۵] باعث تعیین پنج تا هفت زیرخانواده در گراسها شد. روشهای طبقه‌بندی براساس رابطه تکاملی و فیلوژنی گراسها تنها طی دوده گذشته به کار برده شده است. گروه‌کار فیلوژنی گراسها^۲ آنالیز کلادیستیکی براساس هشت گروه از داده‌ها (یکی ساختاری، چهار تا پلاستییدی، سه تا هسته‌ای) بر روی ۶۲ جنس و چهار تاکسون انجام داد [۶۵]. در این آنالیز خانواده Poaceae به ۱۲ زیر تیره تقسیم شد که عبارتند از:

1. Anomochloideae
2. Pharoideae
3. Puelioideae

¹ Convergent

² Grass Phylogeny Working Group (GPWG)