

صلى الله عليه وسلم



دانشگاه زابل

تحصیلات تکمیلی

دانشکده کشاورزی

گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته اصلاح نباتات

**جداسازی نشانگرهای ریزماهواره از گردوی ایرانی**

**استادان راهنما**

دکتر براتعلی سیاه سر

دکتر محسن مردی

**استادان مشاور**

مهندس نفیسه مهدی نژاد

مهندس سید مصطفی پیر سیدی

**تهیه و تدوین**

**فاطمه نجفی**

بهمن ۱۳۸۸

تقدیم به او که هر چه هست همه از اوست

تقدیم به پدر و مادر مهربانم

دورشته‌ی محبت زندگی

که پرستش راز ایشان آموختم

آنان که یاریم کردند تا یارموزم

و بر حرمتار سپید مویشان هزاران دین دارم

به برادر و خواهرانم

فریبا، زهرا، سمانه و امیر که همواره در فراز و نشیب های زندگی همراه و یار و یاور من بوده اند.

به همراهم

مادی و علیرضا

## خدایا

تا هر چه را که تو دیر می خواهی زود نخواهم

و هر چه را که تو زود می خواهی دیر نخواهم

ای، من در کلبه فقیرانه خود چیزی دارم که تو در عرش کبریایی خود نداری، من چون تو بی دارم و تو چون خودی نداری.

ای، تاکنون به نادانی از تو می ترسیدم و اینک به دانایی از خود می ترسم.

ای، برای سپاس از تو چه باید کرد، خودت یاریم کن که من هر چه می اندیشم نپیدا کنم چگونه سگر کنم که اجازه دادی تا نام تو را بر زبان آورم.

اولین مثل عشق در تعالیم، عارفان، مثل طلب است.

خدایا، شور طلب و اشتیاق به دانستن را در من ایجاد کن و دانش اندک مرا به دریاهای بیکران علم خودت متصل گردان.

مرا دریاب و...

## مشکر

و سپاس بی پایان پروردگار را که مراد انجام این پایان نامه یاری نمود و افتخاری نو پیش روی چشمانم گشود. ابتدا خود را ملزم می دانستم که از راهنماییهای ارزنده و بی دریغ دکتر براتعلی سیاه سرود کتر محسن مردی در سمت اساتید راهنمای این پایان نامه صمیمانه تقدیر و تشکر نمایم، بدون شک بدون راهنمایی های ارزنده علمی و عملی ایشان انجام این مهم میسر نبود. همچنین از اساتید مشاور محترم سرکار خانم مهندس نفیسه مهدی نژاد و جناب آقای مهندس سید مصطفی پیرسیدی به خاطر مساعدت ها و راهنمایی های ارزنده ایشان تشکر و سپاسگزاری می کرده. از اساتید گرامی آقای دکتر محمود سلوکی، دکتر محمود مردودی، کمال اتنمان و سپاسگزاری را دارم. از جناب آقای دکتر محمود سلوکی که داور این پایان نامه را انجام دادند صمیمانه قدردانی می کرده. از کارشناس آزمایشگاه بخاطر زحمات بی شائبه ایشان تشکر می شود. از دوستان عزیزم در آزمایشگاه ژنومیکس و تمامی دوستان و بهکلاسی های عزیزم که طی این مدت با شکلیانی تام از ابراز محبت و بهکاری دریغ ننموده اند به عنوان مختلف یار و یاورم بودند سپاسگزاری. و سایر عزیزانی که به عنوان مختلف یار و یاورم بوده اند و در این مجال از ذکر نام آنها قاصر بوده ام، صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می کرده. از دوستان عزیزم به خصوص آقای شفیع و مجابری زراقی و خانم فارسی، سمیرا سهرابی و شعبانی کمال تشکر را دارم و تمامی دوستان و بهکلاسی های عزیزم خانم مطلبی و آقایان غلامی و موسی آبادی که طی این مدت با شکلیانی تام از ابراز محبت و بهکاری دریغ ننموده اند و به عنوان مختلف یار و یاورم بودند سپاسگزاری. در پایان از اعضای خانواده ام، آنان که بهواره مشوق من بودند و در فراز و نشیب این مسیر بهواره یار و پشتیبانم بوده اند و خانه و تقصیراتم را با بردباری نادیده گرفته اند صمیمانه تشکر می نمایم.

فاطمه بخشی

بهمن ۱۳۸۸

## جداسازی نشانگرهای ریزماهوره از گردوی ایرانی با روش فیاکو

چکیده:

گردو یکی از مهمترین گیاهان چوبی در صنعت اقتصادی دنیا است. در این مطالعات، توسعه و پیشرفت سه ریزماهوره از ژنوم گردوی ایرانی بیان شده است که از روش فیاکو استفاده شده است و همچنین در کنار این روش از نرم افزار SSR فایندر هم استفاده شده است. در این تحقیقات سیزده ریزماهوره از گردو با روش فیاکو جداسازی شد گردید که از دوازده پروب جهت جداسازی استفاده بیشترین تکرار ریزماهوره‌ها مربوط به نوکلئوتید AG و TC بودند. سپس با استفاده از نرم افزار فایندر ریزماهوره‌ها شناسایی شدند. برای هر ریزماهوره یک جفت آغازگر طراحی شد که طراحی طبق قوانین خود و با استفاده از نرم افزار الیگو انجام شد. چندشکلی در هر جایگاه ژنی یا لوکوس بر روی ۳۶ نمونه بررسی شد که سه تا از آغازگرها دارای چندشکلی بودند و دوتای دیگر از آغازگرها تک‌شکلی بودند و بقیه تکثیر نداشتند. سایز مولکولی آنها از ۱۴۵ تا ۲۲۰ جفت باز ارزیابی شد از آنجایی که هم اکنون کلید شناسایی برای گردو پیدا نشده است در این تحقیق پیشنهاد میشود که تکرار توالی ریزماهوره مارکر خوبی برای ارزیابی مولکولی و مطالعات ژنتیکی و تهیه کلید شناسایی می‌باشد.

واژگان کلیدی: گردوی ایرانی، چندشکلی، انگشت نگاری، نشانگر ریزماهوره، فیاکو

## فصل اول: مقدمه

مقدمه.....	۱
اهداف اجرای تحقیق.....	۳

## فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- پیشینه تاریخی گردو:.....	۴
۲-۲- گیاه شناسی.....	۶
۲-۳- خاستگاه و پراکنش جغرافیایی:.....	۷
۲-۴- اهمیت اقتصادی گردو در دنیا و ایران.....	۷
۲-۴-۱- ارزش غذایی گردو.....	۸
۲-۵- مروری بر تحقیقات مورفولوژی انجام شده در گردو.....	۹
۲-۶- چگونگی استفاده از نشانگرها.....	۱۳
۲-۶-۱- تعریف نشانگر.....	۱۳
۲-۶-۲- ویژگیهای یک نشانگر مناسب.....	۱۳
۲-۷- انواع نشانگرها.....	۱۳
۲-۷-۱- نشانگرهای ژنتیکی.....	۱۳
۲-۷-۱-۱- انواع نشانگرهای ژنتیکی.....	۱۴
۲-۷-۱-۱-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی.....	۱۴
۲-۷-۱-۱-۲- نشانگرهای مولکولی.....	۱۵
۲-۷-۲- نشانگرهای مبتنی بر PCR.....	۱۵
۲-۷-۲-۱- چرخه های حرارتی PCR.....	۱۶
۲-۷-۲-۱-۱- چرخه های حرارتی Touchdown PCR.....	۱۶
۲-۷-۲-۲- نشانگرهای ریز ماهواره.....	۱۶
۲-۷-۲-۲-۱- مزایای ریز ماهواره ها.....	۱۸
۲-۷-۲-۲-۲- فراوانی و توزیع ریز ماهواره ها در ژنوم.....	۱۸
۲-۷-۲-۲-۳- جایگاه ژنومی ریز ماهواره ها.....	۱۹
۲-۷-۲-۲-۴- پیدایش ریز ماهواره ها.....	۱۹
۲-۷-۲-۴-۱- الحاق و جایگزینی ۱۶ نوکلئوتیدها.....	۱۹
۲-۷-۲-۴-۲- عناصر متحرک و بوجود آمدن ریز ماهواره ها.....	۲۰
۲-۷-۲-۵- چند شکلی ریز ماهواره ها.....	۲۱
۲-۷-۲-۶- منشا ریز ماهواره ها.....	۲۱
۲-۷-۲-۷- جداسازی ریز ماهواره ها.....	۲۲
۲-۷-۲-۸- کاربردهای ریز ماهواره ها.....	۲۲
۲-۸- استفاده از نشانگرهای مولکولی در ارزیابی تنوع ژنتیکی گردو.....	۲۳

## فصل سوم: مواد و روشها

۳-۱- جداسازی نشانگر ریز ماهواره.....	۲۷
۳-۲- انتخاب نمونه گیاهی برای جداسازی نشانگر ریز ماهواره.....	۲۷
۳-۲-۱- استخراج دی.ان.ای.....	۲۷

۲۷	۳-۲-۲- تعیین کیفیت و کمیت دی.ان.ای استخراج شده
۲۸	۳-۲-۳- هضم آنزیمی
۲۸	۳-۲-۴- اتصال سازگارها
۲۹	۳-۲-۴-۱- انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای تکثیر قطعات حاصل از هضم
۳۲	۳-۲-۴-۲- الکتروفورز ژل اکرلامید
۳۳	۳-۳- نشاندار کردن دی.ان.ای
۳۳	۳-۳-۱- مراحل دورگ سازی و جداسازی
۳۷	۳-۳-۲- واکنش زنجیره ای پلیمرز برای دو رشته ای یا تک رشته ای شدن دی.ان.ای
۳۸	۳-۴- همسانه سازی
۳۸	۳-۴-۱- روش تهیه سلول های مستعد
۳۹	۳-۴-۲- انتقال پلاسمید تراریخته به درون باکتری
۴۰	۳-۴-۳- کشت در محیط مایع
۴۲	۳-۴-۴- استخراج پلاسمید به روش معمولی
۴۳	۳-۴-۵- هضم آنزیمی
۴۴	۳-۴-۶- توالی یابی
۴۴	۳-۴-۷- طراحی آغازگر
۴۵	۳-۴-۸- بهینه سازی برنامه PCR
۴۵	۳-۴-۸-۱- چرخه ی حرارتی Touchdown PCR
۴۶	۳-۴-۸-۲- PCR با روش گرادیانت
۴۶	۳-۵- تجزیه و تحلیل قطعات حاصل از تکثیر بر روی ژل اکریل آمید
۴۷	۳-۵-۱- ژل اکرلامید واسرشته‌ساز
۴۷	۳-۵-۲- تهیه ژل پلی اکرلامید
۴۸	۳-۵-۳- آماده‌سازی شیشه‌های دستگاه الکتروفورز عمودی
۴۹	۳-۵-۴- تزریق ژل
۴۹	۳-۵-۵- الکتروفورز
۵۰	۳-۵-۶- بار گذاری نمونه ها
۵۱	۳-۵-۷- رنگ آمیزی
۵۱	۳-۵-۷-۱- تثبیت
۵۱	۳-۵-۷-۲- مرحله پیش رنگ آمیزی
۵۱	۳-۵-۷-۳- اشباع کردن سطح ژل با نیترا نقره
۵۲	۳-۵-۷-۴- آبشویی بسیار حساس
۵۲	۳-۵-۷-۵- مرحله ظهور
۵۲	۳-۵-۷-۶- مرحله توقف
۵۲	۳-۵-۷-۷- آبشویی نهایی و خشک کردن ژل
۵۴	۳-۶- تجزیه و تحلیل داده‌ها
۵۴	۳-۶- تجزیه و تحلیل داده‌ها
۵۴	۳-۶-۱- امتیازبندی باندها
۵۵	۳-۶-۲- تجزیه خوشه‌ای



۵۵	۳-۶-۳- تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCOA) .....	۵۵
<b>فصل چهارم: نتایج و بحث</b>		
۵۶	۴-۱- استخراج دی.ان.ای .....	۵۶
۵۶	۴-۱-۱- واکنش هضم آنزیمی .....	۵۶
۵۷	۴-۱-۲- اتصال سازگارها و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز .....	۵۷
۵۵	۴-۲- اتصال کاوشگر .....	۵۵
۵۸	۴-۳- همسانه سازی .....	۵۸
۵۸	۴-۳-۱- استخراج پلاسمید .....	۵۸
۵۹	۴-۳-۲- هضم آنزیمی .....	۵۹
۶۰	۴-۳-۳- استخراج با کیت .....	۶۰
۶۰	۴-۳-۴- انتخاب نمونه‌ها برای توالی‌یابی .....	۶۰
۶۱	۴-۴- توالی‌یابی .....	۶۱
۶۲	۴-۴-۱- طراحی آغازگرها .....	۶۲
۶۳	۴-۵- بهینه‌سازی برنامه PCR برای هر آغازگر .....	۶۳
۶۳	۴-۶- نتیجه و بحث کارایی روش فیاسکو در گردو .....	۶۳
۶۴	۴-۷- نتایج بررسی انگشت‌نگاری .....	۶۴
۶۴	۴-۷-۱- استخراج دی.ان.ای .....	۶۴
۶۵	۴-۸- چندشکلی در ریزماهورها .....	۶۵
۶۵	۴-۹- نتایج حاصل از تکثیر آغازگرها .....	۶۵
۶۸	۴-۱۰- معیارهای سودمندی نشانگر .....	۶۸
۶۸	۴-۱۰-۱- تعداد آلل‌های هر نشانگر .....	۶۸
۶۸	۴-۱۰-۲- اندازه آلل مشاهده شده .....	۶۸
۶۹	۴-۱۰-۳- محتوای اطلاعاتی چند شکلی (PIC) .....	۶۹
۶۹	۴-۱۰-۴- فراوانی آلل غالب .....	۶۹
۷۰	۴-۱۰-۵- هتروزایگوسیتی .....	۷۰
۷۰	۴-۱۰-۶- تعداد آلل موثر .....	۷۰
۷۰	۴-۱۰-۷- تنوع درون جمعیتی و شاخص شاتون .....	۷۰
۷۰	۴-۱۱- تجزیه خوشه‌ای .....	۷۰
۷۲	۴-۱۲- تجزیه PCoA .....	۷۲
۷۳	۴-۱۳- تغییرات ایجاد شده در روش فیاسکو .....	۷۳
۷۶	۴-۱۴- نتایج اسکوردهی داده‌ها .....	۷۶
۷۷	۴-۱۵- نتیجه گیری کلی .....	۷۷
۷۷	۴-۱۶- پیشنهادات .....	۷۷



# فصل اول

مقدمه



## مقدمه

گردو متعلق به خانواده *Juglandaceae* است. این خانواده از شش جنس و ۲۰ گونه تشکیل شده است.

مهمترین جنس این خانواده *J.regia* است. یک مشخصه بارز این گونه گردو این است که، پوسته سبزی<sup>۱</sup>

آن براحتی از پوسته سخت آن جدا می شود (جرمین<sup>۳</sup>، ۱۹۸۱).

گونه های گردو همگی یک پایه و دارای گل های تک جنسی هستند. تعداد کروموزوم های پایه در همه

گونه های گردو  $X=16$  و اکثر گونه های آن دیپلوئید  $2n=32$  می باشند. این گیاه یک پایه بوده که گل نر و

ماده آن بصورت جدا از هم بر روی شاخه ها ظاهر می شوند، گل های ماده گردو بصورت تکی یا گل آذین

غیر تراکمی با دو تا پنج گل، در انتهای شاخه های فصل جاری تشکیل می شوند و گرده افشانی در این

خانواده بوسیله باد صورت می گیرد (وحدتی و کاشی، ۱۳۷۷).

با توجه به کاربردهای فراوان این گیاه مهم اقتصادی در صنایع مختلف داروسازی، غذایی و صنایع چوب

لزوم توجه بیشتر به مسائل اصلاحی آن، در جهت حفاظت و بهره برداری مناسب از منابع ژنتیکی و توسعه

و ارتقا کمی و کیفی ضروری است.

از آنجا که گردو زراعی گیاهی دیپلوئید بوده و تولید مثل آن به روش غیرجنسی است، وجود تنوع ژنتیکی

در کلونهای بومی و تجاری این گیاه همواره از مهمترین سئوالات محققان بوده است. بدین منظور یکسری

مطالعات توسط محققان مختلف و با نشانگرهای مولکولی متفاوت صورت پذیرفت.

- 
1. Hull
  2. Shell
  3. Germain



از طرفی برای اجرای موفق یک پروژه اصلاحی آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی موجود در داخل و بین جمعیت‌ها ضروری است. مسئله مهم در بررسی تنوع ژنتیکی این است که ژنوتیپ‌های مورد بررسی از لحاظ ژنتیکی چقدر با یکدیگر متفاوت می‌باشند و همچنین چه مقدار تنوع در داخل گونه‌ها وجود دارد (بوتلین و تریگتزا، 199). میزان و چگونگی توزیع تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی، منعکس کننده بر همکنش فرایندهای تکاملی مختلف مانند جریان ژنی، موتاسیون، رانده شدن ژنتیکی و انتخاب طبیعی می‌باشند. آگاهی از تنوع ژنتیکی یک گونه می‌تواند به اصلاحگر برای چگونگی جمع‌آوری و استفاده از منابع ژنتیکی مختلف و پیش‌بینی فواید ژنتیکی بالقوه، در برنامه‌های اصلاحی کمک کند. بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان از طریق بررسی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی همواره متداول بوده است. لیکن ارزیابی فنوتیپی به دلیل اثر محیط روی بیان ژن، ممکن است روش قابل اعتمادی برای تعیین تفاوت‌های ژنتیکی نباشد. برای مطالعه گیاهان می‌توان از نشانگرهای پروتئینی نیز استفاده کرد، اما این نشانگرها محدود هستند و تحت تاثیر تغییرات پس از ترجمه می‌باشند. در سالهای اخیر پیشرفت‌ها در زمینه زیست‌شناسی مولکولی قابل توجه بوده که شاید بتوان مهمترین این پیشرفت‌ها را در مورد نشانگرهای دی.ان.ای نام برد، که در واقع همان تفاوت‌های قابل بررسی ردیف‌های بازی دی.ان.ای موجود بین دو یا چند نمونه می‌باشد. نشانگرهای مولکولی را می‌توان برای بررسی ژنوم هر موجودی مورد استفاده قرار داد، به طوری که از نشانگرهای مولکولی در سالهای اخیر برای مطالعات پایه‌ای در انسان و حیوان استفاده شده است. تاکنون تعداد زیادی نشانگر دی.ان.ای معرفی شده است و در تجزیه‌های ژنتیکی موجودات مورد استفاده قرار گرفته‌اند، این نشانگرها از نظر بسیاری ویژگیها مثل میزان چندشکلی، غالب یا همباز بودن، تعداد جایگاه‌های تفکیک شده، توزیع در سطح کروموزوم، تکرارپذیری، نیاز یا عدم نیاز به توالی یابی دی.ان.ای الگو و هزینه مورد نیاز با هم متفاوت می‌باشند. بدون تردید معرفی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ۲ نقش بسیار زیادی در تکامل و پیشرفت نشانگرهای دی.ان.ای داشته است (نقوی و همکاران، ۱۳۸۴)؛



برین، 1980) بررسی دی.ان.ای، ارزیابی مستقیم تنوع ژنتیکی را در موجودات مختلف امکان پذیر میسازد. مجموعه کاملی از روشهای بررسی دی.ان.ای در ارزیابی تنوع ژنتیکی گیاهان استفاده شده است که این روشها شامل دو دسته میباشند: روشهایی که در آنها از نشانگرهای مولکولی استفاده می شود و دیگری روش که بر پایه مقایسه توالی ژن در لوکوس خاص می باشد. نوع روش مولکولی که برای اندازه گیری فواصل ژنتیکی در گیاهان مورد استفاده قرار می گیرد، بسته به میزان تفاوت های ژنتیکی در حال ارزیابی متفاوت است. روشهایی نظیر بررسی رپید ۳ ممکن است برای تعیین تفاوت های ژنوتیپی داخل یک رقم گیاهی مفید باشد، در حالی که بررسی توالی های ریبوزومی برای بررسی گونه ها با سطح بالاتر نیز قابل استفاده است (باقری و همکاران، 1381). نشانگر ریزماهواره با توجه به هم بارز بودن و اختصاصی بودن و نیز تنوع آلی بالا نشانگر مناسبی برای بررسی تنوع ژنتیکی در گیاه گردو می باشد.

از سریعترین، موثرترین و کم هزینه ترین روشهای جداسازی نشانگرهای ریزماهواره روش فیاسکو (زان<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۱) می باشد که در این تحقیق جهت جداسازی نشانگرهای ریزماهواره گردو استفاده شد.

## اهداف اجرای تحقیق

- ۱- با توجه به اینکه کلیه ژنوتیپ های گردوی زراعی به دلیل تکثیر و تولید مثل غیرجنسی آنها به وسیله تعدادی از نشانگرها جداسازی شده، در این تحقیق تنوع ژنتیکی گونه های مختلف گردوی زراعی ایران با نشانگرهای ریزماهواره مورد ارزیابی قرار گرفت.
- ۲- به دلیل عدم وجود و شناسایی هیچ گونه رقم خاص در اکوتیپ های مختلف گردوی زراعی ایران، توسط تعدادی از نشانگرهای جداسازی شده امکان دسته بندی و کلاستر بندی گردوهای مورد مطالعه در رقم یا واریته خاص بررسی گردید.

## فصل دوم



بررسی منابع

## ۱-۲- پیشینه تاریخی گردو

کشت گردو به ۳۷۰ سال قبل از میلاد مسیح بر می‌گردد. عده ای تاریخ کشت گردو را مربوط به زمان یزدگرد می‌دانند و منشا اصلی گردو را از آسیای صغیر می‌دانند و منشا طبیعی آن مناطق کوهستانی آسیای مرکزی است. گردو در زمانهای کهن برای اولین بار توسط یونانیها از ایران با نام Persicon به معنای گردوی ایرانی (Persicon nut) یا Basilcon که مفهوم گردوی شاهی Royal nut دارد به اروپا معرفی شد و در رم به اسم Juglans نامگذاری شد. چون اولین بار بوسیله مهاجرین انگلیسی به آمریکا آورده شد، در آمریکا بنام English Walnut خوانده شد (مهدوی، ن، ۱۳۸۲). بسیاری دانشمندان نیز فلات ایران را منشاء اصلی گردوی ایرانی دانسته‌اند و به همین جهت آنرا به زبان انگلیسی Persian Walnut یا گردوی ایرانی نامیده‌اند. تعداد زیادی درختان مسن گردو در ایران وجود دارند که عمر مسن‌ترین آنها در روستایی واقع در شهرکرد است که عمر آن حدود ۱۴۰۰ سال تخمین زده شده است. درختان مسن گردو در مناطق دیگر از جمله خوانسار، اصفهان، قزوین، طالقان و تویسرکان نیز یافت می‌شوند که سن آنها از ۳۰۰ تا ۷۰۰ سال متفاوت است (وحدتی، ک، ۱۳۷۵). گردو از درختانی است که بواسطه چوب ودانه خود مورد توجه قدیمیان بوده است و سالیان و قرون متمادی است که بدست بشر و حتی پرندگان تکثیر شده و در نقاط مختلف انتشار یافته است و وحشی یا خودرو بودن آن در ایران مشکوک به نظر می‌رسد. آبادیها در اثر وقایع مختلف خراب شده ولی درختان کهن سال گردو که در اطراف آن قراء و قصاب وجود داشته هنوز بر جای مانده است و از این جهت اظهارنظر درباره بومی بودن آن در ایران چندان ساده نیست (ثابتی، ۱۳۴۴).

اگر چه بسیاری از دانشمندان فلات ایران را منشا اصلی گونه دانسته و به همین جهت آن را در زبان انگلیسی پرشین والنات یا گردوی ایرانی نامیدند ولی بررسیهای ملکولی وایزوآنزیمی نشان داده است که مرکز تنوع گردوی معمولی دامنه‌های شمالی رشته کوه تین‌شان واقع در استان جیانگ در شمال‌غربی چین می‌باشد. از آنجا که گردوی ایرانی از فلات ایران به اروپا و از آنجا در سال ۱۷۶۹ توسط انگلیسی‌ها به آمریکا برده شده است و برخی منابع به غلط این گونه را گردوی انگلیسی می‌نامند.

همچنین برخی از ارقام گونه که از کوه‌های کارپاتین منشا گرفته‌اند گردوی کارپاتی نامیده می‌شوند. این ارقام به عنوان یک نژاد مقاوم به سرمای گردو شناخته می‌شوند و برخی از محققین معتقدند که این واریته‌ها می‌توانند در سرمای زیاد نیز زنده بمانند.

در ایران کهنسال‌ترین درخت گردو احتمالاً در " اورگان " شهرکرد وجود دارد. طبق گزارشات داده شده تاریخ کاشت گردوهای ذکر شده مربوط به زمان یزدگرد و در حدود ۱۲۰۰ سال پیش می‌باشد. گذشته از این، درختان کهنسال گردو را در خوانسار، اصفهان، قزوین و در طالقان نیز می‌توان یافت که سن آنها از ۳۰۰ تا ۷۰۰ سال متفاوت می‌باشد.

طبق بررسی‌های دیرین‌شناسی گیاهی گونه‌های مختلف گردو از زمانهای بسیار قدیم به ویژه از دوران سوم زمین‌شناسی در روی کره زمین وجود داشته است. رویهمرفته رویشگاه و گسترشگاه درختان گردو از نظر عرض و طول جغرافیایی و از نظر ارتفاع از سطح دریا بسیار وسیع است ولی تراکم مراکز کاشت آن بیشتر در آسیای مرکزی از جمله ایران و کشورهای اروپای شرقی و در آمریکاست. به هر حال نسل‌ها و بقایای گردوهای سابق روی زمین که در برخی نقاط کره زمین بدست آمده، نشان داده است که در سابق گونه‌های گردوی موجود در روی کره زمین بیشتر از امروز بوده است و تعداد زیادی از آن به مرور زمان از بین رفته‌اند (پدیدی ۱۳۲۷)



## ۲-۲- گیاهشناسی

نام گردو به هرگونه درخت از رده *Juglans* که به خانواده گردوها یا *Juglandaceae* تعلق دارد اطلاق می‌شود. گونه‌های گردو همگی یک‌پایه و دارای گل‌های تک‌جنسی هستند. تعداد کروموزوم‌های پایه در همه گونه‌های گردو  $X=16$  و اکثر گونه‌های آن دیپلوئید  $2n=32$  می‌باشند. این گیاه یک‌پایه بوده که گل نر و ماده آن بصورت جدا از هم بر روی شاخه‌ها ظاهر می‌شوند، گل‌های ماده گردو بصورت تکی یا گل‌آذین غیرتراکمی با دو تا پنج گل، در انتهای شاخه‌های فصل جاری تشکیل می‌شوند و گرده‌افشانی در این خانواده بوسیله باد صورت می‌گیرد (وحدتی و کاشی، ۱۳۷۷).

آنها درختانی برگریز هستند به ارتفاع ۴۵-۱۰ متر، با برگهای شانه‌ای به طول ۹۰-۲۰ سانتیمتر، تعداد ۲۵-۵ برگچه و جوانه‌ها دارای درونه حفره‌دار هستند که این ویژگی در همه (*Pterocarya*) Wingnut مشترک است بجز گردوهای آمریکایی (*Carya*) در همین خانواده.

شاید معروف‌ترین اعضای این رده گردوی سیاه (*Juglans nigra*) متعلق به شرق آمریکای شمالی و گردوی ایرانی یا معمولی (*Juglans regia*) که بومی بالکان در جنوب‌شرقی اروپا، مرکز و جنوب‌غربی آسیا تا هیمالایا و جنوب‌غربی چین است، باشد. گردوی معمولی را در آمریکا اغلب ولی به صورت نادرست گردوی انگلیسی می‌نامند. (این گونه بومی انگلیسی نیست). این دو گونه از نظر چوب قابل توجهی که دارند دارای اهمیت می‌باشند. گریبانه‌های گردو به علت دارا بودن مقدار زیادی رنگ زرد - قهوه ای، منبع مهمی برای رنگ به شمار می‌رود. دانه تمامی گونه‌هایی که در بالا به آنها اشاره شد و سایر گونه‌ها، خوراکی هستند اما گردو‌هایی که در فروشگاهها موجود می‌باشند از نوع گردوی ایرانی هستند. نوع باغی که به جهت پوسته‌های نازک مغز پایداری در مناطق معتدله انتخاب گشت را گاهاً گردوی کارپات می‌نامند. گردو سرشار از روغن است و بصورت گسترده هم به شکل تازه و هم در غذا خورده می‌شود. آنها را باید در مکانهای خشک و خنک نگهداری کرد چون در شرایط گرم در مدت چند

هفته - مخصوصاً بعد از کندن پوسته آن، فاسد می‌شوند. این درخت در مناطق معتدل دنیا رشد و پرورش می‌یابد. گل‌های نر و ماده روی یک‌پایه قرار دارند سنبله گل‌های نر بصورت آویخته است ولی گل‌های ماده آن بوضع قائم روی شاخه قرار دارد. میوه گردو، در درون مغز قرار دارد و در فاصله‌های پرده‌های نازکی قرار گرفته است قشری که روی مغز گردو است سبز رنگ و کمی گوشتی می‌باشد درخت گردو هنگامیکه به سن بیست سالگی می‌رسد شروع به میوه دادن می‌کند و بالاترین باروری خود را در سنین پنجاه سالگی دارد. از تمام قسمت‌های درخت گردو استفاده طبی به عمل می‌آید.

### ۳-۲- خاستگاه و پراکنش جغرافیایی

پراکنش درخت گردو از آسیای غربی تا نواحی هیمالیا ادامه دارد و در ایران نیز در جنگل‌های شمال، از آستارا تا گلی داغ، از جلگه و ساحل تا ارتفاع ۱۵۰۰ متری از سطح دریا انتشار دارد و بطور پراکنده یا کم و بیش انبوه در جنگل‌ها دیده می‌شود (ثابتی، ۱۳۴۴). اگرچه بسیاری از دانشمندان فلات ایران را منشاء اصلی گردو دانسته‌اند و به همین جهت آنرا به زبان انگلیسی Persian Walnut یا گردوی ایرانی نامیده‌اند، ولی بررسی‌های مولکولی و ایزوآنزیمی نشان داده است که مرکز گردوی معمولی دامنه‌های شمال رشته کوه تین‌شان<sup>۱</sup> واقع در استان زین‌جیانگ<sup>۲</sup> در شمال غربی چین است (وحدتی، ۱۳۸۲).

### ۴-۲- اهمیت اقتصادی گردو در دنیا و ایران

گردو یکی از درختان بسیار مهم و ارزنده پهن‌برگان است که در بسیاری از نقاط جهان، در نیمکره شمالی از اروپای جنوبی، مرکزی و شرقی تا قفقاز و شمال و مرکز ایران تا دامنه‌های هیمالیا و کشور چین و ژاپن و همچنین گونه‌هایی از آن در قاره آمریکای شمالی و آمریکای جنوبی به طور طبیعی می‌روید

---

1.Tishan  
2.Xinjiang

وکاشته می‌شود که اکثر حائز اهمیت هستند. گردو در واقع درختی است چند منظوره که آن را در باغبانی از نظر تولید میوه کاشته و پرورش می‌دهند. بزرگترین باغ گردوی جهان با مساحت حدود ۷۵۰ هکتار در شه‌میرزاد در استان سمنان واقع است. تویسرکان از عمده‌ترین مناطق تولیدکننده گردو در ایران است. محصولات این شهرستان غالباً به خارج از کشور صادر می‌شود و از کیفیت بالایی برخوردار است. باغ‌های بزرگ گردو در کردستان منطقه اورامان و تیلکو در سقز فراوان هستند. دارای درختانی کهنسال و قدیمی سازگار به آب و هوای سردسیر است.

### ۱-۴-۲- ارزش غذایی گردو

گردو از دوران ما قبل تاریخ وجود داشته است. در قرون وسطی اعتقاد بر این بود که گردو سردرد را معالجه می‌کند حتی شواهد دال بر وجود یک باغ گردوی بسیار زیبا در باغهای معلق بابل وجود دارد. گردو هم به صورت خشکبار و هم به صورت تازه خورده می‌شود و از آن در تهیه برخی از غذاها استفاده می‌شود. گردو منبع خوبی از فسفر، پتاسیم، منیزیم، پروتئین و ویتامین E است. گردو از نظر طب قدیم ایران گرم و خشک است روغن گردو که از قدیم برای پختن غذاها از آن استفاده می‌شده است روغنی است به رنگ زرد روشن که دارای طعم مطبوع و ملایم است و به آسانی تند (اکسیده) می‌شود. گردو را به نام "غذای مغز" نیز می‌شناسند و این فقط به خاطر شباهت آن به مغز نیست، بلکه به خاطر وجود امگا ۳ فراوان آن می‌باشد. برای درست عمل کردن مغز، به امگا ۳ نیاز داریم.

مصرف ۴ عدد مغز گردو در روز موجب افزایش اسید چرب ضروری امگا ۳ می‌گردد. ۱۵ درصد از چربی‌های گردو از نوع چربی‌های غیر اشباع و مفید برای سلامت قلب می‌باشد. این نوع چربی، پایین آورنده کلسترول بد (LDL) و افزایش دهنده کلسترول خوب (HDL) است. یک چهارم فنجان مغز گردو، در حدود ۹۰/۸ درصد نیاز روزانه بدن به این چربی ضروری را تامین می‌کند.

موسسه غذا و دارو پیشنهاد کرده است که برای سلامت قلب روزانه ۳۰ گرم گردو بخورید. کالری گردو زیاد است. حدود ۶۵۴ کالری در هر ۱۰۰ گرم گردو وجود دارد. لذا بهتر است روزی که می‌خواهید گردو مصرف کنید، کالری آن را محاسبه کرده و از کالری روزانه خود کم کنید. به این ترتیب ترس از چاق شدن را نخواهید داشت؛ برای مثال، اگر کالری مورد نیاز شما در روز ۲۰۰۰ کالری است و شما ۱۰۰ کالری گردو مصرف می‌کنید، لذا می‌توانید ۱۹۰۰ کالری باقی مانده را از مواد غذایی مختلف دریافت کنید. گردو در حدود ۶/۷ گرم فیبر دارد (مریم سجادیپور - کارشناس تغذیه).

## ۵-۲- مروری بر تحقیقات مورفولوژی انجام شده در گردو

کار شناسائی و جمع‌آوری گردو در کشورهای اروپایی و آمریکایی با جدیت بیشتر و از یک صد سال پیش شروع شده است. مک گراناها از ایستگاه تحقیقات دانشگاه دیویس آمریکا گزارش کرد که جنس *Juglans* شامل ۲۱ گونه می‌باشد که این گونه‌ها بومی آمریکای جنوبی، شمالی و مرکزی، اروپا و آسیا هستند. در بین گونه‌های جنس *Juglans* گردوی *J. regia* (به خاطر میوه خوراکی) و گردوی سیاه *J. nigra* (به خاطر چوب و تا حدودی مغز) اهمیت تجاری دارند، سایر گونه‌های گردو ممکن است به طور غیر مستقیم (به عنوان پایه برای *J. regia*) اهمیت اقتصادی داشته و به منظور احداث باغ‌های کلونی گردو از آنها استفاده می‌شود (مک گراناها و همکاران، ۱۹۹۸).

تحقیقات وسیعی در زمینه انتخاب ژنوتیپ‌های مرغوب گردو از بین توده‌های بذری، در اروپا و آمریکا انجام شده و ارقام معروفی نیز در اثر انتخاب و ارزیابی ژنوتیپ‌ها معرفی شده‌اند. برای مثال ولیام میک (۱۸۹۰) از بین توده‌های بذری گردو در کالیفرنیا، رقم یورکا<sup>۱</sup> را انتخاب و معرفی نمود (مک گراناها و همکاران، ۱۹۹۸). ژرژ پاین<sup>۲</sup> (۱۸۹۸) در ایالات کالیفرنیا مرکزی و شمالی ژنوتیپ‌های

1. Euroka  
2. George Payne