

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

١٤١٣٦٥-٢٠١١٢٩٨



مجتمع آموزش عالی علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دانشکده علوم زراعی

موضوع:

بررسی تنوع ژنتیکی گل گاو زبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch.&Mey.) با

نشانگر مولکولی RAPD و تنوع اسید چرب گامالینولیک (GLA) با روش TLC

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته اصلاح نباتات

اساتید راهنما:

دکتر قربانعلی نعمت زاده استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دکتر محمد آزادبخت استاد دانشگاه علوم پزشکی مازندران

استاد مشاور:

دکتر سیدکمال کاظمی تبار استاد یاردانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

نگارش:

نورالدین حسین پورآزاد

دی ماه ۱۳۸۸

۱

۱۳۸۸/۶/۸

تاریخ ثبت در دفتر اسناد رسمی
ساری

۱۴۱۳۶۵



مجتمع آموزش عالی علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دانشکده علوم زراعی

موضوع:

بررسی تنوع ژنتیکی گل گاو زبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch.&Mey.) با

نشانگر مولکولی RAPD و تنوع اسید چرب گامالینولیک (GLA) با روش TLC

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته اصلاح نباتات

اساتید راهنما:

دکتر قربانعلی نعمت زاده استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دکتر محمد آزادبخت استاد دانشگاه علوم پزشکی مازندران

استاد مشاور:

دکتر سیدکمال کاظمی تبار استاد یاردانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

نگارش:

نورالدین حسین پورآزاد

دی ماه ۱۳۸۸

پروردگارا تو را سپاس می گویم که همیشه بزرگی و بزرگ اندیشیدن را به ما می آموزی.
بوسه می زخم بر دستان پدر و مادر عزیزم که همیشه یار و یاورم بودند. از خواهران و برادرانم که همواره مشوق و پشتیبان اینجانب بودند سپاس گذارم.

از معلمان دوره ابتدایی خود، هم چون جناب آقای پیرقلی قلی وند در دبستان شهید جدی، معلمان دوره راهنمایی در مدرسه شهید باهنر، معلمان عزیزم در دبیرستان شهید بهشتی و پیش دانشگاهی حکمت پارس آباد مغان، تمامی اساتید دوره کارشناسی ام بخصوص آقایان دکتر علی اصغری، دکتر رسول اصغری ذکریا در گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه محقق اردبیلی که نقش تعیین کننده در طی مراحل تحصیلی ام داشته اند تشکر و قدردانی می نمایم. از اساتید دوره کارشناسی ارشد خود آقایان پروفسور نعمت زاده، پروفسور بابائیان، دکتر کاظمی تبار و دکتر رنجبر به خاطر راهنمایی های ارزنده ای که در اجرای پایان نامه برایم نمودند صمیمانه تشکر نموده و از خداوند برای خود و خانواده محترم شان آرزوی سلامتی و سربلندی دارم.
بر خود لازم می دانم از اهالی و زارعین محترم مناطق یاد شده در پایان نامه که در جمع آوری نمونه های گیاهی مرا یاری نمودند قدردانی نمایم.

از پروفسور تامر آژکان در دانشگاه استانبول ترکیه به خاطر راهنمایی های ارزنده شان در زمینه سیستماتیک مولکولی و بیوشیمیایی صمیمانه تشکر می نمایم.

در این پروژه دو ابداع تحت عناوین ((معرفی روش سریع و ساده استخراج دی ان ای ژنومی در گیاهان دارویی)) و ((معرفی روشی جهت کمیت سنجی در روش کروماتوگرافی لایه نازک)) معرفی گردید. که در حال حاضر در آزمایشگاه های ژنومیکس و داروسازی کشور بکار گرفته می شوند. این ابداعات نتیجه زحمات اساتید راهنما و مشاورم می باشند.

این پروژه با حمایت مادی و معنوی پژوهشکده برنج و مرکبات (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی) در بخش ژنومیکس انجام پذیرفت. از ریاست محترم پژوهشکده برنج و مرکبات پروفسور نعمت زاده نهایت تشکر و قدردانی را دارم. قسمت دوم پروژه در آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران و اداره معاونت غذا و درمان شهرستان ساری اجرا گردید. از پروفسور آزاد بخت به خاطر امکاناتی که جهت انجام پروژه در اختیارم گذاشتند صمیمانه تشکر می نمایم.

این پایان نامه را متعلق به کسانی می دانم که در اجرای آن مرا یاری نمودند.

خدایا چنان کن سرانجام کار، تو خشنود باشی و ما رستگار

تقدیم به:

مادر مهربانم

پدر بزرگوالم

خواهران و برادرانم

اساتیدم

پروفسور نعمت زاده

و

پروفسور آزاد بخت

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه.....	۱
۱-۱- مقدمه.....	۲
۱-۱-۱- اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی.....	۲
۱-۱-۲- کاربردهای دارویی گلبرگ‌های گل گاو زبان ایرانی.....	۴
۱-۱-۳- اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره گل گاو زبان.....	۴
۱-۱-۴- اثرات درمانی گامالینولنیک.....	۵
۱-۲- اهداف پژوهش.....	۶
فصل دوم: کلیات.....	۷
۲-۱- کلیات.....	۸
۲-۱-۱- خصوصیات گیاه شناسی گاو زبان.....	۸
۲-۱-۱-۱- رده بندی گیاه.....	۸
۲-۱-۱-۲- خانواده گاو زبان.....	۹
۲-۱-۱-۳- جنس و گونه <i>Echium amoenum</i>	۹
۲-۲- نشانگرها.....	۱۱
۲-۲-۱- تعریف نشانگر.....	۱۱
۲-۲-۲- طبقه بندی نشانگرها.....	۱۱

عنوان	صفحه
۱-۲-۲-۲- نشانگرهای بیوشیمیایی.....	۱۱
۱-۲-۲-۲-۱- آیزو زایم ها.....	۱۱
۲-۲-۲-۱-۲- آلو زایم ها.....	۱۲
۲-۲-۲-۲- نشانگرهای سیتوژنتیکی.....	۱۲
۲-۲-۲-۳- نشانگرهای مولکولی DNA.....	۱۲
۲-۲-۲-۴- گروه بندی بر اساس تنوع سیتوپلاسمی.....	۱۳
۲-۳- اسیدهای چرب.....	۱۴
۲-۳-۱- ساختمان اسیدهای چرب.....	۱۳
۲-۳-۲- اسید چرب گامالینولنیک (GLA).....	۱۴
۲-۳-۲-۱- ساختار شیمیایی اسید چرب گامالینولنیک.....	۱۴
۲-۳-۲-۲- منابع گیاهی اسید چرب گامالینولنیک.....	۱۵
۲-۳-۲-۳- سنتز اسیدهای چرب سری ۶- π در گیاهان.....	۱۵
۲-۳-۲-۴- مسیر متابولیسم اسیدهای چرب سری ۶- π	۱۶
۲-۴- روشهای کروماتوگرافی.....	۱۷
۲-۴-۱- کروماتوگرافی لایه نازک.....	۱۷
۲-۴-۲- کروماتوگرافی گازی.....	۱۷

عنوان	صفحه
فصل سوم: بررسی منابع.....	۱۸
۳-۱- بررسی منابع.....	۱۹
۳-۱-۱- تحقیقات انجام شده با نشانگر مولکولی RAPD.....	۱۹
۳-۱-۲- مطالعات دارویی در خانواده گاو زبان و گیاه <i>Echium amoenum</i>	۲۱
فصل چهارم: مواد و روش ها.....	۲۷
۴-۱- مواد و روش ها.....	۲۷
۴-۱-۱- مراحل انجام بررسی چند شکلی ژرم پلاسم با نشانگر RAPD.....	۲۷
۴-۱-۲- استخراج DNA.....	۲۷
۴-۱-۲-۱- مواد گیاهی مورد نیاز.....	۲۸
۴-۱-۲-۲- مواد شیمیایی و معرف های مورد نیاز.....	۲۹
۴-۱-۲-۳- دستورالعمل استخراج DNA.....	۲۹
۴-۱-۳- تعیین کیفیت و کمیت DNA.....	۳۱
۴-۱-۴- مراحل انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) با نشانگر RAPD.....	۳۲
۴-۱-۴-۱- اجزای واکنش زنجیره ای پلیمرز.....	۳۲
۴-۱-۴-۲- آغازگرها.....	۳۲
۴-۱-۴-۳- مخلوط dNTP، کلرید منیزیم، بافر واکنش، DNA پلیمرز Taq، DNA الگو.....	۳۴

عنوان	صفحه
۴-۱-۴-۴-۴ راه اندازی PCR با نشانگر مولکولی RAPD.....	۳۴
۴-۱-۴-۴-۵ بهینه سازی دستگاه PCR جهت تکثیر نشانگر مولکولی RAPD.....	۳۶
۴-۱-۴-۴-۶ الکتروفورز محصولات PCR.....	۳۶
۴-۱-۴-۴-۷ تجزیه و تفسیر الگوهای نواری RAPD.....	۳۷
۴-۲-۴-۲ مراحل آنالیز شیمیایی اسید چرب گامالینولیک (GLA).....	۳۸
۴-۲-۴-۱ آماده سازی مواد اولیه گیاهی.....	۳۸
۴-۲-۴-۲ روش استخراج.....	۳۹
۴-۲-۴-۳ تعیین درصد روغن.....	۴۰
۴-۲-۴-۴ جداسازی اسیدهای چرب.....	۴۰
۴-۳-۴-۳ روش TLC.....	۴۰
۴-۳-۴-۱ فاز ثابت در روش TLC.....	۴۰
۴-۳-۴-۲ فاز متحرک (حلال).....	۴۱
۴-۳-۴-۳ کاشت نمونه و شاهد روی ورق کروماتوگرافی.....	۴۲
۴-۳-۴-۴ شناسایی اسید چرب گامالینولیک.....	۴۲
۴-۴-۴-۴ تعیین درصد حجمی گامالینولیک.....	۴۳
۴-۴-۴-۱ دستگاه GC.....	۴۳

صفحه	عنوان
۴۳	۴-۴-۲- ساخت متیل استر اسیدهای چرب.....
۴۵	فصل پنجم: نتایج و بحث.....
۴۶	۵-۱- نتایج و بحث.....
۴۶	۵-۱-۱- تنوع جغرافیایی گیاه دارویی گل گاو زبان ایرانی.....
۴۷	۵-۲- تجزیه خوشه‌ای داده های RAPD.....
۴۷	۵-۲-۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای.....
۴۸	۵-۲-۲- ضریب همبستگی کوفنتیک.....
۴۹	۵-۲-۳- تجزیه به مولفه‌های اصلی.....
۵۱	۵-۳- آنالیز بیوشیمیایی روغن.....
۵۱	۵-۳-۱- نتایج حاصله از استخراج روغن.....
۵۲	۵-۳-۲- جداسازی اسیدهای چرب با استفاده از روش TLC.....
۵۳	۵-۳-۳- جداسازی ، شناسایی و محاسبه مقدار تقریبی GLA با روش TLC.....
۵۶	۵-۴- پروفیل اسیدهای چرب محتوی روغن دانه، برگ و بذر با GC.....
۵۶	۵-۴-۱- پروفیل اسیدهای چرب محتوی روغن دانه با روش GC.....
۵۸	۵-۴-۲- تنوع GLA در روغن دانه با روش GC.....
۶۱	۵-۴-۳- بررسی تنوع GLA در روغن برگ و ریشه با روش GC.....

صفحه	عنوان
۶۱	۱-۳-۴-۵- پروفیل اسیدهای چرب روغن برگ و ریشه.....
۶۳	۲-۳-۴-۵- مطالعه تنوع GLA در روغن اندام‌های برگ و ریشه با روش GC.....
۶۵	۵-۵- گروه بندی اکوتیپ‌های مختلف از نظر تنوع GLA در روغن اندام‌ها بر اساس GC.....
۶۶	۶-۵- تطبیق یافته های ژنتیکی و بیوشیمیایی.....
۷۸	۷-۵- پیشنهادات.....
۶۹	فصل ششم: منابع.....
۷۹	فصل هفتم: پیوست.....

بررسی تنوع ژنتیکی گل گاو زبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch. & Mey.) با نشانگر مولکولی RAPD و تنوع اسید

چرب گامالینولینیک (GLA) با روش TLC.

نورالدین حسین پور آزاد، قربانعلی نعمت زاده، محمد آزادبخت، سیدکمال کاظمی تبار

چکیده:

کشور ایران از جمله منابع مهم ذخایر ژرم پلاسما گل گاو زبان ایرانی می‌باشد. این گیاه دارای بذور غنی از اسیدهای چرب ضروری سری امگا۳ و امگا۶ بوده که در محتویات مکمل‌های دارویی جهت پیشگیری از بیماری‌های عصبی هم چون ام اس (M.S) بکار می‌رود. از روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) جهت تعیین میزان تنوع اسید چرب گاما لینولینیک (GLA) و ۲۰ آغازگر از نشانگر مولکولی RAPD جهت تعیین تنوع ژنتیکی در ۱۶ اکوتیپ از این گیاه استفاده گردید. در بررسی مولکولی تعداد ۲۸۵ باند در بین اکوتیپ‌های مختلف چند شکلی خوبی نشان دادند که مبنای آنالیزهای ژنتیکی با نرم افزار (NTSYS-pc ۲.۰۲ e) واقع شدند. برای تعیین میزان فاصله ژنتیکی بین اکوتیپ‌ها، از ضریب تشابه دایس استفاده گردید. با استفاده از الگوریتم UPGMA دندروگرامی بر مبنای ماتریس تشابه تهیه شد که محدوده تشابه بین ۰/۳۳ تا ۰/۷۷ بود. تجزیه کلاستر، اکوتیپ‌های مختلف را در سطح تشابه (۰/۵۵) در ۹ گروه اصلی تقسیم بندی نمود. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس داده‌های مولکولی با تجزیه کلاستر تطابق نسبتاً خوبی نشان داد. ضریب همبستگی کوفتیک (۰/۸۲) نشان دهنده مناسب بودن الگوریتم گروه بندی بود. هم چنین جهت ارزیابی تنوع GLA در اندامها ابتدا استخراج روغن از ریشه، برگ و بذر با استفاده از سیستم سوکسله و حلال هگزان- دی اتیل اتر- اسید استیک گلاسیال) و با استفاده از معرف فسفومولیبیدیک ثابت سلیکاژل ۶۰ اف ۲۵۴، فاز متحرک (هگزان- دی اتیل اتر- اسید استیک گلاسیال) و با استفاده از معرف فسفومولیبیدیک اسید انجام پذیرفت. جهت تایید داده‌های حاصله از روش TLC از روش کروماتوگرافی گازی (GC) استفاده گردید. نتایج حاصله از GC و نتایج حاصله از سنجش مساحت لکه‌های حاصله از روش TLC با نرم افزار (AutoCAD ۲۰۰۷)، به منظور گروه‌بندی از نظر تنوع GLA در اکوتیپ‌های مختلف، به نرم افزار SPSS۱۵ انتقال یافتند. بدین منظور از معیار مربع فاصله اقلیدسی و الگوریتم سلسله مراتبی از نوع تجمعی و روش اتصال داخل گروه‌ها استفاده گردیده و دندروگرام مربوطه رسم شد که اکوتیپ‌ها را از نظر تنوع GLA در فاصله ژنتیکی ۱۱ در ۳ گروه طبقه بندی نمود. میزان متوسط GLA در ریشه (۰/۱۰۹±۰/۰۸)، برگها (۰/۳۹±۰/۰۷) و در بذور این گیاه (۴/۱۲±۰/۱۳) درصد با روش GC محاسبه گردید. بطوریکه اکوتیپ اشگورات (E5) دارای حداکثر میزان GLA در روغن بذر (۴/۹۰۹) و روغن برگ (۰/۸۹) و اکوتیپ سوچلما (S01۶) نیز حداکثر GLA (۰/۶) درصد را در ریشه داشت. در محتوی روغن هیچ یک از اکوتیپ‌ها اثری از ترکیب سمی اسید چرب اروسیک مشاهده نگردید. مقایسه دندروگرام حاصله از بررسی مولکولی و شیمیایی بیانگر ارتباط نزدیک این دو نشانگر در سنجش میزان فاصله ژنتیکی و شیمیایی بود. یافته‌های این پروژه به عنوان اطلاعات پایه در برنامه‌های بهنژادی و بیوتکنولوژی بوده و می‌توان از این نتایج در نقشه‌یابی ژنهای دخیل در سنتز اسید چرب گامالینولینیک و شناسایی نشانگرهای پیوسته با این ژنها استفاده نمود. هم چنین این نتایج بعنوان داده‌های شیموتاکسونومی در طبقه بندی درون و بین گونه‌ای جنس *Echium* می‌توانند استفاده گردند.

لغات کلیدی: گل گاو زبان ایرانی، نشانگر RAPD، کروماتوگرافی لایه نازک، کروماتوگرافی گازی، گامالینولینیک اسید

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

جمع‌آوری ژرم پلاسما اولین قدم در راه اصلاح گیاهان است. ایران به خاطر داشتن تمدن قدیمی و نیز به لحاظ داشتن اقلیم‌های متفاوت جزء مهمترین مراکز ژنتیکی در دنیا به شمار می‌رود. استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محصولات فرعی مراتع، در کشور ایران دارای سابقه بسیار طولانی بوده و تعیین ویژگی‌های ژنتیکی، فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و شیمیایی به منظور بهره برداری پایدار و اقتصادی همراه با حفظ تنوع موجود در عرصه های طبیعی مراتع ایران بسیار حائز اهمیت می‌باشد تا از انقراض گونه‌های منحصر به فرد و متفاوت از لحاظ ژنتیکی جلوگیری به عمل آمده و ضمن ایجاد اشتغال و درآمدزایی، این گونه‌ها را برای نسل‌های آینده و ایجاد توازن در طبیعت حفظ کرد.

۱-۱-۱- اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی

یکی از روش‌های مؤثر در مبارزه با فقر غذایی روش اصلاح نباتات می‌باشد، که فنی مبتنی بر علم ژنتیک در جهت افزایش محصولات غذایی است. اصلاح نباتات امروزه فراتر از علم مبارزه با فقر غذایی به عنوان علمی در جهت مبارزه با فقر دارویی نیز مطرح می‌گردد. یک اصلاح گر در صورتی شانس موفقیت در برنامه‌های اصلاحی خواهد داشت که امکان انتخاب مواد مناسب و تنوع کافی در اختیار داشته باشد. این تنوع هم به صورت طبیعی وجود دارد و هم به صورت مصنوعی می‌توان آن را ایجاد کرد. بطور کلی یکی از اولین قدم‌ها در یک برنامه موفق بهنژادی، تشخیص صحیح ژنوتیپ‌های مطلوب است.

در اصلاح نباتات بررسی تنوع ژنتیکی پایه و اساس برنامه های اصلاحی و از مقدمات پروژه‌های بهنژادی و گزینش ژنوتیپ های گیاهی می‌باشد (۳۹، ۴۳). روش‌های متداول اصلاح گیاهان زراعی بر اساس گزینش ژنوتیپ‌های مطلوب از تنوع ژنتیکی موجود می‌باشد. ارزیابی و تعیین میزان تنوع ژنتیکی به عنوان یکی از شاخص‌های مهم برای انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی است. فاصله ژنتیکی بر اساس ترکیب ژنتیکی جمعیت‌های بیولوژیکی می‌تواند بوسیله فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف (فاصله ژنوتیپی) و یا فراوانی آلل‌های مختلف در مکان ژن مورد نظر (فاصله ژنی) ارائه شود. فاصله ژنی ارتباط مستقیمی با پدیده هتروزستی دارد (۳۶).

تعیین فاصله یک روش آماری چند متغیره است که بر اساس تعدادی صفت قابل اندازه‌گیری محاسبه می‌گردد و یک روش کار آمد برای تعیین فاصله ژن و یا ژنوتیپی در ارزیابی‌های تنوع ژنتیکی است. پژوهش‌های زیادی درباره محاسبه تنوع ژنتیکی و کاربرد آن در اصلاح گیاهان مختلف ارائه شده است (۳۷،۲۰).

بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان از طریق بررسی صفات مورفولوژیکی یا بیوشیمیایی همواره متداول بوده است ارزیابی فنوتیپی به دلیل اثر محیط بر بیان ژن ممکن است روش قابل اعتماد برای تعیین تفاوت‌های ژنتیکی نباشد. امروزه روشهای مولکولی برای بررسی تنوع ژنتیکی بطور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰۳،۹۷،۹۰).

ارزش بازار گیاهان دارویی در ایران ۲۴ هزار میلیارد ریال بوده که از این مقدار ۹۵ درصد در داخل تولید و تنها ۵ درصد وارد کشور می‌گردد. برای وارد نمودن این مقدار داروی مورد نیاز کشور ۸۰۰ میلیارد تومان پول خرج می‌شود و این در صورتی است که تنوع و کیفیت گیاهان در ایران بالاست. جمع گردش مالی بازار گیاهان دارویی در حال حاضر ۵۲ میلیارد دلار بوده و در سال ۲۰۵۰ به ۵ تریلیون دلار خواهد رسید (مشاور وزیر بهداشت در امر گیاهان دارویی مرداد۱۳۸۸) (۸). از جمله این داروهای وارداتی، فرآورده هایی هم چون اپوکسول حاوی ۲۵۰-۵۰۰ میلی گرم روغن گل مغربی^۱ (EPO)، افامول^۲ (مخلوط روغن گل مغربی با ویتامین e) و مخلوط EPO با روغن ماهی تحت عنوان Marin cap در بازار مصرف به فروش می‌رسند. این کپسول‌ها حاوی گامالینولنیک اسید^۳ (GLA) بوده که جهت درمان و پیشگیری از ناراحتی‌های عصبی، از جمله آلزایمر و هم چنین جهت جلوگیری از پیشرفت بیماری ام اس^۴ (MS) در بیماران مبتلا بکار می‌روند. این بیماری از معدود امراضی بوده که باعث تخریب دیواره میلین سلول‌های عصبی می‌گردد. طبق فرضیه‌ای که در بین داروشناسان گیاهی مطرح است داروها و مکمل‌های حاوی اسید چرب امگا۶ و امگا۳ از روند پیشرفت بیماری ام اس جلوگیری به عمل می‌آورند. با توجه به منابع موجود این اسیدهای چرب در گیاهان

^۱ Evening primrose oil

^۲ Efamol

^۳ Gamalinolenic acid

^۴ Multiple sclerosis

دارویی کشور و نیاز به بررسی بیشتر در این زمینه، گیاه دارویی گل گاو زبان ایرانی از لحاظ تنوع ژنتیکی و تنوع اسید چرب گامالینولنیک در روغن اندام‌های این گیاه (ریشه، برگ و دانه) مورد بررسی قرار گرفت. گیاه دارویی گل گاو زبان ایرانی (*Echium amoenum*) گیاهی است از خانواده (تیره) گاو زبان^۱ که در بسیاری از مناطق حاشیه شمال و شمال غرب کشور ایران به صورت خودرو و زراعی رویش دارد.

۲-۱-۱- کاربردهای دارویی گلبرگ‌های گل گاو زبان ایرانی

مقبولیت این داروی گیاهی در بین عامه مردم ایران به گونه‌ای است که تقریباً در هر بیماری به خصوص مشکلات عصبی و سرما خوردگی اولین انتخاب به شمار می‌رود. سایر گیاهان خانواده گاو زبان از قبیل گل گاو زبان اروپایی (*Borago officinalis*) که در سرما خوردگی استفاده می‌شده، به دلیل داشتن آلکالوئیدهای پیرولیزیدین^۲ که سمیت کبدی ایجاد می‌کنند محدودیت مصرف یافته اند (۲۰۱). از نظر سنتی گل و برگ گاوزبان با طبیعت گرم دارای اثر نشاط‌آور، مقوی عمومی و شاداب کننده رخسار می‌باشد و همچنین در بیماری‌های کلیوی، به خصوص ورم کلیه مورد استفاده می‌باشد. گل، برگ و سرشاخه گلدار گیاه مصرف دارویی دارد (۱۰). گلبرگ‌های خشک شده این گیاه بطور سنتی در ایران بعنوان تقویت کننده، مسکن، عرق آور و هم چنین بعنوان دارویی برای سرماخوردگی و گلودرد استفاده می‌گردد (۲۲، ۵۶). بررسی‌ها حاکی از آن هستند که مصرف گل گاو زبان ایرانی باعث افزایش پاسخ‌های مرتبط با ایمنی سلولی می‌گردد (۲۳).

۳-۱-۱- اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره گل گاو زبان

اکسیداسیون چربی یکی از دلایل اصلی کاهش کیفیت غذاهای چربی دار است. این فرآیند روی رنگ، طعم، بافت و ارزش تغذیه ای غذاها تاثیر دارد (۹۶). بکارگیری آنتی‌اکسیدان های مصنوعی در غذاها می‌تواند اکسیداسیون چربی را به تاخیر اندازد ولی استفاده از آنتی‌اکسیدان های مصنوعی در فرآورده های غذایی از نظر قوانین محدودیت دارد. زیرا این ترکیبات دارای پتانسیل ضد سلامت هستند (۵۴). توانایی

^۱ Boraginaceae

^۲ Pyrrolizidine alkaloids

عصاره گاو زبان در تاخیر اکسیداسیون چربی به توانایی ترکیبات فنولی در حذف گونه های فعال اکسیژن نسبت داده می شود. عصاره گاو زبان ممکن است به روغن ها و فرآورده های گوشتی به جای آنتی اکسیدانت های مصنوعی جهت تاخیر در اکسیداسیون چربی ها افزوده شود (۱۰۵). اکسیداسیون چربی ها و محدودیت در استفاده از آنتی اکسیدانت های مصنوعی ما را بر آن می دارد که از ترکیبات آنتی اکسیدان های طبیعی به جای این آنتی اکسیدان ها استفاده کنیم. تعداد زیادی از آنتی اکسیدان های طبیعی قبلا از انواع مواد گیاهی نظیر دانه های روغنی، غلات، سبزیجات، میوه ها، برگ ها، ریشه ها، ادویه جات و شاخ و برگ گیاهان استخراج شده است (۸۷). اگر چه روغن گاو زبان غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع (PUFA^۱) نظیر GLA است ولی مقاومت زیادی به اکسیداسیون در بذر سالم وجود دارد (۱۰۵). این مقاومت ها ناشی از وجود توکوفرول ها و چندین ترکیب فنولی دیگر در بافت های حاوی روغن است (۶۷). وقتی روغن استخراج می شود آنتی اکسیدان های نظیر توکوفرول با روغن استخراج می شوند که نقش اصلی را در جلوگیری از ترشیدگی روغن بر عهده دارد (۲۵). یون های فلزی نظیر آهن، منیزیم، مس و روی که در غذاهای با منشاء گیاهی و حیوانی یافت می شوند می توانند در شروع اکسیداسیون چربی نقش داشته باشند مشخص شده که عصاره گاو زبان دارای خاصیت شلاته کننده این فلزات در محیط های آزمایشی را دارا هستند (۱۰۶).

۴-۱-۱- اثرات درمانی گامالینولیک

GLA به عنوان مکمل غذایی و داروی تجویزی برای درمان بیماری های قلبی، اگزمای موضعی، ماستالژیا، دیابت ها، ورم مفاصل و MS استفاده می شود (۲۶).

PUFA ها توسط بدن انسان سنتز نمی شود و بنابراین باید از طریق رژیم غذایی خاص تامین شود. آن ها مهمترین پیش ماده برای ترکیبات فعال فیزیولوژیکی نظیر پروستاگلندین ها، ترامباکسان ها و لئوکوترین ها می باشند (۷۴). امروزه از مکمل های GLA و SDA در رژیم غذایی هم گام با استفاده از روغن های محتوی این اسیدهای چرب برای درمان مشکلات سلامتی ناشی از کمبود اسیدهای چرب ضروری و پروستاگلندین

^۱ Poly unsaturated fatty acid

استفاده می شود. هم چنین PUFA برای مرطوب و تازه نگه داشتن پوست و درمان ترومبوز، التهاب و سرطان مفید هستند (۴۴، ۵۷).

مطالعات آینده نگر دوسوکور در مورد بیماری MS که احتمالاً یک بیماری خود ایمنی تحلیل برنده میلین با تغییرات لیپیدی است نشان داد که این بیماری ممکن است بر اثر کمبود PUFA ها در بدن باشد (۲۷، ۷۲).

۱-۲- اهداف پژوهش

در این تحقیق اهداف اصلی ما عبارتند از:

➤ بررسی تنوع ژنتیکی گل گاو زبان ایرانی (*Echium amoenum*) ارتفاعات حاشیه دریای مازندران با نشانگر مولکولی RAPD ،

➤ بررسی تنوع اسید چرب گامالینولنیک و مواد سمی آن با روش TLC در مراحل مختلف رشد،

➤ تطبیق نتایج حاصله از بررسی ژنتیکی و بررسی تنوع اسید چرب گاما لینولنیک،

➤ انتخاب اکوتیپ برتر از جهت داشتن میزان بالای اسید چرب گاما لینولنیک و

➤ معرفی اکوتیپ‌های مناسب به سازمان‌های مرتبط، برای کشت انبوه این گیاه به جهت تولید GLA.

فصل دوم

کلیات

۱-۲- کلیات

۱-۱-۲- خصوصیات گیاه شناسی گاو زبان

۱-۱-۱-۲- رده بندی گیاه

گیاه *E.amoenum* Fish. & C.A.Mey. از خانواده گاو زبان بوده، رده بندی آن بر اساس طبقه بندی

کرونکوئیست^۱ (۱۹۸۸) به صورت زیر است (۵۸):

Plantae	فرمانرو (Kingdom)
Magnoliophyta	شاخه (Division)
Magnoliopsida	رده (Class)
Asteridae	زیر رده (Sub class)
Lamiales	راسته (Order)
Boraginaceae	تیره (Family)
Boraginoidae	زیر تیره (Subfamily)
Lithospermeae	قبیله (Tribus)
Echiinae	زیر قبیله (Subtribus)
<i>Echium</i> L.	جنس (Genus)
<i>E. amoenum</i> Fisch. & C.A. Mey.	گونه (Species)
Oxtongue flower	نام انگلیسی (English name)
گل گاو زبان ایرانی	نام فارسی (Farsi name)