بسم الله الرحمن الرحیم

این پروژه تحقیقاتی با استفاده

از امکانات موسسه تحقیقات

جنگل‌ها و مراتع کشور انجام

شده است

دانشگاه پیام نور

دانشکده کشاورزی

مرکز تهران شرق

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی‌ارشد

رشته مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی

گروه کشاورزی

عنوان پایان‌نامه:

مطالعه تمایز ژنتیکی میان سه گونه از جنس بومادران *Achillea millefolium , A. nobilis & A. bieberstinii* به وسیله مارکرهای پروتئینی و آنزیمی

فاطمه ندیری

اساتید راهنما:

دکتر پروین صالحی شانجانی

دکتر مینا ربیعی

استاد مشاور:

دکتر محمدعلی علیزاده

آذر ۱۳۹۱

اینجانب فاطمه ندیری **دانشجوی ورودی سال** ۱۳۸۸ **مقطع کارشناسی‌ارشد رشته** مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی **گواهی می‌نمایم چنانچه در پایان‌نامه خود از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته‌ام با نقل قول مستقیم یا غیرمستقیم منبع و مأخذ آن را نیز در جای مناسب ذکر کرده‌ام. بدیهی است مسولیت تمامی مطالبی که نقل قول دیگران نباشد بر عهده خویش می‌دانم وجوابگوی آن خواهم بود.**

نام و نام‌خانوادگی دانشجو

تاریخ و امضاء

اینجانب فاطمه ندیری **دانشجوی ورودی سال** ۱۳۸۸ **مقطع کارشناسی‌ارشد رشته** مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی **گواهی می‌نمایم چنانچه بر اساس مطالب پایان‌نامه خود اقدام به انتشار مقاله، کتاب، و ... نمایم ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب، و ... و به‌صورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.**

نام و نام‌خانوادگی دانشجو

تاریخ و امضاء

کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات، آزمایشات و نوآوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه پیام نور می‌باشد.

ماه و سال

تقدیم به:

ماهتاب لحظه‌های بودنم "پدرم و مادرم"

گرمی بخش زندگی‌ام" همسرم"

همراهان خاطرات شیرین کودکی‌ام

"برادر و خواهرانم"

تشکر و قدردانی

بدینوسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را حضور کلیه اساتید و کسانی‌که مرا در طول تحقیق حاضر یاری نموده‌اند تقدیم می‌نمایم:

سرکارخانم دکتر پروین صالحی‌شانجانی، استاد راهنمای عزیزم که مرا در تمامی مراحل پایان‌نامه دلسوزانه یاری نموده‌اند.

سرکار خانم دکتر مینا ربیعی که مساعدت‌های علمی و عملی ایشان بسیار راه‌گشا بود.

جناب آقای دکتر محمدعلی علیزاده که مساعدت‌های علمی وعملی ایشان نیز بسیار راه‌گشا بود.

استادان ارجمندم، جناب آقای دکتر رضوانی، جناب آقای دکتر ابراهیمی که در طول تحصیل همواره از محضر علمی و اخلاقی ایشان بهره‌مند بودم.

خانم مهندس لیلا رسول‌زاده کارشناس آزمایشگاه بانک ژن موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور که مساعدت‌های علمی ایشان بسیار سودمند بود.

چکیده

بومادران (*Achillea*)، گیاهی دارویی، متعلق به گروه گیاهان دولپه و از تیره کاسنی (Asteracea) می‌باشد. در این تحقیق، الگوی الکتروفورز آنزیم و پروتئین‌های کل گیاهچه ۱۱ جمعیت از گونه *Millefolium*، ۵ جمعیت از گونه *Nobilis* و ۵ جمعیت از گونه *Bieberstinii* برای تعیین تنوع ژنتیکی موجود مورد بررسی قرار گرفتند. پس از استخراج پروتئین‌های کل گیاهچه، غلظت پروتئین‌ها تعیین گردید سپس برای تفکیک پروتئین‌ها استخراج شده از روش SDS- PAGE تک بعدی استفاده شد. پس از رنگ‌آمیزی ژل پلی‌آکریل‌آمید به وسیله‌ی کوماسی‌بلو به منظور تجزیه‌ی داده‌های الکتروفورزی به حضور هر یک از باندها عدد یک و به عدم حضور آن‌ها عدد صفر داده شد. تعداد ۳٤ باند در جمیعت‌های مطالعه شده مشاهده گردید. بیش‌ترین تعداد باند مربوط به جمعیت‌های M- قروه و کم‌ترین تعداد باند مربوط به N- رودسر بود. بیش‌ترین درصد پلی‌مورفیسم مربوط به M- تالش ۲ بود. بیش‌ترین الگوی تنوع یا هتروزیگوسیتی (He) در جمعیت M- تالش۱ مشاهده شد و کم‌ترین آن در جمعیت N- رودسر بود. از نظر الگوی تمایز (فاصله ژنتیکی) بیشترین آن بین جمعیت‌های N- رودسر و M- همدان ۱ مشاهده شده است و کمترین آن بین جمعیت‌های M- تالش۱ و M- همدان۱ مشاهده شد. در تجزیه‌ی خوشه‌ای یا کلاستر کلیه‌ی جمعیت‌ها در دو کلاستر قرار گرفتند. در تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) مقدار واریانس میان جمعیت‌های هر گونه (۲۸٪) و درون جمعیت‌ها (۵۲٪) بود. همبستگی کلیه‌ی صفات به روش کارل – پیرسون با نرم‌افزار SPSS انجام شد. الگوی الکتروفورز آنزیم‌های کل گیاهچه پنج جمعیت از گونه‌ی *A. millefolium*، پنج جمعیت از گونه *A. nobilis* و پنج جمعیت از گونه‌ی *A. bibershtinii* برای تعیین تنوع ژنتیکی موجود مورد بررسی قرار گرفتند. سپس برای تفکیک آنزیم‌های استخراج شده از روش SDS-PAGE تک بعدی استفاده شد. براساس مشاهده بر روی ژل پراکسیداز از سه زون فعالیت کافی و پایدار داشتند و تحت عنوان PX-A، PX-C و PX-B مورد بررسی قرار گرفتند. بیشترین تعداد آلل مربوط به جمعیت‌های M- گرگان۲، N- گرگان۱ و ۲، N- رودسر و کمترین تعداد آلل مربوط به B- سلماس بود. تمام جمعیت‌های مورد مطالعه دارای پلی‌مورفیسم ۱۰۰٪ بودند، به جز جمعیت B- سلماس که پلی‌مورفیسم آن ٦٦/٦٧٪ بود. بیشترین الگوی تنوع یا هتروزیگوسیتی (He) در جمعیت N- گرگان۱ و کم‌ترین میزان در جمعیت B- سلماس بود. از نظر الگوی تمایز (فاصله‌ی ژنتیکی) بیش‌ترین آن بین جمعیت‌های B- سلماس و M- همدان ۳ بود و کم‌ترین آن بین دو جمعیت N- خلخال و N- گرگان۲ بود. در تجزیه‌ی خوشه‌ای (کلاستر) کلیه‌ی جمعیت‌ها در سه کلاستر قرار گرفتند. در تجزیه‌ی واریانس مولکولی (AMOVA) مقدار واریانس در میان جمعیت‌های هر گونه ۱۰٪ و درون جمعیت‌ها ۳۸٪ بود. همبستگی صفات به روش کارل- پیرسون با نرم‌افزار SPSS انجام شد. جمعیت‌های N- رودسر و M- همدان۱ (از نتایج مارکر پروتئین) و B- سلماس و M- همدان ۳ (از نتایج مارکر آنزیم) که بیشترین فاصله ژنتیکی را با یکدیگر داشتند برای ایجاد تنوع ژنتیکی و آزمایش‌های تلاقی در پروژه های اصلاحی پیشنهاد می‌شوند. در این آزمایش با توجه به متفاوت بودن الگوی الکتروفورزی جمعیت‌های مختلف مشخص شد که الگوی پروتئین برای طبقه‌بندی و شناسایی ژنوتیپ‌ها قابل استفاده است.

واژگان کلیدی: *Achillea Millefolium*، *Achillea Nobilis*، *Achillea Bibershtinii*، تنوع‌ژنتیکی، پروتئین‌های کل، پلی‌مورفیسم، پراکسیداز، SDS-PAGE.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

مقدمه ۱

فصل اول ۳

کلیات ۳

۱-۱ جنس *Achillea* ٤

۱-۱-۲ معرفی گونه *A. millefolium* ٤

۱-۱-۲ معرفی گونه بومادران تماشایی، بومادران شریف *A. nobilis* ٥

۱-۱-۳ معرفی گونه بومادران زرد، بومادران مزرعه روی *A. bieberstinii* ٥

۲-۲ موارد استفاده و پراکنش *Achillea* ۱۰

۲-۳ نیازهای اکولوژیکی *Achillea* ۱۲

۲- ٤ اهمیت اقتصادی و موارد مصرف *Achillea* ۱۳

بیان مساله ۱٥

اهداف ۱٥

فرضیه ها ۱٦

فصل دوم ۱۷

بررسی منابع ۱۷

۲-٥ منبع ژنتیکی ۱۸

۲-٦ تنوع ژنتیکی ۱۹

۲-۷ اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی ۲۱

۲-۸ روش‌های بررسی تنوع ژنتیکی ۲۲

۲-۹ نشانگرها ۲٤

۲-۹-۱ نشانگرهای مورفولوژیکی ۲٥

۲-۹-۲ مارکرهای سیتوژنتیکی ۲۷
۲-۹-۳ نشانگرهای مولکولی ۲۷
۲-۹-۳-۱ مارکرهای پروتئینی (بیوشیمیایی) ۲۷
۲-۹-۳-۱-۱ پروتئینهای ذخیره‌ای ۲۸
۲-۹-۳-۲ نشانگرهای مبتنی بر DNA ۳۰
۲-۹-۳-۲-۱ نشانگرهای RFLP ۳۲
۲-۹-۳-۲-۲ نشانگرهای RAPD ۳٤
۲-۹-۳-۲-۳ نشانگرهای SCAR ۳٦
۲-۱۵-۳-۲-۵- نشانگرهای SSR ۳۷
۲-۹-۳-۲-٦ نشانگرهای AFLP ۳۸
۲-۹-٤ انتخاب نشانگر مناسب ۳۹
۲-۱۰ الکتروفورزپروتئین‌ها ٤۰
۲-۱۰-۱ تعریف الکتروفورز ٤۱
۲-۱۰-۲ ژل ٤۳
۲-۱۰-۳ محلولهای بافری ٤۵
۲-۱۰-٤ عوامل دیگر ٤٦
۲-۱۰-۵ انواع الکتروفورز ٤٦
۲-۱۰-۵-۱ الکتروفورز کاغذی ٤٦
۲-۱۰-۵-۲ الکتروفورز ژل آگارز ٤۷
۲-۱۰-۵-۳ الکتروفورزاستات سلولز ٤۷
۲-۱۰-۵-٤ الکتروفورز ژل نشاسته ٤۸
۲-۱۰-۵-۵ الکتروفورز ژل آکریلامید ٤۹
۲-۱۰-۵-٦ براساس بار الکتریکی ۵۰
۲-۱۰-۵-۷ براساس جرم مولکولی (SDS – PAGE) ۵۱

۲-۱۱ پروتئینها ۵۲
۲-۱۱-۱ شکل و ساختمان پروتئینها ۵۲
۲-۱۱-۲ خواص پروتئین‌ها ٥٤
۲-۱۱-۲-۱ حلالیت پروتئین‌ها ٥٤
۲-۱۱-۲-۲ خواص الکترولیتی پروتئین ها ۵۵
۲-۱۱-۲-۳ خواص آنتی‌ژنی پروتئین‌ها ۵۵
۲-۱۲ پراکسیدازها ۵۵
۲-۱۲-۱ ویژگی‌های عمومی ۵۵
۲-۱۲-۲ جایگاه پراکسیدازهادر دیواره‌ی سلولی ٦١
۲-۱۲-۳ نقش پراکسیدازها درکنترل رشد سلول گیاهی ٦١
۲-۱۲-٤ پراکسیدازگیاهی وتمایز سلولی ٦٢
۲- ۱۳ روش جداسازی پروتئین‌ها به‌طور کلی ٦٢
۲-١٤ عوامل مؤثربرتحرک الکتروفورزی پروتئین‌ها ٦٣
۲-١٤-۱ ساختمان پروتئین‌ها ٦٣
۲-١٤-۲ عوامل مؤثر پس از ترجمه ٦٤
۲-١٤-۳ شرایط آزمایشی ٦٥
۲-١٤-۳-۱ شرایط الکتروشیمیایی ٦٥
۲-١٤-۳-۲ نقش بستر الکتروفورز ٦٧
۲-۱۵ اصول آشکارسازی پروتئین‌ها ٦٧
۲-۱۵-۱ شناسایی پروتئین‌های غیرآنزیمی ٦٧
۲-۱۵-۲- شناسایی وآشکارسازی پروتئین‌های آنزیمی ٦٨
فصل سوم ۷۰
مواد و روش ها ۷۰
۳-۱ مشخصات اقلیمی و زراعی منطقه‌ی اجرای طرح ۷۱

۳-۲ جمعیت های مورد بررسی ۷۱
۳-۳ روش مطالعه پروتئین‌های کل وآیزوزایم‌ها وداده‌های کمی ۷۳
۳-۳-۱ مطالعه داده‌های کمی ۷۳
۳-۳-۲ مطالعه داده‌های پروتئینی ۷٤
۳-۳-۲-۱ محلول‌های عصاره‌گیری ۷٤
۳-۳-۲-۲ نحوه‌ی عصاره‌گیری ۷٤
۳-۳-۲-۳ محلول‌های الکتروفورز ۷۵
۳-۳-۲-٤ ژل پلی‌اکریل‌آمید ۷۷
۳-۳-۲-۵ تعیین وزن مولکولی باندهای پروتئین ۷۸
۳-۳-۲-٦ تعیین حرکت نسبی (RM) باندهای پروتئین ۷۹
۳-۳-۳ استخراج آنزیم ۷۹
۳-۳-۳-۱ بافر استخراج ۷۹
۳-۳-۳-۲ نحوه‌ی عصاره‌گیری ۷۹
۳-۳-۳-۳ محلول‌های الکتروفورز ۷۹
۳-۳-۳-٤ ژل آنزیم ۸۰
تهیه‌ی محلول پراکسیداز : ۸۱
۳-٤ روش‌های آماری ۸۲
۳-٤-۱ روش‌های آمار در مطالعات صفات رنگیزه‌های گیاهی و درصد رطوبت ۸۲
۳-٤-۲ روش آماری در مطالعات پروتئین و آنزیم‌های گیاهچه ۸۳
۳-۵ آماره‌های به‌کار برده شده ۸٤
۳-۵-۱ تجزیه خوشه‌ای ۸٤
۳-۵-۲ تجزیه به مؤلفه های اصلی ۸۵
۳-۵-۳ تنوع و تمایز ژنتیکی ۸٦
فصل چهارم ۸۹

تجزیه و تحلیل یافته‌های آماری ۸۹
بررسی ویژگی‌های داده‌های کمی درگونه‌های Achillea millefolium و A. bieberstinii و A. nobilis ۹۰
٤-۱ بررسی تنوع ژنتیکی سه گونه‌ی بومادران براساس داده‌های کمی ۹۰
٤-۱-۱ تجزیه‌ی واریانس (ANOVA) ۹۰
٤-۱-۲ آزمون دانکن ۹۱
٤-۱-۳ الگوی تمایز ۹۲
٤-۲ بررسی تنوع ژنتیکی سه گونه بومادران براساس مارکرهای پروتئین‌های کل ۹۸
٤-۲-۱ تعیین درصد حرکت نسبی و وزن مولکولی باندهای پروتئین ۹۸
٤-۲-۲-۱ ارزیابی کیفی ژل پلی‌آکریل‌آمید درگونه *Millefolium* ۹۸
٤-۲-۲-۲ ارزیابی کیفی ژل پلی‌آکریل‌آمید درگونه *Nobilis* ۱۰۰
٤-۲-۲-۳- ارزیابی کیفی ژل پلی‌آکریل‌آمید درگونه *Bieberstinii*. ۱۰۰
٤-۲-۲-٤-تنوع درون گونه‌ای ۱۰۱
٤-۲-۲-۵ تنوع بین گونه‌ای ۱۰۱
٤- ۲- ۳ پلی‌مورفیسم ۱۰۹
٤- ۲-٤ الگوی تنوع ۱۰۹
٤- ۲- ۵ الگوی تمایز ۱۱۰
٤- ۲- ۷ تجزیه‌ی واریانس مولکولی (AMOVA) ۱۲۰
بخش٤-۳ نتایج الگوی الکتروفورزی آنزیم‌ها (ایزوزیم‌ها) ۱۲۲
٤-۳-۱ پلی‌مورفیسم سیستم‌های آنزیمی مورد استفاده ۱۲۲
٤-۳-۲ تکثر ژنتیکی ۱۲۵
٤-۳-۳ فراوانی و توزیع آللی ۱۲۵
٤-۳-٤ تنوع ژنتیکی در ۱۵ جمعیت ازسه گونه بومادران ۱۲٦
٤-۳-٤-۱ تعداد مؤثر آلل در لوکوس ۱۲٦

٤-٣-٢ هتروزیگوسیتی ١٢٨
٤-٣-٥ ساختار ژنوتیپی ١٢٨
٤-٣-٦ ساختار و تمایز ژنتیکی ١٢٩
٤-٣-٧ فاصله ژنتیکی بین جوامع ١٣٠
٤-٣-٨ مقایسه جریان ژنی و تمایز ژنتیکی ١٣٠
٤-٣-٩ تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) ١٤٠
بخش٤-٤ تجزیه همبستگی رنگیزه‌ها و صفات‌ژنتیکی و عوامل جغرافیایی در سه گونه از بومادران... ١٤٢
٤-٤-١ همبستگی بین داده‌های کمی و صفات ژنتیکی داده‌های آنزیمی و پروتئینی در سه گونه بومادران با عوامل جغرافیایی ١٤٢
٤-٤-٢ همبستگی بین داده‌های کمی و صفات ژنتیکی داده‌های آنزیمی و پروتئینی ١٤٢
٤-٤ همبستگی بین فاصله صفات ژنتیکی و داده‌های‌کمی(رنگیزه‌ها، عوامل جغرافیایی) در پروتئین و آنزیم سه گونه بومادران : ١٤٥
فصل پنجم ١٥٢
بحث و نتیجه گیری ١٥٢
صفات رنگیزه‌های گیاهی در گونه‌های A. millefolium ، A. bieberstinii و A. Nobilis ١٥٣
٥-١ تنوع و تمایز در صفات رنگیزه‌های گیاهی و درصد رطوبت: ١٥٣
٥-٢ الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های ٢١ جمعیت از سه گونه بومادران : ١٥٤
٥-٣ الگوی الکتروفورزی آنزیم‌ها (ایزوآنزیم‌ها) ١٥ جمعیت از گونه بومادران : ١٥٧
٥-٤ پیشنهادات ١٦٠
فهرست منابع و مأخذ ١٦٢

فهرست اشکال

شکل۲-۱ شمایی از *A. millefolium* ۷

شکل۲-۲ شمایی از *A. nobilis*..... ۸

شکل۲-۳ شمایی از *A. bieberstinii* ۹

شکل ۲-٤ پراکنش سه گونه A. bieberstinii و A. nobilis و A. millefolium درایران..... ۱۰

شکل۳-۱ نقشه پراکنش ۲۱ جمعیت از سه گونه بومادران در ایران..... ۷۳

شکل٤-۱ دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستربه روش UPGMA بر روی ۲۱ جمعیت از سه گونه بومادران..... ۹٦

شکل٤-۲ تصویری از ژل پلی‌آکریل‌آمید با ۱۰ لدر برای تعیین وزن‌مولکولی باندهای پروتئین (چاهک‌های ۱ تا ۳..... ۱۰٦

مربوط به گونه *Bieberstinii* جمعیت *سلماس*، چاهک های ٤ تا ۱۱ مربوط به گونه *Millefolium* جمعیت های کلیبر و سمنان و چاهک های ۱۲ تا ۱۵ مربوط به *گونه Nobilis* جمعیت *رودسر می‌باشد)*..... ۱۰٦

شکل٤-۳ تصویر الکتروفورز پروتئین‌ها (فلش‌ها نشان‌دهنده تنوع درون گونه‌ای می‌باشند) ۱۰۷

شکل٤-۵ نمودار رسته بندی (PCA) ویژگی‌های ژنتیکی ۲۱ جمعیت از سه گونه بومادران براساس فاصله ژنتیکی با استفاده از دو مؤلفه اصلی (مؤلفه اول ۵۲,۹۳٪ و مؤلفه دوم ۱۸,٦۹٪) ۱۱٤

شکل٤-٦ نمودار رسته بندی (PCA) ویژگی‌های ژنتیکی ۱۱ جمعیت از گونه *Millefolium* بر اساس فاصله ژنتیکی با استفاده از دو مؤلفه اصلی (مؤلفه اول ٤٤/٦۳٪ و مؤلفه دوم ۲۱/۸۲٪)..... ۱۱٤

شکل٤-۷ دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستربه روش UPGMA برروی ۲۱ جمعیت از سه گونه بومادران براساس پروتئین‌های کل..... ۱۱۵

شکل٤-۸ تجزیه ۲۱ جمعیت از سه گونه بومادران به روش Neighbor joining..... ۱۱٦

شکل٤-۹ درصد واریانس مولکولی در ۲۱ جمعیت از سه گونه بومادران براساس داده‌های پروتئین . ۱۲۱

شکل٤- ۱۰ درصد واریانس مولکولی در داده‌های پروتئینی در تک گونه *Millef*..... ۱۲۱

شکل٤- ۱۱ الگوی الکتروفورزی ۱۵ جمعیت از سه گونه بومادران بر اساس آیزوزایم..... ۱۲٤

شکل٤-١٢ نمودار رسته‌بندی (PCA) ویژگی‌های ژنتیکی براساس داده‌های آنزیمی در ١٥ جمعیت از سه گونه بومادران براساس فاصله ژنتیکی بااستفاده از دو مؤلفه اصلی (مولفه اول ٥٣,١٧٪، مولفه دوم ٢٥,٩٧٪) ١٣٥

شکل ٤-١٣ دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش UPGMA **بر** روی ١٥ جمعیت از سه گونه بومادران براساس آیزوزایم ها ١٣٥

شکل ٤-١٤ تجزیه ١٥ جمعیت از سه گونه بومادران به روش Neighbor joining..... ١٣٦

شکل ٤-١٥ شمای شباهت ژنتیکی M- کلیبر و M- همدان ١ بوسیله لگاریتم فراوانی آللی موردا ستفاده (ضرایب assignment) ١٣٧

شکل ٤-١٦ شمای شباهت ژنتیکی M- کلیبر و B- اراک بوسیله لگاریتم فراوانی آللی موردا ستفاده (ضرایب assignment) ١٣٧

شکل ٤- ١٧ شمای شباهت ژنتیکی M- گرگان ٢ و B- شاهرود ١ بوسیله لگاریتم فراوانی آللی موردا ستفاده (ضرایب assignment) ١٣٧

شکل ٤-١٨ شمای شباهت ژنتیکی M- گرگان ٢ و N- خلخال بوسیله لگاریتم فراوانی آللی موردا ستفاده (ضرایب assignment) ١٣٨

شکل ٤-٢٠ شمای شباهت ژنتیکی B- اراک و B- شاهرود ٢ بوسیله لگاریتم فراوانی آللی موردا ستفاده (ضرایب assignment) ١٣٨

شکل ٤-٢١شمای شباهت ژنتیکی B- مینودشت و N- خلخال بوسیله لگاریتم فراوانی آللی موردا ستفاده (ضرایب assignment) ١٣٩

شکل ٤-٢٢ شمای شباهت ژنتیکی B- شاهرود ١و N- گرگان ٢ بوسیله لگاریتم فراوانی آللی موردا ستفاده (ضرایب assignment) ١٣٩

شکل ٤-٢٣ شمای شباهت ژنتیکی N- گرگان ١ و N- رودسر بوسیله لگاریتم فراوانی آللی موردا ستفاده (ضرایب assignment) ١٣٩

شکل٤-٢٤ درصد واریانس مولکولی در ١٥ جمعیت از سه گونه بومادران براساس آیزوزایم ها ١٤٠

شکل٤-٢٥ لگاریتم ضریب همبستگی بین ماتریس‌های فاصله ژنتیکی داده‌های پروتئینی و آنزیمی و فاصله جغرافیایی ١٥جمعیت سه گونه ١٤٧

شکل ٤-٢٦ لگاریتم ضریب‌همبستگی بین ماتریس‌های فاصله ژنتیکی داده‌های پروتئینی و داده‌های کمی و فاصله جغرافیایی ٢١جمعیت..... ١٤٨

شکل٤-٢٧ لگاریتم ضریب همبستگی داده‌های آنزیمی و پروتئینی و فاصله جغرافیایی در گونه (*Millefolium*ه جمعیت)..... ١٤٩

شکل ٤-٢٨ لگاریتم ضریب همبستگی داده‌های آنزیمی و پروتئینی و فاصله جغرافیایی در گونه (*Bieberstinii*ه جمعیت)..... ١٥٠

شکل٤-٢٩ لگاریتم ضریب همبستگی داده‌های آنزیمی و پروتئینی و فاصله جغرافیایی در گونه (*Nobilis*ه جمعیت)..... ١٥١

فهرست جداول

جدول(۲-۱)معرفی کلی گروه وگونه بومادران..... ۱۱

جدول (۲-۲) محدوده وزن مولکولی، پروتئین‌های جداشده در درصدهای مختلف ژل پلی‌آکریلامید .. ٤٥

جدول ۳-۱ منشأ و مشخصات جمعیت ها..... ۷۱

جدول ۳-۲ ویژگی‌های آب و هوایی ۲۱ جمعیت بومادران (طی سال های ۱۹۹۵ تا ۲۰۰۵)..... ۷۲

جدول ٤- ۱ خلاصه‌ی تجزیه‌ی واریانس و سطح معنی‌دار بودن میانگین مربعات برای صفات مورد بررسی در ۲۱ جمعیت از سه گونه‌ی بومادران..... ۹۰

جدول ٤- ۲ مقایسه‌ی میانگین ۲۱ جمعیت از سه گونه‌ی بو مادران براساس آزمون دانکن ۹٤

جدول ٤- ۳ ماتریکس برآورد فاصله‌ی اقلیدسی ۲۱ جمعیت از سه گونه‌ی بومادران براساس داده‌های کمی..... ۹۷

جدول ٤-٤ درصد حرکت نسبی و وزن مولکولی ۳٤ باند پروتئین‌های سه گونه از جنس بومادران.. ۱۰۲

جدول ٤-٥ فراوانی باندهای ۲۱ جمعیت از سه گونه‌ی بومادران براساس پروتئین‌های کل ۱۰٤

شکل٤-٤تصویر الکتروفورز پروتئین‌ها (فلش‌ها نشان‌دهنده تنوع بین گونه‌ای می‌باشد)..... ۱۰۸

جدول ٤- ٦ برخی پارامترهای تنوع ژنتیکی (فراوانی باندهای پروتئینی) ۲۱ جمعیت از سه گونه بومادران..... ۱۱۲

جدول ٤- ۷ ماتریس برآورد نا اریب فاصله‌های ژنتیکی ۲۱ جمعیت از سه گونه بومادران (NEI)..... ۱۱۳

جدول ٤- ۸ تمایز ژنتیکی ۲۱ جمعیت از سه گونه‌ی بومادران براساس پروتئین‌های کل ۱۱۸

جدول ٤- ۹ . جریان ژنی در ۲۱ جمعیت از سه گونه‌ی بومادران براساس پروتئین‌های کل..... ۱۱۹

جدول ٤- ۱۰ AMOVA داده‌های پروتئین‌های کل ۲۱ جمعیت از سه گونه بومادران..... ۱۲۰

جدول ٤-۱۱ تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) در گونه *Millefolium*..... ۱۲۰

جدول (٤-۱۲). فراوانی باندها در ۱۰ جمعیت از گونه‌ی بومادران براساس آنزیم پراکسیداز ۱۲۳

جدول ٤-۱۳ تکثر ژنتیکی (Na= تعداد آلل، Ne= تعداد موثر آلل، Nr = آلل نادر، Ho= هتروزیگوسیتی مشاهده شده) در ۱۵ جمعیت از سه گونه بومادران براساس داده‌های آنزیمی..... ۱۲۷

جدول ٤-١٤ هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوستی مورد انتظار (He)، ضریب خویش آمیزی (Fis)، تمایز کل (Fit)، جریان ژنی (Nm) در ۱۰ جمعیت از ۳ گونه بومادران براساس داده‌های آنزیمی ۱۳۰

جدول ٤-١٥ ماتریس برآورد نااریب فاصله‌ی ژنتیکی (NIE) در میان ۱۵ جمعیت از سه گونه‌ی بومادران براساس داده های آنزیمی..... ۱۳۳

جدول ٤-١٦ ماتریس برآورد تمایز ژنتیکی (FST) (زیر محور) و جریان ژنی (MN) (بالای محور) در ۱۵جمعیت از سه گونه‌ی بومادران بر اساس داده های آنزیمی ۱۳٤

جدول ٤-١٧ AMOVA داده‌های آنزیم‌های گیاهی ۱۵ جمعیت ازسه گونه‌ی بو مادران براساس آیزوزایم‌ها..... ۱٤۰

جدول ٤-١٨شباهت درون جمعیتها و شباهت با دیگر جمعیت‌ها..... ۱٤۱

جدول ٤-١٩ همبستگی بین داده‌های کمی و داده‌های آنزیمی و پروتئینی در سه گونه بومادران با عوامل جغرافیایی ۱٤۳

جدول٤-٢٠ همبستگی داده های کمی و داده های پروتئینی وداده های آنزیمی درسه گونه بومادران. ۱٤٤

مقدمه

گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین بهداشت و سلامتی جوامع هم به لحاظ درمان و هم پیش‌گیری از بیماری‌ها برخوردار بوده و هستند. این بخش از منابع طبیعی قدمتی همپای بشر داشته و یکی از مهم‌ترین منابع تأمین غذایی و دارویی بشر در طول نسل‌ها بوده‌اند. درحال حاضر، ۲۵٪ از داروهای موجود، منشاء گیاهی دارند و ۱۲٪ داروها نیز از منابع میکروبی ساخته شده‌اند. پتانسیل تولید داروهای گیاهی در طبیعت بسیار بالاست. بومادران (*Achillea*)، گیاهی دارویی، متعلق به گروه گیاهان دولپه واز تیره کاسنی (Asteracea) می‌باشد. گیاهی است چند ساله، پایا با ارتفاع ۹۰- ۲۰ سانتی‌متر و گاهی بیشتر که به‌طور خودرو در دشت‌ها، کنار جاده‌ها و نواحی کوهستانی می‌روید. دارای ساقه‌ای ساده، برگ‌هایی با رنگ سبز تیره، بدون دمبرگ، دراز، پوشیده از کرک و منقسم به بریدگی‌های بسیار باریک است. کاپیتوس‌های کوچک و متعدد آن که به طول ٤ تا ٨ میلی‌متر و به عرض ٥- ٢ میلی‌متر می‌باشد وضع مجتمع به‌صورت گل آذین دیهیم در قسمت‌های انتهایی ساقه دارد. گل های آن بیشتر سفید است، میوه آن فندقه و وزن هزار دانه آن ۰/۱۵ گرم است. بومادران دارای مواد تلخ و اسانس‌های فرار است که این مواد خاصیت ضد التهاب و ضد اسپاسم دارند و ترشحات معده را تحریک می‌کنند مصرف مقدار زیاد آن سبب سردرد و سرگیجه می‌شود[1]. جنس بومادران دارای ۱۰۰ گونه در جهان است که این گونه‌ها در اروپا، ترکیه، ایران، روسیه مرکزی، قفقاز، آسیای مرکزی، جنوب‌غربی سیبری، افغانستان، پاکستان، عراق، سوریه، لبنان و فلسطین می‌رویند. جنس بومادران در ایران دارای ٤ بخش، ١٩ گونه، ٦ زیر گونه و ٢ واریته است که از این ١٩ گونه تاکنون، ٧ گونه انحصاری ایران معرفی شده‌است. شناخت خواص دارویی و شرایط استقرار گیاهان دارویی در مناطق مختلف در اولویت فعالیت‌های تحقیقاتی کشور قرار دارد. با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در درمان، لزوم شناسایی عوامل مؤثر در افزایش کمی و کیفی

1 Mysie

پروتئین‌ها اهمیت به‌سزایی دارد. با ترکیب روش‌های مناسب و عملی زراعی و بهبود ژنتیک واریته‌های زراعی، به‌طور تصاعدی با افزایش عملکرد و محصول کیفیت آن مواجه خواهیم شد. اساس تحقیقات به‌نژادی گیاهان بر پایه‌ی تنوع ژنتیکی استوار است. در واقع بدون دسترسی به چنین تنوعی اصلاح‌گر شانس موفقیت چندانی برای ایجاد و ارائه ارقام اصلاح‌شده جدید نخواهد داشت. منابع ژنتیکی گیاهان علاوه بر نقش زیربنایی برای تولید ارقام جدید، به‌عنوان سازگاری ژنتیکی در برابر تغییرات محیطی حائز اهمیت می‌باشند (عبدمیشانی و شاه‌نجات بوشهری، ۱۳٦۷). ازطرفی زیربنای هر برنامه‌ی اصلاحی از طریق پارامترهای ژنتیکی پی‌ریزی می‌گردد؛ بنابراین آگاهی از ماهیت ژنتیکی ژنوتیپ‌ها و اطلاع از نحوه‌ی عمل ژن‌های مربوطه برای برنامه‌ریزی‌های به‌نژادی ضروری است (فهر[1]، ۱۹۸۷). قبل از اجرای یک برنامه درازمدت اصلاحی به‌طور معمول مطالعات ژنتیکی صورت می‌گیرد. اطلاعاتی درمورد مقدار و ماهیت تنوع ژنتیکی و همبستگی بین صفات لازم است تا یک برنامه مؤثر نظیر گزینش یا تلاقی برای اصلاح یک رقم اجرا گردد. برای بررسی تنوع ژنتیکی از نشانگرهای متفاوتی استفاده می‌شود که عبارتند از :

– نشانگرهای مورفولوژیکی مثل ارتفاع گیاه، تعداد پنجه، محیط طوقه و. . . .

– نشانگرهای سیتوژنتیک مولکولی و. . . .

– نشانگرهای بیوشیمیایی مثل ایزوآنزیم‌ها، باندهای پروتئینی.

-نشانگرهای مولکولی RFLP ، RAPD

1 Fehr