بسم الله الرحمن الرحيم

این تحقیق با همکاری

مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

وابسته به سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی وزارت جهاد کشاورزی

انجام گردیده است.

دانشگاه پیام نور

دانشکده زیست شناسی و علوم کشاورزی

مرکز تهران

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی علوم گیاهی

گروه علمی زیست شناسی

مطالعه جمعیتهایی از گز روغنی موجود در کشور بر اساس ویژگی های کاریوتیپی و پروتئین های ذخیره ای بذر

زینب نظری

استاد راهنما

دکتر حسین میرزایی ندوشن

استاد مشاور

دکتر غلامرضا بخشی خانیکی

شهریور ۹۰

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این

سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است

به پاس قلب های بزرگشان که فریادرس است و سرگردانی

و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید

و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

این مجموعه را به

پدر و مادر عزیزم

تقدیم می کنم

سپاسگذاری

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت.

و با سپاس از سه وجود مقدس:

آنان که ناتوان شدند تا ما به توانایی برسیم...

موهایشان سپید شد تا ما روسفید شویم...

و عاشقانه سوختند تا گرمابخش وجود ما و روشنگر راهمان باشند...

پدرانمان ، مادرانمان و استادانمان

از استاد گرانقدر و باتقوا، جناب آقای دکتر حسین میرزایی ندوشن که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و نه تنها مرا در مسیر پایان نامه راهنمایی و هدایت نمودند، بلکه بعنوان الگویی برای اینجانب در تفکر علمی و رفتار حرفه ای قرار گرفتند، صمیمانه سپاسگزارم.

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر بخشی خانیکی که در اجرای این پروژه از هیچ راهنمایی دریغ نکردند، کمال تشکر را دارم.

از استاد بسیار عزیزم سرکار خانم مهندس فرشته اسدی کرم که در طول اجرای این پروژه با راهنمایی ها و یاری های بی چشمداشت علمی و عملی، و با کمال صبر و شکیبایی همواره در کنارم بودند و بسیاری از سختیها را برایم آسانتر نمودند، بی نهایت سپاسگزارم.

از کلیه اعضاء محترم گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی:

جناب آقای دکتر عباس قمری زارع (رییس محترم گروه)، سرکار خانم مهندس میرجانی (مسئول محترم آزمایشگاه سیتوژنتیک)، سرکار خانم مهندس شریعت، سرکار خانم مهندس شهرزاد (مسئول محترم آزمایشگاه کشت بافت) و سرکار خانم قدردان که از هیچ لطفی مرا بی بهره ننمودند، بسیار مسپاسگزارم.

از دوستان عزیزم خانم ها سارا مقصومی و هاجر شریف زاده عزیز، که در این مسیر صمیمانه یاریم نمودند، متشکرم.

از صمیمی ترین و مهربان ترین حامیانم ، پدر، مادر، همسر و برادران عزیزم که لحظه ای از اینجانب غافل نبودند، از صمیم قلب سپاسگزارم و سلامتی، شادی و موفقیت روزافزونشان را از درگاه ایزد منان خواستارم.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده ۱

مقدمه ۲

بخش اول: کلیات

۱-۱ تاریخچه جنس مورینگا ۸

۱-۱-۱ تاریخچه گونه گز روغنی در ایران ۱۰

۱-۱-۱-۱ گز روغنی در ادبیات کهن ۱۲

۱-۲ اختصاصات کلی ۱۳

۱-۳ گونه‌های موجود در ایران ۱۵

۱-٤ نام‌های دیگر گز روغنی ۱۵

۱-۵ شرح گونه گز روغنی (*Moringa peregrina*) ۱٦

۱-٦ پراکنش و زیستگاه سرده ۱۸

۱-٦-۱ پراکنش گونه ۱۹

۱-٦-۱-۱ پراکنش جغرافیایی در ایران ۱۹

۱-۷ کاربردها و اهمیت اقتصادی ۲۰

۱-۷-۱ صنایع غذایی ۲۰

۱-۷-۲ صنایع دارویی ۲۳

۱-۷-۲-۱ خواص دارویی بخشهای مختلف مورینگا ۲٤

۱-۷-۲-۲ خواص کلی مورینگا ۲۷

۱-۷-۳ صنایع آرایشی و بهداشتی و عطرسازی ۲۸

۱-۷-٤ صنایع کشاورزی و دامداری ۲۹

۱-۷-۵ پرورش زنبور عسل ۳۰

۱-۷-٦ صنایع خودروسازی، دستگاه‌های صنعتی و ساعت سازی ۳۰

۱-۷-۷ تصفیه آب ۳۱

۱-۷-۸ صنایع چرم سازی و رنگرزی ۳۲

۱-۷-۹ صنایع چوب و کاغذ ۳۲

۱-۷-۱۰ سوخت و تولید گاز زیستی ۳۲
۱-۷-۱۱ سم شناسی ۳۳

بخش دوم: بررسی منابع

۲-۱ مطالعات کاریوتیپی ۳۵
۲-۱-۱ کاریوتیپ ۳۵
۲-۱-۲ کاربرد کاریوتیپ ۳۶
۲-۱-۳ تقارن کاریوتیپ ۳۶
۲-۱-۳-۱ کاریوتیپ متقارن ۳۶
۲-۱-۳-۲ کاریوتیپ نامتقارن ۳۷
۲-۱-۳-۳ کاریوتیپ دوشکلی ۳۷
۲-۱-٤ روش‌های اندازه گیری تقارن کاریوتیپی ۳۷
۲-۱-٤-۱ روش جدول دو طرفه استبینز ۳۷
۲-۱-٤-۲ روش رومروزارکو ۳۸
۲-۱-٤-۳ درصد فرم کلی کاریوتیپ (TF٪) ۳۹
۲-۱-٤-٤ درصد شکل کروموزوم (F٪) ۳۹
۲-۱-٤-٥ طول نسبی کروموزوم (RL) ۳۹
۲-۱-٤-٦ طول نسبی کوتاه ترین کروموزوم (S٪) ۳۹
۲-۱-٤-۷ اختلاف طول نسبی حداقل و حداکثر (DRL) ٤۰
۲-۱-٤-۸ نسبت طول بازوی کوتاه به بازوی بلند (Arm ratio) ٤۰
۲-۱-٤-۹ نسبت طول بازوی بلند به بازوی کوتاه (r-value) ٤۰
۲-۱-٤-۱۰ ضریب تغییرات (CV) ٤۰
۲-۱-٥ نامگذاری کروموزوم‌ها بر اساس روش لوان ٤۱
۲-۱-٦ حجم کروموزوم‌ها ٤۱
۲-۱-۷ کاربرد روش‌های آماری چند متغیره در مطالعات کاریوتیپی ٤۱
۲-۱-۷-۱ تجزیه واریانس ٤۲
۲-۱-۷-۲ مقایسه میانگین‌ها ٤۲
۲-۱-۷-۲-۱ آزمون کمترین اختلاف معنی دار ٤۳
۲-۱-۷-۲-۲ آزمون چند دامنه ای دانکن ٤۳
۲-۱-۷-۳ تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ٤۳

۲-۱-۷-٤ تجزیه خوشه ای ٤٤
۲-۱-۷-٤-۱ انواع روش‌های تجزیه خوشه ای ٤٤
۲-۱-۷-٤-۲ اندازه گیری فاصله‌ها ٤٦
۲-۱-۷-٤-۳ تجزیه به مؤلفه‌های اصلی به همراه تجزیه خوشه ای ٤٧
۲-۱-۸ بررسی منابع مواد و روشهای مطالعات سیتولوژیکی ٤٧
۲-۱-۸-۱ جوانه دار کردن بذور ٤٧
۲-۱-۸-۲ مرحله پیش تیمار ٤٨
۲-۱-۸-۲-۱ آلفا برومونفتالین ٤٨
۲-۱-۸-۲-۲ کلشی سین ٤٨
۲-۱-۸-۲-۳ ۸- هیدروکسی کینولئین ٤٩
۲-۱-۸-۲-٤ پارادی کلروبنزن (PDB) ٤٩
۲-۱-۸-۳ مرحله تثبیت ٤٩
۲-۱-۸-۳-۱ محلول کارنوی ٥٠
۲-۱-۸-۳-۲ محلول فارمر ٥٠
۲-۱-۸-۳-۳ محلول لویتسکی ٥٠
۲-۱-۸-٤ نگهداری ٥٠
۲-۱-۸-٥ هیدرولیز ٥٠
۲-۱-۸-٥-۱ اسید کلریدریک یک نرمال ٥١
۲-۱-۸-٥-۲ هیدروکسید سدیم یک نرمال ٥١
۲-۱-۸-٦ رنگ‌آمیزی ٥١
۲-۱-۸-٦-۱ استو آیرون هماتوکسیلین ٥٢
۲-۱-۸-٦-۲ هماتوکسیلین دلافیلد ٥٢
۲-۱-۸-٦-۳ استوکارمن (کارمین) ٥٢
۲-۱-۸-٦-٤ فولگن ٥٢
۳-۱-۸-٦-٥ اورسئین استیک ۲٪ ٥٣
۲-۲ مطالعات الکتروفورزی ٥٤
۲-۲-۱ تاریخچه استفاده از الکتروفورز ٥٤
۲-۲-۲ استفاده از الکتروفورز در بررسی تنوع ژنتیکی ٥٤
۲-۲-۳ الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر ٥٤
۲-۲-٤ کاربرد داده‌های الکتروفورزی در مطالعات طبقه‌بندی ٥٦

۲-۲-٤-۱ مطالعات درون جمعیتی ٥٦
۲-۲-٤-۲ تنوع در بین جمعیت‌های یک گونه ٥٦
۲-۲-٤-۳ تنوع بین گونه‌ای و کاربرد تاکسونومیک ٥٦
۲-۲-٤-٤ پروفیل‌های پروتئین بذر و مطالعه دورگ‌ها و پلی‌پلوئیدها ٥٦
۲-۲-٥ اصول الکتروفورز ٥٧
۲-۲-٦ انواع الکتروفورز ٥٩
۲-۲-٦-۱ الکتروفورز ژل آکریل‌آمید ٥٩
۲-۲-٦-۲ الکتروفورز ژل آگار ٥٩
۲-۲-٦-۳ الکتروفورز ژل نشاسته ٥٩
۲-۲-٦-٤ الکتروفورز کاغذی ٦٠
۲-۲-٦-٥ الکتروفورز استات سلولز ٦٠
۲-۲-۷ سیستم‌های بافری ٦٠
۲-۲-۸ نقش عمل تثبیت ٦١
۲-۲-۹ رنگ‌آمیزی ٦١
۲-۲-۱۰ شناسایی باندها ٦١

بخش سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱ مواد و روشهای مطالعات مورفولوژیکی ٦٤
۳-۱-۱ جوانه دار کردن بذور ٦٤
۳-۱-۱-۱ جوانه‌دار کردن بذور نارس با استفاده از کشت بافت ٦٤
۳-۱-۱-۲ جوانه‌دار کردن بذور رسیده در پتری‌دیش ٦٦
۳-۱-۱-۳ مطالعه صفات مورفولوژیکی ٦٦
۳-۱-۱-٤ تجزیه همبستگی‌های فنوتیپی ٦٧
۳-۱-۱-٥ تجزیه واریانس داده‌های مورفولوژیکی ٦٧
۳-۱-۱-٦ دسته‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف با استفاده از روش دانکن ٦٧
۳-۱-۱-۷ تجزیه داده‌های مورفولوژیکی به مؤلفه‌های اصلی ٦٧
۳-۲ مواد و روش‌های مطالعات کاریوتیپی ٦٨
۳-۲-۱ جمع‌آوری نمونه‌های بذر ٦٨
۳-۲-۲ جوانه‌دار کردن بذور ٦٨
۳-۲-۳ مرحله پیش تیمار ٦٩

۳-۲-٤ مرحله تثبیت ٦٩
۳-۲-٥ نگهداری ٦٩
۳-۲-٦ هیدرولیز ٦٩
۳-۲-۷ رنگ‌آمیزی ۷۰
۳-۲-۸ تهیه و مطالعه نمونه میکروسکوپی ۷۰
۳-۲-۸-۱ له کردن ریشه‌ها ۷۰
۳-۲-۸-۲ بررسی میکروسکوپی ۷۰
۳-۲-۸-۳ تهیه عکس از نمونه‌ها ۷۱
۳-۲-۸-٤ اندازه گیری کروموزوم‌ها ۷۱
۳-۲-۹ تجزیه و تحلیل کاریوتیپی ۷۱
۳-۲-۹-۱ تجزیه واریانس ۷۱
۳-۲-۹-۲ دسته بندی میانگین‌ها ۷۱
۳-۲-۹-۳ پارامترهای سنجش تقارن کاریوتیپی ۷۲
۳-۲-۹-٤ تجزیه کاریوتیپی با استفاده از روشهای آماری چند متغییره ۷۲
۳-۲-۹-٥ رسم ایدیوگرام کاریوتیپ‌ها ۷۲
۳-۳ مواد و روشهای مطالعات الکتروفورزی ۷۳
۳-۳-۱ دستورالعمل تهیه محلول‌های مورد نیاز ۷۳
۳-۳-۱-۱ تهیه بافر استخراج ۷۳
۳-۳-۱-۲ تهیه بافر نمونه ۷۳
۳-۳-۱-۳ تهیه بافر الکترود ۷٤
۳-۳-۱-٤ تهیه محلول ژل جداکننده یا زیرین ۷٤
۳-۳-۱-٥ تهیه بافر ژل جداکننده ۷٤
۳-۳-۱-٦ تهیه محلول ژل توده‌کننده یا ژل بالایی ۷٤
۳-۳-۱-۷ تهیه بافر ژل توده‌کننده ۷٥
۳-۳-۱-۸ تهیه محلول آمونیوم پرسولفات ۷٥
۳-۳-۱-۹ تهیه محلول تمد ۷٥
۳-۳-۱-۱۰ تهیه محلول رنگ‌آمیزی ژل ۷٥
۳-۳-۱-۱۱ تهیه محلول رنگ بر ژل ۷٥
۳-۳-۱-۱۳ تهیه محلول تثبیت‌کننده ۷٥
۳-۳-۲ انجام الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر ۷٦

۳-۳-۲-۱ استخراج پروتئین ۷٦
۳-۳-۲-۲ تعیین غلظت پروتئین‌های مجهول ۷٦
۳-۳-۲-۳ تعیین وزن مولکولی پروتئین‌های مجهول ۷۷
۳-۳-۲-٤ آماده‌سازی ژل‌ها ۷۷
۳-۳-۲-۵ آماده‌سازی پروتئین ۷۷
۳-۳-۲-٦ راندن پروتئین‌ها در ژل ۷۸
۳-۳-۲-۷ بیرون آوردن ژل از دستگاه ۷۸
۳-۳-۲-۸ تثبیت رنگ پروتئین‌ها ۷۸
۳-۳-۲-۹ رنگ‌بری ژل ۷۹
۳-۳-۲-۱۰ تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از الکتروفورز ۷۹

بخش چهارم: نتایج و بحث

٤-۱ نتایج و بحث حاصل از مطالعات مورفولوژیکی ۸۱
٤-۱-۱ نتایج حاصل از تولید گیاهچه از طریق کشت بافت ۸۱
٤-۱-۲ نتایج حاصل از تولید گیاهچه از طریق کاشت مستقیم بذر در پتری‌دیش ۸٤
٤-۱-۳ تجزیه واریانس داده‌های مورفولوژیکی ۹۰
٤-۱-٤ دسته بندی ژنوتیپ‌های مختلف با استفاده از روش دانکن ۹۰
٤-۱-۵ تجزیه همبستگی‌های فنوتیپی ۹۱
٤-۱-٦ تجزیه داده‌های مورفولوژیکی به مؤلفه‌های اصلی ۹۲
٤-۲ نتایج و بحث حاصل از مطالعات کاریوتیپی ۹۵
٤-۲-۱ نتایج حاصل از شمارش کروموزوم‌ها ۹۵
٤-۲-۲ تجزیه واریانس داده‌های کاریوتیپی ۹٦
٤-۲-۳ دسته بندی جمعیت‌ها با استفاده از مقایسه میانگین‌ها ۹۸
٤-۲-٤ دسته بندی کروموزوم‌ها با استفاده از مقایسه میانگین‌ها ۱۰۰
٤-۲-۵ تجزیه و تحلیل خصوصیات کروموزومی ۱۰۱
٤-۲-٦ تقارن کاریوتیپی ۱۰۳
٤-۲-۷ دسته بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از جدول دو طرفه استیبنز ۱۰٦
٤-۲-۸ دسته بندی ژنوتیپ‌ها با روش رومروزارکو ۱۰۷
٤-۲-۹ عکسبرداری و رسم ایدیوگرام‌ها ۱۰۹
٤-۲-۱۰ تجزیه خوشه‌ای داده‌های کاریوتیپی ۱۲۲

٤-٣ نتایج و بحث حاصل از مطالعات الکتروفورزی ١٢٤
٤-٤ نتیجه‌گیری کلی ١٣١
٥. پیشنهادات ١٣٥
٦. پیوست ١٣٦
فهرست منابع ١٥١
Abstract ١٦٣

فهرست جداول

جدول ۱-۱: ارزش غذایی برگ و غلاف مورینگا در هر ۱۰۰ گرم از بخش‌های خوراکی ۲۲
جدول ۲-۱: جدول دسته‌بندی دو طرفه استبینز ۳۷
جدول ۲-۲: نامگذاری کروموزوم‌ها بر اساس روش لوان ٤۱
جدول ۳-۱: ترکیب مواد مورد استفاده در محلول‌های پایه هوگلند جهت رشد نهال‌های گز روغنی ٦٥
جدول ۳-۲. غلظت‌های مختلف مورد استفاده از محلول‌های پایه ٦٥
جدول ۳-۳: مناطق و کد اختصاری نمونه‌های مورد مطالعه مورفولوژیکی از گونه *M. peregrina* ٦٦
جدول ۳-٤: مناطق و کد اختصاری نمونه‌های مورد مطالعه سیتوژنتیکی از گونه *M. peregrina* ٦٨
جدول ۳-٥: مناطق و کد اختصاری نمونه‌های مورد مطالعه الکتروفورزی از گونه *M. peregrina* ۷۳
جدول ٤-۱: میانگین مربعات (MS) حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مورفولوژیکی جمعیت‌های مختلف گز روغنی ۹۰
جدول ٤-۲: دسته‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف گز روغنی بر مبنای میانگین ویژگی‌های مورفولوژیکی با استفاده از روش دانکن ۹۱
جدول ٤-۳: همبستگی دوگانه صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه ۹۲
جدول ٤-٤: ویژگیهای مؤلفه‌های حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۹۳
جدول ٤-٥: مؤلفه‌های حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و سهم صفات مختلف در تشکیل این مؤلفه‌ها ۹۳
جدول ٤-٦: نتایج حاصل از شمارش کروموزومی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گز روغنی ۹٥
جدول ٤-۷: میانگین مربعات (MS) حاصل از تجزیه واریانس داده‌های کاریوتیپی ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌های مختلف گز روغنی بر مبنای مدل آشیانه‌ای ۹۷
جدول ٤-۸: میانگین مربعات (MS) حاصل از تجزیه واریانس داده‌های کاریوتیپی جمعیت‌های مختلف گز روغنی بر مبنای مدل فاکتوریل و لحاظ کردن کروموزوم‌ها و جمعیت‌ها به عنوان فاکتورهای اصلی مورد مقایسه ۹۸
جدول ٤-۹: دسته‌بندی جمعیت‌های مختلف گز روغنی بر مبنای میانگین ویژگی‌های کاریوتیپی با استفاده از روش دانکن ۱۰۰
جدول ٤-۱۰: دسته‌بندی کروموزوم‌های مورد مطالعه جمعیت‌های مختلف گز روغنی بر مبنای ویژگی‌های کاریوتیپی با استفاده از روش دانکن ۱۰۱
جدول ٤-۱۱: مشخصات کروموزومی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از گز روغنی در مناطق مختلف ۱۰۳

جدول ٤-١٢: ویژگی‌های کاریوتیپی و پارامترهای سنجش تقارن کاریوتیپی جمعیت‌های مختلف گز روغنی ١٠٥
جدول٤-١٣: ویژگی‌های کاریوتیپی و پارامترهای سنجش تقارن کاریوتیپی ژنوتیپها در جمعیت‌های مختلف گز روغنی ١٠٦

جداول آمده در پیوست:

جدول ١: خصوصیات کروموزومی ژنوتیپ های مورد مطالعه ١٣٧
جدول ٢ : خصوصیات کروموزومی جمعیت های مورد مطالعه ١٤٦
جدول ٣: کدبندی باندهای مختلف موجود در ژل الکتروفورز گز روغنی (باندهای ١ تا ٢٠) ١٤٨
جدول ٤: کدبندی باندهای مختلف موجود در ژل الکتروفورز گز روغنی (باندهای ٢٠ تا ٤١) ١٤٩

فهرست شکل‌ها

شکل ٤-١: نمای کلی بذرهای کشت شده و وضعیت جوانه زنی در منطقه پوغونزی ٨٢
شکل ٤-٢: نمونه‌های کشت بافتی سازگار شده در محیط گلخانه مربوط به ژنوتیپ P4 ..... ٨٣
شکل ٤-٣: رشد گیاهچه‌های تولید شده در محیط کشت دارای آلودگی قارچی و توانایی بالای این بذرها در تولید کالوس ٨٣
شکل ٤-٤: جوانه زنی بذرهای رسیده و سیاه رنگ و عدم رویش بذور نارس و سفید متمایل به سبز رنگ؛ تولید کالوس به علت افزایش فعالیت جنین در بذور نارس ٨٦
شکل ٤-٥: تشکیل ریشه چه فراوان پس از نمونه‌گیری و قطع ریشه ، تولید انحصاری ریشه در یک بذر پس از نمونه گیری و قطع اولیه ریشه و بدون تولید برگ ٨٦
شکل ٤-٦: ایجاد برگ و ادامه رشد پس از قطع ریشه، بدون تولید ریشه و ریشه چه ٨٧
شکل ٤-٧: تشکیل ریشه غده مانند در بذر مورینگا ٨٧
شکل ٤-٨: ادامه رشد در مورینگا پس از خشک شدن بخش‌های هوایی به علت وجود ریشه غده مانند ٨٧
شکل ٤-٩: نمای کلی از نمونه‌های مورد مطالعه مورفولوژیکی ٨٨
شکل ٤-١٠: مقایسه فرم برگ‌های نمونه‌های کشت بافتی و نمونه‌هایی که بطور طبیعی کاشته شدند ٨٨
شکل ٤-١١: وضعیت نهال‌های یک ماهه مربوط به مناطق چانف، پوغونزی و گرهون ٨٩
شکل ٤-١٢: دیاگرام پراکنش جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس پارامترهای A1 و A2 ..... ١٠٨
شکل ٤-١٣: دیاگرام پراکنش ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس پارامترهای A1 و A2 ..... ١٠٨
شکل ٤-١٤: ژنوتیپ ٢ از منطقه چانف ١١٠
شکل ٤-١٥: ژنوتیپ ١ از منطقه چانف ١١٠
شکل ۴-١۶: ژنوتیپ ۵ از منطقه چانف ١١٠
شکل ٤-١٧: ژنوتیپ ٣ از منطقه چانف ١١٠
شکل ٤-١٨: ژنوتیپ ٢ از منطقه پوغونزی ١١١
شکل ٤-١٩: ژنوتیپ ٢ از منطقه پوغونزی ١١١
شکل ٤-٢٠: ژنوتیپ ٣ از منطقه پوغونزی ١١١
شکل ٤-٢١: ژنوتیپ ١ از منطقه پوغونزی ١١٢
شکل ٤-٢٢: ژنوتیپ ١ از منطقه پوغونزی ١١٢
شکل ٤-٢٣: ژنوتیپ ١ از منطقه پوغونزی ١١٢
شکل ٤-٢٤: ژنوتیپ ۵ از منطقه پوغونزی ١١٣
شکل ٤-٢۵: ژنوتیپ ۵ از منطقه پوغونزی ١١٣

شکل ٤-٢٦: ژنوتیپ ٥ از منطقه پوغونزی، آنیوپلوئیدی با ٣٢ و ٤٢ کروموزوم ١١٤
شکل ٤-٢٧: سلولهای مربوط به ژنوتیپ ٥ از منطقه پوغونزی، آنیوپلوئیدی ١١٤
شکل ٤-٢٨: سلولهای مربوط به ژنوتیپ ١ از منطقه گرهون. ١١٥
شکل ٤-٢٩: سلولهای مربوط به ژنوتیپ ٢ از منطقه گرهون ١١٥
شکل ٤-٣٠: سلولهای مربوط به ژنوتیپ ١ از منطقه جنوب سیستان ١١٦
شکل ٤-٣١: ژنوتیپ ٢ از منطقه جنوب سیستان ١١٧
شکل ٤-٣٢: ژنوتیپ ١ از منطقه بنت ١١٧
شکل ٤-٣٣: ژنوتیپ ١ از منطقه کنشکی ١١٨
شکل ٤-٣٤: ژنوتیپ ١ از منطقه کنشکی با ٣٢ ، و ٢٥ کروموزوم ١١٨
شکل ٤-٣٥ : ایدیوگرام ژنوتیپ ١ چانف ١١٩
شکل ٤-٣٦: ایدیوگرام ژنوتیپ ٢ چانف ١١٩
شکل ٤-٣٧: ایدیوگرام ژنوتیپ ٣ چانف ١١٩
شکل ٤-٣٨: ایدیوگرام ژنوتیپ ٤ چانف ١١٩
شکل ٤-٣٩: ایدیوگرام ژنوتیپ ٥ چانف ١١٩
شکل ٤-٤٠: ایدیوگرام ژنوتیپ ٦ چانف ١١٩
شکل ٤-٤١: ایدیوگرام ژنوتیپ ١ پوغونزی ١٢٠
شکل ٤-٤٢: ایدیوگرام ژنوتیپ ٢ پوغونزی ١٢٠
شکل ٤-٤٣: ایدیوگرام ژنوتیپ ٣ پوغونزی ١٢٠
شکل ٤-٤٤: ایدیوگرام ژنوتیپ ٤ پوغونزی ١٢٠
شکل ٤-٤٥: ایدیوگرام ژنوتیپ ٥ پوغونزی ١٢٠
شکل ٤-٤٦: ایدیوگرام ژنوتیپ ١ گرهون ١٢١
شکل ٤-٤٧: ایدیوگرام ژنوتیپ ٢ گرهون ١٢١
شکل ٤-٤٨: ایدیوگرام ژنوتیپ ١ جنوب سیستان ١٢١
شکل ٤-٤٩: ایدیوگرام ژنوتیپ ٢ جنوب سیستان ١٢١
شکل ٤-٥٠: ایدیوگرام ژنوتیپ ١ کنشکی ١٢١
شکل ٤-٥١: ایدیوگرام ژنوتیپ ١ بنت ١٢١
شکل ٤-٥٢: دندروگرام حاصل از دادههای کاریوتیپی ١٢٢
شکل ٤-٥٣: باندهای پروتئینی حاصل از الکتروفورز پروتئینهای ذخیرهای بذر، ژل ١..... ١٢٨
شکل ٤-٥٤: باندهای پروتئینی حاصل از الکتروفورز پروتئینهای ذخیرهای بذر، ژل ٢ ..... ١٢٩
شکل ٤-٥٥: دندروگرام حاصل از الکتروفورز پروتئینهای ذخیرهای بذر ١٣٠

چکیده

گز روغنی (*Moringa peregrina*) یکی از گونه‌های با ارزش درختچه‌ای و فراموش شده‌ای است که در مناطقی از جنوب شرقی کشور ما رویش دارد و ارزش داروئی، صنعتی و غذایی زیادی برای آن ذکر شده است. به رغم اهمیت زیادی که این گونه از منظرهای مختلف دارد تا کنون از نظر ویژگی‌های مختلف زیستی از جمله ویژگی‌های کاریوتیپی مورد توجه کافی قرار نگرفته است. از این رو مطالعات سیتوژنتیکی با استفاده از بررسی تقسیم میتوز و شمارش و اندازه گیری طول بازوهای کوتاه و بلند کروموزومی در حداقل ٤ سلول متافازی از ١٧ ژنوتیپ از ٦ جمعیت مختلف گز روغنی موجود در کشور صورت گرفته و براساس اطلاعات بدست آمده، طول کل کروموزوم، نسبت طول بازوهای کوتاه به بلند و بالعکس محاسبه گردید. آماره‌های متعددی جهت سنجش تقارن کاریوتیپی ژنوتیپ‌ها نیز محاسبه شده و با استفاده از روش لوان فرمول کاریوتیپی هر ژنوتیپ تعیین گردیده همچنین ژنوتیپ‌ها با استفاده از جدول دوطرفه استبینز دسته‌بندی شدند. ایدیوگرام مربوط به هر ژنوتیپ نیز رسم گردید.

بر روی داده‌های حاصل از صفات کاریوتیپی تجزیه واریانس در قالب طرح فاکتوریل در طرح پایه کاملا تصادفی انجام شد تجزیه واریانس نشان داد که بین جمعیت‌ها، ژنوتیپ‌ها و کروموزوم‌ها و همچنین اثر متقابل بین آن‌ها در مورد همه صفات کاریوتیپی اختلاف معنی‌داری در سطح ١ درصد وجود دارد برای گروه‌بندی جمعیت‌ها، ژنوتیپ‌ها و کروموزوم‌ها از آزمون دانکن استفاده شد که در نتیجه این دسته‌بندی جمعیت‌ها در دسته‌های متفاوتی قرار گرفتند. به منظور دسته‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، تجزیه خوشه ای به روش Ward انجام شد که دندروگرام مربوطه جمعیت‌ها را به دو گروه تقسیم کرد.

پس از استخراج پروتئین‌های ذخیره‌ای بذرهای ژنوتیپ‌هایی از جمعیتهای مورد مطالعه، با الکتروفورز به روش SDS-PAGE اقدام به بررسی و ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در درون و بین جمعیت‌های مذکور در سطح ماکرومولکول‌های پروتئینی گردید. پس از اجرای الکتروفورز و تثبیت و رنگ‌آمیزی باندهای پروتئینی، حضور یا عدم حضور باندهای پروتئینی مورد توجه و مطالعه قرار گرفت. داده‌های حاصل از بررسی‌های الکتروفورزی نیز مورد تجزیه و تحلیل کمی و کیفی از جمله تجزیه خوشه‌ای قرار گرفتند و توسط آن جمعیت‌ها به ٤ گروه تقسیم شدند. از نظر باندهای پروتئینی، و از نظر کیفی تفاوت زیادی میان ژنوتیپ‌های مختلف و نیز بین مناطق مختلف این گونه مشاهده نگردید که بتواند مبنای تفکیک و تمایز بین ژنوتیپ‌ها قرار گیرد. ولی از حیث کمی تفاوت‌های زیادی بین مناطق و رویشگاه‌های مختلف و ژنوتیپ‌ها مشاهده گردید که مورد بحث و بررسی قرار گرفت. بررسی مورفولوژیکی نیز بر روی جمعیت‌های مختلف بعنوان مطالعات تکمیلی انجام شد.

واژه‌های کلیدی: گز روغنی، سیتوژنتیک، الکتروفورز، پروتئین ذخیره ای بذر، تنوع ژنتیکی

مقدمه

استفاده از تنوع بین و درون جمعیتی جهت شناسایی ژنوتیپ‌های برتر از جمله اهداف اولیه‌ای است که سالهاست سنگ بنای فعالیت‌های به نژادگران را تشکیل می‌دهد (لی[1] و همکاران، ۲۰۰۵). شناسایی تنوع ژنتیکی در گونه‌های مختلف گیاهی به ویژه در مراحل اولیه رشد در گونه‌های جنگلی و چندساله می‌تواند به طور غیر مستقیم در اصلاح و افزایش تولید نهایی آن گونه به کار گرفته شود (دین[2] و همکاران، ۲۰۰۵).

گونه‌های مختلف جنس مورینگا از جمله گونه‌های گیاهی با ارزشی هستند که اکثرا در معرض فرسایش و خطر انقراض هستند (استفنسون و فاهی[3]، ۲۰۰۱).
تنها گونه‌ای از مورینگا که به شکل تجاری در برخی نقاط دنیا در حال کشت و کار است گونه *Moringa oleifera* است که تا اندازه‌ای از خطر انقراض مصون مانده است. در مقابل، سایر گونه‌های مورینگا به دلیل برداشت بیش از حد از عرصه‌های طبیعی و نیاز روزافزون جمعیت انسانی در حال رشد مناطق رویشگاهی آنها بیشتر در معرض فرسایش هستند. این گونه‌ها دارای ارزش بالایی از نظر غذایی، داروئی، کشاورزی، بهداشتی و غیره می‌باشند و در صنایع مختلف بسیار کاربرد داشته و قابل توجه می‌باشند. گونه بیابانی گز روغنی (*Moringa peregrina*)، تنها گونه بومی ایران از این جنس می‌باشد که در گذشته‌ای نه چندان دور گونه‌ای شناخته شده بوده ولی اکنون مورد فراموشی و بی مهری واقع شده است.

رویشگاه‌های طبیعی شناخته شده گونه *M. peregrina*، برخی از نواحی مختلف استان‌های سیستان و بلوچستان و هرمزگان می‌باشند. البته گونه *M. oleifera* هم در حد چند پایه در بوشهر یافت می‌شود. با وجود استفاده گسترده‌ای که از گونه *M. peregrina* در پزشکی، صنعت و کشاورزی می‌توان نمود تاکنون در کشور کمتر مورد توجه بوده و به دلایل مختلف در حال انقراض و در معرض خطر نابودی است. حداکثر تراکم گزارش شده از این گونه، در استان سیستان و بلوچستان، ۱۲-۹ درخت در هکتار است (جوانشیر، ۱۳۷۲؛ میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۸a). فقر شدید ساکنین مناطق رویشی *M. peregrina* و نیاز مبرم آنها به بهره برداری از گیاهان منطقه، موجب شده است که تقریبا تمامی میوه‌های آن برای مصارف خوراکی چیده شود. به دلیل برداشت‌های بی‌رویه از

---

[1] Lee
[2] Dean
[3] Stephenson & Fahey

بذر این گونه، پایه‌هایی که در دشت‌ها و اراضی نزدیکی روستاها قرار داشته‌اند از بین رفته و پایه‌های بالغ این گونه اغلب به ارتفاعات و مناطق صعب‌العبور پناه برده‌اند و رویشگاه‌های این گونه به مناطق کوهستانی محدود شده است (میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۸a).

مطالعه جامع و کاملی در خصوص تنوع ژنتیکی و توزیع آن در جهان و ایران در هیچ یک از گونه‌های مورینگا صورت نگرفته است. با این حال مطالعات پراکنده‌ای در زمینه تنوع موجود در ویژگی‌های کمی برخی گونه‌های مورینگا در کشورهایی نظیر هندوستان و کنیا صورت گرفته است (مولووی[۱] و همکاران، ۱۹۹۹؛ راماچاندران[۲] و همکاران، ۱۹۸۰) که حاکی از وجود تنوع ژنتیکی قابل استفاده در اصلاح این گونه‌ها می‌باشد (میرزایی ندوشن و اسدی کرم، ۱۳۸۹).

مطالعه ویژگی‌های کاریوتیپی از جمله تعداد و شکل کروموزوم‌های گونه‌های گیاهی از جمله روش‌های رایج مطالعه تنوع است. بسیاری از محققین ویژگی‌های کاریوتیپی را از موثرترین ویژگی‌ها در بررسی روند تکامل این گونه‌ها قلمداد نموده‌اند. از طرفی به کمک اطلاعات کاریوتیپی مقایسه گونه‌ها و حتی جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاهی می‌تواند به نحو موثرتری صورت گیرد. بدیهی است جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاهی هرکدام ممکن است سازش ژنومی خاص خود را با محیطی که در آن رویش دارد نشان دهند (میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۱). اختلاف‌ها و شباهت‌های کاریوتیپی بین گروه‌های مختلف گیاهی را به روابط تکاملی آنها نسبت می‌دهند. گونه‌های گیاهی که قرنها در یک عرصه گسترده طبیعی پراکنش داشته و جمعیت‌های مختلف این گونه‌ها به صورت ایزوله از هم زیسته‌اند فرصت بیشتری در تفرق از هم را در اختیار داشته‌اند. این تفرق می‌تواند بر مبنای ویژگی‌های کاریوتیپی و یا ویژگی‌های مورفولوژیکی و یا هردو باشد. گز روغنی از گونه‌های گیاهی است که قرنهاست در شرایط سخت و خشن رویشگاهی در مناطقی از جنوب و جنوب شرق کشور ما رویش دارد. جمعیت‌های این گونه از نظر برخی از ویژگی‌های رویشی اختلاف‌های زیادی از خود نشان داده‌اند (میرزایی ندوشن و همکاران، ۱۳۸۸b) که حاکی از اثر ماندگار محیط بر ریخته ارثی این گونه است. تفاوت در تعداد، اندازه، و ابعاد کروموزومی، سطح پلوئیدی و تقارن کاریوتیپی از جمله مواردی هستند که موجب اختلاف بین جمعیت‌های مختلف یک گونه گیاهی می‌شوند و می‌توانند در تفرق جمعیت‌های گیاهی از هم، در تکامل گیاهی و تشکیل اکوتیپ‌های مختلف نقش داشته باشند.

---

[۱] Muluvi
[۲] Ramachandran

بر اساس گزارش‌های موجود گونه *M. oleifera* دارای کاریوتیپی با ۲۸ کروموزوم است (2n=2x=28) و از این نظر با گونه *M. peregrina* مشابه است (کوبیتزکی و بایر[۱]، ۲۰۰۳). بطور کلی گزارشهای معدودی از مطالعات سیتوژنتیک گونه‌های مختلف مورینگا در منابع وجود دارد (میرزایی ندوشن و اسدی کرم، ۱۳۸۹).

در این مطالعات با مطالعه ویژگی‌های کاریوتیپی جمعیت‌های مختلف گیاهی از گونه گز روغنی که در مناطق مختلف رویشگاهی این گونه واقع در جنوب شرق کشور رویش دارند و تفاوت‌های زیادی از نظر ویژگی‌های رویشی از هم نشان داده‌اند، ضمن بررسی و تعیین کاریوتیپ و سطح پلوئیدی این گونه در کشور تفاوت‌های کاریوتیپی موجود بین جمعیت‌های مختلف این گونه نیز بررسی گردید تا ضمن بررسی این ویژگی‌ها تفاوت‌های احتمالی موجود در بین جمعیت‌های مختلف آن نیز بررسی شود.

مطالعه پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گونه‌های مختلف مورینگا زمانی مورد توجه قرار گرفت که ویژگی‌های مختلف این پروتئین‌ها معرفی گردید. از زمانی که خاصیت قابلیت تصفیه آب در اثر استفاده از سوسپانسیون محتوی پروتئین‌های بذر این گونه تایید گردید، گروهی از محققین در پی توصیف پروفیل پروتئین‌های آن برآمدند (جبرمیشل[۲] و همکاران، ۲۰۰۶).

تاکنون محققان زیادی به استخراج و تفکیک پروتئین‌ها و بررسی خواص آنها در برخی از گونه‌های گیاهی پرداخته اند. گونه‌های مختلف جنس مورینگا از جمله این گونه‌ها هستند که از این نظر مورد توجه قرار گرفته اند تا ضمن تفکیک پروتئین‌های با وزن مولکولی کم و پپتیدهای استخراج شده از برگ و سایر اجزاء گیاه، خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضد میکروبی آنها هم مطالعه شود (داهوت[۳]، ۱۹۹۶). همچنین گونه‌های مختلف مورینگا از نظر داشتن مقادیر زیاد پروتئین هم اهمیت خاصی پیدا کرده اند (سانچز[۴] و همکاران، ۲۰۰۶).

بنا بر بررسی‌های صورت گرفته توسط سایر محققین (ادی[۵]، ۱۹۹۸ و مولووی و همکاران، ۱۹۹۹) تنوع ژنتیکی زیادی در سطوح مختلف مورفولوژیک و مولکولی در جمعیتهای مختلف این گونه و سایر گونه‌های جنس مورینگا وجود دارد که امکان اصلاح و ارتقاء وضع کمی و کیفی آن را افزایش

---

۱ Kubitzki & Bayer
۲ Ghebremichael
۳ Dahot
۴ Sanchez
۵ Odee