

۲۳۲۸ / ۲ / ۲۰  
مرکز اطلاعیه‌ها و کتابخانه  
تیمسار

دانشگاه شهید بهشتی  
دانشکده علوم  
گروه زیست‌شناسی

**پایان‌نامه**

**جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم گیاهی**

**موضوع**

**بررسی سیتوژنتیکی و الکتروفورزی برخی از گونه‌ها و جمعیت‌های**

**جنس *Ae. triuncialis*) *Aegilops* L.**

***Ae. cylindrica* و *Ae. umbellulata* در ایران**

استاد راهنما

دکتر مسعود شیدایی

اساتید مشاور

مهندس عبدالحسین طوطیایی

مهندس بهرام زهزاد

نگارنده

اعظم محمدی سعید

۳۶۰۸/۲

زمستان ۱۳۷۷

تاریخ به روشنی گواهی می‌دهد تاکنون کسی نتوانسته پاسخگوی گوشه‌ای از زحمات بی‌دریغ دو گوهر روشنی بخش زندگی خویش باشد.

پس تقدیم می‌کنم بازتاب مهربانیها، فداکاریها و از  
خودگذشتگیهای بی‌دریغشان را به دو ستاره  
درخشان آسمان زندگیم، پدر و مادر  
و  
خواهر و برادرم

هنوز صدای گرم و پرمحبتشان آهنگ دلنوازی است که گوش جانم را می‌نوازد و شاید دستهای پرچین و چروکشان درس عبرتی است برای ما که فکرکنیم این برق نگاه و آن زلف چلیپا همیشه پایدار است.

برف پیری را که بر سر آن دو دیدم پیامی بود که با زبان بی‌زبانی مهربانی‌ها و از خودگذشتگیهای آنان را نمایان می‌کرد. پدر و مادر دو گوهر بی‌همتایی هستند که عمر خویش را با ارمغان شیرۀ جان و نور چشم خود را به پای فرزندان می‌ریزند. به همین خاطر است که خدا در قرآن رضایت و خشنودی خود را در رضایت والدین دانسته و نیکی کردن به آنها را بارها تکرار کرده است. این دو گوهر ارزنده پایه‌گذار تربیت فرزند و باغبان گل‌های خانه‌اند تا بتوانند یادگارهایی به جامعه تحویل دهند که سرافراز و سربلند گردند.

در این راستا چگونه می‌توانیم سروسایه‌گستر آنان را بر سر خودمستدام داریم و قدردان زحمات بی‌دریغ آنها باشیم. فرمانشان را بپذیریم، اطاعتشان را بر خود فرض دانیم و بر دست‌های گل‌پرورشان بوسه زنیم. شاید آن کمر خمیده و دستان لرزان با سلامی گرم و نگاهی از عمق جان مقداری از خستگی کاروان عمر را با نگاه کردن بر قامت فرزندش از چهره بزداید. این محبت و دیعه‌ای است خدادادی که با شیر اندرون شده، با جان بدر شود. الهی مرا عارف به مقامت کن، آشنا به وظیفه‌ام ساز و توفیق خدمتم عطا فرما.

قال علی علیه السلام: لِطَالِبِ الْعِلْمِ عِزُّ الدُّنْيَا وَ فَوْزُ الْآخِرَةِ

جوینده دانش در دنیا سربلند و در آخرت رستگار است.

## شکرانه و سپاس

سپاس پروردگار دانا و توانا را که توفیقم داد تا سرشارترین لحظه‌های زندگی‌م را در راه دانش سپری کنم. راهی که در گذر از آن وامدار بزرگانی چون معلمان دلسوز خود هستم. و زحمات آنان را که به فرمایش امیرالمؤمنین علیه السلام با آموختن یک کلمه مرا بنده خویش ساخته‌اند به جان ارج می‌گذارم و سلامت و سربلندی همیشگی‌شان را از خداوند منان مسئلت می‌نمایم. به حقیقت نمی‌دانم چگونه زحمات و راهنمایی‌های بی‌دریغ و دلسوزانه اساتید بزرگوام را سپاس گویم و بدین وسیله مراتب سپاس سرشار خود را از آنان اعلام می‌دارم:

از راهنمائیها و دقت نظر استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر مسعود شیدایی که مطالب پایان‌نامه را با دقت و حوصله فراوان مطالعه نموده و اشتباهات آن را مکرر متذکر گردیده‌اند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از اساتید محترم مشاور پایان‌نامه جناب آقای مهندس بهرام زهزاد که در تدوین این پایان‌نامه از راهنمائیها و تجربیات ارزنده ایشان بهره برده‌ام و جناب آقای مهندس غلامحسین طوطیایی عضو هیأت علمی بانک ژن مؤسسه تحقیقات و اصلاح بذر و نهال که با راهنمائیها و همکاریهای بی‌دریغشان اینجانب را مورد لطف قرار داده‌اند قدردانی می‌نمایم.

از استاد گرانقدرم و مدیریت محترم گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید بهشتی جناب آقای دکتر ریاحی و دیگر اساتید محترم گروه زیست‌شناسی جناب آقایان دکتر شاکر، دکتر سیدنا و سرکارخانمها دکتر عزیزیان و دکتر مالک که از محضر درس ایشان بهره برده‌ام و مرا در انجام این تحقیق مورد لطف خویش قرار داده‌اند، تشکر می‌نمایم.

از جناب آقای دکتر مجیدی ریاست محترم مؤسسه تحقیقات و اصلاح بذر و نهال و

سرکار خانمها فیروزه جوادی و نازیلا بقایی اعضاء هیأت علمی بانک ژن این مؤسسه که با محبتها و همکاریها و راهنماییهای خود اینجانب را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند تشکر می‌نمایم.

از تمامی کارکنان گروه زیست شناسی دانشگاه شهید بهشتی و دوستان عزیزم به ویژه خانمها: قلمکار، آرمان، چراغی، سرپوشان، گویا، کارگر، کوباز و جهان بخت و تمامی عزیزانی که به نحوی در انجام این تحقیق مرا یاری نموده‌اند، تشکر می‌نمایم.

## چکیده

در این تحقیق ۱۳ جمعیت از سه گونه *Ae. triuncialis*، *Ae. umbellulata* و *Ae. cylindrica* از نقطه نظر میوزی و الکتروفورز پروتئینهای ذخیره‌ای بذر مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه به عاملها بر اساس رفتار کروموزومها در میوز و الکتروفورز پروتئینهای ذخیره‌ای بذر نشان داد که بین جمعیت‌های مختلف هرگونه تفاوت‌های ژنومی وجود داشته و از این صفات می‌توانیم در رده‌بندی تاکسونومیکی گونه‌های جنس *Aegilops* استفاده کنیم. همچنین حضور کروموزومهای B در برخی از جمعیت‌های گونه‌های *Ae. triuncialis* و *Ae. cylindrica* عدد کروموزومی  $2n=8x=56$  برای جمعیت گهواره از گونه *Ae. cylindrica* ( $2n=4x=28$ ) و پدیده‌ای به صورت حذف کروموزومها در مرحله تتراد برای اولین بار گزارش شدند. علاوه بر آن، در مطالعات میوزی تنوع در زیر مراحل پروفاز I به صورت مرحله گزله سینوزیتیکی و پدیده‌هایی مانند سیتومیکزیس، توده شدن شدید کروموزومها، چسبندگی و کروموزومهای سازمان نیافته مشاهده شد.

در این تحقیق همچنین مطالعات کاربوتیپی بر روی ۴ جمعیت از گونه *Ae. triuncialis* انجام گرفت. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه واریانس (ANOVA) بر روی صفات کاربوتیپی این جمعیت‌ها نشان داد که جمعیت‌های مختلف بررسی شده از این گونه از نظر صفات کاربوتیپی با یکدیگر تفاوت دارند.

## فهرست مطالب

| صفحه                           | عنوان   |
|--------------------------------|---|
| ۱                              | مقدمه   |
| <b>بخش اول: گیاهشناسی</b>      |   |
| ۶                              | تاریخچه   |
| ۱۰                             | شرح جنس <i>Aegilops</i> L. (چمن بز یا گندم نیا)                     |
| ۱۱                             | بخشهای (Section) جنس <i>Aegilops</i> L.                             |
| ۱۱                             | بخش <i>Aegilops</i> L.  |
| ۱۲                             | بخش <i>Comopyrum</i> (Jaub. & Spach.) Zhuk.                         |
| ۱۳                             | بخش <i>Cylindropyrum</i> (Jaub.&Spach.)                             |
| ۱۳                             | بخش <i>Sitopsis</i> (Jaub. & Spach.) Zhuk.                          |
| ۱۴                             | بخش <i>Vertebrata</i> Zhuk. emend.kihara                            |
| ۱۹                             | شرح گونه <i>Ae. triuncialis</i> L. var. <i>triuncialis</i>          |
| ۲۳                             | شرح گونه <i>Ae. triuncialis</i> L. var. <i>persica</i> (Boiss.) Eig |
| ۲۵                             | شرح گونه <i>Ae. umbellulata</i> Zhuk.                               |
| ۲۹                             | شرح گونه <i>Ae. cylindrica</i> Host                                 |
| <b>بخش دوم: تاکسونومی عددی</b> |   |
| ۳۴                             | مقدمه   |
| ۳۶                             | تجزیه به مؤلفه‌های اصلی   |
| ۳۷                             | نحوه تجزیه به مؤلفه‌های اصلی  |
| ۴۱                             | موارد استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در رسته‌بندی تاکسونها.     |

|    |  |
|----|--|
| ۴۱ | ..... Factor Analysis تجزیه به عاملها                |
| ۴۴ | ..... تجزیه به عاملها با استفاده از مؤلفه‌های اصلی   |
| ۴۷ | ..... (Cluster analysis) تجزیه خوشه‌ای               |
| ۴۸ | ..... انواع روشهای تجزیه خوشه‌ای                     |
| ۴۹ | ..... اندازه‌گیری فاصله‌ها                           |
| ۵۲ | ..... تجزیه به مؤلفه‌های اصلی به همراه تجزیه خوشه‌ای |
| ۵۳ | ..... کاربرد تجزیه خوشه‌ای در تاکسونومی              |

## بخش سوم: مطالعات میوزی

|     |   |
|-----|---|
| ۵۶  | ..... مقدمه                                       |
| ۵۹  | ..... تنوع در تقسیم میوز                          |
| ۵۹  | ..... گره سینوزیتیکی (Synzitic knot)              |
| ۶۱  | ..... سیتو میکزیس (Cytomixis)                     |
| ۶۴  | ..... کروموزومهای B یا کروموزومهای اضافی          |
| ۶۷  | ..... مواد و روشها                                |
| ۶۷  | ..... مواد  |
| ۶۸  | ..... روشها                                       |
| ۷۲  | ..... نتایج و بحث                                 |
| ۷۲  | ..... تنوع در زیر مراحل پروفاز I                  |
| ۷۲  | ..... گره سینوزیتیکی                              |
| ۷۵  | ..... سیتو میکزیس                                 |
| ۸۱  | ..... مطالعه رفتار کروموزومها در میوز             |
| ۸۱  | ..... گونه <i>Ae. triuncialis</i>                 |
| ۹۳  | ..... گونه <i>Ae. cylindrica</i>                  |
| ۱۰۲ | ..... گونه <i>Ae. umbellulata</i>                 |
| ۱۱۸ | ..... حذف کروموزومی <i>Chromosome elimination</i> |
| ۱۲۰ | ..... کروموزوم B                                  |



## بخش چهارم: مطالعات الکتروفورزی

|     |  |
|-----|--|
| ۱۲۶ | مقدمه  |
| ۱۲۹ | استفاده از مطالعات الکتروفورزی برای نشان دادن تنوع در میان جمعیت‌های یک گونه             |
| ۱۲۹ | استفاده از مطالعات الکتروفورزی برای نشان دادن تنوع بین گونه و استفاده از آن در تاکسونومی |
| ۱۳۰ | پروفیل‌های پروتئین بذر و مطالعه هیبریدها و پلی پلوئیدها                                  |
| ۱۳۱ | مواد و روشها   |
| ۱۳۱ | مواد   |
| ۱۳۲ | محلولهای مورد نیاز در الکتروفورز   |
| ۱۳۵ | روشها  |
| ۱۴۰ | نتایج و بحث  |

## بخش پنجم: مطالعات کاریوتیپی

|     |  |
|-----|--|
| ۱۴۷ | مقدمه  |
| ۱۴۹ | مطالعات کاریوتیپی انجام شده بر روی جنس <i>Aegilops</i> |
| ۱۵۰ | اصول کلی در بررسی کاریوتیپ                             |
| ۱۵۰ | دلیل گزارشهای متفاوت برای طول کروموزومها               |
| ۱۵۱ | تقارن کاریوتیپ   |
| ۱۵۲ | گروه بندی کاریوتیپها                                   |
| ۱۵۳ | تجزیه کاریوتیپ   |
| ۱۵۶ | مواد و روشها   |
| ۱۵۶ | مواد   |
| ۱۵۶ | روشها  |
| ۱۶۰ | نتایج و بحث  |
| ۱۷۴ | منابع  |
| ۱۷۵ | منابع فارسی  |
| ۱۷۷ | منابع غیرفارسی   |

## مقدمه

جنس *Aegilops* (چمن بز یا گندم نیا) شامل علف‌های یکساله وحشی می‌باشد که در مناطق با آب و هوای مدیترانه‌ای پراکنده شده‌اند. طبق آخرین گزارشات که van Slageren (۱۹۹۴) در مونوگراف این جنس آورده است، تعداد گونه‌های این جنس در جهان ۲۲ گونه ذکر شده است که ۱۲ گونه آن در ایران موجود می‌باشند (۱۲۵). این گونه‌ها بیشتر در مناطق غربی، جنوبی و مرکزی ایران پراکنده هستند. گونه‌های این جنس همگی خودرو بوده و شامل گونه‌های دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید با عدد پایه کروموزومی  $x=7$  می‌باشند. Kihara (۱۹۵۴) با تحقیقاتی که بر روی کرانهای بین گونه‌ای انجام داد، ۹ گونه دیپلوئید ( $2n=2x=14$ ) در این جنس شناسایی کرد و آنها را در ۳ گروه با ژنومهای C، M و S دسته‌بندی کرد (۶۰). اما van Slageren (۱۹۹۴) در مونوگراف مربوط به این جنس ۱۰ گونه دیپلوئید، ۱۰ گونه تتراپلوئید و ۲ گونه هگزاپلوئید معرفی کرده است (۱۲۵). همه گونه‌های پلی‌پلوئید این جنس، آمفی‌پلوئیدهایی هستند که از ترکیب ۹ گونه دیپلوئید آن حاصل شده‌اند. تکامل پلی‌پلوئیدی در این جنس آشکار می‌کند که این گونه‌ها دارای برتری سازشی قابل توجهی نسبت به گونه‌های دیپلوئید می‌باشند. بنابراین پلی‌پلوئیدها پراکندگی وسیعتری از اجداد دیپلوئیدشان دارند (۶۰).

نزدیکترین جنسها به *Aegilops*، جنسهای *Amblyopyrum* و *Triticum* می‌باشند که هر سه متعلق به گیاهان طایفه گندم هستند و گونه‌های آنها قادر به تشکیل هیبرید با یکدیگر می‌باشند. بر این اساس امروزه متخصصین ژنتیک گیاهی کوششهای بسیاری جهت اصلاح نژاد گندم و تهیه بذرهاى مرغوبتر و مقاومتر نسبت به بیماریها به عمل آورده‌اند (۶).

گندمهای هگزاپلوئید با ژنوم AABBDD که گندم نان یعنی *Triticum aestivum* نیز جزء آنها می‌باشد، حدود ۷۰۰۰ سال قبل از میلاد بوجود آمده‌اند. امروزه دانشمندان پی

برده‌اند که آنها نتیجه آمفی‌پلوئیدی بین یک تتراپلوئید AABB (*T. dicoccum*) و گونه دیپلوئید *Ae. squarrosa* با ژنوم D می‌باشند. *Ae. squarrosa* اولین بار توسط Pathak (۱۹۴۰) بعنوان دهنده ژنوم سوم در نظر گرفته شد. این امر توسط Mc Fadden و Sears (۱۹۴۶) و Riley و Chapman (۱۹۶۰) تأیید شده است (۷).

در مورد گونه تتراپلوئید با ژنوم AABB اعتقاد بعضی از دانشمندان بر این است که برخی از گونه‌های *Aegilops* مانند *Ae. bicornis* شامل تعدادی ژنوم B می‌باشند. یک حالت آمفی‌پلوئیدی از تلقیح بین *Ae. bicornis* و *T. monococcum* حاصل شد که از لحاظ خواص مورفولوژی خیلی شبیه به *T. dicoccum* بود. از اینرو Mc Fadden عقیده دارد که *Ae. bicornis* (*Ae. speltoides*) دارای ژنوم B از *T. dicoccum* می‌باشد (شکل ۱) (۷).  
گونه‌های جنس *Aegilops*، که از خویشاوندان وحشی گندم معمولی (*T. aestivum*) می‌باشند، یک منبع مهم مقاومت به بیماریها و آفات می‌باشند و تاکنون چندین ژن مفید از این جنس به گندم انتقال داده شده است (۴۳).

اخیراً بعضی از گونه‌های *Aegilops* به سبب مقاوم بودن در برابر بعضی از بیماریها و آفات و امکان انتقال این فاکتورها به گندم معمولی مورد توجه قرار گرفته‌اند. به عنوان مثال در تحقیقی که توسط Bai (۱۹۹۵) بر روی سه جمعیت از *Ae. cylindrica* صورت گرفت مقاومت آنها نسبت به ۱۰ نژاد از عوامل ایجاد کننده زنگهای ساقه و برگ مورد آزمایش قرار گرفت. نتیجه این بود که این جمعیتها نسبت به همه نژادها مقاوم بودند. سپس از طریق هیبریدگیری با دو رقم Mp و Chinese Spring از گندم هگزاپلوئید (*T. aestivum*) هیبریدهای F<sub>۱</sub> بدست آمدند که زنده ماندند و نسبت به این عوامل بیماریزا نیز مقاوم بودند (۱۹).

همچنین در مطالعه‌ای که توسط Fan (۱۹۹۳) بر روی کراسهای بعضی از کولتیوارهای گندم هگزاپلوئید و *Ae. triuncialis* انجام شد، پس از یک کراس F<sub>۱</sub> با یکی از کولتیوارها، چندین لاین (Line) مونوزومیک ایجاد شد که یک ژن مقاوم به کپک پودری (*Erysiphe graminis*) را حمل می‌کردند که از گونه *Ae. triuncialis* دریافت کرده بودند (۴۳).

Sears (۱۹۶۲) در تحقیقی که بر روی گونه *Ae. umbellulata* انجام داد، به فاکتور رنگ

در این گونه پی برد و در صدد انتقال آن به گندم معمولی برآمد. همچنین در این تحقیق توانست ژن مقاوم به زنگ برگ را از این گونه به گندم معمولی از طریق هیبریدگیری بین آنها انتقال دهد (۱۰۳).

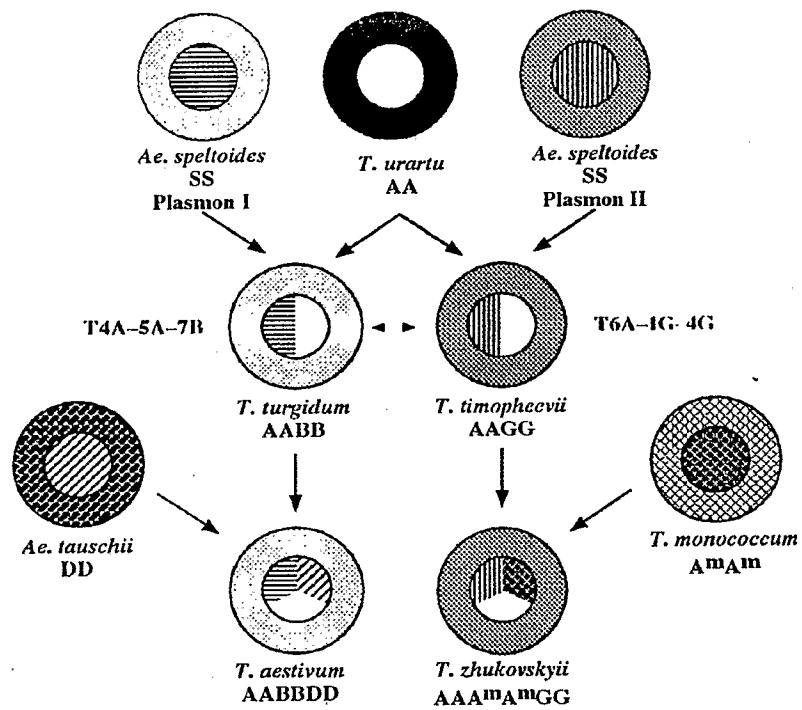
همچنین تعدادی از گونه‌های این جنس به عنوان علوفه برای دامها استفاده می‌شوند. *Ae. cylindrica*، *Ae. tauschii* و *Ae. crassa* به عنوان گیاهان علوفه‌ای خوبی محسوب شده و توسط انواع دامها خورده می‌شوند.

با توجه به مطالب فوق مبنی بر استفاده از بعضی از گونه‌های *Aegilops* در اصلاح نژاد گندم به عنوان دهنده ژنهای مفید به گندم و با توجه به اینکه تقریباً نیمی از گونه‌های این جنس در ایران موجود می‌باشند، بنابراین مطالعه جنبه‌های مختلف گونه‌ها و جمعیت‌های آن از اهمیت زیادی برخوردار است. اما مطالعه‌ای بر روی جمعیت‌های مختلف گونه‌های موجود در ایران از لحاظ سیتوژنتیکی صورت نگرفته است. بنابراین در این تحقیق به مطالعه و مقایسه سیتوژنتیکی و الکتروفورز پروتئینهای بذر چند جمعیت از سه گونه *Ae. triuncialis* ( $2n=4x=28$ )، *Ae. cylindrica* ( $2n=4x=28$ ) و *Ae. umbellulata* ( $2n=2x=14$ ) پرداخته شده است.

### اهداف اصلی مطالعه

- ۱- بررسی و ارائه اطلاعات سیتوژنتیکی پایه برای گونه‌ها و جمعیتها به منظور استفاده از آنها در تاکسونومی و برنامه‌های اصلاحی.
- ۲- به علت وجود تنوع در ساختار ژنتیکی و سیتوژنتیکی اکثر گراسها و همچنین وجود مکانیسمهای مختلف سیتوژنتیکی در ایجاد فرمهای آنیوپلوئید و پلی‌پلوئید (از قبیل تشکیل گامت‌های  $2n$ )، همچنین بازگشت از حالت پلی‌پلوئید به دیپلوئید در آنها، شناخت سطوح مختلف پلی‌پلوئید در میان گونه‌ها بررسی شد.
- ۳- شناخت جمعیت‌هایی که توانایی تولید گامت‌های آنیوپلوئید و  $2n$  را دارند.
- ۴- تعیین کاربرد مطالعات کروموزومی در رده‌بندی گونه‌های *Aegilops*.

## Current theory of the evolution of wheat.



شکل ۱. سیر تکاملی و طرز پیدایش گندمهای تتراپلوئید و هگزاپلوئید

بخش اول

گیاہشناسی

### جنس *Aegilops* (گندم نیا)

جنس *Aegilops* متعلق به خانواده *Poaceae*، زیر خانواده *Pooideae* فراطایفه *Triticanae*، طایفه *Triticeae* و زیر طایفه *Triticinae* می باشد (۱۲۵).

### تاریخچه

جنس *Aegilops* اولین بار توسط لینه در سال ۱۷۵۳ در کتاب *Species Plantarum* شرح داده شد. او در این کتاب ۴ گونه *Ae. squarrosa* L., *Ae. caudata* L., *Ae. ovata* L. و *Ae. triuncialis* L. را توصیف نمود.

در ایران گونه های این جنس اولین بار توسط Boissier (۱۸۸۱) در *Flora Orientalis* بررسی و گزارش شده است. او ۴ گونه زیر را از ایران ذکر نموده است:

*Ae. triuncialis* L.

*Ae. persica* Boiss.

*Ae. squarrosa* L. var. *meyeri* Griseb

*Ae. crassa* Boiss.

در مونوگراف Eig (۱۹۲۹) درباره *Aegilops*، ۷ گونه از این جنس از ایران گزارش شده

است:

*Ae. squarrosa* L. var. *typica* , var. *meyeri* Griseb

*Ae. crassa* Boiss. var. *typica*, var. *glumiaristata*, var. *macrathera* Boiss.

*Ae. cylindrica* Host