

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تحصیلات تکمیلی دانشگاه



پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته ژنتیک و اصلاح نباتات

مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین لاینهای اولیه تریتی پایرم با استفاده از مارکرهای مولکولی مبتنی بر PCR

استادان راهنما:

دکتر براتعلی سیاه سر
دکتر حسین شاهسوند حسنی

استادان مشاور:

مهندس عباسعلی امام جمعه
مهندس علی کاظمی پور

تهیه و تدوین:

مریم اله دو

۱۳۸۸ / ۲ / ۱۵

شهریور ۸۶

۱۱۱۳۸۷

تاریخ.....
شماره.....
پیوست.....



صفحه الف

این پایان نامه با عنوان «مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین لاینهای اولیه تریتی پایرم با استفاده از مارکرهای مولکولی مبتنی بر PCR» قسمتی از برنامه آموزشی دوره کارشناسی ارشد رشته کشاورزی گرایش ژنتیک و اصلاح نباتات توسط دانشجو مریم اله دو تحت راهنمایی استاد پایان نامه آقای دکتر براتعلی سیاه سر و آقای دکتر حسین شاهسوند حسنی تهیه شده است. استفاده از مطالب آن بمنظور اهداف آموزشی با ذکر مرجع و اطلاع کتبی به حوزه تحصیلات تکمیلی دانشگاه زابل مجاز می باشد.

امضا دانشجو

این پایان نامه ۶ واحد درسی شناخته می شود و در تاریخ ۸۲/۲/۳۱ توسط هیئت داوران بررسی و نمره ۱۹/۹ و درجه عالی به آن تعلق گرفت.

نام و نام خانوادگی امضا تاریخ

۱- استاد راهنما: آقای دکتر براتعلی سیاه سر

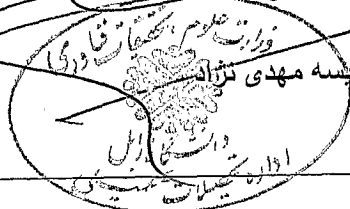
۲- استاد راهنما: آقای دکتر حسین شاهسوند حسنی

۳- استاد مشاور: آقای مهندس عباسعلی امام جمعه

۴- استاد مشاور: آقای مهندس علی کاظمی پور

۵- داور ۱: آقای دکتر محمود رمودی خسته دل

۶- نماینده تحصیلات تکمیلی: مهندس نفیسه مهدی نژاد



تیم به

اسطوره های زندگی

پدر و مادر عزیزم

تشکر و قدردانی:

خدای بزرگ را شاکرم که در طول مدت تحصیل همواره یاری دهنده من بود و به من صبر و شکیبایی در برابر مشکلات و ناملايمات عنایت فرمود.

در این رهگذر به رسم ادب خود را ملزم می دانم که با تواضع تام و از صمیم قلب تشکر و سپاس خالصانه خود را از:

خانواده ام، به خصوص مادرم که دعای خیر او همواره، همراه و پشتشبان من بود.

اساتید محترم راهنما: جناب آقای دکتر سیاه سر و جناب آقای دکتر شاهسونند حسنی که با راهنمایی های مفیدشان کمک بزرگی به بنده در طول اجرای پایان نامه نمودند.

اساتید محترم مشاور: آقای مهندس کاظمی پور و آقای مهندس امام جمعه به خاطر کمک و مساعدتهای لازم در طول اجرای پایان نامه.

آقای دکتر رمودی که زحمت داوری این پایان نامه را بر عهده گرفته و آقای دکتر کرباسی مدیریت محترم تحصیلات تکمیلی که حداکثر تلاش شان را برای مساعدت و همکاری با دانشجویان کارشناسی ارشد مبذول می دارند.

آقای مهندس گرگیچ، معاونت محترم اداری و مالی دانشکده کشاورزی به دلیل مساعدت در خرید دستگاههای مورد نیاز در آزمایشگاه ژنتیک مولکولی.

آقایان سلوکی، وهابی، حق پرست، پیرسیدی و خانمها: مهدی نژاد و رهبری زاده که از تجارب ارزنده ایشان در مراحل انجام پایان نامه بهره بردم.

خانم مهندس پورتبریزی، کارشناس محترم گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه شهید باهنر کرمان به خاطر همکاریهای لازم در طول اجرای پایان نامه.

همکاران و مسئولین محترم آزمایشگاه، خانمها: سارانی، گنجعلی، خواجه، مصری، فرازمنند و آقایان: رخشانی، اکبری، شهریاری، مهدی خانی و دادمهر به خاطر همکاری در کارهای آزمایشگاهی.

دوستان و همکلاسی های خوبم خانم ها گنجعلی، گلستانه، ثقیلی، مسنن مظفری، آرام، علیزاده، صوفی، فلاحتی، خمیری، لطفی، جوکار، قائد رحمتی، تیموری، عثمانی، محمدی، شاه نظری، ربانی، اثنی عشری، فزونی و سایر دوستان که در طول این مدت مرا یاری دادند.

ابراز نمایم.

مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین لاینهای تریتی پایرم اولیه با استفاده از مارکرهای مولکولی مبتنی بر

PCR

چکیده:

آمفی پلوتید مصنوعی تریتی پایرم از تلاقی ارقام تزاپلوتید گندم و یک گونه وحشی جنس تینوپایرم به نام علف شور ساحل بوجود آمده است. به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی، DNA ژنومی (تک بوته) ۵ لاین اولیه تریتی پایرم شامل Cr/b، St/b، Ma/b، Ne/b و ۹ لاین ترکیبی اولیه تریتی پایرم شامل (St/b)(Cr/b)F₃، (St/b)(Cr/b)F₄، (Ma/b)(Cr/b)F₃، (Ma/b)(Cr/b)F₄، (Ka/b)(Cr/b)F₃، (Ka/b)(Cr/b)F₄، (Ka/b)(Cr/b)F₅، (Ka/b)(Cr/b)F₆ با استفاده از ۹ پرایمر تصادفی و ۸ پرایمر نیمه تصادفی تکثیر شد. ۲ پرایمر تصادفی (و ۶ پرایمر نیمه تصادفی توانستند باند چند شکل، واضح و تکرارپذیر تولید کنند. تنوع درون لاین با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و شاخص های تشابه، میانگین و ضریب تنوع محاسبه شد. تنوع بین لاین نیز با استفاده از میانگین فراوانی باندهای چند شکل در هر لاین و ضریب همبستگی پیرسون محاسبه شد. نتایج نشان داد که لاین Ne/b (CV=77/8) و لاین (Ma/b)(Cr/b)F₃ (CV=41/3) به ترتیب بیشترین و کمترین تنوع را دارا بودند. ضریب همبستگی بین لاینها نیز در محدوده ۹۸/۵-۱۲/۲ قرار داشت که نشان دهنده پراکندگی وسیع بین این لاینها بود.

به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی بین لاینهای تریتی پایرم اولیه، DNA ژنومی (نمونه های بالک) لاینهای اولیه تریتی پایرم شامل Az/b، Ka/b، St/b، Cr/b، Ma/b، La/b، La(4B)4D/b، علف شور ساحل، ارقام گندم شامل رقم هیرمند سیستان، رقم هامون سیستان، رقم استوارد، رقم دابل هاپلوتید و رقم چینی بهاره و لاینهای امید بخش تریتیکاله شامل: ۴۱۰۳، ۴۱۰۸، ۴۱۱۵، ۴۱۱۶ و M₄₅ با استفاده از پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی تکثیر شد. درجه چند شکلی و شاخص مارکری در هر پرایمر محاسبه شد. پرایمرهای نیمه تصادفی از درصد چند شکلی بیشتری نسبت به پرایمرهای تصادفی برخوردار بودند. شاخص نشانگری در پرایمرهای تصادفی ۳/۶۳ و در پرایمرهای نیمه تصادفی ۴/۷۱ بود که نشان دهنده کارایی مطلوب پرایمرهای نیمه تصادفی (ISJ) نسبت به پرایمرهای تصادفی (RAPD) بود. گروه بندی این سه آمفی پلوتید با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA انجام شد. دندروگرام به دست آمده نشان داد که رقم تزاپلوتید گندم، بیشترین فاصله ژنتیکی را با سایر ارقام گندم، لاینهای تریتی پایرم و تریتیکاله دارد. لاینهای La/b و AZ/b تریتی پایرم بیشترین تشابه ژنتیکی را داشتند. لاینهای Cr/b و St/b نیز بیشترین تشابه ژنتیکی را با علف شور ساحل دارا بودند. از بین ارقام گندم، رقم هیرمند سیستان بیشترین فاصله ژنتیکی (ضریب شباهت ۰/۱۲۲) را با علف شور ساحل و رقم هامون سیستان کمترین فاصله ژنتیکی (ضریب شباهت ۰/۲۴) را با علف شور دارا بود.

کلمات کلیدی: تریتی پایرم، تینوپایرم بسارابیوم، گندم، تریتیکاله، تنوع ژنتیکی، پرایمرهای تصادفی و پرایمرهای نیمه تصادفی

فهرست مطالب

عنوان.....	صفحه.....
فهرست جداول.....	ر.....
فهرست اشکال.....	ش.....
فهرست نمودار.....	ز.....

«فصل اول: مقدمه و بررسی منابع»

۱-مقدمه.....	۱.....
۱-۱ آمفی پلوئیدهای مصنوعی.....	۲.....
۱-۲ گیاهشناسی گندمیان.....	۵.....
۱-۳ خویشاوندان وحشی گندم ، خاستگاه و ساختار ژنومی آنها.....	۶.....
۱-۴ تنوع ژنتیکی.....	۸.....
۱-۴-۱ فرسایش ژنتیکی.....	۸.....
۱-۴-۲ اهمیت مطالعه تنوع ژنتیکی.....	۸.....
۱-۴-۳ روشهای ارزیابی تنوع ژنتیکی.....	۹.....
۱-۵ نشانگرهای مورفولوژیکی.....	۱۰.....
۱-۶ نشانگرهای بیوشیمیایی.....	۱۰.....
۱-۷ نشانگرهای مولکولی.....	۱۱.....
۱-۷-۱ انتخاب روش مناسب برای تعیین تنوع ژنتیکی.....	۱۲.....
۱-۷-۲ نشانگرهای DNA.....	۱۳.....
۱-۷-۳ انواع نشانگرهای DNA.....	۱۴.....
۱-۷-۴ نشانگر رپید.....	۱۴.....

- الف- کاربرد نشانگر رپید ۱۵
- ب- مزایای نشانگر رپید ۱۸
- ج- معایب نشانگر رپید ۱۸
- ۱-۷-۵ آغازگرهای نیمه تصادفی (ISJ) ۱۹
- ۱-۸ واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) ۲۱
- ۱-۸-۱ چرخه های حرارتی PCR ۲۱
- ۱-۸-۲ اجزای PCR ۲۲
- ۱-۸-۳ نکات مهم در انجام PCR ۲۴
- ۱-۹ تجزیه تنوع ژنتیکی ۲۴
- ۱-۹-۱ معیارهای برآورد شباهت یا فاصله ژنتیکی افراد بر اساس داده های مولکولی ۲۵
- ۱-۹-۲ محاسبه درجه چندشکلی ۲۶
- ۱-۹-۳ گروه بندی افراد یک جمعیت و جمعیت های مختلف ۲۷

«فصل دوم : مطالعه تنوع ژنتیکی بین لاینهای تریتی پایرم اولیه در مقایسه با ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله»

- ۲-۱ مقدمه و بررسی منابع ۳۳
- ۲-۲ مواد و روشها ۴۰
- ۲-۲-۱ مواد گیاهی ۴۰
- ۲-۲-۲ مواد ژنتیکی ۴۰
- ۲-۲-۳ روشها ۴۰
- الف- استخراج DNA از لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله ۴۰
- الف-۱ محلولهای مورد استفاده ۴۲

- ۲- الف استخراج DNA ۴۴
- ب- تعیین کمیّت و کیفیت DNA ۴۵
- ۱- ب الکتروفورز ژل آگارز ۴۵
- ۲- ب استفاده از دستگاه بیوفتومتر ۴۷
- ج- یکسان سازی غلظت DNA ۴۸
- د- واکنش زنجیره ای پلیمرز ۴۸
- ه- تنظیم شرایط PCR ۵۳
- و- الکتروفورز محصولات PCR ۵۴
- ز- شمارش نوارهای چند شکل و امتیازدهی آنها ۵۵
- ح- تجزیه و تحلیل الگوهای نواریندی ۵۵

۲-۳ نتایج و بحث

- ۲-۳-۱ پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی ۵۷
- ۲-۳-۲ مقایسه تنوع ژنتیکی بین لاینهای اولیه تریتی پایرم با ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله ۶۵
- الف- تجزیه خوشه ای ۶۵
- ۱- الف گروه بندی لاینهای اولیه تریتی پایرم با ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله بر اساس مارکرهای تصادفی ۶۶
- ۲- الف- گروه بندی لاینهای اولیه تریتی پایرم با ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله بر اساس پرایمرهای نیمه تصادفی ۶۷
- ۳- الف گروه بندی لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله بر اساس پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی ۶۹
- ب- مقایسه شباهت ژنتیکی لاینها و ارقام با ضریب شباهت جاکارد و دایس ۷۱
- ج- آزمون مانتل ۷۴

۷۵	د- تجزیه به مختصات اصلی
۷۹	۲-۳-۳ گروه بندی لاین های اولیه تریتی پایرم با استفاده از پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی
۷۹	الف- تجزیه خوشه ای
۸۱	ب- آزمون مانتل
۸۱	ج- تجزیه به مختصات اصلی
۸۴	۲-۳-۴ شناسایی مارکهای تصادفی مربوط به ژنوم E^b در لاینهای تریتی پایرم

«فصل سوم: بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین لاینهای اولیه تریتی پایرم و لاینهای ترکیبی اولیه آنها با استفاده از مارکهای مولکولی مبتنی بر PCR»

۹۱	۳-۱ مقدمه
۹۷	۳-۲ مواد و روشها
۹۷	۳-۲-۱ مواد گیاهی
۹۷	۳-۲-۲ مواد شیمیایی
۹۸	۳-۲-۳ مواد ژنتیکی
۹۹	۳-۲-۴ استخراج DNA از لاینهای اولیه تریتی پایرم و نسلهای تفکیک ترکیبی اولیه تریتی پایرم
۱۰۰	الف- محلولهای مورد استفاده
۱۰۲	ب- روش استخراج DNA ژنومی
۱۰۳	۳-۲-۵ تعیین کمیت و کیفیت DNA
۱۰۴	۳-۲-۶ یکسان سازی غلظت DNA
۱۰۴	۳-۲-۷ انجام واکنش PCR
۱۰۶	۳-۲-۸ تفسیر و تجزیه الگوهای نواریندی

- ۳-۳ نتایج و بحث ۱۰۹
- ۳-۳-۱ واکنش زنجیره ای پلیمریزاسیون ۱۰۹
- ۳-۳-۲ تخمین تنوع ژنتیکی درون لاینهای تریتی پایرم ۱۱۶
- الف- محاسبه درجه چند شکلی ۱۱۶
- ب- محاسبه ضریب تشابه جاکارد ۱۱۹
- ج- تجزیه خوشه ای ۱۲۱
- ۱-۳ آزمون مانتل ۱۲۳
- ۳-۳-۳ بررسی تنوع ژنتیکی بین لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک لاینهای ترکیبی اولیه تریتی پایرم ۱۲۵
- الف- تجزیه خوشه ای ۱۲۶
- ب- آزمون مانتل ۱۲۸
- ج- تجزیه به مولفه های اصلی ۱۲۸
- پیشنهادات ۱۳۰
- منابع مورد استفاده ۱۳۳

«فهرست جداول»

شماره صفحه

«فصل اول»

«فصل دوم»

جدول ۱-۲ لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله ۴۱

جدول ۲-۲ اجزای تشکیل دهنده بافر استخراج DNA از لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید

بخش تریتی کاله به روش مینی پروب ۴۲

جدول ۳-۲ انواع مواد و مقادیر مورد نیاز آنها در واکنش زنجیره ای پلیمرز برای حجم ۲۵ میکرولیتر محلول ۴۹

جدول ۴-۲ اسامی و توالی آغازگرهای نیمه تصادفی در واکنش زنجیره ای پلیمرز در بررسی تنوع ژنتیکی بین

لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله ۵۱

جدول ۵-۲ اسامی و توالی آغازگرهای تصادفی در واکنش زنجیره ای پلیمرز در بررسی تنوع ژنتیکی بین لاینهای

اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله ۵۲

جدول ۶-۲ برنامه حرارتی لازم برای انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز بر روی نمونه های DNA لاینهای اولیه

تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله ۵۴

جدول ۷-۲ تعداد نوارهای مشاهده شده، تعداد نوارهای چند شکل و درصد چند شکلی حاصل از هر پرایمر در

لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله ۵۸

جدول ۸-۲ میانگین میزان اطلاعات چند شکلی و شاخص مارکری DNA ژنومی حاصل از لاینهای اولیه تریتی

پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله ۶۳

جدول ۲-۹ ماتریس تشابه به دست آمده از روش RAPD توسط ضریب تشابه جاکارد در لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی‌کاله..... ۶۳

جدول ۲-۱۰ ماتریس تشابه به دست آمده از روش ISJ توسط ضریب تشابه جاکارد در لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی‌کاله..... ۶۵

جدول ۲-۱۱ مقادیر تشابه ژنتیکی بین لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی‌کاله بر اساس ضریب تشابه جاکارد و با استفاده از پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی..... ۷۳

جدول ۲-۱۲ مقادیر تشابه ژنتیکی بین لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی‌کاله بر اساس ضریب تشابه دایس و با استفاده از پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی..... ۷۳

جدول ۲-۱۳ مقادیر ویژه، سهم واریانس و سهم تجمعی واریانس در لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی‌کاله..... ۷۷

جدول ۲-۱۴ ماتریس تشابه به دست آمده از DNA ژنومی لاینهای اولیه تریتی پایرم و یک گونه از علف شور ساحل با استفاده از پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی بر اساس ضریب تشابه دایس..... ۸۰

جدول ۲-۱۵ ماتریس تشابه به دست آمده از DNA ژنومی لاینهای اولیه تریتی پایرم و یک گونه از علف شور ساحل با استفاده از پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی بر اساس ضریب تشابه جاکارد..... ۸۰

«فصل سوم»

جدول ۳-۱ مشخصات پنج لاین اولیه تریتی پایرم و نه نسل تفکیک متعلق به سه لاین ترکیبی تریتی پایرم اولیه با ساختار کروموزومی AABBE^BE^B..... ۹۸

جدول ۳-۲ اجزای تشکیل دهنده بافر برای استخراج DNA ۲۸۰ گیاهیچه از لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک لاینهای ترکیبی اولیه تریتی پایرم همراه با غلظت و مقادیر استفاده..... ۱۰۰

جدول ۳-۳ آغازگرهای تصادفی و نیمه تصادفی مورد استفاده در واکنش زنجیره ای پلیمراز بر روی نمونه های

DNA ژنومی گیاهچه های لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک ترکیبی اولیه تریتی پایرم ۱۰۵

جدول ۳-۴ میانگین فراوانی نوارهای گیاهچه های منفرد هر لاین اولیه و نسلهای تفکیک ترکیبی اولیه تریتی پایرم

توسط پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی ۱۰۸

جدول ۳-۵ تعداد نوارها و میانگین نوارهای چند شکل گیاهچه های منفرد لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک لاینهای

ترکیبی اولیه تریتی پایرم با استفاده از پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی ۱۱۵

جدول ۳-۶ مقادیر میانگین میزان اطلاعات چند شکل در لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک لاینهای ترکیبی اولیه

تریتی پایرم ۱۱۷

جدول ۳-۷ مقادیر میانگین ضریب تشابه و ضریب تنوع لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک لاینهای ترکیبی اولیه تریتی

پایرم ۱۲۰

جدول ۳-۸ مقادیر همبستگی بین لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک لاینهای ترکیبی اولیه تریتی پایرم

..... ۱۲۵

جدول ۳-۹ مقادیر ویژه، سهم واریانس و سهم تجمعی واریانس در لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک ترکیبی اولیه

تریتی پایرم ۱۲۹

«فهرست اشکال»

عنوان..... صفحه

«فصل اول»

«فصل دوم»

شکل ۱-۲ مشاهده کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به روش مینی پروب تغییر یافته با الکتروفورز ژل آگارز

..... ۴۶

شکل ۲-۲ نواریندی و چند شکلی حاصل از DNA لاینهای تریپی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریپیکاله

با پرایمر تصادفی OPN02 ۶۰

شکل ۲-۳ نواریندی و چند شکلی حاصل از DNA لاینهای تریپی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریپیکاله

با پرایمر تصادفی ET42 ۶۰

شکل ۲-۴ دندروگرام به دست آمده از لاینهای اولیه تریپی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریپیکاله با

استفاده از پرایمرهای تصادفی ۶۷

شکل ۲-۵ دندروگرام به دست آمده از لاینهای اولیه تریپی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریپیکاله با

استفاده از پرایمرهای نیمه تصادفی ۶۹

شکل ۲-۶ دندروگرام حاصل از کاربرد پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی بر روی DNA ژنومی لاینهای اولیه

تریپی پایرم، ارقام گندم، گونه علف شور و لاینهای امید بخش تریپیکاله ۷۲

شکل ۲-۷ دندروگرام به دست آمده از کاربرد پرایمرهای تصادفی و نیمه تصادفی بر روی DNA ژنومی لاینهای

اولیه تریپی پایرم و گونه علف شور بر اساس ضریب تشابه جاکارد ۸۱

شکل a ۲-۸ تکثیر DNA لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله با پرایمر تصادفی

OPM06 ۸۸

شکل b ۲-۸ تکثیر DNA لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله با پرایمر نیمه

ET34 تصادفی ۸۹

«فصل سوم»

شکل a ۳-۱ DNA گیاهچه های منفرد سه برگی لاینهای اولیه تریتی پایرم Cr/b ، تکثیر شده با پرایمر نیمه

ET33 تصادفی ۱۱۳

شکل b ۳-۱ DNA گیاهچه های منفرد سه برگی لاین ترکیبی اولیه تریتی پایرم (Ka/b)(Cr/b)F₅ با استفاده از

نیمه تصادفی ET33 ۱۱۳

شکل c ۳-۱ DNA گیاهچه های منفرد سه برگی لاین ترکیبی اولیه تریتی پایرم (Ka/b)(Cr/b)F₆ با استفاده از

پرایمر تصادفی OPC11 ۱۱۴

شکل d ۳-۱ DNA گیاهچه های منفرد سه برگی لاین ترکیبی اولیه تریتی پایرم (Ka/b)(Cr/b)F₅ با استفاده از

نیمه تصادفی ET32 ۱۱۴

شکل ۳-۲ دندروگرام به دست آمده از لاینهای اولیه تریتی پایرم Ne/b بر اساس ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم

UPGMA ۱۲۲

شکل ۳-۳ دندروگرام به دست آمده از لاین ترکیبی اولیه تریتی پایرم (Ma/b)(Cr/b)F₃ بر اساس ضریب تشابه

جاکارد و الگوریتم UPGMA ۱۲۲

شکل ۳-۴ دندروگرام به دست آمده از لاین ترکیبی اولیه تریتی پایرم (Ka/b)(Cr/b)F₂ بر اساس ضریب تشابه

جاکارد و الگوریتم UPGMA ۱۲۳

شکل ۳-۵ دندروگرام لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک لاینهای ترکیبی اولیه تریتی پایرم با استفاده از میانگین

فراوانی نوارها، ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA..... ۱۲۶

«فهرست نمودارها»

عنوان..... صفحه

«فصل اول»

«فصل دوم»

نمودار ۲-۱ نمودار مسطح سه بعدی گروه بندی لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم، گونه علف شور و لاینهای

امید بخش تریتی کاله..... ۷۸

نمودار ۲-۲ نمودار دو بعدی گروه بندی لاینهای اولیه تریتی پایرم، ارقام گندم، گونه علف شور و لاینهای امید

بخش تریتی کاله بر اساس دو مولفه اول..... ۷۸

نمودار ۲-۳ گروه بندی لاینهای اولیه تریتی پایرم، گونه علف شور، ارقام گندم و لاینهای امید بخش تریتی کاله بر

روی سه مولفه اول با استفاده از روش مارکرهای تصادفی و نیمه تصادفی..... ۸۲

«فصل سوم»

نمودار ۳-۱ مقایسه تنوع ژنتیکی درون لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک لاینهای ترکیبی اولیه تریتی پایرم

..... ۱۱۹

نمودار ۳-۲ گروه بندی لاینهای اولیه و نسلهای تفکیک ترکیبی اولیه لاینهای تریتی پایرم بر اساس دو مولفه اول

..... ۱۳۰

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع

۱- مقدمه

یکی از مسائل مهم و قابل توجه در جهان، شوری خاک می باشد. حدود ۰.۷٪ از اراضی قابل کشت دنیا تحت تاثیر شوری قرار دارد و بیش از یک سوم این اراضی در قاره آسیا قرار گرفته که از نظر وسعت بترتیب پس از شوروی سابق، چین، هند و پاکستان، ایران در مقام پنجم قرار دارد. پیچیدگی صفت تحمل به شوری و توارث پذیری چند ژنی آن، یک فاکتور مهم بوده که در تهیه ارقام مقاوم به شوری زحماتی را بوجود آورده است. تلاقی های بین گونه ای و بین جنسی مختلف، زمینه را برای ورود ژن های کنترل کننده صفات پیچیده، به منظور انتقال توأم تعداد زیادی از ژنها بوجود می آورد (۳۱).

گندم اگر چه تا حدودی به شوری مقاوم است، اما قابل کشت در تمام مناطق نیست. خویشاوندان وحشی گندم دارای خزانه عظیمی از تنوع ژنتیکی بوده که پتانسیل بالقوه مهمی را برای استفاده از آنها در اصلاح گندم به منظور مقاومت به شوری فراهم می آورد (۷۷، ۸۹).

در اواخر دهه چهارم ۱۹۳۶، تشکیل مواد ژنتیکی گونه های وحشی از جنس *Triticum* پاپروم^۱، به درون ژنوم گندم از طریق تلاقی های دور برای افزایش تنوع ژنتیکی در گندم، به منظور اصلاح برای مقاومت به بیماریها، خشکی، شوری و دیگر صفات افزایش یافت (۸۹). از جمله این کاربردها تولید لاینهای اولیه و ترکیبی اولیه آمفی پلوئید، هگزاپلوئید تریتی پایرم می باشد که از تلاقی ارقام گندم تتراپلوئید^۲ با فرمول ژنومی *AABB* با علف شور ساحل دیپلوئید^۳، با فرمول ژنوم ژنومی E^bE^b به دست آمده است. این آمفی پلوئید ساخته دست بشر در آب حاوی ۲۵۰ میلی مول نمک رشد کرده و مقاومت نشان می دهد (۴۴).

^۱ *Thinopyrum*
^۲ *Triticum spp*
^۳ *Thinopyrum bessarabicum*

۱-۱- آمفی پلوئیدهای مصنوعی

آمفی پلوئیدهای مصنوعی گندم، معمولا محتوی ژنوم کامل گندم به اضافه یک ژنوم، غیر از گندم بوده که از تلاقی گندم با گونه های وحشی گندم نظیر جو، چاودار و تینوپایرم و سپس تلاقی برگشتی گندم با دورگهای حاصل با گندم به وجود می آیند (۴۵). از دورگ گیری بین گونه ای و بین جنسی، برای اصلاح گیاهان به منظور تغییرات مواد ژنتیکی بین گونه های مختلف یا تولید گونه های جدید استفاده می شود (۴۵).

اغلب دورگهای بین گونه ای عقیم بوده، که این عقیمی استفاده مستقیم آنها را در برنامه های اصلاح گیاهان محدود می کند. معمولا این عقیمی، مربوط به رفتارنا متعادل تقسیم میوز این دورگها، بویژه جفت شدن کروموزوم ها در متافاز این تقسیم می باشد (۳۰).

آمفی پلوئید های مصنوعی که تا کنون به طور موفقیت آمیزی تولید شده اند عبارت اند از:
 ۱- تریگوپيرو^۱: این آمفی پلوئید مصنوعی، حاصل تلاقی گندم هگزاپلوئید (AABBDD) با تینوپایرم پانتیکوم (2n=70) می باشد (۳۶،۳۷). فرمول ژنومی این دورگ توسط فرادری و همکاران (۲۰۰۳) AABBDJJ نامگذاری شد. این دورگ، در سال ۱۹۳۷ در امریکا به دست آمده و به طور موفقیت آمیزی با گندم معمولی تلاقی برگشتی داده می شود.

۲- تریسپيرو^۲: یک غله مصنوعی با ارزش علوفه ای بالا بوده که توسط جی. کوو اس^۳، در سال ۱۹۷۲ در آرژانتین از تلاقی تریتیکاله هگزاپلوئید (AABRR) و آمفی پلوئید اکتاپلوئید تریگوپيرو به دست آمده است. تریسپيرو، بعد از چندین نسل خودگشتی تحت عنوان یک رقم به نام تریسپيرو.دان.نو.آی ان تی^۴ معرفی شد.

Trigopiro^۱Tricepipro^۲G. Covas^۳Tricepipro Done Noe INTA^۴