دانشکده علوم کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی و خویشاوند گندم با استفاده از نشانگرهای مولکولی

اساتید راهنما:

دکتر امید سفالیان

دکتر رسول اصغری زکریا

اساتید مشاور:

دکتر علی اصغری

دکتر مجید شکرپور

توسط:

عطا جم باراندوزی

دی ۱۳۹۱

بسم الله الرحمن الرحيم

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزم

که وجودشان همه مهر است

سپاس گزاری

خداوندا همه ستایش‌ها از آن توست، اگر موفقیتی داشته‌ام همه از نعمت‌های بیکران تو بوده است. اکنون که با استعانت از درگاه ایزد منان گامی دیگر از زندگی‌ام را پشت سر نهادم با خضوع و افتادگی تمام بر خود لازم می‌دانم مراتب سپاس و قدردانی صمیمانه خویش را تقدیم به همه کسانی کنم که در این پژوهش مرا یاری نمودند.

از اساتید راهنمای بزرگوارم آقایان دکتر امید سفالیان و دکتر رسول اصغری زکریا به خاطر تمام راهنمایی‌ها و مساعدت‌های بی‌دریغ و ارزشمندشان در طی مراحل انجام و تدوین پایان نامه، نهایت تشکر و امتنان را دارم. از اساتید مشاورمحترم، آقای دکتر علی اصغری و دکتر مجید شکرپور به خاطر همفکری‌ها و پیشنهادات ارزشمندشان در بهبود این پایان نامه، سپاسگزارم. از داور ارجمند جناب آقای دکتر ناصر زارع که زحمت داوری پایان‌نامه را تقبل نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایم. از مساعدت و لطف نماینده محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر مرتضی برمکی نیز سپاسگزارم.

از دوستان مهربانم، به خصوص آقای مهندس علی شیردل، مهندس تورج خبیری، مهندس بهزاد شهبازی، مهندس مهدی اصلانی و مهندس عمران غفاری که از ابتدای ورود به دانشگاه به سان برادر یاورم بودند، سپاسگزارم و برای تمامی این عزیزان و تمامی کسانی که در به ثمر نشاندن این اثر بنده را یاری نمودند آرزوی سربلندی و موفقیت می‌نمایم.

در پایان سپاس ویژه خود را به خانواده عزیزم تقدیم می‌کنم ، که در تمام مراحل زندگی و تحصیلی همواره پشتیبان و مشوق من بوده‌اند. اگر چه تقدیم را شایسته نیست، با این وجود این پایان نامه را تقدیم می‌کنم به معلمان دیروزم که امروزم ثمره وجود آنهاست و کلام را توانایی و یارای بازگویی مقام والایشان نیست.

عطا جم باراندوزی

نام خانوادگی: **جم باراندوزی** نام: **عطا**

عنوان پایان‌نامه: **بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی و خویشاوند گندم با استفاده از نشانگرهای مولکولی**

اساتید راهنما: **دکتر امید سفالیان – دکتر رسول اصغری زکریا** اساتید مشاور: **دکتر علی اصغری – دکتر مجید شکرپور**

مقطع تحصیلی: **کارشناسی ارشد** رشته: **زراعت و اصلاح نباتات** گرایش: **اصلاح نباتات**

دانشگاه: **محقق اردبیلی** دانشکده: **علوم کشاورزی**

تاریخ فراغت از تحصیل: ۱۳۹۱/۱۰/۱۲ **تعداد صفحه: ۷۳**

کلید واژه‌ها: **آژیلوپس، اکوتیپ، تنوع ژنتیکی**، ISSR

چکیده: اهمیت تنوع ژنتیکی در گندم زراعی و اهداف اصلاحگران دلایلی هستند که ضرورت ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی و خویشاوند گندم به منظور اصلاح ارقام زراعی مقاوم به تنش‌ها و دارای عملکرد بالا را توجیه می‌کند. این پژوهش به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ٦ گونه آژیلوپس با استفاده از نشانگرهای ISSR انجام گرفت. همچنین، از دو روش پروتئینی SDS-PAGE و ACID-PAGE نیز برای تجزیه میزان تنوع استفاده شد. در روش SDS-PAGE، میزان تنوع کل برای ۱۲ اکوتیپ مورد بررسی ۸٦/۹٦ و در روش ACID-PAGE، ۸۹/۱۷ برآورد شد. از ۳٤ آغازگر در روش ISSR استفاده شد که تعداد ۱۱ آغازگر، نوارهای مشخصی تولید کرده و مورد استفاده قرار گرفتند. در نهایت ۱۷۹ نوار چندشکل توسط این نشانگرها تولید شد. تنوع ژنتیکی درون اکوتیپ‌ها بر اساس شاخص نی از ۰/۰۱ تا ۰/۰۷ برآورد گردید. بیشترین میانگین سطح این تنوع در اکوتیپ-های مربوط به گونه‌های *Ae. triuncialis* و*Ae. biuncialis* و کمترین میانگین سطح این تنوع در اکوتیپ‌های مربوط به گونه *Ae. umbellulata* بود. این نتایج نشان دهنده تنوع پایین در درون جمعیت‌های مختلف *Aegilops* بود. همچنین از کل مکان-های ژنی ۱۷۹ مکان چندشکل بودند. میانگین تنوع ژنتیکی درون (H_S) و کل (H_T) به ترتیب ۰/۰٤ و ۰/۳۱، میانگین درجه تمایز ژنی بین اکوتیپ‌ها در تمام مکان‌ها ۰/۸٤ و تنوع بین در نمونه‌های مورد مطالعه ۰/۲۷ برآورد شد که نشان دهنده میزان تنوع بالا بین گونه‌های مورد مطالعه است. برای گروه‌بندی اکوتیپ‌ها از روش دورترین همسایگی با استفاده از ماتریس ضرایب تشابه نی استفاده گردید و اکوتیپ‌های مربوط به این شش گونه در سه گروه قرار گرفتند. به منظور تعیین روابط ژنتیکی بین اکوتیپ‌ها و نیز گروه‌بندی آن‌ها تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی نیز به عنوان روشی مکمل برای تجزیه خوشه‌ای انجام گرفت. دو مولفه اصلی اول مجموعا ۷۱/۱۵ درصد از تغییرات داده‌ها را توجیه کردند. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان اظهار داشت که تنوع بین گونه‌ها بالا و قابل توجه بود و از اکوتیپ‌های دور از هم البته در گونه‌های متفاوت می‌توان برای تلاقی بین گونه‌ای استفاده کرد.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول (مقدمه و مروری بر تحقیقات گذشته) ۱

۱-۱- مقدمه ۲

۱-۲- گونه‌های جنس *Aegilops* ۳

۱-۲-۱- پراکنش جغرافیایی و اکولوژی آژیلوپس ٤

۱-۳- گیاهشناسی و اکولوژی *Aegilops* ٥

۱-٤-۱- *Ae. triuncialis* ٥

۱-٤-۲- *Ae. biuncialis* ٦

۱-٤-۳- *Ae. cylindrica* ۷

۱-٤-٤- *Ae. tauschii* ۸

۱-٤-٥- *Ae. crassa* ۸

۱-٤-٦- *Ae. umbellulata* ۹

۱-٤- تکامل آژیلوپس و گندم ۹

۱-٥- اهمیت تنوع ژنتیکی در اصلاح نباتات ۱۱

۱-٦- اهمیت گونه‌های آژیلوپس در اصلاح گندم ۱۲

۱-۷- روش‌های برآورد تنوع ژنتیکی ۱٥

۱-۷-۱- نشانگرهای مورفولوژیک ۱٥

۱-۷-۲- نشانگرهای وابسته به کروموزوم ۱٥

۱-۷-۳- نشانگرهای بیوشیمیایی (آیزوزایم‌ها و پروتئین‌های ذخیره‌ای) ۱٥

۱-۷-۳-۱- الکتروفورز ۱٥

۱-۷-۳-۲ مطالعه پروتئین‌های ذخیره‌ای آندوسپرم بذر ۱۷

۱-۷-٤- نشانگرهای مبتنی بر DNA ۲۰

۱-۷-٤-۱- نشانگرهای ISSR ۲۱

۱-۸- مطالعات انجام شده بوسیله نشانگرهای ISSR ۲۲

۱-۹- مطالعات انجام شده در گیاه *Aegilops* ۲۳
۱-۱۰- هدف و ضرورت تحقیق ۲٤
فصل دوم (مواد و روش‌ها) ۲۵
۲-۱- مواد گیاهی ۲٦
۲-۲- محل اجرای طرح ۲۷
۲-۳- نحوه کشت و برداشت نمونه‌ها ۲۷
۲-٤- تجزیه پروتئین‌ها ۲۷
۲-٤-۱- روش SDS-PAGE ۲۷
۲-٤-۱-۱- استخراج و ارزیابی پروتئین‌های ذخیره‌ای به روش SDS-PAGE ۲۷
۲-٤-۱-۲- محلول‌های مورد نیاز جهت ارزیابی پروتئین‌ها ۲۷
۲-٤-۱-۳- بافرهای مورد نیاز برای استخراج پروتئین‌های کل دانه (محلول در آب/ نمک) ۲۸
۲-٤-۱-٤- نحوه استخراج پروتئین‌های دانه تجزیه و تحلیل داده‌های ISSR ۲۹
۲-٤-۱-۵- الکتروفورز پروتئین‌های دانه ۲۹
۲-٤-۲- مطالعه الگوی نواربندی گلیادین‌ها به روش A-PAGE ۳۰
۲-٤-۲-۱- تمیز کردن وسایل مورد نیاز برای الکتروفورز ۳۱
۲-٤-۲-۲- تهیه محلول‌ها ۳۱
۲-٤-۲-۳- مراحل استخراج و الکتروفورز پروتئین‌ها ۳۲
۲-۵- روش‌های آماری استفاده شده در مطالعه پروتئین‌های ذخیره‌ای آندوسپرم بذر ۳۳
۲-٦- تجزیه ISSR ۳۳
۲-٦-۱- استخراج DNA ژنومی ۳۳
۲-٦-۲- تعیین کمیت و کیفیت DNA ۳٤
۲-٦-۳- واکنش PCR ۳۷
۲-٦-٤- تجزیه و تحلیل داده‌های ISSR ۳۹
فصل سوم (نتایج و بحث) ٤۱
۳-۱- مطالعه تنوع پروتئین‌های محلول در آب و نمک در اکوتیپ‌های *Aegilops* ٤۲

۳-۲- مطالعه تنوع پروتئینهای گلیادین در گونه‌های *Aegilops* ٤٧
۳-۳- چندشکلی نوارهای ISSR..... ٥٣
۳-٤- برآورد تنوع ژنتیکی درون و بین اکوتیپ‌ها در جمعیت‌ها ٥٤
۳-٥- بررسی فاصله ژنتیکی بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه..... ٥٨
۳-٦- تجزیه خوشه‌ای براساس داده‌های مولکولی ٦٠
۳-۷- تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی براساس داده‌های مولکولی ٦١
۳-۸- بحث..... ٦٢
۳-۹- نتیجه گیری کلی ٦٤
منابع ٦٥

فهرست جداول

عنوان صفحه

جدول ۲-۱- اسامی و محل جمع‌آوری اکوتیپ‌های مورد مطالعه..... ۲۶
جدول ۲-۲- مقادیر مورد نیاز از مواد و محلول‌ها برای تهیه ژل..... ۲۹
جدول ۲-۳- نحوه تهیه بافر استخراج CTAB..... ۳۷
جدول ۲-٤- محلول شستشو (اتانول ۷٦ درصد و استات آمونیوم ۱۰ میلی مولار) ۳۷
جدول ۲-۵- نحوه تهیه بافر TE ۳۷
جدول ۲-٦- اجزای واکنش PCR برای آغازگرهای ISSR..... ۳۸
جدول۲-۷- توالی آغازگرهای ISSR مورد استفاده شده برای بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی و خویشاوند گندم..... ۳۹
جدول ۳-۱- تعداد نوار در اکوتیپ‌های مورد مطالعه در روش SDS-PAGE ٤۳
جدول ۳-۲- فاصله ژنتیکی نی در ۱۲ اکوتیپ مورد بررسی بر اساس الگوی نواربندی پروتئین‌های ذخیره‌ای در محیط SDS-PAGE ٤٦
جدول ۳-۳- تعداد نوار در اکوتیپ‌های مورد بررسی در روش A-PAGE ٤۸
جدول ۳-٤- فاصله ژنتیکی نی در ۱۲ اکوتیپ مورد بررسی بر اساس الگوی نواربندی پروتئین‌های محلول در الکل در محیط A-PAGE..... ۵۲
جدول ۳-۵- اطلاعات آماری در مورد تنوع ژنتیکی ۱۱ آغازگر ISSR مورد استفاده در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه..... ۵٤
جدول۳-٦- تعداد نشانگرهای چندشکل تولید شده توسط ۱۱ آغازگر ISSR در اکوتیپ‌های مختلف گونه‌های مورد مطالعه ۵۵
جدول ۳-۷- تنوع ژنتیکی بر اساس شاخص‌های نی وشانون، تعداد و درصد مکان‌های چندشکل بر اساس اطلاعات مربوط به درون گونه‌های مورد مطالعه..... ۵۸
جدول ۳-۸- ماتریس فاصله بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه با استفاده از ضریب تشابه نی با استفاده از اطلاعات روش ISSR..... ۵۹

فهرست اشکال

عنوان صفحه

شکل ۲-۱- نمونه‌های کشت شده در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی.....۲۷
شکل ۲-۲- تعیین کیفیت DNA نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه در ژل آگارز ۰/۸ درصد.....۳۶
شکل۳-۱- الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های محلول در آب/نمک دراکوتیپ‌های وحشی مذکور.....۴۲
شکل۳-۲- نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای در۱۲ اکوتیپ مورد بررسی بر اساس الگوی نواربندی پروتئین‌های ذخیره‌ای در محیط SDS-PAGE به روش دورترین همسایگی ۴۴
شکل۳-۳- تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی در ۱۲ اکوتیپ مورد بررسی بر اساس الگوی نواربندی پروتئین‌های ذخیره‌ای در محیط SDS-PAGE ۴۵
شکل۳-۴- الگوی الکتروفورزی A-PAGE در اکوتیپ‌های وحشی مذکور.....۴۷
شکل۳-۵- نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای در ۱۲ جمعیت مورد بررسی بر اساس الگوی نواربندی پروتئین‌های محلول در الکل در محیط A-PAGE به روش دورترین همسایگی ۵۰
شکل۳-۶- تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی در ۱۲ اکوتیپ از گونه‌های مورد بررسی بر اساس الگوی نواربندی پروتئین‌های محلول در الکل در محیط A-PAGE ۵۱
شکل ۳-۷- الگوی نواربندی آغازگر شماره ۱۳ برای تعدادی از اکوتیپ‌های مورد مطالعه ۵۳
شکل ۳-۸- نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۳۳ اکوتیپ مورد مطالعه.....۶۰
شکل ۳-۹- پراکنش اکوتیپ‌های مورد بررسی براساس دو مولفه اول هماهنگ و دوم حاصل از تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی بر اساس داده‌های ISSR در گونه‌های مختلف مورد بررسی.....۶۱

فصل اول:
مقدمه و مروری بر تحقیقات گذشته

۱-۱- مقدمه

غلات یکی از مهم‌ترین تولیدات غذایی برای انسان به‌شمار می‌روند و نقش مهمی را در الگوی مصرف هر کشوری در جهان بر عهده دارند (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۷٦). با توجه به رشد سر-سام‌آور جمیعت جهان به‌خصوص در کشورهای فقیر و کمتر توسعه یافته و امکانات محدودی که در جهت افزایش سطح زیر کشت گیاهان زراعی وجود دارد فقر و گرسنگی، زندگی بشر را بیش از پیش تهدید می‌نماید. افزایش عملکرد در واحد سطح که به عنوان مهم‌ترین راه کار برای نجات انسان‌ها از فقر و گرسنگی است، عمدتاً متکی بر اصلاح و ایجاد ارقام پر محصول و با ویژگی‌های کمی و کیفی بالا می‌باشد و تنوع ژنتیکی اساس و پایه کار اصلاح نباتات است. یک اصلاحگر در صورتی در برنامه‌های اصلاحی خود موفق خواهد بود که امکان انتخاب مواد مناسب برای او وجود داشته باشد (وجدانی، ۱۳۷۲). علیرغم این اهمیت حیاتی، تنوع ژنتیکی بسیاری از محصولات از جمله گندم در طول دهه‌های گذشته کاهش یافته است. کاهش تنوع علاوه بر اینکه بازدهی برنامه‌های اصلاحی را کاهش می‌دهد، باعث ایجاد یکنواختی ژنتیکی در مزارع و آسیب‌پذیری شدید محصولات کشاورزی در برابر آفات، بیماری‌ها و تنش‌های محیطی نیز می‌گردد. از این رو محققین به دنبال منابع ژنتیکی جدید هستند تا بر این مشکلات غلبه نمایند (متاکوفسکی و بابوو، ۱۹۹۲؛ چیافی و همکاران، ۱۹۹۳). خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی در بردارنده منابع ژنی با ارزشی برای بهبود صفات کمی و کیفی گیاهان زراعی می‌باشند (تنکسلی و مک‌کاوچ، ۱۹۹۷). حتی برخی معتقدند که موفقیت آینده اصلاح‌نباتات در استفاده از منابع ژنتیکی وحشی نهفته است (نوو و پاین، ۱۹۸۷؛ جیانگ و همکاران، ۱۹۹٤). هدف انقلاب کشاورزی در قرن ۲۱، افزایش تولید غذا بر پایه ژنتیک است که در این راستا امیدوارکننده‌ترین مورد در بهبود محصولات زراعی، وابسته به اجداد گیاهان کشت‌شده‌ای است که دارای منابع غنی ژنتیکی برای مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و سایر چشم‌اندازهای اصلاحی می‌باشند (نوو، ۱۹۹۸). خویشاوندان وحشی گندم منبع ارزشمندی از تنوع ژنتیکی برای بهبود تحمل به تنش و کیفیت گندم کشت شده می باشند (کی‌هیون و همکاران، ۲۰۱۰). سودمندی خویشاوندان وحشی در برنامه‌های اصلاحی محصولات زراعی اصلی در دهه ٤۰ و ۵۰ میلادی تشخیص داده شد (پلاکنت و همکاران، ۱۹۸۷). همچنین استفاده از ژن‌های وحشی در بهبود محصولات زراعی با بررسی‌های انجام شده جایگاه ویژه‌ای را بین دهه‌های ۷۰ و ۸۰ میلادی بدست آورد (هجار و هاجکین، ۲۰۰۷).

خویشاوندان وحشی محصولات زراعی یک منبع بالقوه مفید و با ارزش تنوع ژنتیکی هستند که توجه اصلاحگران را به خود جلب نموده‌اند. گونه‌های اجدادی و خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی

به دلیل قدمت و سازگاریشان به شرایط زیستی و عوامل نامساعد محیطی، دارای مناسب‌ترین ژن‌ها بوده و می‌توانند تنوع ژنتیکی مورد نظر اصلاح‌گران نباتات را تأمین نمایند. تأمین چنین منابع ارزنده و شناسایی قابلیت‌های ارزنده آنها و فراهم نمودن امکان بهره‌برداری سریع از آنها یکی از استراتژی-های عمده در ایجاد تنوع در برنامه‌های اصلاح‌نباتات می‌باشد (وجدانی، ۱۳۷۲).

جنس *Aegilops* متعلق به تیره Poaceae، در سه سطح پلوئیدی شامل ۱۱ گونه دیپلوئید، ۱۰ گونه تتراپلوئید و دو گونه هگزاپلوئید وجود دارند که از خویشاوندان گندم زراعی محسوب می‌شوند و با دارا بودن تعداد زیادی از ژن‌های مهم، منبع با ارزشی برای مقاومت به بیماری‌ها و آفات به شمار می‌روند که این ژن‌ها را می‌توان از طریق تلاقی به داخل ژنوم گندم انتقال داد (اشنایدر و همکاران، ۲۰۰۸). گونه‌های جنس آژیلوپس در شمال غربی و مرکز آسیا و ایران و سرتاسر نواحی مدیترانه ای پراکنده شده‌اند (کازوتشی و همکاران ۱۹۹۸). مرکز اولیه جنس آژیلوپس طبق بررسی‌های مختلف انجام گرفته در هلال حاصلخیز[1] بوده است (کیمبر و فلدمن، ۱۹۸۷؛ وان اسلاجرن، ۱۹۹٤). زیرا، مقدار زیادی از گونه‌های آژیلوپس نسبت به مناطق دیگر در این منطقه یافت می‌شود. این جنس دارای پتانسیل بالایی در اصلاح گونه‌های گندم برای مقاومت در مقابل تنش‌های زیستی و غیرزیستی و سایر مقاصد و چشم‌اندازهای اصلاحی می‌باشد (زهاریو و همکاران، ۲۰۰۳).

با وجود این که موفقیت‌های بزرگی در زمینه اصلاح نباتات از طریق گزینش صفات مورفولوژیک و زراعی حاصل شده است ولی در مورد صفاتی با وراثت پذیری کم، کارایی گزینش پایین می‌باشد. در چند سال اخیر با کشف نشانگرهای مولکولی و بیوشیمیایی از قبیل پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک در گزینش ژنوتیپ‌های مطلوب و بررسی روابط تکاملی ژنوم‌ها پیشرفت‌های زیادی حاصل شده است و انجام مطالعات در این زمینه حایز اهمیت می‌باشد (نوو، ۱۹۹۸). پژوهش حاضر نیز به منظور بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی و خویشاوند گندم با استفاده از نشانگرهای ISSR[2] و نیز ارزیابی الگوهای نواربندی پروتئینی برای برخی از اکوتیپ‌ها با استفاده از روش SDS-PAGE و A-PAGE[3] انجام گردید.

1. Fertile Crescent
2. Inter Simple Sequence Repeat
3. ACID-PAGE

۱-۲- گونه‌های جنس *Aegilops*

جنس *Aegilops* به زیر طایفه Triticiane، طایفه Triticeae، و تیره Poaceae تعلق دارد. علاوه بر این، جنس‌های *Agropyron*، *Secale*، *Hynaldia* و *Triticum* نیز در این زیر طایفه قرار می‌گیرند (گوپتا و بائوم، ۱۹۸٦). آژیلوپس‌ها شامل ۲۳ گونه می‌باشند که در سه سطح پلوئیدی شامل ۱۱ گونه دیپلوئید، ۱۰ گونه تتراپلوئید و دو گونه هگزاپلوئید وجود دارند و بعضی از آنها به علت داشتن ژنوم D و اهمیت آن در کیفیت نان می‌توانند با واریته‌های گندم تلاقی داده شوند (وان اسلاجرن، ۱۹۹٤).

کلیه گونه‌های دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید موجود در این جنس یکساله و علفی بوده و اغلب خودبارور می‌باشند. البته گونه‌های دگربارور هم در بین آنها وجود دارد. به عنوان مثال گونه *Ae. speltoides* خودناسازگار بوده و یک گونه دگربارور اجباری است. چنین وضعیتی در *Ae. mutica* نیز دیده می‌شود. علاوه بر این، گونه‌های*Ae. longissima* و *Ae. caudata* نیز عمدتاً دگربارور می‌باشند (هامر و ماتسک، ۱۹۹۳).

۱-۲-۱- پراکنش جغرافیایی و اکولوژی آژیلوپس

آژیلوپس از گونه‌های آسیای غربی و مدیترانه‌ای می‌باشد که شامل گونه‌هایی می‌شود که هم در نواحی مدیترانه‌ای و هم در ایران و آسیای مرکزی یافت می‌شود (هژ و همکاران، ۲۰۰۲). این جنس از ۱۰ درجه غربی تا ۸۲ درجه شرقی و از ۲٤ تا ٤۷ درجه شمالی یافت می‌شود. آژیلوپس در نواحی اروپایی حاشیه مدیترانه و اوکراین جنوبی، شبه جزیره کریمه و همچنین در سراسر بخش‌های قفقاز، آفریقا، شمال صحرای ساهارا و در آسیای غربی و مرکزی، همچنین در ناحیه مرزی نزدیک صحراهای واقع در شبه جزیره عربی در جنوب، و در شرق نزدیک کوه‌های تیان شان (در آسیای مرکزی) رشد می‌کند. چندین گونه آژیلوپس در ایالات متحده نیز دیده شده است که *Ae. cylindrica* در حال حاضر گونه شایع این جنس در این منطقه است. چندین گونه نیز به صورت خودرو در شمال و شمال غربی اروپا و در جزایر قناری رشد کرده‌اند و بومی این مناطق نیستند. پراکنش این جنس از لحاظ ارتفاع از سطح دریا از ٤۰۰ متر تا ۲۷۰۰ متر متنوع می‌باشد اما اکثراً در بین گونه‌های مختلف، متفاوت است (هاجکین و همکاران، ۱۹۹۲؛ وان‌اسلاجرن، ۱۹۹٤).

بنا به اظهارات وان اسلاجرن (۱۹۹٤)، بیشترین تنوع در جنس آژیلوپس را در هلال حاصلخیز که محدوده آن از فلسطین ، لبنان، سوریه، جنوب شرقی ترکیه، شمال عراق تا شمال غربی ایران می‌باشد، می‌توان یافت. در این ناحیه بخش مرکزی هلال حاصلخیز، منطقه بین رودهای دجله و فرات از دامنه‌های جنوبی کوه‌های تاروس (واقع در جنوب ترکیه) تا زمین‌های پست منتهی می‌شود، این

جنس بیشترین تنوع را دارد. نقشه‌یابی از مکان‌هایی که دارای گونه‌های غنی از آژیلوپس هستند، نشان می‌دهد که شمال غربی اردن، فلسطین، لبنان، غرب سوریه، عراق و ترکیه از جمله نواحی هستند که بیش از ۹ گونه آژیلوپس در این مناطق یافت می‌شود. دو ناحیه اصلی وجود دارد که در آن مناطق ۱۲ تا ١٤ گونه آژیلوپس یافت شده‌اند که این مناطق عبارتند از: ۱) غرب سوریه- شمال شرقی لبنان ۲) شمال عراق (وان اسلاجرن، ١٩٩٤؛ مکستد و همکاران، ۲۰۰۸).

با استناد بر نظرات هامر(۱۹۸۰) خاستگاه آژیلوپس را می‌توان در سراسر نواحی قفقاز از طریق گونه‌های دیپلوئیدی که در جهات غربی و جنوب غربی مهاجرت کرده‌اند جستجو کرد. اخیراً نیز، گروهی از گونه‌های تتراپلوئید این جنس به دلیل توانایی سازگاریشان هم در غرب و هم در جنوب غربی در اطراف حوزه مدیترانه‌ای و همچنین در شرق و به طرف آسیای مرکزی گسترده شده‌اند. گونه‌های آژیلوپس به مناطقی با شرایط نامساعد محیطی مثل چراگاهها، کنار جاده‌ها، نواحی پوشیده شده از بوته‌ها و درختان کوچک، شنزارها، پارک‌های جنگلی متعدد و همچنین در حاشیه و داخل مزارع سازگاری نشان می‌دهند. بنابراین، می‌توان گفت که آژیلوپس هم به مناطقی با پوشش گیاهی و هم نواحی پوشیده از علف هرز سازگار است. گونه‌های آژیلوپس همراه با علف‌ها (گراس‌ها) و درختچه‌ها رشد می‌کند و به ندرت بر پوشش گیاهی فائق می‌آیند (وان‌اسلاجرن، ١٩٩٤). عادت رشدی یکساله و خودگرده افشان بودن آژیلوپس از استراتژی‌های ممتاز زندگی این جنس در نواحی با بارندگی‌های فصلی و تابستان گرم محسوب می‌شود. چندین گونه آژیلوپس نیز حاصل تلاقی بین دو گونه متفاوت *Ae. mutica* و *Ae. speltoids* هستند (هامر، ۱۹۸۰؛ ساکاموتو، ۱۹۸۲).

۱-۳- گیاه‌شناسی و اکولوژی گونه‌های *Aegilops*

Ae. triuncialis -۱-۳-۱

گونه *Ae. triuncialis* تتراپلوئید (٢n=٤x=٢٨) با فرمول ژنومی UUCC می‌باشد که از تلاقی بین گونه‌های *Ae. umbellulata* (با فرمول ژنومی UU) و *Ae. caudata* (با فرمول ژنومی CC) بوجود آمده است. این گونه گیاهی است یکساله، دارای چندین ساقه جانبی و سنبله‌ها تقریباً استوانه‌ای شکل می‌باشند. گیاهان به غیر از سنبله‌ها ۳۰-۲۰ سانتی‌متر طول دارند. طول سنبله‌ها به غیر از ریشک‌ها به دو و نیم تا شش می‌رسد که دارای سه تا پنج سنبلچه بارور و دو الی سه سنبلچه ناقص می‌باشند. سنبله‌ها به صورت تکی از هم جدا شده است. گلوم‌های موجود در سنبلچه‌های کناری دارای دو الی سه ریشک، به طول یک و نیم تا شش می‌باشند. ریشک مرکزی گلوم‌های بالایی پنج تا هشت سانتی‌متر طول دارد. طول ریشک‌های جانبی در زیرگونه‌های *triuncialis* به یک الی سه سانتی‌متر

می رسد. در زیر گونه *persica*، ریشک‌های جانبی به شاخک یا ریشک‌های کوتاه مبدل می‌شوند. این گونه در سراسر اروپای جنوبی و نزدیک شرق که به طرف شرق تا آسیای مرکزی گسترده شده است، یافت می‌شود. در امتداد تمام بخش‌های حاصلخیز به خوبی نمایان است، همچنین در قبرس و جنوب کریمه و نیز در ناحیه قفقاز می‌توان آن را یافت. این گیاه در ایالات متحده نیز رویش داشته و یک علف هرز در چراگاه‌ها به حساب می‌آید. در چندین کشور اروپایی به عنوان یک گیاه غیر بومی و گیاهی که به تازگی به آن مناطق وارد شده به چشم می‌خورد. در محل‌های خاصی از جمله در مناطق خشک و تا حدودی در زیستگاه‌هایی که وسط علف‌های هرز پوشیده شده و سراشیبی‌های سنگلاخی خشک موجود در تپه‌ها و کوهستان‌ها به وفور یافت می‌شود. همچنین در حاشیه و در داخل زمین-های زراعی نیز حضور دارند. در انواع مختلفی از پوشش گیاهی شامل زمین‌های پوشیده از درختان کوچک، بیشه‌زارها، چمن‌زارها، جنگل‌ها و بوته‌زارها و همچنین در مناطق جلگه‌ای تا حاشیه صحراها دیده می‌شود. از لحاظ ساختار خاک نیز تنوع وسیعی را نشان می‌دهد ولی گونه‌ها اساساً روی خاک‌های با ساختار لومی رسی و لومی شنی بهتر رشد می‌کنند. این گونه‌ها به عنوان یک مهاجر معمولی شناخته شده است و می‌تواند به صورت انبوه رشد کرده و بر پوشش گیاهی فایق آید. این گونه‌ها همراه با *Ae. geniculata*، شایع‌ترین گونه‌های جنس آژیلوپس بوده و تحت میزان بارندگی سالیانه وسیع مشابه‌ای متنوع از ۱۲۵ تا ۱٤۰۰ میلی‌متری رشد می‌کنند. از سطح دریا تا ارتفاع ۲۷۰۰ متری در مراکش یافت می‌شوند (وان اسلاجرن، ۱۹۹٤). این گونه دارای ژن‌های مقاومت به سیست[1] غلات (رومرو و همکاران، ۱۹۹۸) می باشد. همچنین ژن مقاومت به زنگ برگ از این گونه به ژنوم D گندم انتقال یافته است (آقایی سربرزه ودلیوال، ۲۰۰۱)

Ae. biuncialis **-۲-۳-۱**

گونه *Ae. biuncialis* تتراپلوئید (۲n=٤x=۲۸) با فرمول ژنومی UUMM که از تلاقی بین گونه های *Ae. umbellulata* (با فرمول ژنومیUU) و *Ae. comosa* (با فرمول ژنومیMM) بدست آمده است، می‌باشد. یکساله، با ساقه‌های جانبی زیاد و دارای سنبله‌های کوتاه. گیاهان این گونه ٤۰-۱۰ سانتی‌متر، به غیر از سنبله‌ها طول دارند و طول سنبله‌ها یک و نیم تا سه و نیم سانتی‌متر، به غیر از ریشک‌ها می‌باشد که دو الی سه سنبلچه بارور و یک تا دو سنبلچه ناقص می‌باشد. سنبله‌ها به صورت تکی از همدیگر جدا می‌باشند. سنبلچه بالایی همیشه دارای سه ریشک بوده که طول ریشک‌ها تا چهار تا هفت سانتی‌متر می‌رسد. برخی اختلافات در کرک‌های موجود روی پوشینه‌ها که در هنگام

1. Cyst

رسیدگی گیاه ظاهر می‌شوند (هامر، ۱۹۸۰)، وجود دارد. اساساً در ناحیه اژه، ترکیه، بلغارستان، قبرس، بخش جنوبی هلال حاصلخیز، همچنین در شرق قفقاز و سراسر نواحی قفقاز (شرق سیس قفقاز و ترانس قفقاز) و در بخش جنوبی کریما و قسمت‌های مجاور روسیه و اوکراین به چشم می‌خورد. عموماً در نواحی خشک، کنار جاده‌ها، حاشیه مزارع و انواع مختلفی از جنگل‌ها، رشد می‌کند. همچنین در چمن‌زارها (علف‌زارها)، بیشه‌زار ها، جلگه‌ها و مناطق خشک و سراشیبی‌های کوهستانی سنگلاخی قابلیت رشد دارد. در داغستان، جمعیت‌های گسترده‌ای از این گیاه مشاهده شده است. این گونه‌ها اساساً روی سنگ آهک و همچنین سیلت، سنگ رس، بازالت، گرانیت و توده‌هایی از گدازه های جامد دیده می‌شوند. ساختار خاک: اساساً رسی یا لومی شنی یا لومی رسی، خاک‌های مطلوبی برای این گونه‌ها محسوب می شوند. اطلاعات بارندگی سالیانه برای این گونه، مقداری تحمل به خشکی را نشان می‌دهد، اما گونه‌ها در نواحی با مقدار بارندگی ۱۲۵۰ میلی‌متر هم یافت می‌شوند و در اردن از ۲۰۰ تا ۱۷۵۰ متری از سطح دریا رشد می‌کند (وان اسلاجرن، ۱۹۹٤).

Ae. cylindrica **-۳-۳-۱**

گونه *Ae. cylindrica* تتراپلوئید (۲n=٤x=۲۸) با فرمول ژنومی CCDD که از تلاقی بین گونه‌های *Ae. caudata* (با فرمول ژنومی CC) و *Ae. tauschii* (با فرمول ژنومی DD) بدست آمده است. یک‌ساله، دارای سنبله‌های باریک. گیاهان این گونه ٤۰-۲۰ سانتی‌متر طول دارند. سنبله‌ها به غیر از ریشک‌ها به پنج تا هفت سانتی‌متر می‌رسد که دارای پنج الی هفت سنبلچه می‌باشند. پوشینه‌ها هشت تا نه میلی‌متر طول دارند. بالاترین سنبلچه دارای سه تا چهار ریشک کوچک بوده و از پوشینه‌ها و پوشینک‌های درونی ناشی می‌شوند. پوشینه بیرونی در قاعده ریشک دارای دو شاخک می‌باشد. در این گونه یا سنبله به طور کامل و یا اکثراً به صورت سنبلچه‌های استوانه‌ای شکل از هم جدا شده و ریزش دارند. دارای یک تا دو سنبلچه ناقص می‌باشد. چهار اختلاف بوتانیکی توسط هامر (۱۹۸۰) برای این گونه ذکر شده است که اکثراً بر اساس وجود و عدم وجود ریشک می‌باشد. این گونه شایع و فراوان بوده و تمایل به رفتارهای علف هرز را نشان می‌دهد. نواحی پراکنش این گونه عبارتند از: عمدتاً متمایل به غرب از ترکیه تا بلغارستان، رومانی، نواحی بالکان و مجارستان، به طرف شمال در نواحی قفقاز و در امتداد ساحل دریای سیاه و به طرف شرق در آسیای مرکزی یافت می‌شود. در هلال حاصلخیز، عمدتاً در بخش‌های شمالی حضور دارد و در ایالات متحده و بسیاری از ایالت‌ها به چشم می‌خورد. گونه‌ای است که بیشتر در مکان‌های پوشیده از علف هرز و مواد فاسد، سراشیبی‌های کوهستانی و تپه‌های خشک، چمن‌زارها، حاشیه و داخل مزارع می‌روید. بستر خاک مناسب برای این

گونه، آهکی و بازالتی می‌باشد ولی با فراوانی کمتری بر روی خاک شنی رشد می‌کند. ساختار خاک برای این گونه عمدتاً رسی و لومی بوده که علاوه بر آن شن‌های با خلوص زیاد هم شامل این ساختار می‌شوند. میزان بارندگی سالیانه از ٤٥٠ تا ٨٠٠ میلی‌متر متفاوت می‌باشد. *Ae. cylindrica* ممکن است جمعیت انبوهی را بعد از مواجهه با شرایط نامساعد محیطی به‌وجود بیاورد. از ارتفاع ٢٨ تا تقریباً ٢٠٠٠ متری قابلیت رشد دارد (وان اسلاجرن، ١٩٩٤).

Ae. tauschii **-٤-٣-١**

گونه *Ae. tauschii* دیپلوئید (٢n=٢x=١٤) با فرمول ژنومی DD می‌باشد. یکساله با شاخه‌های انبوه در قاعده با ماشوره راست یا زانویی در قاعده تا ٣٠ سانتی‌متر و اندازه پهنک به پنج تا ده سانتی-مترمی‌رسد که بی‌کرک یا با فاصله کرکدار، سنبله استوانه‌ای شکل بیش از هشت سانتی‌متر طول جزیی باریک به طرف بالا با محور ترد و شکننده می‌باشد. پوشه نوک بریده بدون ریشک است. ابلنگ چهارگوش با دندانه‌های کوتاه، تحتانی‌ترین لماها بیشتر بدون ریشک هستند و لماهای سنبلچه‌های انتهایی با ریشک دراز دو تا سه سانتی‌مترمی‌باشد و اینکه ریشک‌ها گاهی خمیده‌اند. در شیب‌های استپی علف‌دار، صحراهای شنی، زمین‌های دایر و بایر و بلندی‌های ١٥٠ تا ٦٠٠ متر می‌روید (وانگ و همکاران، ١٩٩٧).

Ae. crassa **-٥-٣-١**

گونه *Ae. crassa* تتراپلوئید (٢n=٤x=٢٨) با فرمول ژنومی MMDD که از تلاقی بین گونه‌های *Ae. comosa* (با فرمول ژنومیMM) و *Ae. tauschii* (با فرمول ژنومیDD) بدست آمده است. به صورت علوفه مفید در استپ‌ها مورد استفاده واقع می‌شود. از گیاهان فراوان استپی است. از علوفه هرز کنار رودخانه‌هاست و در داخل جنگل‌ها، زمین‌های آهکی و گاهی در مناطق صحرایی نیز می-رویید. یکساله با شاخه‌های انبوه نزدیک به هم و منشعب در قاعده، راست یا ابتدا زانویی و بعد به صورت راست درمی‌آید. صاف و بی‌کرک است. اندازه پهنک تا٢٠ سانتی‌متر در طول و ١٠ میلی‌متردر عرض می‌رسد که بی‌کرک یا کرکدار می‌باشد. سنبله محکم، زبر و خشن می‌باشد. سنبلچه‌ها استوانه-ای تخم‌مرغی به طور فشرده و کوتاه و پوشیده از کرک‌های نقره‌ای هستند و پوشه‌ها به ندرت ریشک‌دارند. لماها ریشک‌دارند که لماهای تحتانی با ریشک کوتاه و لماهای فوقانی به طور مشخص پهن‌شده‌اند (وانگ و همکاران، ١٩٩٧).

Ae. umbellulata –٦– ٣–١

گونه *Ae. umbellulata* دیپلوئید (٢n=٢x=١٤) با فرمول ژنومی UU می‌باشد. گیاهی یکساله، دارای ساقه ماشوره‌ای راست است که در بعضی از مواقع ابتدا زانویی است و بعدا در طول دوره رشد به صورت راست درمی‌آید. این گیاه تا ٤٥ سانتی‌متر می‌تواند ارتفاع داشته باشد. دارای شاخه‌های انبوه در قاعده است که این شاخه‌ها صاف و بدون کرک هستند. پهنک آن کوتاه و سرنیزه‌ای شکل است که کرک‌دار یا بدون کرک می‌تواند باشد. غلاف کرک‌دار یا بدون کرک می‌باشد که اکثرا به صورت تخم‌مرغی دیده می‌شود که دو تا چهار سنبله کاهش‌یافته دارد. ارتفاع سنبلچه زایا بلندتر از بند و ارتفاع سنبلچه نازا کوتاه‌تر از بند می‌باشد. لماها اغلب با یک تا سه ریشک دیده می‌شوند و معمولا به هنگام رسیدن باز شده و پخش می‌گردند. این گونه اکثرا در مناطق جنگلی، در مناطق کوهستانی در دامنه تحتانی کوه‌ها و در در مناطق خشک در دامنه شیب‌دار و تپه‌های خشک رشد می‌کند و همچنین از نظر ارتفاع در اراضی با ارتفاع ٧٠٠ تا ١٧٠٠ متر قابلیت رشد دارد (وانگ و همکاران، ١٩٩٧).

١–٤– تکامل آژیلوپس و گندم

وجود تنوع مورفولوژیکی وسیع در داخل بسیاری از گونه‌های گروه آژیلوپس– تریتیکوم، سبب اظهار نظرات متعددی در زمینه خویشاوندی این دو جنس شده است و منجر به ایجاد سیستم‌های مختلف طبقه‌بندی برای این گونه گردیده است. آخرین مونوگراف در زمینه آژیلوپس توسط وان اسلاجرن (١٩٩٤) منتشر شده است. وی ضمن بیان خلاصه‌ای از ویژگی‌های مورفولوژیکی، به طور خلاصه آژیلوپس، آمبلیوپیروم و تریتیکوم را در جنس‌های مجزا قرار داده است. وان اسلاجرن (١٩٩٤) ٢٢ گونه برای آژیلوپس، یک گونه برای آمبلیوپیروم و ٤ گونه برای تریتیکوم اختصاص داده است. ساکس و ساکس (١٩٢٤) و کیهارا (١٩٣١) با استفاده از مطالعات سیتوژنتیکی انواع ژنوم‌های A، B، C، D، G، M، N، S، T و U را شناسایی نمودند که هنوز هم در تحقیقات مربوط به آژیلوپس/گندم مورد استفاده قرار می‌گیرد. این مطالعات اطلاعاتی را در زمینه ساختار ژنومی، قابلیت تلاقی بین گونه‌ها، اندازه ژنوم و روابط فیلوژنی فراهم آورده است. در بیش از دو دهه اخیر، استفاده از نشانگرهای مولکولی، اطلاعات جدیدی در زمینه تنوع ژنتیکی گونه‌های آژیلوپس/گندم، ارتباط این دو جنس (سالارس و براون، ٢٠٠٤؛ پترسون و همکاران، ٢٠٠٦)، مراکز اهلی سازی (موری و همکاران، ٢٠٠٣.، لیو و همکاران، ٢٠٠٧)، چارچوب زمانی تکاملی (دوورک و آخونف، ٢٠٠٥؛ چالوپسکا و همکاران ٢٠٠٨)، فرآیند اهلی سازی (ویس و همکاران، ٢٠٠٦) و وجود آلل‌های خاصی که در اصلاح صفات به واسطه اهلی سازی کمک کرده و آلل‌هایی که برای اصلاح گیاهان زراعی مهم

تلقی می‌شوند، به دست آمده است (کماتسودا و همکاران، ۲۰۰۷). ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و مناطق جغرافیایی اهلی سازی در گندم در مقاله هیون و همکاران (۱۹۹۷) اشاره شده که وی توسط نشانگرهای AFLP نزدیک‌ترین خویشاوندان وحشی این کورن[1] اهلی شده را که در ناحیه بسیار محدودی در سلسله کوه‌های کاراکاداگ واقع در جنوب شرقی ترکیه دیده می‌شوند را پیدا کرد. به واسطه این اطلاعات، آنها به این نتیجه رسیدند که می‌توان گفت که این ناحیه، مکانی است که انسان-ها اولین بار این کورن را اهلی کردند.

اساساً می‌توان گفت که در بین گندمیان، گندم هگزاپلوئید هیچ جد وحشی هگزاپلوئید مستقلی ندارد. این گیاه دارای سه گروه از کروموزوم‌های هومولوگ می‌باشد که با نام‌های BBA^uA^uDD مشخص شده‌اند (اولین جایگاه برای کروموزوم‌های B نشان می‌دهد که سیتوپلاسم این گیاه توسط بخشنده ژنوم B تامین شده است) که منشأ و خاستگاه این ژنوم با قطعیت کامل مشخص نشده است. کروموزوم‌های D از *Aegilops tauschii* دیپلوئید وحشی در نتیجه آلوپلوئیداسیون با *T. dicoccom* (BBA^uA^u) تتراپلوئید اهلی شده ناشی می‌شود، که خود *T. dicoccom* نیز از طریق *T. dicoccoides* اهلی شده است. کروموزوم‌های B و A^u از دورگ گیری بین *T. urartu* دیپلوئید با ژنوم A^uA^u و یک بخشنده ژنوم B دیپلوئید به‌وجود می‌آیند و بارها گزارش شده که متعلق به بخش *sitopsis* آژیلوپس بوده و شامل ۵ گونه می‌باشد. شواهد محکمی اشاره به تلاقی بین *Ae. speltoides* (SS) یا (گونه‌های مشابه ناشناخته) به عنوان والد مادری همه گندم‌های تتراپلوئید (پترسون وهمکاران، ۲۰۰۶؛ کیلیان و همکاران، ۲۰۰۷) با *T. urartu* (A^uA^u) به عنوان والد پدری را دارد.

کیلیان و همکاران (۲۰۰۷) از یک روش چهار مرحله‌ای استفاده کردند. با استفاده از ۷۰ مکان ژنی AFLP، آنها تنوع مولکولی بین ٤٨٠ لاین گندم از محل سکونت‌های طبیعی‌شان که در برگیرنده کل ژنوم S آژیلوپس (بخش سیتوپسیس) هستند، نمونه‌برداری کردند تا مشخص کنند که کدام یک بخشنده‌های موثق‌تر ژنوم B گندم و همچنین ژنوم G دومین گونه‌های گندم تتراپلوئید با نام *T. araraticum* (گندم آراراتی با ژنوم GGA^uA^u) و گندم اهلی هگزاپلوئید با نام گندم ژاکوفسکی با ژنوم ($GGA^mA^mA^uA^u$) می‌باشند. گونه‌ای از آژیلوپس که از لحاظ ژنوم S متنوع بودند در ۳۷۵ مکان ژنی AFLP با لاین‌های بهاره چینی دیپلوئید و تتراپلوئید و ۱۱ نلی‌سوم این گیاه که توسط سیرز (۱۹٥٤) تولید شده بود، مورد مقایسه قرار گرفتند. نشانگرهای خاص ژنوم B توانایی اتصال منشأ ژنوم B بر کروموزوم‌های S، *Ae. speltoides* با سایر گونه‌ها، تنوع مولکولی این گیاه را تحت تأثیر قرار داده و روی نتایج حاصل از خاستگاه و منشأ ژنوم‌های G و B اثرگذار می‌باشد. هر چند که با

1. *Triticum monococcum*