دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته

اصلاح نباتات

ارزیابی تنوع صفات مورفولوژیک و چندشکلی ژنهای دهیدرین و *DREB* در ارتباط با تنش خشکی در تریتیکاله

به کوشش

زینب سی سختی

استاد راهنما

دکتر بهرام حیدری

اسفند ماه ۱۳۹۳

بسم الله الرحمن الرحيم

اظـهـارنـامـه

اینجانب زینب سی سختی (۹۱۳۰۰۳۰) دانشجوی رشته‌ی کشاورزی گـرایش اصـلاح نباتات دانشکده کشاورزی اظهار می‌کنم که این پایان‌نامه حاصل پژوهش خودم بـوده و در جاهایی که از منابع دیگران استفاده کرده‌ام، نشـانی دقیـق و مشخصـات آن را نوشته‌ام. همچنین اظهار می‌کنم که تحقیق و موضوع پایان‌نامـه‌ام تکـراری نیسـت و تعهد می‌نمایم که بدون مجوز دانشگاه دستاوردهـای آن را منتشـر ننمـوده و یـا در اختیار غیر قرار ندهم. کلیه حقوق این اثر مطابق آیین‌نامه مالکیت فکـری و معنـوی متعلق به دانشگاه شیراز است.

نام و نام خانوادگی: زینب سی سختی

تاریخ و امضاء:

به نام خدا

ارزیابی تنوع صفات مورفولوژیک و چندشکلی ژنهای دهیدرین و *DREB* در ارتباط با تنش خشکی در تریتیکاله

به کوشش

زینب سی سختی

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه شیراز به عنوان بخشی از فعالیت‌های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته‌ی:

اصلاح نباتات

از دانشگاه شیراز

شیراز

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته پایان نامه، با درجه: عالی

دکتر بهرام حیدری، دانشیار بخش زراعت و اصلاح نباتات (استاد راهنما) .....

دکتر علی دادخدایی، استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات (استاد مشاور) .....

دکتر هومن راضی، استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات (استاد مشاور) .....

دکتر الهه توکل، استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات (داور متخصص داخلی) .....

اسفند ماه ۱۳۹۳

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

خواهرای گلم

و برادر بهتر از جانم

سپاسگزاری

نخستین سپاس و ستایش از آن خداوندی است که بنده کوچکش را در دریای بیکران اندیشه، قطره ای ساخت تا وسعت آن را از دریچه اندیشه های ناب آموزگارانی بزرگ به تماشا نشیند. لذا اکنون که در سایه سار بنده نوازی هایش پایان نامه حاضر به انجام رسیده است، بر خود لازم می دانم تا مراتب سپاس را از بزرگوارانی به جا آورم که اگر دست یاریگرشان نبود، هرگز این پایان نامه به انجام نمی رسید. ابتدا از استاد گرانقدرم جناب آقای دکتر حیدری که زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده داشتند، کمال سپاس را دارم. از اساتید عالی قدرم آقایان دکتر دادخدایی و دکتر راضی که زحمت مشاوره این پایان نامه را متحمل شدند، صمیمانه تشکر می کنم. از اساتید محترم بخش زراعت و اصلاح نباتات، که در طی مدت تحصیلم از آموزش‌های موثر آنها بهره برده‌ام، کمال تشکر را دارم. یاد و خاطره دوستانی که در این دوره به من یاری رسانده‌اند، جناب آقایان، امید نوروزی، مجیب الرحمان سپاهی، احمد حیدری و خانم‌ها قیصری، کربلیوند، صدر، شریف‌زاده، محمودپور، شبانی، برخورداری، حیات داودی و سایر دوستان که مجال پرداختن به آنها نیست، همیشه در خاطره‌ام زنده خواهد ماند.

سپاس آخر را به مهربانترین همراهان زندگیم، پدر و مادر عزیزم تقدیم می کنم که حضورشان در فضای زندگیم مصداق بی ریای سخاوت بوده است.

چکیده

ارزیابی تنوع صفات مورفولوژیک و چندشکلی ژنهای دهیدرین و *DREB* در ارتباط با تنش خشکی تریتیکاله

به کوشش

زینب سی سختی

کلمات کلیدی: تریتیکاله، خشکی، دهیدرین، *DREB*، شاخص PIC و تنوع آللی

دهیدرینها دومین گروه از پروتئینهای بسیار آبدوست از گروه LEA هستند که در شرایط دمای پایین و کم آبی در گیاهان تجمع می‌یابند و به نظر می‌رسد در ایجاد تحمل به تنش نقش مهمی دارند. این پژوهش به منظور بررسی تنوع آللی ژنهای دهیدرین و *DREB* و ارزیابی ارتباط بین آللها و تحمل به تنش خشکی تریتیکاله انجام شد. این آزمایش به صورت طرح اسپلیت پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه بخش زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. عامل‌های این آزمایش ژنوتیپ (۲۹ ژنوتیپ تریتیکاله از مرکز سیمیت، ۳ ژنوتیپ تریتیکاله از مرکز تحقیقات زرقان، ۴ ژنوتیپ گندم و ۲ ژنوتیپ بومی چاودار) و آبیاری (مطلوب و تنش کمبود آب در مرحله‌ی سنبله‌دهی) بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار تمام صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گردید. در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد بیولوژیک، تعداد دانه در سنبله و شاخص برداشت نشان داد. بر اساس شاخص‌های تحمل به تنش خشکی ژنوتیپ ۸۱۱ تریتیکاله به عنوان ژنوتیپ متحمل به تنش خشکی شناخته شد. برای همه ژنهای بررسی شده بیش از دو آلل مشاهده شد. محاسبه شاخص PIC نشان داد که همه ژنهای بررسی شده دارای تنوع زیاد بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنوع آللی ژن *TdDHN15* با شاخص‌های فیزیولوژیک مرتبط با خشکی ارتباط دارد.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه

۱-۱- تنش ۲
۱-۱-۱- تنش خشکی ۳
۱-۲- تریتیکاله ۶
۱-۳- فاکتور های رونویسی: ۸
۱-۴- نشانگرهای مولکولی ۱۱
۱-۵- دهیدرین ها ۱۳
۱-۶- ژنهای *DREB* ۱۴
۱-۷- اهداف پژوهش ۱۶

فصل دوم: مروری بر پژوهش‌های پیشین

۲-۱- تاثیر تنش خشکی بر عملکرد، اجزای عملکرد وبرخی از صفات مورفولوژیک ۱۸
۲-۲- تاثیر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیک برگ پرچم ۲۰
۲-۳- شاخص های تحمل به تنش خشکی ۲۱
۲-۳- نقش ژنهای دهیدرین در تحمل به تنش‌های غیرزنده ۲۲

فصل سوم: مواد و روشها

۳-۱- میزان بارندگی و وضعیت جوی ۳۰
۳-۲- انداه‌گیری صفات مورفولوژیک، عملکرد و اجزای عملکرد ۳۱
۳-۳- اندازه گیری شاخص های فیزیولوژیک ۳۲
۳-۴- محاسبه شاخص‌های تحمل به تنش خشکی ۳۳
۳-۵- فرمول محاسبه درصد کاهش صفات ۲۹
۳-۶- بررسی های آزمایشگاهی تنوع اللی ژنهای دهیدرین و *DREB* ۳۴
۳-۶-۱- نمونه برداری از ارقام کشت شده ۳٤
۳-۶-۲- انتخاب آغازگر جهت بررسی تنوع آللی بین ارقام تریتیکاله در ژنهای دهیدرین و *DREB* ۳٤
۳-۶-۳- استخراج DNA ۳٦
۳-۶-۴- واکنش زنجیره ای پلیمراز ۳۸

۳-۵-۵- الکتروفورز ٤٠
۳-۵-۶- محاسبه فراوانی آللی و شاخص PIC ٤١
۳-۶- تجزیه آماری ۴۲
فصل چهارم: نتایج و بحث
۴-۱ تاثیر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیک برگ در مرحله گلدهی ۴۴
۴-۲ تاثیر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک ۵۰
۴-۲-۱ ارتفاع بوته ۵۰
۴-۲-۲- طول سنبله ۵۱
۴-۲-۳- تعداد سنبلچه در سنبله ۵۱
۴-۲-۴- عملکرد سنبله ۵۱
۴-۳- تاثیر تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد ۶۰
۴-۳-۱- عملکرد بیولوژیک ٦٠
۴-۳-۲- عملکرد دانه ٦٠
۴-۳-۳- شاخص برداشت ٦٣
۴-۳-۴- تعداد دانه در سنبله ٦٣
۴-۳-۵- وزن هزار دانه ٦٤
۴-۴- همبستگی صفات مورفولوژیک عملکرد دانه و اجزای آن ۶۵
۴-۵- شاخص های تحمل به تنش ۷۱
۴-۶- همبستگی بین شاخص های تحمل به تنش ۶۹
۴-۷- تجزیه به مولفه های اصلی ۷۶
۴-۸- تجزیه به عامل ها ۷۸
۴-۹- تجزیه خوشه ای ۸۱
۴-۱۰- ژن *WDHN13* ۸۵
۴-۱۲- آغازگر $_2$*(WDHN13)* ۹۵
۴-۱۳- چند شکلی ژنهای *TDDHN15* و *TDDHN1* ۱۰۳
۴-۱۴- ژن *TDDHN16* ۱۱۰
۴-۱۵- ژن *DREB1* ۱۱۷
نتیجه گیری ۱۲۵
پیشنهادات ۱۲۶
فهرست منابع ۱۲۷

فهرست جدول‌ها

عنوان صفحه

جدول۳ -۱- میزان دما و بارندگی ماهیانه منطقه باجگاه در سال زراعی ۹۳-۹۲ ..... ۳۰
جدول ۳-۲ نام ژن و طول قطعه‌های تولید شده در واکنش PCR ۳۵
جدول ۳-۳ مواد مورد نیاز برای تهیه ۱۰۰ میلی لیتر بافر استخراج ۳۶
جدول ۳-۴ مواد استفاده شده در هر واکنش PCR ۳۸
جدول ۳-۵- سیکل‌های گرمایی استفاده شده در PCR برای ژنهای دهیدرین و *DREB* ۳۹
جدول ۳-۶- مواد و مقادیر مورد استفاده در تهیه بافر TBE ۴۰
جدول ۴-۱ تجزیه واریانس شاخص‌های فیزیولوژیک ۳۸ ژنوتیپ تریتیکاله، گندم و چاودار در شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی ۴۴
جدول ۴-۲- میانگین صفات فیزیولوژیک در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی و درصد تغییر صفات به واسطه تنش خشکی ۴۶
جدول ۴-۳- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک ژنوتیپ‌های تریتیکاله، گندم و چاودار مورد آزمایش در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی ۴۸
جدول ۴-۴- میانگین کلی صفات فیزیولوژیک در تریتیکاله، گندم و چاودار ۴۹
جدول ۴-۵- تجزیه واریانس شاخص‌های مورفولوژیک ۳۸ ژنوتیپ تریتیکاله، گندم و چاودار در شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی ۵۲
جدول ۴-۶- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک ژنوتیپ‌های تریتیکاله، گندم و چاودار مورد آزمایش در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی ۵۳
جدول ۴-۷- تجزیه واریانس عملکرد و اجزای عملکرد ۳۸ ژنوتیپ تریتیکاله، گندم و چاودار در شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی ۵۵
جدول ۴-۸- مقایسه میانگین عملکرد و اجزای عملکرد ژنوتیپ‌های تریتیکاله، گندم و چاودار مورد آزمایش در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی ۵۶
جدول ۴-۹- میانگین کلی صفات مورفولوژیک در تریتیکاله، گندم و چاودار ۵۹
جدول ۴-۱۰- درصد کاهش صفات مورفولوژیک در تریتیکاله، گندم و چاودار ۵۹
جدول ۴-۱۱- ضرایب همبستگی بین صفات مورفولوژیک، عملکرد دانه و اجزای آن با یکدیگر در ژنوتیپ‌های مورد بررسی تحت شرایط نرمال ۶۷
جدول ۴-۱۲- ضرایب همبستگی بین صفات مورفولوژیک، عملکرد دانه و اجزای آن با یکدیگر در ژنوتیپ‌های مورد بررسی تحت شرایط تنش خشکی ۶۸
جدول ۴-۱۳- ضرایب همبستگی بین شاخص‌های حساسیت و تحمل به خشکی و عملکرد دانه ۷۰
جدول ۴-۱۴- تجزیه واریانس شاخص‌های تحمل به تنش ۳۸ ژنوتیپ تریتیکاله، گندم و چاودار در شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی ۷۳
جدول ۴-۱۵- میانگین شاخص‌های تنش در شرایط نرمال و تنش خشکی ۷۴

جدول ۴-۱۶- مقادیر ویژه و بردارهای ویژه شاخص های مقاومت به خشکی برای ۳۸ ژنوتیپ مورد بررسی..... ۷۷
جدول ۴-۱۷- ضرایب عامل های صفات مورد بررسی در شرایط آبیاری مطلوب ۸۰
جدول ۴-۱۸- ضرایب عامل های صفات مورد بررسی در شرایط تنش خشکی ۸۰
جدول۴-۱۹- نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شرایط آبیاری مطلوب ۸۳
جدول ۴-۲۰- نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شرایط تنش خشکی..... ۸۴
جدول ۴-۲۱- اطلاعات ژنوتیپی آلل های ژن *WDHN13* در ژنوتیپ های تریتیکاله و گندم با آغازگر *$(WDHN13)_1$* ۸۷
جدول ۴-۲۲- درصد فراوانی آللی و مقدار PIC برای ژن *WDHN13* در ژنوتیپ های تریتیکاله و گندم ۸۸
جدول ۴-۲۳- نتایج تجزیه واریانس آلل‌های *WDHN13)1(* برای صفات فیزیولوژیک برگ پرچم و عملکرد دانه (GY) در شرایط آبیاری مطلوب ۹۳
جدول ۴-۲۴- نتایج تجزیه واریانس آلل‌های *$(WDHN13)_1$* برای صفات فیزیولوژیک برگ پرچم و عملکرد دانه (GY) در شرایط تنش خشکی..... ۹۳
جدل ۴-۲۵- اطلاعات ژنوتیپی آلل های ژن *WDHN13* در ژنوتیپ های تریتیکاله و گندم با آغازگر $(WDHN13)_2$ ۹۵
جدول ۴-۲۶- درصد فراوانی آللی و مقدار PIC برای آغازگر *$(WDHN13)_2$* در ژنوتیپ های تریتیکاله و گندم ۹۶
جدول ۴-۲۷- نتایج تجزیه واریانس آلل‌های *$(WDHN13)_2$* برای صفات فیزیولوژیک برگ‌پرچم و عملکرد دانه (GY) در شرایط آبیاری مطلوب ۱۰۱
جدول ۴-۲۸- نتایج تجزیه واریانس آلل‌های *$(WDHN13)_2$* برای صفات فیزیولوژیک برگ پرچم و عملکرد دانه (GY) در شرایط تنش خشکی..... ۱۰۱
جدول ۴-۲۹- اطلاعات ژنوتیپی آلل های ژن *TDDHN15* در ژنوتیپ های تریتیکاله و گندم ۱۰۳
جدول ۴-۳۰- جدول درصد فراوانی آللی و مقدار PIC برای آغازگر *TDDHN15* در ژنوتیپ های تریتیکاله و گندم۱۰۴
جدول ۴-۳۱- نتایج تجزیه واریانس آلل‌های *TDDHN15* برای صفات فیزیولوژیک برگ پرچم و GY در شرایط آبیاری مطلوب ۱۰۹
جدول ۴-۳۲- نتایج تجزیه واریانس آلل‌های *TDDHN15* برای صفات فیزیولوژیک برگ پرچم و GY در شرایط تنش خشکی ۱۰۹
جدول ۴-۳۳- اطلاعات ژنوتیپی آلل های ژن *TDDHN16* در ژنوتیپ های تریتیکاله و گندم ۱۱۰
جدول ۴-۳۴- جدول درصد فراوانی آللی و مقدار PIC برای آغازگر *TDDHN16* در ژنوتیپ های تریتیکاله و گندم۱۱۱
جدول ۴-۳۵- نتایج تجزیه واریانس آلل‌های *TDDHN16* برای صفات فیزیولوژیک برگ پرچم و GY در شرایط آبیاری مطلوب ۱۱۵
جدول ۴-۳۶- نتایج تجزیه واریانس آلل‌های *TDDHN16* برای صفات فیزیولوژیک برگ پرچم و GY در شرایط تنش خشکی ۱۱۵
جدول ۴-۳۷- اطلاعات ژنوتیپی آلل های ژن *DREB1* در ژنوتیپ های تریتیکاله و گندم ۱۱۸
جدول ۴-۳۸- جدول درصد فراوانی آللی و مقدار PIC برای آغازگر *DREB1* در ژنوتیپ های تریتیکاله و گندم... ۱۱۹
جدول ۴-۳۹- نتایج تجزیه واریانس آلل‌های *DREB1* برای صفات فیزیولوژیک برگ پرچم و GY در شرایط آبیاری مطلوب ۱۲۴

جدول ۴-۴۰- نتایج تجزیه واریانس آلل‌های *DREB1* برای صفات فیزیولوژیک برگ پرچم و GY در شرایط تنش خشکی ۱۲۴

فهرست شکل‌ها

عنوان صفحه

شکل ۴-۱- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک تحت آبیاری نرمال وتنش خشکی..... ۴۷
شکل ۴-۲ مقایسه میانگین عملکرد ژنوتیپ ها تحت شرایط آبیاری مطلوب وتنش خشکی ۶۲
شکل ۴-۳ نمایش بای پلات ۳۸ ژنوتیپ تریتیکاله، گندم و چاودار مورد بررسی در ۹ شاخص مقاومت به خشکی بر اساس اولین و دومین مؤلفه اصلی ۷۷
شکل ۴-۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای در ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط آبیاری مطلوب بر اساس صفات مورفولوژیک..... ۸۲
شکل ۴-۵ دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای در ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط تنش خشکی بر اساس صفات مورفولوژیک..... ۸۲
شکل ۴-۶- تنوع آللی مشاهده شده برای *WDHN13* با آغازگر$_1$*(WDHN13)*..... ۸۹
شکل ۴-۷- تنوع آللی مشاهده شده برای *WDHN13* با آغازگر$_1$*(WDHN13)*..... ۸۹
شکل۴-۸: نمودار درختی رسم شده بر اساس تنوع آللی بدست آمده از آغازگر $_1$*(WDHN13)*..... ۹۲
شکل ۴-۹- تنوع آللی مشاهده شده برای *WDHN13* با آغازگر $_2$*(WDHN13)* ۹۸
شکل ۴-۱۰- تنوع آللی مشاهده شده برای *WDHN13* با آغازگر $_2$*(WDHN13)* ۹۸
شکل۴-۱۱: نمودار درختی رشم شده بر اساس تنوع آللی بدست آمده از آغازگر $_2$*(WDHN13)*.....۱۰۱
شکل ۴-۱۲- تنوع آللی مشاهده شده برای آغازگر *TDDHN15*.....۱۰۶
شکل ۴-۱۳- تنوع آللی مشاهده شده برای آغازگر *TDDHN15*.....۱۰۶
شکل۴-۱۴: نمودار درختی رسم شده بر اساس تنوع آللی بدست آمده از آغازگر *TDDHN15*.....۱۰۹
شکل ۴-۱۵- تنوع آللی مشاهده شده برای آغازگر *TDDHN16*.....۱۱۲
شکل ۴-۱۶- تنوع آللی مشاهده شده برای آغازگر *TDDHN16*.....۱۱۲
شکل۴-۱۷: نمودار درختی رسم شده بر اساس تنوع آللی بدست آمده از آغازگر *TDDHN16*.....۱۱۴
شکل ۴-۱۸- نقشه یابی ژن *DREB1* بر روی کروموزوم 3B گندم ۱۱۶
شکل ۴-۱۹- تنوع آللی مشاهده شده برای آغازگر *DREB1* ۱۲۰
شکل ۴-۲۰- تنوع آللی مشاهده شده برای آغازگر *DREB1* ۱۲۱
شکل۴-۲۱: نمودار درختی رسم شده بر اساس تنوع آللی بدست آمده از آغازگر *DREB1* ۱۲۳

فصل اول

مقدمه

۱-۱- تنش

هر عامل محیطی که باعث ایجاد اثرات نامطلوب روی موجود زنده شود تنش[1] نامیده می‌شود (سرمدنیا، ۱۳۷۲). تنش از لحاظ فیزیولوژیکی، به مجموعه شرایطی اطلاق می‌شود که باعث تغییر در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه و سرانجام صدمه زدن به گیاه می‌شود. عوامل تنش زا که بر فرایند های فیزیولوژیکی موثر است بسیار زیادند ولی می‌توان آنها را در سه دسته کلی شامل عوامل فیزیکی[2](خشکی، دما، تابش، غرقاب شدن)، شیمیایی[3](آلودگی هوا، فلزات سنگین و آفت کش ها) و زیستی[4](بیماری‌ها، قارچ‌های بیماری‌زا و ویروس ها) تقسیم بندی کرد. کلیه تنش های شیمیایی و فیزیکی در گروه کلی تنشهای غیر زیستی [5] قرار می‌گیرند (علیزاده، ۱۳۸۵). پاسخ به تنشهای غیرزنده پیچیده است و مراحل مختلفی از نمو گیاه را شامل می‌شود (Chinnusamy *et al*., 2004).

از بین تنش ها خشکی[6] و شوری [7] از همه مهمترند زیرا تهدیدی جدی برای منابع غذایی جهان به شمار می‌آیند (Nevo and Chene, 2010).

1- Stress
2- Physical
3- Chemical
4- Biotic
5- Abiotic Stress
6- Drought
7- Salinity

۱-۱-۱- تنش خشکی

برعکس حیوانات، گیاهان چون نمی‌توانند حرکت کنند مجبورند با شرایط نامساعد محیط و تنشهای محیطی مقابله کنند. خشکی یکی از مهمترین تنشهای محیطی است که از طریق خاک اعمال شده و بر روی رشد وتوسعه گیاه در طی تغییرات متابولیسمی و بیان ژنها تاثیر می‌گذارد (Puhakainen *et al.*, 2004).

رشد گیاه و تولید محصول بشدت تحت تاثیر تنشهای محیطی مانند خشکی، شوری زیاد و دمای پایین می‌باشد (Zheng et al., 2010). با قرار گرفتن در معرض تنش‌های غیرزنده گیاهان دستخوش تنوع و تغییراتی در سازگاری فیزیولوژیکی و بیان ژن می‌شوند (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2007).

نتیجه تنش در تمام سطوح گیاه معمولا بصورت کاهش رشد و فتوسنتز مشاهده می شود و با تغییر متابولیسم کربن و نیتروژن ارتباط دارد (Cornic and Massacci, 1996; Mwanamwenge *et al.*, 1999). کمبود آب می تواند از راههای مختلفی روی گیاه اثر بگذارد. تنش آبی موجب بسته شدن روزنه‌ها و کاهش نسبت تعرق، کاهش پتانسیل آب بافت گیاهی کاهش فتوسنتز، جلوگیری از رشد، تجمع آبسزیک اسید، پرولین، مانیتول، سوربیتول و سنتز پروتئین‌های جدید می‌شود. علاوه بر واکنش های فیزیولوژیکی گیاهان در معرض تغییرات مورفولوژیکی نیز هستند (Lichtenthaler *et al.*, 1981) . بطور نسبی بخشی از محدودیت روزنه ای در فتوسنتز به شدت کمبود آب وابسته است. تحت شرایط تنش متوسط یکی از اتفاقات اولیه اینست که باعث تغییرات موثر در واکنش های فتوسنتزی می‌شود (Cornic and Briantais, 1991). گونه های متحمل به خشکی عمل روزنه برای اعطای اندک تثبیت کربن در تنش را کنترل می‌کنند سپس کارایی مصرف آب و یا باز کردن سریع روزنه هنگامی که کمبود آب کاهش می‌یابد، را بهبود می‌بخشند (Herppich and Peckmann, 1997, Faver *et al.*, 1996). در دسترس بودن آب یکی از مهمترین عوامل تعیین کننده پراکنش جغرافیایی و تولید محصول در گیاهان است (Bartels, 2001). تنش خشکی بصورت کمبود آب با شدت‌های مختلف ظاهر می‌شود (Ramanjulu and Bartels., 2002).

استمرار کمبود ملایم آب منجر به خشکی و از دست رفتن مقدار زیادی از آب آزاد پروتوپلاسم می‌شود و پاسخ و سازگاری گیاهان به چنین شرایطی بسیار پیچیده و متنوع است (Kotchoni and

(Bartels, 2003). خشکی به عنوان یک عامل تنش زای محیطی دارای تعاریف متعددی است. در کشاورزی خشکی به وضعیتی اطلاق می‌شود که میزان و وقوع بارندگی در طی فصل رشد به اندازه ای ناچیز باشد که موجب کاهش عملکرد گیاه زراعی شود (Siani *et al.*, 1981). خشکی در واقع یک رویداد هوا شناختی است که با عدم وقوع بارندگی در یک دوره زمانی همراه می‌باشد، دوره ای که به اندازه کافی بلند است تا باعث تخلیه رطوبتی خاک و تنش کمبود آب همراه با کاهش پتانسیل آب در بافت‌های گیاهی گردد (Bartels *et al.*, 2007).

خشکی یکی از مهمترین تنشهای محیطی است که باعث می‌شود تشکیل انواع اکسیژن فعال[1] افزایش یابد (Sharma and Dubey, 2005). توانایی گیاه برای پاسخ به تنش و بقا در شرایط کمبود آب به مجموعه راهکارهای پاسخ سلولی مرتبط است. مقاومت گیاه در برابر خشکی به دلیل عوامل محیطی غیر قابل پیش بینی و برهمکنش سایر عوامل زنده و غیرزنده یک موضوع بسیار پیچیده به نظر می‌رسد (Reynold *et al.*, 2006). به طور کلی می توان بیان داشت که گونه و رقم گیاهی، طول و مدت تنش خشکی، سن و مرحله نموی گیاه، نوع سلول و اندام گیاهی، اجزای زیر سلولی و ساختار آن همگی از عوامل مهم مقاومت به خشکی به حساب می‌آیند.

مقاومت به خشکی صفت پیچیده‌ای است که بروز آن بستگی به عمل و عکس‌العمل میان صفات مختلف مورفولوژیکی (زودرسی، کاهش سطح برگ، لوله‌ای شدن برگ، لوله‌ای شدن برگ، میزان موم، سیستم ریشه ای کارامد، ریشک دار بودن و پایداری عملکرد)، فیزیولوژیکی (کاهش تعرق، افزایش راندمان مصرف آب و بسته شدن روزنه‌ها) و بیوشیمیایی (تجمع پرولین، پلی آمین، تری هالوز و غیره) دارد (Basra, 1997).

تنش خشکی از پدیده های اقلیمی رایج در طبیعت است و محدود کننده رشد تمام گیاهان است (فرشادفر و همکاران، ۱۳۸۰). گیاهان در معرض تنشهای محیطی مانند خشکی، شوری و دمای پایین هستند که باعث اثرات مختلفی در رشد گیاه، کمیت و کیفیت محصولات می‌شود. پاسخ گیاه به تنشهای غیرزنده با یک سری از تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی همراه است. تعداد زیادی از ژنهای پاسخ به تنشهای غیرزنده شناسایی شده‌است (Ingram and Bartels,1996; Bray,1997; Stockinger *et al.*, 1997; Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2000; Chinnusamy *et al.*, 2003).

پاسخ به تنش خشکی بر اساس پس زمینه ژنتیکی کاملا متفاوت است. در حقیقت تنوع‌های بین گونه ای و درون‌گونه ای در مقاومت به خشکی شناخته شده است. اخیرا اهلی سازی گیاهان زراعی و

1- Reactive Oxygen Species

اصلاح گیاهان باعث کاهش چشمگیر در تنوع آللی گونه های گیاهی شده است. این منجر به کاهش قابلیت محصولات گیاهی در تنشهای محیطی، آفات و بیماریها میگردد (Tanksley and McCouch, 1997). بیان تعداد زیادی از ژنها توسط خشکی القا میشود، ومحصولات این ژنها مستقیما در تحمل به تنش، تنظیم بیان ژن و انتقال سیگنال در پاسخ به تنش کاربرد دارد (Zhou *et al*., 2010).

ژنهایی که بوسیله تنش القا می شوند نه تنها با تولید پروتئینهای متابولیک مهم از سلولها در برابر تنش محافظت میکنند بلکه ژنهای پایین‌دست را برای انتقال سیگنال تنظیم میکنند. بررسی رونوشت‌ها در مقیاس وسیع ثابت کرد که فراورده‌های این ژنها می‌توانند به دو گروه تقسیم شوند (Bohnert *et al*., 2001; Seki *et al*., 2002; Fowler and Thomashow,2002). یک گروه ژنهایی هستند که پروتئینهایی را رمز میکنند که از سلولها در برابر اثرات تنش آبی محافظت می‌کنند. این ژنها شامل آنهایی می‌شوند که تجمع محلولهای همگن را کنترل میکنند. گروه دوم از این ژنها بوسیله تنشهای غیرزنده فعال می‌شوند شامل پروتئنهای تنظیم‌کننده هستند که انتقال سیگنال تنش را تنظیم می‌کنند، بیان ژن را تعدیل می‌کنند و از این طریق پاسخ به تنش را تنظیم میکند. اینها شامل فاکتورهای رونویسی مختلف مانند MYC[1]، MYB[2]، Bzip[3] و DREB[4] هستند. این نشان‌دهنده نقش مختلف مکانیسم‌های تنظیم‌کننده رونویسی در مسیرهای انتقال سیگنال تنش است. پروتئین کینازها، پروتئین فسفاتازها و پروتئینازها در تنظیم انتقال سیگنال و بیان ژن دخالت دارند (Agarwal *et al*., 2006; Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki, 2007).

1- Myelocytomatosis oncogene (MYC)
2- Byeloblastosis oncogene (MYB)
3- Basic leucine zipper (bZIP)
4- Dehydration responsive element binding (DREB)

۱-۲- تریتیکاله

تریتیکاله[1] اولین و موفق‌ترین غله دانه ای ساخت بشر است که در سال ۱۸۷۵ از تلاقی گندم و چاودار بوجود آمده‌است (Mergoum and Gomez., 2004). در سال ۱۸۷۵ شخصی به نام ویلسون گزارشی در مورد غیربارور بودن هیبرید گندم- چاودار ارائه کرد. نخستین تریتیکاله بارور توسط ریمپائو در سال ۱۸۸۸ بوجود آمد (قوشچی، ۱۳۸۶).

نام علمی این گیاه *Triticosecale* است که از اسم اول گندم (Triticum) و چاودار (Secale) گرفته شده‌است. این گیاه ترکیبی از دو گیاه خود گشن (گندم) و دگرگشن(چاودار) می باشد البته تریتیکاله گیاهی خودگشن با درصد دگرگشنی ۲۰ تا ۴۰ درصد است. تریتیکاله بر اساس نوع گندم و چاودار تلاقی داده شده ممکن است بهاره یا زمستانه باشد (ایران نژاد و شهبازیان، ۱۳۸۴). تحقیقات نشان داده است که واریته های جدید تریتیکاله نسبت به گندم عملکرد بهتری دارند (Mergoum and Gomez., 2004).

بطور ژنتیکی تریتیکاله یک هیبرید آمفی پلوئید[2] است که از گندم به عنوان والد مادری و چاودار به عنوان والد پدری بوجود آمده‌است (Ammar *et al.*, 2004). هدف از این ترکیب در این غله جدید ترکیب خصوصیات مطلوب دو گونه مانند کیفیت، سازگاری، تحمل به تنش، مقاومت به بیماری و کیفیت غذایی بالای چاودار می‌باشد. بنابراین تریتیکاله سازگاری وسیعی دارد و یک غله نیرومند است و بیشترین تولید را نسبت به سایر غلات تحت شرایط تنش‌های غیر زنده[3] دارد (Oettler, 2005).

تریتیکاله یک غله بالقوه است که تحت شرایط تنش خشکی عملکرد بهتری دارد. عملکرد بهتر تریتیکاله نسبت به گندم، ارتفاع گیاه و سایر خصوصیات با سطح خیلی بالایی از مقاومت به بیماریهای گندم در تریتیکاله ثابت شده است. همه این خصوصیات ثابت می‌کند که تریتیکاله می‌تواند با بسیاری از غلاتی که خیلی زودتر اهلی شده‌اند در بسیاری از مناطق خشک رقابت کند (Zaheer, 1991)

تلاقی گندم و چاودار با هدف انتقال مقاومت به سرما به گندم صورت گرفته است (Martin *et al.* , 1976). مقاومت به سرما و رشد سریع چاودار و و صفات کیفی و زراعی گندم توامأ در تریتیکاله جمع شده و کشت آن را در زمینهای حاشیه به جای گندم و جو موفقیت آمیز نموده است. درمقایسه با گندم، تریتیکاله با تاریخچه تکاملی کمتر از یک قرن توانسته است سطح وسیعی از اراضی زیر کشت در چندین کشور دنیا را به خود اختصاص دهد (Siani *et al.*, 1981) .

1- Triticale
2- Amphiploid
3- Abioitic Stress

این گیاه دارای سه سطح پلوئیدی می باشد که عبارتند از:

۱) گندم هگزاپلوئید × چاودار (دیپلوئید)= تریتیکاله اکتاپلوئید (2n=8x=56)

۲) گندم تتراپلوئید × چاودار (دیپلوئید)= تریتیکاله هگزاپلوئید (2n=6x=42)

۳) گندم دیپلوئید × چاودار (دیپلوئید)= تریتیکاله تتراپلوئید (2n=4x=28)

برنامه بین المللی تحقیقات تریتیکاله در سیمیت واقع در کشور مکزیک است که از سال ۱۹۶۵ آغاز گردیده است (ایران نژاد و شهبازیان، ۱۳۸۴).

حالت هگزا پلوئید تریتیکاله بر سایر حالات برتری دارد در این حالت گندم دوروم ژنوم های A و B خود را به اشتراک می‌گذارد به طوری که تریتیکاله هگزاپلوئید فاقد ژنوم D می‌باشد و چاودار ژنوم R را به اشتراک می‌گذارد. ساختمان ژنومی ABR مرکب از گندم و چاودار قابلیت تولید بیشتری نسبت به زمانی دارد که ژنوم D وجود دارد (راشد محصل، ۱۳۷۶). تریتیکاله اکتاپلوئید به دلیل عقیمی نسبی ناشی از تعداد بالای کروموزوم چندان مطلوب نیست و به همین دلیل محققین مطالعات خود را بر روی تریتیکاله‌های هگزاپلوئید که از عملکرد بیشتری برخوردار هستند متمرکز کرده‌اند (Flowers *et al.*, 2007).

اگر چه تنوع ژنتیکی در محتوی گلوتن این گیاه وجود دارد ولی هنوز بیشترین محتوی گلوتن تریتیکاله ۱۵-۱۰٪ از گندم کمتر است (Tohver *et al.*, 2005)، بنابراین پایین بودن محتوی گلوتن و بتاگلوکان در تریتیکاله موقعیت مطلوبی را برای تغذیه نشخوارکنندگان بصورت علوفه و یا چرا فراهم ساخته‌است (Oettler,2005).

نان تولید شده از تریتیکاله به لحاظ محتوای پروتئین بالاتر، فعالیت آلفاآمیلازی بیشتر و به‌دلیل ترکیب مواد معدنی برتر در هنگام مخلوط شدن با آرد گندم نان صنعتی بهتری تولید خواهد کرد (Serna-Saldivar *et al.*, 2004). بر طبق نظر اخیر دانشمندان تریتیکاله باید ترکیبی از بهترین خصوصیات والدینش را داشته باشد. این گیاه عملکرد بهتر و انعطاف پذری بیشتری در سازگاری با شرایط سخت اگرونومیکی نسبت به گندم دارد (Korver *et al.*, 2004). پیشرفت های ژنتیکی در تریتیکاله پر شدن دانه را افزایش داده‌است و محتوی پروتئین را کاهش داده‌است (Boros, 1999).