



دانشگاه پیام نور
دانشکده کشاورزی

پایان نامه برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد
رشته مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی
گروه بیوتکنولوژی

عنوان پایان نامه:

شناسایی ژن‌های مقاومت به زنگ سیاه گندم در گندم‌های
بومی گیلان موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران

نام نویسنده : بهاره خادمیان

استاد راهنما: دکتر احمدعباسی مقدم

استاد مشاور: دکتر محمدعلی ابراهیمی

شهریور ماه ۱۳۹۱

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

این پایان نامه با هم‌کاری موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج در بخش

ژنتیک و بانک ژن گیاهی ملی ایران تدوین شده است.



جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

مرکز تهران شرق



دانشگاه پیام نور
دانشگاه پیام نور استان تهران
المعلمی، نویسنده، مترجم، ویراستار

شماره:
تاریخ:
پیوست:

صور تجلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم بهاره خادمیان

دانشجوی مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی به شماره دانشجویی

880271222

تحت عنوان:

"شناسایی ژنهای مقاومت به رنگ سیاه گندم در گندمهای کیلان موجود در بانک ژن

گیاهی ملی ایران"

جلسه دفاع با حضور داوران نامبرده ذیل در روز شنبه مورخ: 91/6/25 ساعت: 8-9

در محل مرکز تهران شرق برگزار شد. پس از بررسی پایان نامه مذکور با نمره به عدد ۱۹.۷۵

به حروف، نوزده و هفتاد و پنج و با درجه ارزشیابی عالی..... مورد قبول واقع شد نشد

امضاء	دانشگاه/ موسسه	مرتبه دانشگاهی	نام و نام خانوادگی	هیات داوران
		استاد	دکتر احمد عباسی مقدم	استاد راهنما
	پیام نور	استادیار	آقای دکتر محمدعلی ابراهیمی	استاد مشاور
	پیام نور	استاد	دکتر غلامرضا بخش خانیکی	استاد داور
	پیام نور	استاد	دکتر غلامرضا بخش خانیکی	نماینده گروه/نماینده تحصیلات تکمیلی

تهران ، خیابان کریمخان
زند ، خیابان استاد نجات
اللهی ، خیابان شهید فلاح
پور ، پلاک ۲۷ مرکز
تهران شرق

تلفن: ۸۸۹۱۳۴۷۵
دورنگار: ۸۸۹۴۸۹۸۴

Tshargh.Tpnu.ac.ir
Tshargh@Tpnu.ac.ir



دانشگاه پیام نور
دانشکده کشاورزی
مرکز تهران شرق

پایان نامه برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد
رشته مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی
گروه بیوتکنولوژی

عنوان پایان نامه:

شناسایی ژن‌های مقاومت به زنگ سیاه گندم در گندم‌های بومی
گیلان موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران

نام نویسنده: بهاره خادمیان
استاد راهنما: دکتر احمدعباسی مقدم
استاد مشاور: دکتر محمدعلی ابراهیمی

شهریور ماه ۱۳۹۱

تصویب نامه

اینجانب بهاره خادمیان دانشجوی ورودی سال ۸۸-۸۷ مقطع کارشناسی ارشد رشته مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی گواهی می‌نمایم چنانچه در پایان‌نامه خود از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته‌ام با نقل قول مستقیم یا غیر مستقیم منبع و ماخذ آن را نیز در جای مناسب ذکر کرده‌ام. بدیهی است مسئولیت تمامی مطالبی که نقل قول دیگران نباشد بر عهده خویش می‌دانم و جوابگوی آن خواهم بود. دانشجو تأیید می‌نماید که مطالب مندرج در این پایان نامه (رساله) نتیجه تحقیقات خودش می‌باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است.

نام و نام خانوادگی دانشجو بهاره خادمیان
تاریخ و امضاء

اینجانب بهاره خادمیان دانشجوی ورودی سال ۸۸-۸۷ مقطع کارشناسی ارشد رشته مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی گواهی می‌نمایم چنانچه براساس مطالب پایان‌نامه خود اقدام به انتشار مقاله، کتاب، و ... نمایم ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب، و ... و به صورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.

نام و نام خانوادگی دانشجو بهاره خادمیان
تاریخ و امضاء

کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات، آزمایشات و نوآوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه پیام نور می‌باشد.

شهریور ماه ۱۳۹۱

تقدیم به

پدر و مادر مهربانم

که وجودم لبریز از محبت آنهاست، آنها که همواره بزرگواری، گذشت و چگونگی زیستن را به من آموختند،

همسر عزیزم

که همواره پشتیبان، مشوق و راهنمایم بود، و بدون همراهی این مهم مقدور نبود،

به برادران عزیزم

بهزاد و فرشاد که همواره امیدبخش من بودند

و

به گل زندگیم

باران عزیزم که با صبوری و مهربانی مرا همراهی نمود.

سپاس و ستایش بی‌کران به درگاه پروردگار متعال که توفیق در هر کار با رحمت او میسر است، خداوندی که خود منشا تمامی علوم هستی است و از برکت وجودش به من توفیق ارزانی فرمود تا در راه علم و دانش گام بردارم و اندوخته‌هایم را به ثمر بنشانم، بر خود لازم می‌دانم از تمامی بزرگوارانی که اینجانب را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری کنم، از پدر و مادر گرامیم قدردانی می‌کنم، امید آنکه پاسخگوی ذره‌ای از محبت آنان باشم. از همسر گرامیم که مرا در این راه همراهی نمود بسیار سپاسگزارم. از استاد راهنمای گرانقدر جناب آقای دکتر احمد عباسی مقدم به خاطر راهنمایی‌ها و حمایت‌های ایشان که محور اصلی این پژوهش بودند، نهایت سپاس را دارم. از جناب آقای دکتر محمدعلی ابراهیمی به خاطر همراهی و مشاورت صمیمانه ایشان سپاسگزارم. از استاد ارجمند جناب آقای دکتر غلامرضا بخشی خانیکی به خاطر قبول داوری پایان نامه اینجانب کمال تشکر و امتنان را دارم. از دوست گرامیم خانم مهندس زهرا دهقانی، صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم. از خانم مهندس فریبا بختیاری، خانم دکتر شیده موجرلو، خانم دکتر ثنم صفایی و خانم مهندس مهرزاد احمدی و تمامی محققان و کارکنان محترم موسسه تحقیقات، اصلاح و تهیه نهال و بذر (بانک ژن گیاهی ملی ایران) سپاسگزاری می‌نمایم. سربلندی و شادمانی این عزیزان را از درگاه خداوند متعال خواستارم.

چکیده

گندم مهم‌ترین محصول کشاورزی ایران است و زنگ سیاه گندم با عامل پوکسینیا گرامینیس^۱، از خطرناک‌ترین بیماری‌های گندم محسوب می‌شود. این بیماری با استفاده از ژن مقاومت *Sr31* سالیان متمادی کنترل می‌شد تا سال ۱۳۷۸ که نژاد جدیدی از آن با نام Ug99 در اوگاندا شناسایی شد و برای ژن *Sr31* بیماری‌زایی داشت و محصول جهانی گندم را مورد تهدید قرار داد. ظهور Ug99 در یمن و ایران گزارش شده است. بنابراین یافتن منابع مقاومت نسبت به این بیماری و به خصوص نژاد Ug99 ضروری است. در این تحقیق ۵۰ نمونه ژنتیکی گندم بومی استان گیلان موجود در کلکسیون گندم بانک ژن گیاهی ملی ایران دریافت گردید و مقاومت آن‌ها نسبت به زنگ سیاه گندم مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور جدایه‌ای از قارچ زنگ سیاه از واحد پاتولوژی بخش غلات موسسه تحقیقات، اصلاح و تهیه نهال و بذر دریافت شد و پس از خالص سازی، تکثیر و استفاده شد. جدایه مذکور که از دشت آزادگان جمع‌آوری شده بود به دلیل قدرت بیماری‌زایی بروی *Sr31* مشابه نژاد Ug99 انتخاب شد. نمونه‌های ژنتیکی بومی، همراه با رقم بولانی به‌عنوان شاهد حساس و ۴۵ ایزولاین افتراقی دریافتی از ایکاردا، در گلخانه کشت گردیدند. گیاهچه‌های هفت روزه ارقام و لاین‌های مورد آزمایش با سوسپانسیون یوردیوسپورهای زنگ سیاه در مرحله برگ اول در گلخانه مایه‌زنی مصنوعی شد و در اتاقی تاریک با بیش از ۸۰٪ رطوبت نسبی، دمای ۱۸ °C برای ۱۶ ساعت نگهداری شدند. سپس گیاهچه‌ها به گلخانه با دمای ۲۵-۲۰ °C و ۱۶ ساعت روشنایی منتقل شدند. پس از ۱۴ روز تیپ آلودگی گیاهچه‌ها بر اساس روش مک اینتاش و همکاران، ۱۹۹۵ با مختصر تغییرات یادداشت برداری شدند. تیپ‌های آلودگی ۰ - ۲ مقاوم و ۳ - ۴ حساس گزارش شدند. مشخص شد که جدایه مورد بررسی بر روی ژن‌های *Sr22*، *Sr25*، *Sr36* بیماری‌زا نبود. نمونه‌های ژنتیکی بر اساس تیپ آلودگی، به سه گروه مقاوم، نیمه مقاوم و حساس تقسیم شدند. در گروه مقاوم ۹ نمونه ژنتیکی قرار گرفت. رقم شاهد (بولانی) از همه حساس‌تر بود. از برگ‌های تازه و سالم ۱۴ نمونه ژنتیکی که کمترین تیپ آلودگی را نشان دادند، استخراج DNA صورت گرفت و ژن‌های مقاومت *Sr22*، *Sr25*، *Sr36* و *Sr39* با استفاده از نشانگرهای مولکولی اختصاصی در آن‌ها ردیابی شد. حضور ژن مقاومت *Sr22* در ۷ ژنوتیپ، ژن *Sr25* در ۸ ژنوتیپ، ژن *Sr36* در ۶ ژنوتیپ و ژن *Sr39* در ۳ ژنوتیپ تایید شد. از این نمونه‌های ژنتیکی مقاوم می‌توان در مقابله با همه‌گیری زنگ سیاه گندم در برنامه‌های اصلاح ارقام استفاده نمود.

کلمات کلیدی: زنگ سیاه گندم، نمونه‌های ژنتیکی گندم بومی استان گیلان، بانک ژن گیاهی ملی ایران، ژن‌های مقاومت *Sr22*، *Sr25*، *Sr36* و *Sr39*، نشانگرهای مولکولی SSR.

¹*Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (Pgt)

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
د	فهرست مطالب
ط	فهرست جداول
ک	فهرست اشکال
۱	فصل اول : کلیات تحقیق
۲	مقدمه
۷	فصل دوم : مبانی نظری و پیشینه تحقیق
۸	۱-۲- کلیات
۸	۱-۱-۲- مشخصات گیاهشناسی و طبقه‌بندی گندم
۸	۲-۱-۲- آب و هوای مناسب برای رشد گندم
۹	۳-۱-۲- پیدایش گندم
۹	۴-۱-۲- میزان تولید و سطح تولید گندم در جهان و ایران
۱۰	۲-۲- مقاومت نسبت به حمله پارازیت‌ها در گیاهان
۱۱	۱-۲-۲- سطوح مختلف مقاومت در گیاهان
۱۱	۲-۲-۲- انواع مقاومت پایه‌ای در گیاهان
۱۱	۱-۲-۲-۲- مقاومت بر اساس سدهای فیزیکی گیاهان
۱۲	۲-۲-۲-۲- مقاومت بر اساس سدهای بیوشیمیایی گیاهان
۱۳	۳-۲-۲-۲- عملکرد پروتئین‌های وابسته به بیماری‌زایی
۱۳	۴-۲-۲-۲- مقاومت بر اساس دفاع آپوپلاستی

۱۴	۵-۲-۲-۲- مقاومت بر اساس واکنش‌های فوق حساسیت
۱۶	۶-۲-۲-۲- مقاومت اکتسابی سیستمیک
۱۶	۷-۲-۲-۲- پاسخ سلولی گیاه به حمله و نفوذ قارچ‌ها
۱۷	۸-۲-۲-۲- ویژگی‌های فیتوالکسین‌ها
۱۷	۳-۲-۲- رابطه ژن - در برابر- ژن
۱۸	۴-۲-۲- مقاومت براساس کنترل ژنتیکی
۱۹	۳-۲- بیماری زنگ سیاه (ساقه) گندم
۲۰	۱-۳-۲- عامل بیماری زنگ سیاه گندم
۲۱	۲-۳-۲- علائم بیماری زنگ سیاه گندم
۲۱	۳-۳-۲- تاریخچه زنگ سیاه گندم
۲۲	۴-۲- اهمیت اقتصادی زنگ سیاه گندم
۲۳	۵-۲- چرخه زندگی زنگ سیاه
۲۵	۶-۲- چرخه بیماری زنگ سیاه
۲۷	۷-۲- شرایط محیطی مساعد برای ایجاد زنگ سیاه گندم
۲۸	۸-۲- مکانیسم‌های پیدایش تنوع در عامل بیماری زنگ سیاه
۲۸	۹-۲- نژادهای فیزیولوژیک عامل زنگ سیاه
۲۹	۱۰-۲- نحوه تعیین نژاد عامل زنگ سیاه و نام‌گذاری آن‌ها
۳۴	۱۱-۲- مبارزه با بیماری زنگ سیاه گندم
۳۵	۱۲-۲- نشانگرهای مولکولی
۳۵	۱۳-۲- گزینش ژن‌ها به کمک نشانگرهای مولکولی
۳۶	۱۴-۲- میکروستلیت‌ها یا نشانگرهای مولکولی SSR
۳۷	۱۵-۲- سابقه مطالعات زنگ سیاه در ایران
۴۴	۱۶-۲- سابقه مطالعات بر روی زنگ سیاه خارج از ایران

۴۷	۱۷-۲ - ژنهای مقاومت به نژاد Ug99 و نشانگرهای مولکولی پیوسته با آنها
۴۸	Sr2 ژن -۱-۱۷-۲
۴۹	Sr6 ژن -۲-۱۷-۲
۴۹	Sr13 ژن -۳-۱۷-۲
۵۰	Sr22 ژن -۴-۱۷-۲
۵۱	Sr24 ژن -۵-۱۷-۲
۵۲	Sr25 ژن -۶-۱۷-۲
۵۲	Sr26 ژن -۷-۱۷-۲
۵۳	Sr31 ژن -۸-۱۷-۲
۵۳	Sr35 ژن -۹-۱۷-۲
۵۳	Sr36 ژن -۱۰-۱۷-۲
۵۴	Sr39 ژن -۱۱-۱۷-۲
۵۵	Sr40 ژن -۱۲-۱۷-۲
۵۵	Sr45 و Sr33 ژن های -۱۳-۱۷-۲
۵۶	SrD51 ژن -۱۴-۱۷-۲
۵۶	SrCad ژن -۱۵-۱۷-۲
۵۷	Srweb ژن -۱۶-۱۷-۲
۵۸	فصل سوم : مواد و روش ها
۵۹	۱-۳ - مراحل انجام آزمایش های گلخانه ای
۵۹	۱-۱-۳ - مواد گیاهی
۶۰	۲-۱-۳ - تکثیر مایه تلقیح جدایه زنگ سیاه گندم
۶۱	۳-۱-۳ - روش های مایه زنی مورد استفاده
۶۱	۱-۳-۱-۳ - روش مایه زنی با گوش پاک کن و قلم مو

- ۶۱ ۱-۳-۲- روش استفاده از مخلوط پودر تالک و اسپور
- ۶۱ ۱-۳-۳- روش اسپری کردن
- ۶۴ ۱-۳-۴- جمع‌آوری اسپور
- ۶۶ ۱-۳-۵- نگهداری و ذخیره اسپور
- ۶۶ ۱-۳-۱-۵- نگهداری اسپورها در دمای اتاق
- ۶۷ ۱-۳-۲-۵- نگهداری اسپورها در یخچال
- ۶۷ ۱-۳-۳-۵- نگهداری اسپورها در یخچال با دماهای بسیار پایین
- ۶۷ ۱-۳-۴-۵- نگهداری اسپورها در نیتروژن مایع
- ۶۸ ۱-۳-۶- تکثیر و خالص سازی بیمارگر
- ۶۹ ۱-۳-۷- تعیین نژاد ایزوله زنگ سیاه
- ۶۹ ۱-۳-۸- ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌ها در مرحله‌ی گیاهچه‌ای
- ۷۴ ۱-۳-۹- جمع‌آوری برگ‌های نمونه‌های ژنتیکی بومی
- ۷۵ ۲-۳- مراحل انجام آزمایش‌های مولکولی
- ۷۵ ۱-۲-۳- استخراج DNA ژنومی
- ۷۶ ۲-۲-۳- استخراج DNA ژنومی به روش تغییر یافته شارما و همکاران
- ۷۸ ۲-۳-۳- طرز تهیه‌ی بافر الکتروفورز TAE
- ۷۸ ۲-۳-۴- ژل آگارز ۰/۸%
- ۷۹ ۲-۳-۵- ریختن ژل
- ۷۹ ۲-۳-۶- رنگ آمیزی و مشاهده
- ۸۰ ۲-۳-۷- واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز
- ۸۱ ۲-۳-۸- ترکیبات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
- ۸۲ ۲-۳-۹- تنظیم شرایط واکنش PCR
- ۸۴ ۲-۳-۱۰- الکتروفورز محصول PCR

۸۵	فصل چهارم : یافته‌های تحقیق
۸۶	۱-۴- نتایج بررسی‌های گلخانه‌ای
۸۶	۱-۱-۴- تعیین نژاد جدایه قارچ مورد استفاده
۹۱	۲-۱-۴- نتایج حاصل از ارزیابی مقاومت نمونه‌های ژنتیکی در مرحله‌ی گیاهچه‌ای
۱۰۱	۲-۴- نتایج بررسی‌های مولکولی
۱۰۱	۱-۲-۴- استخراج DNA ژنومی
۱۰۳	۲-۲-۴- نتایج تکثیر ژن‌های مقاومت با آغازگرهای اختصاصی SSR
۱۰۴	۱-۲-۲-۴- تکثیر ژن <i>Sr22</i> به وسیله نشانگر <i>WMC633</i>
۱۰۷	۲-۲-۲-۴- تکثیر ژن <i>Sr25</i> به وسیله نشانگر <i>BF145935</i>
۱۱۰	۳-۲-۲-۴- تکثیر ژن <i>Sr36</i> به وسیله نشانگر <i>Xgwm319</i>
۱۱۳	۴-۲-۲-۴- تکثیر ژن <i>Sr39</i> به وسیله نشانگر <i>BE500705</i>
۱۱۶	فصل پنجم : جمع‌بندی، نتیجه‌گیری و ارائه پیشنهادات
۱۲۱	منابع :

فهرست جداول

صفحه

عنوان

- جدول ۱-۲ شرایط محیطی مورد نیاز *Puccinia graminis* f.sp *tritici* ۲۸
- جدول ۲-۲ انواع تیپ های آلودگی مورد استفاده در مطالعات فیزیولوژیک زنگ ساقه ۳۰
- جدول ۳-۲ ژنهای مقاومت موجود در سیستم شناسایی پاتوتایپ آمریکای شمالی ۳۲
- جدول ۴-۲ واکنش میزبان افتراقی و تیپ آلودگی ۳۲
- جدول ۱-۳ نمونههای ژنتیکی استان گیلان در کلکسیون گندم بانک ژن ملی گیاهی ایران ۵۹
- جدول ۲-۳- تیپ آلودگی مورد استفاده طبق روش مک اینتاش و همکاران ، ۱۹۹۵ ۷۱
- جدول ۳-۳ زمان کاشت نمونه های ژنتیکی ۷۳
- جدول ۴-۳ ترکیبات مورد استفاده در واکنش زنجیره ای پلیمرز ۸۰
- جدول ۵-۳ نام وتوالی آغازگرهای SSR مورد استفاده در این تحقیق ۸۱
- جدول ۶-۳ برنامه مورد استفاده برای تکثیر *WMC633* (نشانگر ژن *Sr22*) ۸۲
- جدول ۷-۳ برنامه مورد استفاده برای تکثیر *BF145935* (نشانگر ژن *Sr25*) ۸۲
- جدول ۸-۳ برنامه مورد استفاده برای تکثیر *WMS319* (نشانگر ژن *Sr36*) ۸۳
- جدول ۹-۳ برنامه مورد استفاده برای تکثیر *BE500705* (نشانگر ژن *Sr39*) ۸۳
- جدول ۱-۴ نتایج یادداشتبرداری ارقام افتراقی مایه زنی شده، توسط جدایه زنگ سیاه ۸۷
- جدول ۲-۴ نام گذاری پاتوتایپ زنگ ساقه مورد آزمایش به روش آمریکای شمالی ۸۹
- جدول ۳-۴ جدول *pgt code* مشخص کننده پاتوتایپ قارچ ۹۰
- جدول ۴-۴ نتایج یادداشتبرداری تیپ آلودگی نمونه های ژنتیکی استان گیلان ۹۳
- جدول ۵-۴ تجزیه واریانس واکنش نمونههای ژنتیکی گیلان در تلقیح با جدایه زنگ سیاه مورد بررسی ۹۵

- جدول ۴-۶ میانگین تیپ آلودگی نمونه‌های ژنتیکی و گروهبندی آنها با روش مقایسه میانگین دانکن ۹۸
- جدول ۴-۷ فهرست نمونه‌های ژنتیکی گندم که استخراج DNA از آنها انجام شد ۱۰۰
- جدول ۴-۸ نتیجه مشاهده شده از الکتروفورز محصول PCR نشانگر پیوسته با ژن *Sr22* ۱۰۶
- جدول ۴-۹ نتیجه مشاهده شده از الکتروفورز محصول PCR نشانگر پیوسته با ژن *Sr25* ۱۰۹
- جدول ۴-۱۰ نتیجه مشاهده شده از الکتروفورز محصول PCR نشانگر پیوسته با ژن *Sr36* ۱۱۲
- جدول ۴-۱۱ نتیجه مشاهده شده از الکتروفورز محصول PCR نشانگر پیوسته با ژن *Sr39* ۱۱۵
- جدول ۵-۱ مقایسه نتیجه تکثیر محصول PCR نشانگرهای SSR پیوسته با ژن‌های مقاومت ۱۱۹

فهرست اشکال

صفحه

عنوان

- | | |
|-----|---|
| ۱۴ | شکل ۱-۲ واکنش برگ گندم در برابر حمله زنگ سیاه |
| ۱۸ | شکل ۲-۲ رابطه ژن در برابر ژن |
| ۲۰ | شکل ۳-۲ علائم بیماری زنگ سیاه گندم |
| ۲۷ | شکل ۴-۲ چرخه زندگی قارچ پوکسینیا گرامینیس |
| ۳۸ | شکل ۵-۲ نقشه‌ی جغرافیایی کشورهای مورد حمله UG99 و مسیر وزش باد |
| ۶۲ | شکل ۱-۳ مایه زنی به روش سوسپانسیون اسپوری |
| ۶۲ | شکل ۲-۳ قرار دادن درپوش پلی اتیلنی مرطوب بر روی گیاهچه مایه زنی شده |
| ۶۳ | شکل ۳-۳ ایجاد شرایط تاریکی برای گیاهچه‌های مایه‌زنی شده |
| ۶۴ | شکل ۴-۳ قرار دادن گیاهچه‌های مایه زنی شده در شرایط معمولی گلخانه |
| ۶۴ | شکل ۵-۳ جمع آوری اسپور |
| ۶۵ | شکل ۶-۳ مراحل مایه زنی و تکثیر قارچ |
| ۶۶ | شکل ۷-۳ نگهداری اسپور جمع آوری شده درون دسپکاتور |
| ۶۸ | شکل ۸-۳ تکثیر اسپور زنگ سیاه بر روی رقم بولانی |
| ۷۰ | شکل ۹-۳ ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌ها در مرحله گیاهچه‌ای |
| ۷۸ | شکل ۱۰-۳ ژل آگارز |
| ۱۰۲ | شکل ۱-۴ نمونه DNA استخراج شده از نمونه ژنتیکی |
| ۱۰۴ | شکل ۲-۴ تکثیر ژن <i>Sr22</i> به وسیله نشانگر <i>WMC633</i> |
| ۱۰۷ | شکل ۳-۴ تکثیر ژن <i>Sr25</i> به وسیله نشانگر <i>BF145935</i> |

- ۱۱۰ شکل ۴-۴ تکثیر ژن *Sr36* به وسیله نشانگر *Xgwm319*
- ۱۱۳ شکل ۵-۴ تکثیر ژن *Sr39* به وسیله نشانگر *BE500705*
- ۱۱۷ شکل ۱-۵ ظهور جوش‌های آجری رنگ زنگ سیاه گندم

فصل اول

کلیات تحقیق

مقدمه

هزاران سال است که غلات، در تأمین غذای بشر نقش حیاتی ایفا می‌کنند. باستان شناسان جوامع ابتدایی توانسته‌اند از ویرانه‌های قدیمی مراکز سکونت انسان، شواهدی به دست آورند که نشان می‌دهد غلات در تمدن‌های اولیه بشری هم کشت می‌شده‌اند. برای مثال، گندم در سرزمین حاصل‌خیز بین‌النهرین به عمل می‌آمده است. بین‌النهرین امروزه بخش‌هایی از ترکیه، عراق، سوریه و ایران را تشکیل می‌دهد. شواهد به دست آمده نشان می‌دهد که در ۱۶۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ سال قبل از میلاد، انسان ما قبل تاریخ در این ناحیه گندم تولید می‌کرده است. همچنین هر جا که جامعه‌ای تشکیل شده، یکی از انواع غلات در پیدایش آن نقش داشته‌اند. مثلاً برنج در تشکیل جوامع نخستین کشور چین و ذرت هم در تشکیل جوامع آفریقایی مؤثر بوده‌اند (سینگ^۱ و همکاران، ۲۰۱۱).

غلات مهمترین منبع انرژی برای انسان هستند. در کشورهای در حال توسعه، این دسته مواد غالب رژیم غذایی مردم را در بر می‌گیرند. غلات حاوی هیدرات‌کربن، پروتئین، چربی، مواد معدنی و انواع ویتامین‌ها هستند که البته ضمن مراحل مختلف نگهداری و تهیه، ممکن است بخشی از مواد مغذی مذکور از بین برود. بحران کاهش دسترسی به مواد غذایی، قیمت بی‌ثبات انرژی، کاهش منابع طبیعی، و تغییرات آب و هوایی معیشت میلیون‌ها نفر از مردم فقیر را تضعیف و تهدید می‌کند. در رژیم غذایی مردم کشورهای در حال توسعه، گندم بعد از برنج، مقام دوم را به عنوان منبع تامین کالری، و مقام اول را به عنوان یک منبع پروتئین دارد (سینگ و همکاران، ۲۰۱۱). گندم ۲۱٪ از کالری مواد غذایی و ۲۰٪ از پروتئین مورد نیاز بیش از ۴/۵ میلیارد نفر را در ۹۴ کشور در حال توسعه، فراهم می‌کند (براون^۲ و همکاران، ۲۰۱۰).

گندم ابتدا در نواحی حاصل‌خیز خاور کشت می‌شد ولی اکنون در سراسر دنیا کشت می‌شود. در حدود ۲۱۵ میلیون هکتار گندم در سرتاسر جهان، زیر کشت است. تقریباً ۶۳۰ میلیون تن گندم در کشورهای در حال توسعه تولید می‌شود. همچنین پیش‌بینی شده است در سال ۲۰۵۰، تقاضا برای گندم در کشورهای در حال توسعه جهان تا ۶۰٪ افزایش یابد، در عین حال به علت تغییرات آب و هوایی ناشی از افزایش دما، انتظار می‌رود که تولید گندم در کشورهای در حال توسعه تا ۲۹٪ کاهش یابد (روزگرن^۳ و همکاران، ۱۹۹۵). این داستان غم‌انگیز باتوجه به کاهش بازده محصول گندم، افزایش هزینه‌های آبیاری و کود، شیوع بیماری‌های بدخیم جدید مانند بیماری زنگ سیاه ناشی از نژاد جدید Ug99 و واریانت‌هایش و مقاوم شدن هرچه بیشتر آفات، رو به وخامت خواهد گذاشت (سینگ^۴ و همکاران، ۲۰۱۱).

¹ Singh

² Braun

³ Rosegrant

⁴ Singh