بسم الله الرحمن الرحیم

مدیریت تحصیلات تکمیلی

دانشکده کشاورزی

گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته اصلاح نباتات

نقشه یابی نواحی ژنومی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گندم تحت شرایط تنش شوری در محیط هیدروپونیک

استاد راهنما:

دکتر براتعلی فاخری

استاد مشاور:

دکتر مصطفی حیدری

تهیه و تدوین:

مجتبی سراجی‌نودژ

مهرماه ۱۳۹۲

تقدیم به

خدایی که آفرید

جهان را، انسان را، عقل را، علم را، معرفت را، عشق را

و به کسانی که عشقشان را در وجودم دمید

گاهی بیایم و احوالشان را بپرسم.

تقدیم به

پیشگاه قطب عالم امکان، دادگستر جهان، منجی مستضعفان، مهدی موعود،

صاحب الزمان (عج)

دوست دارم که یک شب جمعه صبح گردد به رسم خوش عهدی
تا کهان بشنوم ز سمت حجاز نغمه ی دلخوش انا المهدی.

تقدیم به

روح پاک پدرم که عالمانه به من آموخت تا چگونه در عرصه زندگی، ایستادگی را تجربه نمایم

و به مادرم، دریای بی کران فداکاری و عشق که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر.

تقدیم به

برادران و خواهران عزیزم و کسانی که دوستشان دارم.

تشکر و قدردانی

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. و سلام و درود فراوان بر محمّد (ص) و خاندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان وامدار وجودشان است. با سپاس از سه وجود مقدس، آنان که ناتوان شدند تا ما به توانایی برسیم، موهایشان سپید شد تا ما رو سفید شویم و عاشقانه سوختند تا گرما بخش وجود ما و روشنگر راهمان باشند، پدرانمان، مادرانمان و استادانمان. با درود فراوان به روح پر-فتوح پدر بزرگوارم و سپاس بیکران بر همدلی و همراهی و همگامی مادر دلسوز و مهربانم که سجده ی ایثارش گل محبت را در وجودم پروراند و دامان گهربارش لحظه های مهربانی را به من آموخت. بدون شک جایگاه و منزلت معلم، بالاتر از آن است که در مقام قدردانی از زحمات بی شائبه ی او، با زبان قاصر و دست ناتوان، چیزی بنگاریم، اما از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تأمین می کند و سلامت امانت هایی را که به دستش سپرده اند، تضمین؛ 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 استاد راهنمای گرانقدرم جناب آقای **دکتر براتعلی فاخری**، عرضه دارم که بدون همراهی دلسوزانه این استاد گرامی، هیچگاه این تحقیق به سرانجام نمی رسید. همچنین از استاد مشاورم جناب آقای **دکتر مصطفی حیدری** که طی انجام این پژوهش با مشاوره خویش یاری ام دادند، کمال تشکر را دارم. از سرکار خانم **دکتر لیلا فهمیده**، داور محترم که به نوعی در این راستا قبول زحمت فرموده و با تذکرات و راهنمایی های استادانه خود، موجبات ارتقای بار علمی جلسه دفاعیه را فراهم ساخته اند، سپاسگزارم. همچنین از جناب آقای **دکتر محمدرضا اصغری پور**، به عنوان نماینده تحصیلات تکمیلی که قبول زحمت نمودند، تشکر می کنم. و در پایان از هم-کلاسی ها و دوستان خوب و عزیزم **حسین خسروی، آزاد مینایی، دیاکو رسولی، صلاح الدین رحیم زاده، صلاح الدین سهرابی، ابوالفضل خالق بابکی**، رضا نژاد حبیب، محمدرضا جرگه، مازیار جعفری، رحمان ابراهیم زاده، بهزاد غفاری، میثم امیری، میثم جهانتیغی، مجتبی شهرکی، احمد کمالی، محمد شاکری، علیرضا شاکری، علیرضا درگاهی، هه ژار عباسی، عادل فرضی-پور، رضا مقبلی، رشید حکمی، محسن نیازمند و خانم ها **صالحه نادری، سارا سعیدی**، حمیه شهرکی، لیلا مهرآوران، حمیده زارع، سمیرا دباغ، سکینه شهدادنژاد، خدیجه لک زایی، نغمه ذخیره داری، مریم جهانتیغ، فرزانه کارگر، سمیه منتظری و تمامی دوستانی که طی این مدت با شکیبایی تام، از ابراز محبت و همکاری دریغ ننموده اند و به عناوین مختلف یار و یاورم بودند، سپاسگزارم. این پروژه در **پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی (بیوسنتر) دانشگاه زابل** انجام شد که جا دارد، صمیمانه، سپاس گزاری خود را از زحمات جناب آقای دکتر سید کاظم صباغ، ریاست پژوهشکده و خانم مهندس حمیده خواجه کارشناس مربطه و همچنین تمام کارکنان این مجموعه ابراز دارم.

مجتبی سراجی نوذر

مهرماه سال هزار و سیصد و نود و دو

چکیده

بسیاری از صفات که در مقاومت گیاه به شوری نقش دارند، توسط چندین ژن کنترل می‌شوند و به صورت کمی به ارث می‌رسند، بنابراین شناسایی QTLهای مربوطه و کاربرد آن‌ها در انتخاب به کمک نشانگر(MAS) در بهبود گیاهان، نقش مهمی ایفا می‌کند. به منظور نقشه‌یابی نواحی ژنومی مرتبط با شوری در گندم و تعیین سهم هر QTL در تنوع صفت مربوطه، ۱۶۷ اینبردلاین نوترکیب حاصل از تلاقی *Seri M82* و *Babax* به همراه دو والد مورد مطالعه قرار گرفتند. این تحقیق در سال ۱۳۹۱ در پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه زابل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با دو تکرار و تحت شرایط تنش شوری و بدون تنش در محیط کشت هیدروپونیک، به اجرا درآمد. صفات مورد مطالعه شامل صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک مانند درصد جوانه‌زنی، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی و نسبت آنها، طول ریشه و ساقه و نسبت آنها،تراکم کلروفیل، پرولین، میزان کربوهیدرات‌های محلول، میزان آب نسبی برگ (RWC)، ضریب پایداری غشاء و فلورسانس کلروفیل (F_o, F_m, F_v/F_m)، بود. ابتدا تجزیه‌های آماری برای بررسی‌های فنوتیپی صفات شامل تجزیه واریانس، محاسبه همبستگی-های فنوتیپی بین صفات، تجزیه مؤلفه‌های اصلی، تجزیه عامل‌ها و تجزیه خوشه‌ای انجام گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد تفاوت معنی‌داری میان لاین‌ها دردو شرایط تنش شوری و نرمال برای اکثر صفات مورد بررسی وجود دارد. حداکثر همبستگی بین وزن تر بخش هوایی با وزن خشک بخش هوایی (۰/۹۴**) مشاهده گردید. در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در شرایط نرمال،۵ مؤلفه اول در مجموع ۶۶/۸ درصد ازتنوع را توجیه کرد و در شرایط تنش ۷ مؤلفه اول ۷۷/۱ درصد تنوع را توجیه نمودند. تجزیه به عامل‌ها چندین عامل پنهانی را استخراج نمودند که بیش از ۶۶/۸ درصد از واریانس کل را توجیه کردند، برخی عامل‌ها تحت عنوان عامل جوانه‌زنی، نوری، ظرفیت نگهداری آب و پایداری غشاء نامگذاری شدند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه کلاستر انجام شد که در شرایط نرمال و تنش شوری به ترتیب ۶ و ۷ گروه شناخته شد. تجزیه QTL با استفاده از نقشه پیوستگی ژنتیکی حاصل از ۲۴۹ نشانگرAFLP، ۷۴نشانگر SSR و ۲۶۴ نشانگر DArT و نرم‌افزار WinQTL Cartographer به روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب انجام شد. برای صفات مورد بررسی در مجموع ۳۸ QTL (۱۶ عدد برای شرایط نرمال و ۲۲ عدد برای شرایط تنش) به دست آمد. واریانس فنوتیپی توجیه شده بوسیله این QTLها از ۶/۱۲ تا ۱۸/۴۳ درصد متغییر بود که کمترین آن برای صفات میزان قندهای محلول در شرایط نرمال (Qwsc7a.n) و طول ساقه در شرایط تنش (Qls7a.s) و بیشترین آن برای صفت F_m در شرایط تنش (QFm7a.s) به دست آمد. LOD در دامنه ۶/۳۱-۲/۵۷ قرار داشت. بیشترین و کمترین LOD به ترتیب برای QTLهای کلروفیل (Qchl5d.n) و نسبت طول ریشه به طول ساقه هر دو در شرایط نرمال (Qlrls7a.n) به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: QTL، تنش شوری، اینبردلاین نوترکیب، گندم، کشت هیدروپونیک.

عنوان	فهرست مطالب	صفحه

فصل اول: مقدمه

۱-۱- مقدمه ۲

۱-۲- فرضیات ۷

۱-۳- اهداف ۷

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- اهمیت گندم ۹

۲-۲- گیاه‌شناسی گندم ۱۰

۲-۳- منشأ و ژنتیک گندم ۱۱

۲-۴- مهندسی کروموزوم در گندم ۱۱

۲-۵- تنش‌های محیطی ۱۲

۲-۶- تنش شوری ۱۳

۲-۶-۱- تعریف شوری ۱۴

۲-۶-۲- علل شور شدن خاکها ۱۵

۲-۶-۳- اثر شوری بر گیاهان ۱۶

۲-۶-۳-۱- عکس العمل و میزان مقاومت یا حساسیت گندم نسبت به شوری ۱۸

۲-۶-۳-۲- اثرات اسمزی ۱۸

۲-۶-۳-۳- تأثیر شوری در به هم زدن تعادل عناصر غذایی و ایجاد سمیت ۱۹

۲-۶-۳-۴- تأثیر شوری بر روی سنتز پروتئین‌ها ۲۰

۲-۶-۳-۵- اثر شوری بر میزان پرولین برگ ۲۱

۲-۶-۳-۶- اثر شوری بر میزان کلروفیل برگ ۲۳

۲-۶-۳-۷- اثر تنش شوری بر فلورسانس کلروفیل ۲۴

۲-۶-۳-۸- اثر شوری بر کربوهیدراتهای محلول(WSC) ۲۶

۲-۶-۳-۹- اثر شوری بر مقدار نسبی آب گیاه ۲۷

۲-۶-۳-۱۰- اثر شوری بر میزان پایداری غشاء ۲۸

۲-۶-۳-۱۱- اثر شوری بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ۲۹

۲-۶-۳-۱۲- اثر شوری بر ریشه و اندامهای هوایی ۲۹

عنوان	فهرست مطالب	صفحه

۲-۷- تحمل گیاهان نسبت به شوری ۳۰
۲-۸- مکانیزم‌های مقاومت به شوری در گیاهان ۳۲
۲-۹- ژنتیک مقاومت به شوری ۳۴
۲-۱۰- تکنیک‌های ژنومیکس و زمینه‌های مربوط به آن ۳۶
۲-۱۰-۱- تعریف نشانگر (مارکر) ۳۶
۲-۱۰-۱-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی ۳۷
۲-۱۰-۱-۲- نشانگرهای بیوشیمیایی ۳۸
۲-۱۰-۱-۳- نشانگرهای سیتولوژیکی ۳۸
۲-۱۰-۱-۴- نشانگرهای بیولوژیکی ۳۸
۲-۱۰-۱-۵- نشانگرهای مولکولی ۳۹
۲-۱۰-۲- مکان‌یابی صفات کمی (QTL) ۴۱
۲-۱۰-۲-۱- تجزیه QTL ۴۵
۲-۱۰-۲-۲- مراحل انجام تجزیه QTL ۴۶
۲-۱۰-۳- نقشه پیوستگی یا لینکاژی ۴۶
۲-۱۰-۳-۱- جمعیت‌های نقشه‌یابی ۴۷
۲-۱۰-۳-۲- نقشه ژنتیکی (فاصله ژنتیکی) ۴۸
۲-۱۰-۴- تشخیص پلی‌مورفیسم با استفاده از نشانگرهای مولکولی ۴۹
۲-۱۰-۵- آنالیز لینکاژی نشانگرها ۵۰
۲-۱۰-۶- روش‌های آماری مورد استفاده در تجزیه QTL ۵۰
۲-۱۰-۶-۱- روش تک نشانگری (SMA) ۵۰
۲-۱۰-۶-۲- روش دو نشانگری یا روش مکان‌یابی به کمک نشانگرهای مجاور (IM) ۵۱
۲-۱۰-۶-۳- روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) ۵۱
۲-۱۰-۷- عوامل مؤثر در تشخیص QTL ۵۲
۲-۱۰-۸- انتخاب QTL برای MAS ۵۳
۲-۱۰-۹- مروری بر تحقیقات انجام شده ۵۳
۲-۱۰-۹-۱- نقشه‌یابی QTL در گیاهان زراعی ۵۳

۲-۹-۱۰-۲- نقشه‌یابی QTL در گندم ۵۵
۱۰-۱۰-۲- نتایج انتخاب به کمک نشانگر ۵۷
۱۱-۱۰-۲- مروری بر کشت هیدروپونیک ۵۷
۱-۱۱-۱۰-۲- تعریف کشت هیدروپونیک ۵۷
۲-۱۱-۱۰-۲- سابقه کشت هیدروپونیک ۵۸
۳-۱۱-۱۰-۲- مزایای کشت هیدروپونیک ۵۹
۴-۱۱-۱۰-۲- محدودیت‌ها و معایب کشت هیدروپونیک ۶۰
۵-۱۱-۱۰-۲- ضرورت اهمیت PH و تنظیم آن در محیط هیدروپونیک ۶۰
۶-۱۱-۱۰-۲- ضرورت اهمیت EC در کشت هیدروپونیک ۶۱

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۱-۳- مکان و زمان اجرای طرح ۶۳
۲-۳- مواد ژنتیکی مورد استفاده ۶۳
۳-۳- مواد مورد استفاده برای تهیه محلول غذایی هوگلند ۶۳
۴-۳- سایر مواد مورد نیاز ۶۵
۵-۳- سیستم هیدروپونیک استفاده شده در این تحقیق ۶۵
۶-۳- اعمال تنش شوری ۶۵
۶-۳- پارامترهای اندازه‌گیری شده در آزمایش ۶۶
۱-۶-۳- تراکم کلروفیل ۶۶
۲-۶-۳- فلورسانس کلروفیل ۶۶
۳-۶-۳- پرولین ۶۶
۴-۶-۳- میزان قندهای محلول (WSC) ۶۷
۵-۶-۳- میزان رطوبت نسبی (RWC) ۶۸
۶-۶-۳- ضریب پایداری غشاء (CMS) ۶۸
۷-۶-۳- درصد جوانه‌زنی ۶۹
۸-۶-۳- صفات مورفولوژیک ۶۹
۷-۳- آنالیزهای آماری ۷۰

عنوان	فهرست مطالب	صفحه

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱- تجزیه واریانس صفات ۷۲

۴-۲- همبستگی بین صفات ۷۶

۴-۳- تجزیه خوشه‌ای ۷۷

۴-۳-۱- تجزیه خوشه‌ای برای شرایط نرمال ۷۸

۴-۳-۲- تجزیه خوشه‌ای برای شرایط تنش شوری ۷۹

۴-۴- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۷۹

۴-۴-۱- نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در شرایط نرمال (بدون تنش) ۸۰

۴-۴-۲- نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در شرایط تنش شوری ۸۱

۴-۵- تجزیه به عامل‌های صفات مورد بررسی ۸۲

۴-۵-۱- تجزیه به عامل‌های صفات مورد بررسی برای شرایط نرمال ۸۴

۴-۵-۲- تجزیه به عامل‌های صفات مورد بررسی برای شرایط تنش شوری ۸۵

۴-۶- تجزیه QTL ۸۶

۴-۶-۱- تجزیه QTL در شرایط نرمال ۸۷

۴-۶-۲- تجزیه QTL در شرایط تنش شوری ۸۹

۴-۶-۳- تعداد QTLهای پایدار ۹۲

۴-۷- بحث ۹۲

۴-۸- نتیجه‌گیری کلی ۹۵

۴-۹- پیشنهادات ۹۶

منابع ۹۹

عنوان	فهرست جداول	صفحه

جدول ۱-۲: مزایا و معایب چند نشانگر مهم مولکولی ۴۱

جدول ۱-۳: مواد تشکیل دهنده فرمول غذایی هوگلند ۶۴

جدول ۱-۴: تجزیه واریانس طرح بلوکهای کامل تصادفی برای شرایط نرمال ۱۱۸

ادامه جدول ۱-۴: تجزیه واریانس طرح بلوکهای کامل تصادفی برای شرایط نرمال ۱۱۹

جدول ۲-۴: تجزیه واریانس طرح بلوکهای کامل تصادفی برای شرایط تنش شوری ۱۲۰

ادامه جدول ۲-۴: تجزیه واریانس طرح بلوکهای کامل تصادفی برای شرایط تنش شوری ۱۲۱

جدول ۳-۴: تجزیه واریانس مرکب برای شرایط تنش شوری و بدون تنش ۱۲۲

ادامه جدول ۳-۴: تجزیه واریانس مرکب برای شرایط تنش شوری و بدون تنش ۱۲۳

جدول ۴-۴: آماره‌های آماری ساده برای صفات مورد بررسی مربوط به مقاومت به شوری در ۱۶۷ اینبردلاین نوترکیب و والدین آنها برای شرایط نرمال ۱۲۴

ادامه جدول ۴-۴: آماره‌های آماری ساده برای صفات مورد بررسی مربوط به مقاومت به شوری در ۱۶۷ اینبردلاین نوترکیب و والدین آنها (شرایط نرمال) ۱۲۵

جدول ۵-۴: آماره‌های آماری ساده برای صفات مورد بررسی مربوط به مقاومت به شوری در ۱۶۷ اینبردلاین نوترکیب و والدین آنها (شرایط تنش شوری) ۱۲۶

ادامه جدول ۵-۴: آماره‌های آماری ساده برای صفات مورد بررسی مربوط به مقاومت به شوری در ۱۶۷ اینبردلاین نوترکیب و والدین آنها (شرایط تنش شوری) ۱۲۷

جدول ۶-۴: ضریب همبستگی بین کلیه صفات ژنوتیپ‌های اینبردلاین‌های نوترکیب مورد مطالعه (شرایط نرمال)... ۱۲۸

ادامه جدول ۶-۴: ضریب همبستگی بین کلیه صفات ژنوتیپ‌های اینبردلاین‌های نوترکیب مورد مطالعه (شرایط نرمال) ۱۲۹

ادامه جدول ۶-۴: ضریب همبستگی بین کلیه صفات ژنوتیپ‌های اینبردلاین‌های نوترکیب مورد مطالعه (شرایط نرمال) ۱۳۰

جدول ۷-۴: ضریب همبستگی بین کلیه صفات ژنوتیپ‌های اینبردلاین‌های نوترکیب مورد مطالعه (شرایط تنش شوری) ۱۳۱

ادامه جدول ۷-۴: ضریب همبستگی بین کلیه صفات ژنوتیپ‌های اینبردلاین‌های نوترکیب مورد مطالعه (شرایط تنش شوری) ۱۳۲

ادامه جدول ۷-۴: ضریب همبستگی بین کلیه صفات ژنوتیپ‌های اینبردلاین‌های نوترکیب مورد مطالعه (شرایط تنش شوری) ۱۳۳

جدول ۸-۴: مقادیر ویژه و میزان واریانس حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌های اینبردلاین نوترکیب گندم و والدین آنها برای شرایط نرمال..... ۱۳۸

جدول ۹-۴: بردارهای ویژه برای پنج مؤلفه حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی صفات مورد بررسی ژنوتیپ-های اینبردلاین نوترکیب گندم و والدین آنها (شرایط نرمال)..... ۱۳۹

جدول ۱۰-۴: مقادیر ویژه و میزان واریانس حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی صفات اندازه‌گیری شده ژنوتیپ‌های اینبردلاین نوترکیب گندم و والدین آنها برای شرایط تنش شوری..... ۱۴۰

جدول ۱۱-۴: بردارهای ویژه برای هفت مؤلفه حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌های اینبردلاین نوترکیب گندم و والدین آنها (شرایط تنش شوری)..... ۱۴۱

جدول ۱۲-۴: همبستگی برای پنج مؤلفه اصلی حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی روی صفات مورد بررسی اینبردلاین‌های نوترکیب گندم و والدین آنها (شرایط نرمال)..... ۱۴۲

جدول ۱۳-۴: همبستگی برای هفت مؤلفه اصلی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی صفات مورد بررسی اینبردلاین‌های نوترکیب گندم و والدین آنها (شرایط تنش شوری)..... ۱۴۴

جدول ۱۴-۴: نتایج تجزیه عاملی برای صفات مختلف در ژنوتیپ‌های اینبردلاین‌های نوترکیب گندم به همراه والدین آنها (شرایط نرمال)..... ۱۴۶

جدول ۱۵-۴: نتایج تجزیه عاملی برای صفات مختلف در ژنوتیپ‌های اینبردلاین‌های نوترکیب گندم به همراه والدین آنها (شرایط تنش شوری)..... ۱۴۷

جدول ۱۶-۴: QTLهای شناسایی شده برای ۱۸ صفت مورد بررسی اینبردلاین‌های نوترکیب گندم (شرایط نرمال) ۱۴۸

ادامه جدول ۱۶-۴: QTLهای شناسایی شده برای ۱۸ صفت مورد بررسی اینبردلاین‌های نوترکیب گندم (شرایط نرمال)..... ۱۴۹

جدول ۱۷-۴: QTLهای شناسایی شده برای ۱۸ صفت مورد بررسی اینبردلاین‌های نوترکیب گندم (شرایط تنش شوری)..... ۱۵۰

ادامه جدول ۱۷-۴: QTLهای شناسایی شده برای ۱۸ صفت مورد بررسی اینبردلاین‌های نوترکیب گندم (شرایط تنش شوری)..... ۱۵۱

عنوان	فهرست شکل‌ها	صفحه

شکل ۱-۴: قسمتی از دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات کمی مربوط به شرایط نرمال.....۱۳۴

ادامه شکل ۱-۴: دندروگرام کلی حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات کمی مربوط به شرایط نرمال.....۱۳۵

شکل ۲-۴: قسمتی از دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات کمی مربوط به شرایط تنش شوری.....۱۳۶

ادامه شکل ۲-۴: دندروگرام کلی حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات کمی مربوط به شرایط تنش شوری.....۱۳۷

شکل۳-۴: دسته‌بندی خوشه‌ای‌ها بر مبنای مؤلفه‌های اول و دوم حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌های اینبردلاین نوترکیب گندم (شرایط نرمال).....۱۴۳

شکل ۴-۴: نمودار چگالی سه‌بعدی خوشه‌ای‌ها بر مبنای عامل‌های اول و دوم در تجزیه به عامل‌های اصلی (شرایط نرمال).....۱۴۳

شکل۵-۴: دسته‌بندی خوشه‌ای‌ها بر مبنای مؤلفه‌های اول و دوم حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌های اینبردلاین نوترکیب گندم (شرایط شوری).....۱۴۵

شکل ۶-۴: نمودار چگالی سه‌بعدی خوشه‌ای‌ها بر مبنای عامل‌های اول و دوم در تجزیه به عامل‌های اصلی (شرایط تنش شوری).....۱۴۵

شکل۷-۴: یکی از QTLهای شناسایی شده برای درصد جوانه‌زنی در شرایط نرمال.....۱۰۹

شکل۸-۴: یکی از QTLهای شناسایی شده برای درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش.....۱۰۹

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

با توجه به افزایش جمعیت جهان، نیاز به تولید مواد غذایی افزایش می‌یابد و بیشتر تولید غذا از محیط زیستی می‌باشد که ظرفیت آن برای کشت گیاه رو به کاهش می‌باشد که یکی از مهم‌ترین دلیل آن تنش‌های محیطی هستند. تنش‌های محیطی همیشه عامل کاهش کمیت و کیفیت محصولات زراعی بوده‌اند. گیاهان در طول حیات خود ممکن است با تنش‌های مختلفی از جمله شوری، دمای نامناسب، مواد شیمیایی و ... مواجه شوند که هریک به نوبه خود اثرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک متفاوت و متعددی بر روی گیاه می‌گذارند و این تغییرات در گونه‌های مختلف گیاهی و حتی واریته‌های مختلف یک گونه بسته به نوع تنش و اشکال مختلف یک تنش، متفاوت است و متقابلاً راهکارهای متفاوتی در ژنوتیپ‌های یک گونه برای تحمل و سازگاری گیاه به تنش موجود است (Quarri *et al*., 1996; Shinozaki *et al*., 1997).

شوری یکی از تنش‌های اصلی و شایع در جهان کنونی است که سبب کاهش تولیدات کشاورزی و نقصان رستنی‌های طبیعی در نواحی وسیعی از سطح زمین می‌شود. شوری نه تنها عملکرد، بلکه مراحل رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تأثیر منفی شوری از طریق افزایش املاح در محیط اطراف ریشه یا به عبارتی لایه‌های سطحی خاک‌های زراعی است که منشأ آن نوع سنگ‌های مادری تشکیل دهنده خاک، استفاده از آب‌های شور و مدیریت نامناسب زراعی است. شوری روز به روز در حال گسترش بوده و بخش اعظم خاک‌های زراعی مناطق خشک با این مشکل مواجه هستند و این حاکی از این مطلب است که امروزه شوری به عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی، رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Hopkins, 1999). تجمع زیاد نمک‌ها

باعث کاهش راندمان تولید گیاهان زراعی می‌شود که این مسئله پدیده‌ای جهانی می‌باشد (Abrol *et al*., 1988).

گیاهان در محیط شور با دو عامل اصلی مواجه هستند: ۱- املاح زیاد موجود در خاک، پتانسیل اسمزی خاک را پایین می‌آورد و باعث کاهش جذب و کمبود آب در گیاه می‌شود ، این امر موجب اختلال در تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول‌ها شده و تمام واکنش‌های متابولیکی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Marschner, 1986; Abdolzadeh *et al*., 1998). ۲- زیادی یون‌های سدیم و کلر موجب کاهش جذب یون‌های ضروری از جمله یون‌های پتاسیم، کلسیم، آمونیوم، و نیترات شده و نیز از فعالیت آنزیم‌ها کاسته و ساختار غشاها را بر هم می‌زند (Greenway and Munnus, 1980; Marschner, 1986).

همان طور که اشاره شد، شوری خاک‌ها تا حدود زیادی تحت تأثیر رطوبت و بارندگی مناطق قرار دارد، لذا تنگناهای خشکی نیز یکی از فاکتورهای محدود کننده عمده در تولید محصولات زراعی در جهان می‌باشد و به این ترتیب در مناطق خشک و نیمه خشک، مشکل خشکی و شوری به طور توأم مطرح می‌شوند. بر اساس برآورد انجام شده ۷ درصد از اراضی جهان شور و ۳ درصد بسیار شور است (پوستینی، ۱۳۷۴). کشور ایران به جز نوار باریکی از سواحل دریای خزر، کلاً در منطقه خشک و نیمه خشک واقع شده و بیش از نیمی از اراضی قابل کشت آن، با مشکل افزایش شوری مواجه هستند، از طرف دیگر با توجه به استفاده‌های بی‌رویه از منابع آبی شیرین و زیر زمینی، باید به این نکته نیز توجه داشت که مقدار آب‌های شیرین موجود نیز دارای محدودیت است، به طوری که احتیاج به تولید غذای بیشتر، بشر را وادار می‌کند تا در آینده‌ای نه چندان دور از خاک‌ها و آب‌های شور نیز برای کشاورزی و تولید غذای بیشتر استفاده کند. در هر حال کشت و زرع در اراضی شور و یا استفاده از آب‌های شور، نیازمند وجود گیاهان زراعی متحمل به تنش شوری است. که با بهره‌گیری از تنوع ژنتیکی گیاهان زراعی و مرتعی و با اصلاح و گزینش ژنوتیپ-

های سازگار و متحمل به شوری، می‌توان زراعت در این مناطق را توسعه داد. تنوع ژنتیکی مقاومت به شوری که در گیاهان موجود است، می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی با انتخاب مناسب صفات مورد استفاده قرار گیرد (Kingsbury *et al*., 1984). یکی دیگر از راههایی که می‌توان کشاورزی در زمین‌های شور و یا مناطقی که با بحران کمبود آب مواجه هستند را توسعه داد و تا حدودی نیازهای تغذیه‌ای افراد را فراهم کرد استفاده از سیستم هیدروپونیک برای کشت گیاهان می‌باشد. کشت هیدروپونیک شیوه کشت بدون خاک می‌باشد، در این نوع کشت متخصصان نیازهای غذایی گیاه را اندازه‌گیری کرده و به جای خاک با استفاده از آبی که به گیاه داده می‌شود با افزودن عناصر ماکرو و میکرو ، نیازهای تغذیه‌ای گیاه را فراهم ساخته و عملاً نیاز به خاک منتفی می‌شود. اساس سیستم هیدروپونیک آب است (ابراهیم‌زاده، ۱۳۷۳).

غلات یکی از مهم‌ترین منابع تولید مواد غذایی بشر است ودر حدود ۵۵ درصد از پروتئین‌ها، ۱۵ درصد از لیپیدها و ۷۰ درصد از گلوسیدها و به طور کلی حدود ۵۵-۵۰ درصد از کالری‌های مصرفی انسان از غلات تأمین می‌شود. در بین گیاهان متعلق به غلات، ۴ غله اصلی یعنی گندم، برنج، ذرت و جو در تأمین نیازهای انسان مهم‌تر هستند (نور محمدی و همکاران، ۱۳۷۷).

گندم گیاه زراعی است که در مناطق وسیعی از جهان سازگاری دارد و از نظر سطح زیر کشت و میزان تولید، مهمترین گیاه زراعی دنیا محسوب می‌شود. با توجه به نیاز روز افزون بشر برای تأمین نیازهای غذایی روزمره خود و با توجه به افزایش بی‌رویه جمعیت جهان، یافتن انواعی از ارقام گندم با دامنه تحمل بالا نسبت به شوری، راهی مناسب در جهت افزایش تولید این محصول اساسی در اراضی شور و یا محیط‌های شور می‌باشد. این مسائل نشان‌دهنده نقش و اهمیت استراتژیک گندم و تولید آن در دنیا و ایران است. با توجه به نیاز شدید مردم به این محصول و نیز با در نظر گرفتن اینکه کشور ما دارای آب و هوای خشک و نیمه‌خشک بوده و سطح وسیعی از اراضی ایران دارای خاک‌های شور می‌باشد و همچنین توجه به اهمیت این گیاه زراعی به عنوان یک محصول

استراتژیک، شناسایی و اصلاح ارقام گندم دارای تحمل تنش شوری، لازم و ضروری می باشد (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۱).

شواهد مهمی بیانگر این مطلب است که وقتی گیاه در معرض تنش شوری قرار می‌گیرد، بیان ژن‌ها تغییر می‌کند. در طول دهه اخیر تعدادی از ژن‌هایی که پاسخگوی شوری هستند جداسازی و شناسایی شده‌اند. این ژن‌ها بر اساس عملکردشان طبقه‌بندی شده‌اند. پیشرفت‌های اخیر در زمینه نقشه ژنتیکی گیاهان و تکنیک‌های مولکولی و بیولوژی، فرصت‌های تازه‌ای را برای درک ژنتیک ژن‌های متحمل به تنش و نحوه مشارکت آن‌ها در گیاهان تحت شرایط تنش، در اختیار ما قرار می‌دهد. بسیاری از صفات زراعی نظیر عملکرد، کیفیت و مقاومت به تنش‌های محیطی و از جمله تحمل به شوری، صفات کمی بوده و به وسیله چندین ژن کنترل می‌شود که هر یک از آنها در تظاهر فنوتیپ نهایی صفت، به صورت مثبت و منفی مؤثرند. تنوع فنوتیپی برای این گونه صفات، به وسیله تفاوت‌های کمی پیوسته در بین نتاج و توزیع ارزش‌های فنوتیپی صفت در جمعیت مورد مطالعه، مشخص می‌شود. علاوه بر تعداد زیاد ژن، تأثیر ژن‌های تغییر دهنده و عوامل محیطی بر روی بروز و در نتیجه توزیع صفات کمی، باعث کاهش وراثت‌پذیری آنها شده و کار با این گونه صفات را مشکل می‌کنند. به دلیل پیچیدگی‌های فوق، ژنتیک‌دانان و به نژادگران گیاهی، اطلاعات اندکی در تعداد ژن‌ها، جایگاه کروموزومی آنها و سهم نسبی شرکت هریک از ژن‌ها در تظاهر و توزیع فنوتیپی یک صفت کمی دارند، اما اگر بتوان این مدل پیچیده ژنتیکی را به اجزای ژنی منفرد تجزیه نمود، در این صورت صفات کمی نیز با کارایی صفات تک ژنی مطالعه خواهند شد (Paterson, 1998)

معمولاً دو روش جهت افزایش تحمل تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد: روش اول استفاده از تنوع ژنتیکی از طریق انتخاب مستقیم ژنوتیپ‌ها در محیط‌های تحت تنش یا به کارگیری نقشه-های QTL می‌باشد و روش دیگر تولید گیاهان تراریخته حامل ژن‌های جدید و یا افزایش سطح

بیان ژن‌هایی که درجه تحمل شوری را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Yamaguchi and Blumwald, 2005). به همین منظور، درک پایه‌های مولکولی جهت توسعه استراتژی‌هایی که باعث بهبود تحمل شوری می‌شوند، مفید به نظر می‌رسد.

QTL در واقع پلی است که رابطه بین تنوع پیوسته فنوتیپی و مکانیزم‌های توارثی حاصل از تنوع ژنتیکی مکان‌های ژنی منفرد را، برقرار می‌سازد و شناسایی QTL، امکان گزینش به کمک نشانگر MAS[1] را فراهم می‌آورد (Phillinpa, 1998).

وقتی نشانگرهایی با QTL پیوسته باشند، انتخاب به کمک نشانگرها، انتخاب بر اساس ژنوتیپ خواهد بود و پاسخ به گزینش به حداکثر خود خواهد رسید. گزینش به کمک نشانگر یک روش گزینش غیر مستقیم بوده و متکی بر نشانگرهایی غیر از ژن مورد نظر است. گزینش به کمک نشانگر، به جای گزینش فنوتیپی، بر پایه گزینش ژنوتیپ نشانگر پیوسته با ژن مؤثر بر فنوتیپ مورد نظر، استوار است. ارزیابی صفات در مرحله گیاهچه، سرعت بیشتر نسبت به ارزیابی فنوتیپی، امکان انتخاب همزمان صفات متعدد با یک نمونه DNA، شناسایی ژن‌های فرعی در حضور ژن‌های اصلی و تشخیص ژن‌های مطلوب و نامطلوب از دیگر مزایای گزینش به کمک نشانگر است (Dudley, 1997). با توجه به اهمیت تعیین مکان و اثر ژن‌های کنترل کننده صفات، به خصوص صفات کمی و نیاز به‌نژادگران و محققین به این امر، تحقیقات وسیعی در این زمینه صورت گرفته است. در تجزیه صفات مرتبط با کمیت و کیفیت گیاه جو برای صفات مربوط، ۳۳ QTL شناسایی گردید (سیاه سر و همکاران، ۱۳۸۸). پژوهش گسترده‌ای برای شناسایی QTLهای مربوط به صفات مورفولوژیک، مقاومت به بیماری‌ها و آفات، عملکرد و کیفیت در جمعیت ITMI انجام گرفت، در این تحقیق ۲۱۰ QTL تشخیص داده شد که به ترتیب ۲۱، ۶ و ۱۰ مکان ژنی مربوط به صفات ارتفاع، طول پدانکل و طول خوشه بود (Borner *et al*., 2002).

بدین جهت در بررسی‌های انجام شده در این تحقیق، فرضیات و اهداف زیر مد نظر بوده است.

1- Marker Assisted Selection

۲-۱- فرضیات:

برای کنترل صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک در شرایط تنش شوری، QTL وجود دارد.

برای کنترل صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک، اثر متقابل QTL در محیط معنی دار است.

۳-۱- اهداف:

بررسی ارتباط QTLهای صفات مختلف با یکدیگر.

نقشه یابی QTLهای صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گندم، تحت شرایط تنش شوری.

شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک مرتبط با تنش شوری در گندم جهت استفاده در گزینش به کمک نشانگر.

فصل دوم

بررسی منابع