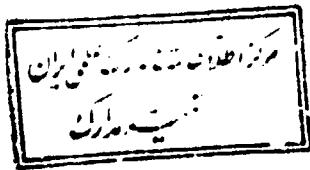


لهم إني أسألك
الثبات في الدار

٢٤١.٣



۱۳۷۸ / ۱۰ / ۲۰



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده کشاورزی

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.Sc.)
در رشته اصلاح نباتات - مهندسی کشاورزی

موضوع

مطالعه ژنتیکی آنдрوروژن (کشت پرچم) در
گندم هگزاپلوئید (*Triticum aestivum* L.)

علی اکبر عبادی

۴۱۲۵

استاد راهنمای

دکتر احمد معینی

اساتید مشاور

دکتر رضا بزرگی پور

دکتر محمود خسروشاهی

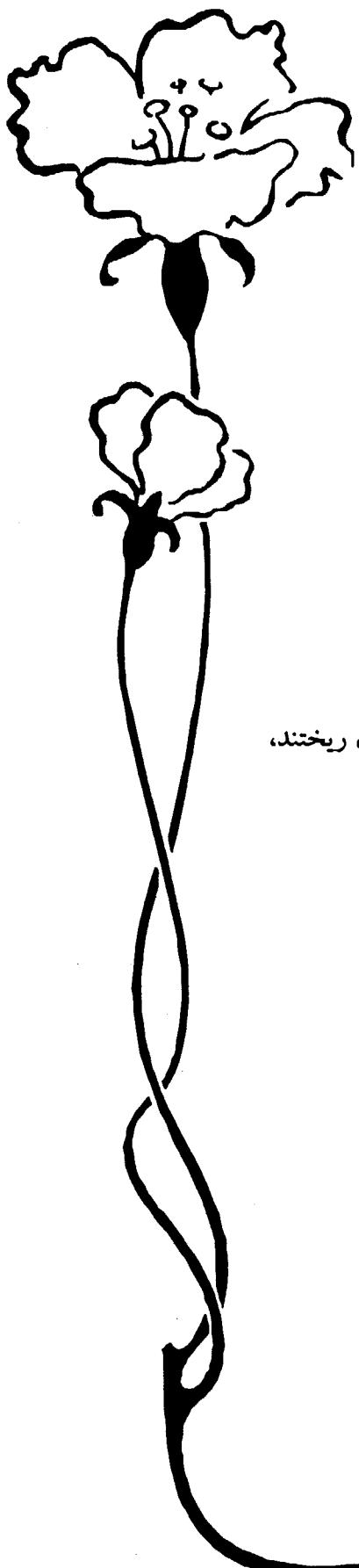
مهر ۱۳۷۸

۲۷۱۰۳

تاییدیه هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیأت داوران نسخه نهایی پایان نامه آقای علی اکبر عبادی کته تلغی
تحت عنوان "مطالعه ژنتیکی آندروزنز (کشت بساک) در گندم هگزاپلولنید
(*Triticum aestivum L.*)" را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آنرا
برای درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنند

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنمای	دکتر احمد معینی	استادیار	الله
۲- استاد مشاور	دکتر رضا بزرگی پور	استادیار	۷۸،۸۱۸
۳- مدیر گروه	دکتر احمد معینی	استادیار	الله
۴- استاد ممتحن	دکتر محمود خسروشاهی	دانشیار	۷۸،۸۱۸
۵- استاد ممتحن	مهندس حمید دهقان	مربي	۷۸،۸۱۸
۶- نماینده شورای تحصیلات تكميلي	دکتر احمد معینی	استادیار	الله



اگر قابل تقدیم باشد،

تقدیم به :

* پویندگان راه علم و معرفت،

* پدر و مادر فداکارم؛

که گوهر جوانی و عمر خویش را به پای فرزندانشان ریختند،
رضایتشان، همه آرزویم است.

* برادران گرامیم؛

که همیشه یاور و دلسویم بوده‌اند.

* خواهران عزیزم؛

که همه عمر و امداد مهربانی و محبت آنانم.

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، میبن بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند :

ماده ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود ، مراتب را قبلاً به طور کبی به "مرکز نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند :

"کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته اصلاح نباتات است که در سال ۱۳۷۸ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر احمد معینی و مشاوره جناب آقای دکتر رضا بزرگی پور از آن دفاع شده است".

ماده ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرینه دهد.

ماده ۴ در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأثیه کند.

ماده ۵ دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه ، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقيف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ اینجانب علی اکبر عبادی دانشجوی رشته اصلاح نباتات مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده ، به آن ملتزم می شو姆.

امضاء :

تاریخ : ۱۳۷۸/۸/۱۰

کلیه حقوق اعم از چاپ ، تکثیر ، نسخه برداری ، ترجمه ، اقتباس و ... از پایاننامه

کارشناسی ارشد ، برای دانشگاه تربیت مدرس محفوظ است. نقل مطالب با ذکر

مأخذ بلامانع است .

گیرم که شکر حق فزون گوییم

شکر توفیق شکر چون گوییم؟

* * *

کجا فکر و کجا گنجینه راز؟

اگر لطف تو نبود پرتو انداز

صفای قطره قطره اشک عارفان، ترسم دلنواز همه آبشاران و خنکای فرح بخش نسیم
سحرگاهان، ارزانی انسانهایی باد که تعالی روح و اندیشه بشری، حاصل دسترنج هزاران
ساله آنهاست.

اکنون که در سایه الطاف بیکران الهی این تحقیق پایان پذیرفت، وظيفة خود می‌دانم
از عزیزانی که مرا در این خصوص پاری کرده‌اند سپاسگزاری نمایم.

— از استاد معزز جناب آقای دکتر معینی که زحمت راهنمایی این پایان نامه بر عهده
ایشان بود و در این راه از هیچ کوشش و کمکی دریغ نکردند کمال تشکر را دارم.

— از استاد گرانقدر جناب آقای دکتر بزرگی پور ریاست محترم وقت پژوهشکده
بیوتکنولوژی که مشاوره پایان نامه را تقبل فرموده و تمامی امکانات لازم جهت اجرای
پایان نامه را فراهم نمودند کمال تشکر را دارم. همچنین از استاد بزرگوار جناب آقای
دکتر خسروشاهی جهت مشاوره و راهنمایی در تصحیح پایان نامه کمال تشکر را دارم.

— از کلیه اعضاء هیئت علمی، کارکنان و تکنسین‌های پژوهشکده بیوتکنولوژی
 مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج بویژه آقایان مهندس بختیار، مهندس عنایتی
 شریعت پناهی، رستمی و خانمها مهندس خوشکام، طلایی و بیات صمیمانه سپاسگزارم.

از دوست عزیزم آقای مهندس دانیال کهریزی که همواره در طی اجرای پایان نامه
 یاریگر اینجانب بوده و سایر دوستان خصوصاً آقایان مهندس خدارحمی، عابدینی،
 زیرجدی، بساطی، آزادی، حبیبی و محمدیان بخاطر مهربانی و الطافشان کمال تشکر و
 امتنان را دارم.

اختصارات (Abbreviations)

2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
ABA	Abscisic acid
ACC	1-aminocyclopropane-1-carboxilic acid
AOA	Aminoxyacetic acid
AVG	Aminoethoxyvinyl glycine
BAP	6-Benzyl aminopourine
DH	Doubled haploid
DMSO	Dimethyl sulfoxide
EDTA	Ethyl diamine tetra acetate
GA	Gibberellic acid
IAA	Indoleacetic acid
LS	Linsmaier & Skoog
$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Micromole per square meter and second
MS	Murashige & Skoog
NAA	Naphthalene acetic acid
PEA	β- phenylethyl amine
PEG	Pholyethylen glycol

چکیده

در این آزمایش پاسخ به کشت پرچم ۲۰ ژنوتیپ گندم هگزاپلوبتید (*Triticum aestivum* L.)

بهاره ایرانی مورد مطالعه قرار گرفته است. گیاهان بخششده در یک طرح بلوکهای کامل تصادفی با ۳ تکرار، داخل گلخانه کنترل شده با فتوپریود ۱۶/۸ (تاریکی / نور) و درجه حرارت ۲۵/۱۵ °C (شب / روز) کشت شدند. هر تکرار شامل یک گلدان با ۳ گیاه بود. پرچم‌های گیاهان بخششده بر روی محیط کشت مایع CHB حاوی ۹۰ g/l مالتوز، ۰/۵ mg/l هورمون ۲,۴-D و ۰/۵ mg/l هورمون کینتین کشت شدند.

تمام ژنوتیپ‌های مورد بررسی تولیدجنبین و گیاه سبز نمودند. آنالیز واریانس نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپها در تمامی صفات مورد مطالعه (جنین تولید شده به ازای ۱۰۰ پرچم، باززایی کل (گیاه سبز + آلبینوز)، گیاه سبز و آلبینوز باززایی شده به ازای ۱۰۰ پرچم) وجود دارد. گندم مغان (۱) بالاترین درصد مربوط به صفات باززایی کل و گیاه سبز را دارا بود (۷۱/۲۹٪ و ۴۶/۱۶٪ بترتیب) و کمترین درصد مربوط به ژنوتیپ ۱۳-M-75 (۸۵/۰٪ و ۸۵/۰٪) بود. رقم اترک بیشترین درصد تولید جنین (۶/۱۱٪) و ارقام پاستور و البرز کمترین درصد جنین زایی (۸/۱۱٪ و ۱/۱۱٪ بترتیب) را داشتند. ارقام اترک و رسول، همچنین بیشترین تعداد گیاه آلبینوز را تولید کردند. این آزمایش همچنین وابستگی شدید ژنتیکی صفات آندروژنیک و مستقل بودن این صفات را از یکدیگر مورد تأیید قرار داده است.

کلید واژه‌ها: گندم، کشت پرچم، آند روژنر، هاپلوبتید، دابلد هاپلوبتید

فهرست مطالب و عنوانین پایان نامه

صفحه

عنوان

فصل اول

۱ ۱- مقدمه

فصل دوم

۲ ۲- بررسی منابع

۳ ۲-۱- تاریخچه

۴ ۲-۲- روش‌های تولید گیاهان هاپلوبیتید

۴ ۲-۲-۱- روش خودبخودی

۴ ۲-۲-۱-۱- پارتنتوژنر (Apogamy) و آپوگامی (parthenogenesis)

۵ ۲-۲-۱-۲-۲- سمی‌گامی (Semigamy)

۵ ۲-۲-۲- تولید گیاهان هاپلوبیتید با روش‌های مصنوعی

۵ ۲-۲-۱-۱- حذف کروموزومی (Chromosome elimination)

۷ ۲-۲-۲- ژینوژنیز (Gynogenesis)

۸ ۲-۲-۳- آندروژنیز (Androgenesis) یا نرزایی

۹ ۲-۳-۲- ۲- کشت پرچم (Anther culture)

۱۰ ۱-۳-۲- ۱- کشت میکروسپور ایزوله (Isolated Microspore culture)

۱۲ ۳-۲- اهمیت گیاهان هاپلوبیتید

۱۳ ۱-۳-۲- سرعت بخشیدن به برنامه‌های اصلاحی

۱۴ ۲-۳-۲- افزایش کارآیی انتخاب

۱۷ ۴-۲- مقایسه روش دابلد هاپلوبیتیدی با سایر روش‌های اصلاحی

الف

۲۰	۲-۵-۲- عوامل موثر بر کشت پرچم
۲۰	۲-۱-۵-۲- فاکتور ژنتیکی
۲۸	۲-۵-۲- فاکتورهای محیطی
۲۸	۲-۱-۲-۵-۲- شرایط رشد گیاه بخشنده
۳۱	۲-۲-۵-۲- مرحله نمو دانه گرده
۳۲	۲-۳-۲-۵-۲- پیش تیمار
۳۴	۲-۴-۲-۵-۲- شرایط کشت
۳۵	۲-۱-۴-۲-۵-۲- درجه حرارت
۳۶	۲-۲-۴-۲-۵-۲- نور
۳۷	۲-۳-۴-۲-۵-۲- شرایط اتمسفری و گازهای محیطی
۳۸	۲-۴-۴-۲-۵-۲- تراکم پرچمهای کشت شده
۴۰	۲-۵-۴-۲-۵-۲- PH محیط
۴۰	۲-۵-۲- فاکتورهای شیمیایی
۴۱	۲-۱-۵-۲- منبع کربوهیدراتها
۴۴	۲-۲-۵-۲- منبع نیتروژن، ویتامینها و اسیدهای آمینه
۴۵	۲-۳-۵-۲- تنظیم کننده‌های رشد
۴۷	۲-۴-۵-۲- مواد ژلاتینی و محیط مایع
۴۹	۲-۵-۵-۲- تهیه محیط کشت
۴۹	۲-۶-۵-۲- بازایی گیاهان
۵۰	۲-۷-۵-۲- دوباره کردن کروموزومها
۵۴	۲-۶- کاربرد کشت پرچم و گیاهان هاپلوفید
۵۴	۲-۱-۶- استفاده در برنامه‌های اصلاحی
۵۶	۲-۲-۶- انتخاب این ویترو و تنوع گامتولکلونال
۵۷	۲-۳-۶- ایجاد ذخیره‌های ژنتیکی
۵۷	۲-۴-۶- تهیه نقشه ژنتیکی
۵۸	۲-۵-۶- کاربردهای دیگر کشت پرچم و گیاهان هاپلوفید

فصل سوم

۳- مواد و روشها	۵۹
۱-۱- مواد گیاهی	۵۹
۲- کشت	۶۲
۳-۳- تعیین مرحله مناسب برداشت سنبله ها	۶۲
۴-۳- پیش تیمار سرمایی	۶۴
۵-۳- تهیه محیط کشت القاء جنین	۶۵
۶-۳- استریل کردن ظروف، لوازم آزمایشگاهی، لامینار ایرفلو و سنبله ها	۶۶
۷-۳- کشت پرچم ها	۶۷
۸-۳- تهیه محیط باززایی	۶۷
۹-۳- انتقال جنین ها به محیط باززایی	۶۸
۱۰-۳- انتقال گیاهچه های سبز به لوله آزمایش	۶۹
۱۱-۳- انتقال گیاهچه های سبز از لوله آزمایش به گلدانهای کوچک	۶۹
۱۲-۳- تعیین سطح پلوئیدی از طریق بررسی سیتولوژیک مریستم انتهای ریشه	۷۱
۱۳-۳- تیمار کلشیسین جهت دوبل کردن کروموزوم گیاهان هاپلوبloid	۷۶
۱۴-۳- بذرگیری از گیاهان دوبل شده	۷۷
۱۵-۳- تجزیه و تحلیل داده ها	۷۷

فصل چهارم

۴- نتایج و بحث	۷۹
۱-۱- درصد تشکیل جنین	۷۹
۲-۲- درصد تولید گیاه سبز	۸۱
۳-۳- درصد تولید گیاه آلبینوز	۸۴
۴-۴- نسبت گیاه سبز به آلبینوز	۸۶

۸۸	- درصد بازیابی کل	۵-۴
۹۰	- تجزیه خوش‌ای (CLUSTER ANALYSIS) ارقام بر اساس ۴ صفت اندازه گیری شده	۶-۴
۹۳	- درصد دابلد هاپلوئیدی خودبخودی و تیمار با کلشی سین	۸-۴
۹۴	- نتیجه گیری	۹-۴
۹۶	- پیشنهادات	۱۰-۴
۹۷	منابع مورد استفاده	
۱۱۰	ضمائیم	
۱۱۶	جدول محیطهای کشت	
۱۱۷	فرهنگ اصطلاحات	



۱- مقدمه

گندم گیاهی یکساله از خانواده غلات (Poaceae) و از جنس تریتیکم (*Triticum*) است، که دارای گونه های اهلی و وحشی زیادی میباشد. گندم اهمیت زیادی در تأمین غذای مردم و تحکیم زیر بنای اقتصادی یک کشور دارد، بطوریکه حدود ۱۹/۶٪ منبع غذایی مردم جهان را تشکیل می‌دهد. در ایران بیش از ۶۴٪ کالری غذای مصرفی را غلات مخصوصاً گندم تأمین میکند (کریمی، ۱۳۷۱).

گندم علاوه بر ارزش غذایی بسیار زیاد، با داشتن ویژگی هایی از قبیل متناسب بودن با دستگاه گوارشی انسان، عملکرد زیاد، طول عمر نگهداری بالا، مقاومت در برابر بیماریها و آفات، تنوع و مرغوبیت فرآورده های آن، سهولت تبدیل و نگهداری، داشتن مواد زائد غیر مضر و کیفیت انباری خوب آن، دارای امتیاز ویژه ای در بین غلات می باشد.

بر اساس آخرین آمار گیری سطح زیر کشت گندم در ایران ۶۲۹۹ هزار هکتار بوده است که ۲/۸٪ از کل اراضی زیر کشت گندم جهان را شامل می شود. اراضی زیر کشت گندم در مجموع نیمی از اراضی زراعی کشور را شامل می شود، از مجموع زمین های زیر کشت جهان در سال ۱۹۹۷، ۱۶٪ آن به کشت گندم اختصاص داشته است (غلات در آئینه آمار ۱۳۷۶).