



دانشکده علوم کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات
(گرایش اصلاح نباتات)

ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی گونه‌های وحشی گندم (آزیلوپس) با استفاده از نشانگرهای

رتروترانسپوزونی

از

سمیرا صفی‌یار

استاد راهنما

دکتر علی اعلمی

استادان مشاور

دکتر بابک عبداللهی مندولکانی

دکتر بابک ربیعی

تقدیم به تمام کسانی که از ابتدای عمرم تا کنون به نحوی در تعالی روحی و علمی من نقش داشتند

تقدیم به بهترین های زندگی ام

پدر و مادرم

آنان که امروز من، آرزوی دیروزشان بود

و استاد راهنمای ارجمند و عزیزم

جناب آقای دکتر علی اعلی

به نام ایزد یکتا

سپاس خدا را که همواره چو نمان کوهی پشت سرم ایستاد و با حرکاتی که برداشتم چراغی پیش روی پایم روشن نمود و به من آموخت که علمی که انسان را به انسانیت نزدیک ن سازد ظلمات مطلق است و بس و در مقام بعد شکر می کنم از تمام کسانی که به من کمک نمودند که من این باشم که منم.

بوسه می زخم دستان پدرم را که وجودش به من امید زندگانی می دهد. شکرات فراوانم را نثار استاد راهنمای عزیزم دکتر علی اعلی می کنم که استاد علم و ادب برایم بودند و در طول این راه با کمک

های بی دریغشان سختی های راهم [آ]ان نمودند. [ب]انید مشاورم آقای دکتر بابک عبدالمی که راهنمایانیشان قطار احکامی من بود و دکتر بابک ربیعی که علی رغم مشغله شان مشاوره ای جانب را

عمده دار بودند قدر دانی می کنم. از سرکار خانم دکتر عاطفه صبوری و جناب آقای دکتر حبیب الله سمیع زاده که زحمت بازخوانی این پایان نامه را عمده دار بودند شکر می کنم. از جناب آقای

[ج]الارحالی که زحمت اداره جلسه دفاع را عمده دار بودند سپاسگزارم. از تمام [د]انید و بزرگانی که در طول دوره تحصیل از محضرشان بهره برده ام بی نهایت سپاسگزارم.

در پایان از دوستانی فراموش نشدنی که نشان دادند دوستی تا چه اندازه ای می تواند باشد و در کنارشان غربت برایم رنگ می باخت خانم هارقیه حبیبی، مریم عالم، محبوبه رحمانی و دوست عزیز، مهربان

و خوش قلم خانم [ه]ارخوشدل بنیاد سپاسگزارم و از خداوند منان خوشبختی شان را آرزو مندم و از هم کلاسی های عزیزم خانم [و]لاست و آقایان محبتی کردتسی و محمد محسن زاده که در طول

اجرای پایان نامه قطعاً حضورشان دلگرمی ام بود شکر و از خداوند متعال بیشرف و لامتی شان را خواستارم.

با آرزوی [ز]لامتی و توفیق

سمیرا صنیعی

شهریور ۹۰

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده فارسی.....	ذ.....
چکیده انگلیسی.....	ر.....
مقدمه.....	۲.....

فصل اول: کلیات و مرور منابع

۱-۱- خصوصیات گیاه‌شناسی گندم.....	۵.....
۲-۱- گونه‌های آزیلوپس.....	۶.....
۳-۱- ضرورت مطالعات تنوع ژنتیکی.....	۹.....
۴-۱- نقش نشانگرهای مولکولی در مطالعات تنوع ژنتیکی.....	۱۰.....
۱-۴-۱- نقش عناصر جابه‌جا شونده در ژنوم.....	۱۲.....
۲-۴-۱- تفاوت طول (چند شکلی) قطعات تکثیر شده توالیهای اختصاصی (SSAP).....	۱۴.....
۳-۴-۱- چند شکلی القا (درج) مبتنی بر رتروترانسپوزون (RBIP).....	۱۵.....
۴-۴-۱- چند شکلی (تفاوت طولی) قطعات تکثیر شده بین رتروترانسپوزونی (IRAP).....	۱۶.....
۵-۴-۱- تفاوت طولی قطعات تکثیر شده ریزماهوره- رتروترانسپوزونی (REMAP).....	۱۷.....
۶-۴-۱- نقش رتروترانسپوزون‌ها در مطالعات تنوع ژنتیکی.....	۱۷.....
۵-۱- مروری بر مطالعات انجام شده.....	۱۸.....
۶-۱- امتیازدهی به باندها.....	۲۳.....
۷-۱- تجزیه‌های آماری.....	۲۳.....
۱-۷-۱- محاسبه تشابه و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها.....	۲۳.....
۲-۷-۱- مراحل انجام تجزیه خوشه‌ای.....	۲۳.....
۳-۷-۱- روش‌های گروه بندی داده‌ها.....	۲۴.....
۴-۷-۱- ضریب همبستگی کوفتیک.....	۲۵.....
۵-۷-۱- تجزیه تابع تشخیص.....	۲۵.....
۶-۷-۱- تجزیه به مختصات اصلی.....	۲۶.....
۷-۷-۱- ارزیابی سودمندی نشانگر.....	۲۷.....

۲۷	۱-۷-۷-۱- میزان هتروزیگوسیتی (H)
۲۷	۲-۷-۷-۱- محتوای اطلاعاتی چندشکلی (PIC)
۲۸	۳-۷-۷-۱- تعداد آلل‌های مؤثر
۲۸	۴-۷-۷-۱- محاسبه درصد جایگاه‌های چندشکل در هر آغازگر
۲۸	۵-۷-۷-۱- شاخص شانون

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۳۱	۱-۲- مواد گیاهی
۳۱	۲-۲- تهیه نمونه‌های برگي
۳۳	۳-۲- استخراج DNA
۳۳	۱-۳-۲- طرز تهیه محلول‌های لازم
۳۳	۲-۱-۳-۲- محلول بافر CTAB
۳۳	۲-۱-۳-۲- محلول استات آمونیوم / الکل
۳۳	۳-۱-۳-۲- محلول کلروفرم / ایزوآمیل الکل
۳۴	۲-۳-۲- مراحل استخراج DNA
۳۵	۴-۲- بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده
۳۵	۵-۲- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
۳۶	۱-۵-۲- آغازگرهای مورد استفاده
۳۷	۲-۵-۲- نشانگرهای IRAP
۳۸	۳-۵-۲- نشانگرهای REMAP
۳۹	۴-۵-۲- نشانگرهای ISSR
۳۹	۵-۵-۲- چرخه حرارتی PCR
۳۹	۶-۲- الکتروفورز
۴۰	۱-۶-۲- بافرها و محلول‌های مورد نیاز
۴۰	۲-۶-۲- بافر بارگیری با نام تجاری دای
۴۰	۳-۶-۲- بافر TAE 10X
۴۰	۴-۶-۲- محلول اتیدیوم بروماید
۴۰	۵-۶-۲- تهیه ژل آگارز ۱/۵٪

۶-۶-۲- بارگذاری و الکتروفورز نمونه‌ها ۴۱

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- نتایج حاصل از استخراج DNA ژنومی ۴۳

۳-۲- تعداد نوارهای تولید شده توسط آغازگرهای REMAP ۴۴

۳-۳- تعداد نوارهای تولید شده توسط آغازگرهای IRAP ۴۹

۳-۴- تعداد نوارهای تولید شده توسط آغازگرهای ISSR ۵۲

۳-۵-۱- ساختار ژنتیکی جمعیت مورد مطالعه ۵۴

۳-۵-۲- محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) ۵۴

۳-۵-۳- تنوع ژنی نی ۵۷

۳-۵-۴- شاخص شانون ۵۸

۳-۵-۵- هتروزیگوسیتی ۵۸

۳-۵-۶- فاصله ژنتیکی ۵۹

۳-۵-۷- نتایج محاسبه فاصله و تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه ۵۹

۳-۶-۱- تجزیه خوشه‌ای ۶۱

۳-۶-۲- تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگر IRAP ۶۱

۳-۶-۳- تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگر REMAP ۶۲

۳-۶-۴- تجزیه خوشه‌ای نمونه‌ها بر اساس کل داده‌های نشانگرهای IRAP، REMAP و ISSR ۶۴

۳-۷- محاسبه ضریب همبستگی کوفاکت ۶۷

۳-۸- تجزیه تابع تشخیص ۶۷

۳-۹- گروه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) ۶۹

۳-۱۰- نتیجه‌گیری ۷۱

پیشنهادها ۷۳

منابع ۷۵

فهرست شکل‌ها

- شکل ۱-۱- تصویر گیاه *Ae. tauschii* که به صورت علف هرز در طبیعت شمال ایران می‌روید..... ۹
- شکل ۱-۲- تصویری از بذور گیاه *Ae. tauschii* که درون یک پوسته ضخیم قرار دارد..... ۹
- شکل ۱-۳- شمای روش SSAP مراحل اولیه تا PCR نهایی همانند AFLP انجام می‌شود و در مرحله آخر تکثیر با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی و آداپتورهای آنزیم‌های برشی انجام می‌گیرد..... ۱۵
- شکل ۱-۴- شمای روش IRAP، تکثیر در نواحی بین دو توالی یک LTR در ژنوم یا دو توالی LTR از یک خانواده یا خانواده‌های مختلف..... ۱۶
- شکل ۱-۵- شمای روش REMAP، تکثیر در نواحی بین یک توالی LTR و یک موتیف SSR در ژنوم صورت می‌گیرد..... ۱۷
- شکل ۱-۳- الکتروفورز DNA ژنومی نمونه‌های گندم روی ژل آگارز..... ۴۳
- شکل ۲-۳- الگوی نواریندی نمونه‌های آزیلوپس با استفاده از نشانگرهای REMAP. تصویر بالا: ترکیب نشانگری BAR1+ISSR440 و تصویر پائین: ترکیب نشانگری (L- نشانگر اندازه ۱۰۰ bp)..... ۴۸
- شکل ۳-۳- الگوی نواریندی حاصل از تکثیر DNA ژنومی نمونه‌های آزیلوپس و گندم با استفاده از نشانگرهای IRAP (a نشانگر Sukkula مربوط به ژنوتیپهای گندم دوروم. b) ترکیب آغازگری Sukkula+ BAR1 (۱ تا ۱۱ آزیلوپس). c) ترکیب آغازگری Sukkula+LTR1061 (۱ تا ۱۰ آزیلوپس)..... ۵۲
- شکل ۳-۴- الگوی نواریندی حاصل از تکثیر DNA ژنومی به وسیله ترکیب نشانگری ISSR425 برای ۹ ژنوتیپ آزیلوپس (شکل بالا) و ترکیب ISSR425+ISSR440 برای ۱۱ ژنوتیپ آزیلوپس (شکل پائین)..... ۵۴
- شکل ۳-۵- دندروگرام بدست آمده برای ۵۰ نمونه آزیلوپس، گندم نان و گندم دوروم با استفاده از ضریب تشابه دایس و روش UPGMA بر اساس داده‌های IRAP..... ۶۲
- شکل ۳-۶- دندروگرام بدست آمده برای ۵۰ نمونه آزیلوپس، گندم نان و گندم دوروم با استفاده از ضریب تشابه دایس و روش UPGMA بر اساس داده‌های REMAP..... ۶۴
- شکل ۳-۷- دندروگرام بدست آمده برای ۵۰ نمونه آزیلوپس، گندم نان و گندم دوروم با استفاده از ضریب تشابه دایس و روش UPGMA بر اساس داده‌های IRAP، REMAP و ISSR..... ۶۵
- شکل ۳-۸- گروه‌بندی ارقام بر اساس تابع تشخیص..... ۶۸
- شکل ۳-۹- پراکنش دو بعدی نمونه‌های آزیلوپس، گندم نان و گندم دوروم بر اساس دو مولفه اصلی اول..... ۷۰

فهرست جدول‌ها

- جدول ۱-۱ نمونه‌هایی از ژن‌های انتقال یافته از گونه‌های آزیلوپس به گندم. ۷
- جدول ۱-۲: نمونه‌های آزیلوپس، گندم نان و گندم دوروم و مراکز جمع آوری آنها. ۳۲
- جدول ۲-۲- مواد مورد استفاده در واکنش PCR به همراه غلظت پایه و غلظت نهایی در واکنش به حجم 10μ ۳۶
- جدول ۲-۳- نام و توالی آغازگرهای رتروترانسپوزونی مورد استفاده در این تحقیق. ۳۷
- جدول ۲-۴- بهترین دماهای اتصال نشانگرهای IRAP به دست آمده در این تحقیق. ۳۷
- جدول ۲-۵- بهترین دماهای اتصال نشانگرهای REMAP به دست آمده در این تحقیق. ۳۸
- جدول ۲-۶- برنامه حرارتی برای انجام واکنش PCR. ۳۹
- جدول ۳-۱- میزان چندشکلی نشانگری‌های مورد مطالعه. ۴۶
- ادامه جدول ۳-۱- میزان چند شکلی نشانگرهای مورد مطالعه. ۴۷
- جدول ۳-۲- بیشترین و کمترین تعداد باند تکثیر شده در نمونه‌های مورد مطالعه با استفاده از ترکیب نشانگری‌های REMAP. ۴۸
- جدول ۳-۳- بیشترین و کمترین تعداد باند تکثیر شده در نمونه‌های مورد مطالعه با استفاده از ترکیب نشانگری‌های IRAP. ۵۰
- جدول ۳-۴- بیشترین و کمترین تعداد باند تکثیر شده در نمونه‌های مورد مطالعه با استفاده از ترکیب نشانگری‌های ISSR. ۵۳
- جدول ۳-۵- محتوای اطلاعات چندشکل (PIC)، متوسط تعداد آلل مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، تنوع ژنی Nei، شاخص اطلاعاتی شانون برای نشانگرها. ۵۵
- جدول ۳-۶- متوسط تعداد آلل مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، تنوع ژنی Nei، شاخص اطلاعاتی شانون برای کل جمعیت‌ها. ۵۷
- جدول ۳-۷- تشابه و فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها بر اساس شاخص Nei با احتساب اریبی. ۶۰
- جدول ۳-۹- توابع تشخیص کانونی حاصل از تجزیه تشخیص خطی فیشر بر اساس گروه‌بندی اولیه حاصل از تجزیه خوشه ای. ۶۷
- جدول ۳-۱۰- نسبت موفقیت افراد درون گروه‌ها با تابع تشخیص. ۶۸
- جدول ۳-۸- تشابه و فاصله ژنتیکی جمعیت‌های آزیلوپس هر استان و گندم نان بر اساس شاخص Nei با احتساب اریبی. ۶۰
- جدول ۳-۱۱- مقادیر ویژه، درصد واریانس هر مولفه و درصد واریانس تجمعی مولفه‌های حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی. ۷۱

چکیده

ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی گونه‌های وحشی گندم (آژیلوپس) با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی

سمیرا صفی‌یار

در این مطالعه ۷ نشانگر IRAP ، ۸ نشانگر REMAP و ۲ نشانگر ISSR به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و روابط بین نمونه‌های *Ae. tauschii* ایرانی، *T. durum* و *T. aestivum* مورد استفاده قرار گرفتند. چند شکلی بالایی در هر دو نشانگر IRAP و REMAP (۹۹٪) مشاهده شد. نتایج نشان داد که *Ae. tauschii* بیشترین میزان تنوع را در بین سه جمعیت مورد مطالعه دارا بود. همچنین از میان نشانگرهای مورد مطالعه ترکیب نشانگری‌های IRAP از REMAP تنوع بالاتری دارا بود. ۳ دندروگرام بر اساس معیار فاصله ژنتیکی DICE و الگوریتم UPGMA رسم شد. در هر سه دیاگرام بر اساس داده‌های IRAP ، REMAP و داده‌های کل نمونه‌های آژیلوپس استان گلستان نزدیک‌ترین نمونه‌ها به *T. aestivum* و محتمل‌ترین جد ژنوم D بودند و می‌توانند به طور گسترده برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند. ۳ دندروگرام این گونه را به ۳ گروه مجزا تفکیک کردند. نتایج ما تأیید کرد که رتروترانسپوزون‌ها می‌توانند به عنوان یک سیستم نشانگری مناسب برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ارتباط گندم و گونه‌های خویشاوند مورد استفاده قرار گیرند.

کلید واژه: تنوع ژنتیکی، نشانگرهای رتروترانسپوزونی، *Ae. tauschii*

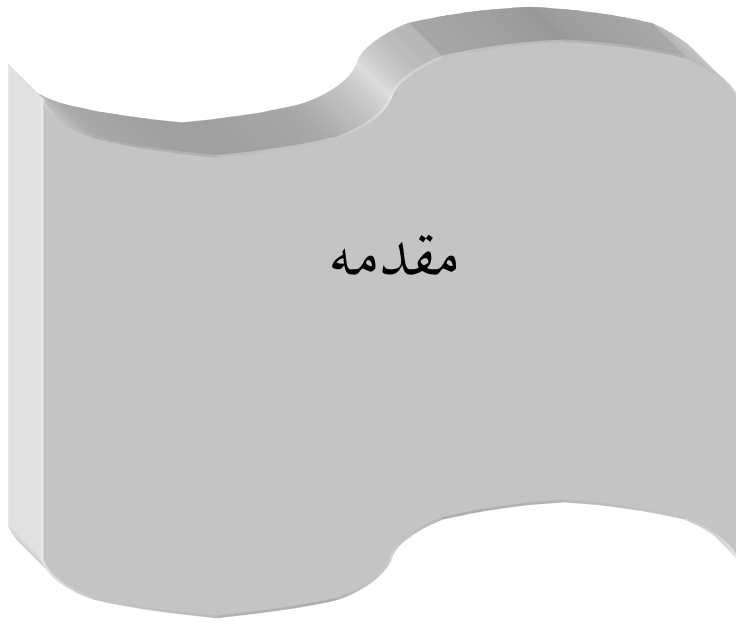
Abstract

Assessment of genetic diversity and relationship of wild wheat species (*Aegilops*) using retrotransposon markers.

Samira Safiyar

In this study 7 IRAP 8 REMAP and 2 ISSR primer were used to evaluate genetic diversity and relationship between *Ae. tauschii* accession from Iran, *T. durum* and *T. aestivum*. A high polymorphism (99%) was observed for both IRAP and REMAP combination. Result showed that *Ae. tauschii* had highest genetic diversity between population. Furthermore between primer combination studied, IRAP combination were more diverse than the others. Three dendrogram base on Dice coefficient of similarity and algorithm UPGMA were drawn. In all IRAP, REMAP and total analysis *Aegilops* accessions from Golestan province and *T. aestivum* had high similarity and indicate that these accessions were closest one to *T. aestivum* and most probable D progenitor and can be used in breeding program. This 3 cluster separate these 3 species into distinct groups. Our result prove that retrotransposons can be used as the appropriate marker system to evaluate genetic diversity and relationship in *Triticum* and *Aegilops* species

Key words: Genetic diversity, Retrotransposon Markers, *Aegilops*



گندم نان *Triticum aestivum* یکی از مهم‌ترین غلات است که حدود ۲۰ درصد کالری غذای جهان، ۷۵ درصد پروتئین مصرفی و ۶۵ درصد کالری دریافتی روزانه هر فرد را در ایران تامین می‌نماید. مطالعات نشان می‌دهد که تا سال ۲۰۲۰ تقاضای جهان برای گندم ۴۰ درصد افزایش خواهد یافت. جهت حل این مشکل، اصلاح‌گران باید عملکرد را افزایش داده و اثرات عوامل محیطی را روی کشاورزی کاهش دهند [مونه ویکس^۱ و همکاران، ۲۰۰۰].

گندم تحت تاثیر تنش‌های زیستی و غیر زیستی مختلف قرار می‌گیرد که از این میان، بیماری‌ها از مهم‌ترین علل کاهش دهنده عملکرد محسوب می‌شوند [اشنایدر و مولنار^۲، ۲۰۰۷]. این گیاه توسط میکروارگانیسم‌های مختلف مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و نماتدها مورد حمله قرار می‌گیرد که این عوامل باعث کاهش عملکرد آن در واحد سطح می‌شوند. گرما، خشکی و شوری از عوامل دیگری هستند که عملکرد گندم را تحت تاثیر قرار می‌دهند. زنگ‌ها یکی از مهم‌ترین تنش‌های زیستی در مناطق مختلف جهان بوده که می‌توانند باعث کاهش صد در صدی محصول شوند. دو اپیدمی شدید در استرالیا در سال‌های ۱۹۸۳ و ۲۰۰۳ به ترتیب فقط ۸ و ۴۰ میلیون دلار هزینه مصرف قارچ کش در بر داشته است [چن^۳، ۲۰۰۵].

کشت واریته‌های مقاوم، موثرترین و ایمن‌ترین روش برای جلوگیری از این خسارات عظیم است. خوشبختانه در این مورد اجداد گندم با در اختیار داشتن منابع عظیمی از ژن‌های مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، نقش مهمی در برنامه‌های به‌نژادی گندم دارند. جنس آزیلوپس با دارا بودن تنوع ژنتیکی و پراکنش بالا به عنوان منبعی عظیم از انواع ژن‌های مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی مطرح می‌باشند [اشنایدر و مولنار، ۲۰۰۷]. ژن‌های مقاومت به زنگ برگ، زنگ ساقه، سفیدک سطحی، مقاومت به سرما، خشکی و شوری از ژن‌هایی هستند که تا کنون در جنس‌های آزیلوپس شناسایی شده‌اند [مونویکس و همکاران، ۲۰۰۰].

گندم نان *T. aestivum* یک آمفی‌پلوئید طبیعی است که از تلاقی گندم تتراپلوئید *T. turgidum* و *Ae. tauschii* به عنوان دهنده ژنوم D به دست آمده است [ماتسوکا و همکاران، ۲۰۰۷]. *Ae. tauschii* یک آزیلوپس دیپلوئید است که دارای ژن‌های ارزشمند زیادی از جمله ژن‌های مقاومت به زنگ‌ها (مانند زنگ برگ گندم) می‌باشد و بنابراین می‌تواند به طور گسترده در برنامه‌های به‌نژادی گندم مورد استفاده قرار گیرد [اشنایدر و مولنار، ۲۰۰۷].

مبدا پیدایش این گیاه منطقه خاورمیانه و قسمت‌های جنوبی دریای خزر می‌باشد و ایران به‌عنوان یکی از مراکز پیدایش آزیلوپس تنوع قابل ملاحظه‌ای را در خود جای داده است [تقوی و همکاران، ۲۰۰۸]. از این نظر مطالعات روی روابط

¹ - Monneveux

² - Schneider and Molnar

³ - Chen

تکاملی و تنوع و پراکنش این گیاه در ایران امری ضروری و اجتناب ناپذیر است. بررسی تنوع ژنتیکی به به‌نژادگران کمک می‌کند تا با شناخت منابع و ذخایر ژنتیکی، از این منابع ژنی ارزشمند در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کنند [ساوالها^۱ و همکاران، ۲۰۰۷].

نشانگرهای مولکولی از آنجا که به شرایط محیطی وابسته نیستند یک روش مناسب جهت بررسی تنوع ژنتیکی درون سلسله گیاهی به حساب می‌آیند. رتروترانسپوزون‌های گیاهی یکی از منابع جهش‌زای گیاهی به شمار می‌آیند که حدود ۷۰ درصد از ژنوم گیاهان را تشکیل می‌دهند [بنتزن^۲، ۲۰۰۰]، این عوامل با فعالیت در داخل ژنوم تفاوت‌های نوکلئوتیدی را از صدها تا هزاران نوکلئوتید ایجاد می‌کنند [کلن‌دار و همکاران^۳، ۲۰۱۰]. یگانگی و توزیع رتروترانسپوزون‌ها در ژنوم گیاهی، استفاده از آنها را به عنوان نشانگر مولکولی بسیار ایده‌آل می‌سازد. تا کنون چندین سیستم نشانگری بر اساس رتروترانسپوزون‌ها طراحی شده است که عبارتند از: RBIP^۴، SSAP، REMAP^۵ و IRAP^۶. از آنجا که رتروترانسپوزون‌ها در مقایسه با سایر نشانگرها تغییرات بزرگ را در ژنوم شناسایی می‌کنند بنابراین استفاده از آنها برای مطالعات تنوع و تکامل ژنی بسیار مفید خواهد بود.

با توجه به اهمیت گیاه آزیلوپس در برنامه‌های به‌نژادی گندم و با توجه به موقعیت جغرافیایی خاص ایران به عنوان یکی از مراکز پیدایش این گیاه، این تحقیق با هدف بررسی تنوع ژنتیکی و روابط تکاملی تعدادی از ژنوتیپ‌های آزیلوپس و گندم نان با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی IRAP و REMAP انجام شد.

¹ - Sawalha

² - Bennetzen

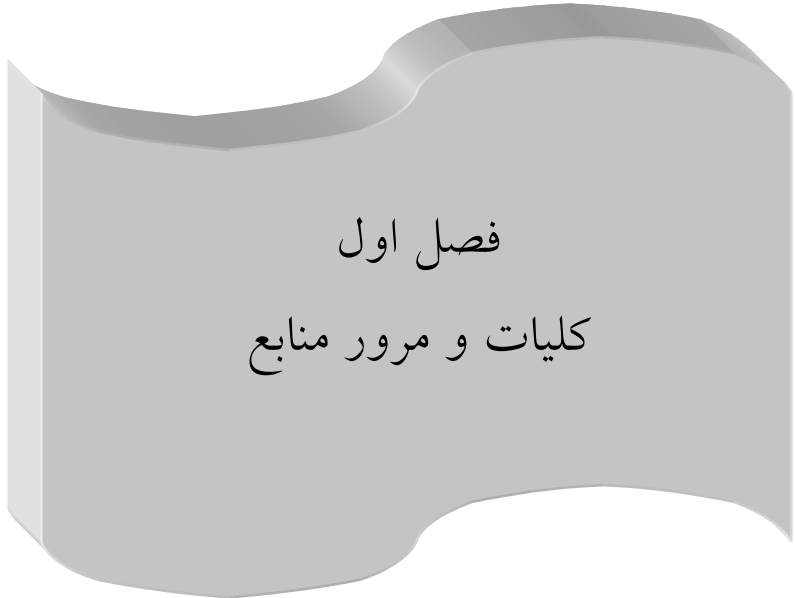
³ - Kalendar

⁴ - Sequence-Specific Amplified Polymorphism

⁵ - Retrotransposon-Based Insertion Polymorphism

⁶ - Retrotransposon- microsatellite amplified polymorphism

⁷ - Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism



فصل اول
کلیات و مرور منابع

۱-۱- خصوصیات گیاه‌شناسی گندم

گندم نان متعلق به جنس *Triticum* بوده و تاریخچه پیدایش آن به ۱۰۰۰۰ سال پیش می‌رسد. مرکز مبدأ *Triticum* جنوب غربی آسیا نزدیک به منطقه (دجله و فرات) می‌باشد. در این ناحیه *Triticum* دیپلوئید و پلی‌پلوئید تنوع فوق العاده بالایی از نظر مورفولوژیکی و اکولوژیکی نشان می‌دهند [مونویکس^۱ و همکاران، ۲۰۰۰] گندم نان با نام علمی *T. aestivum* یک گونه آمفی‌پلوئید طبیعی می‌باشد که از ترکیب ۳ ژنوم A, B, D به دست آمده است. در ابتدای قرن بیستم این تئوری که گندم معمولی از هیبریداسیون طبیعی بین *T. turgidum* و گونه‌های آزیلوپس به دست آمده است، بنا نهاده شد [باداوا^۲ و همکاران، ۲۰۰۲]. ارتباط بین گندم هگزاپلوئید و اجداد آن سال‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است. به نظر می‌رسد دهنده ژنوم A گندم *T. urartu* و دهنده ژنوم D گندم *Ae. tauschii* می‌باشد و دهنده ژنوم B گندم هنوز به طور کامل مشخص نشده و تحت مطالعه می‌باشد و چندین گونه آزیلوپس شامل *Ae. speltoides*, *Ae. bicornis*, *Ae. sharonesis*, *Ae. longissima*, *Ae. searsii* به عنوان دهنده ژنوم B پیشنهاد شده‌اند [مونویکس و همکاران، ۲۰۰۰؛ کاراگاز^۳ و همکاران، ۲۰۰۶]. ژنوم گندم دوروم که به عنوان گندم ماکارونی شناخته می‌شود، شامل ژنوم‌های A و B می‌باشد. تا کنون کلیه دانشمندان با این نظریه که دهنده ژنوم D گندم نان گیاه آزیلوپس است موافقت [کاراگاز و همکاران، ۲۰۰۶؛ بویوکو^۴ و همکاران، ۲۰۰۲؛ باداوا و همکاران، ۲۰۰۲؛ نقوی و همکاران، ۲۰۰۸؛ للی^۵ و همکاران، ۲۰۰۰]. گونه‌های آزیلوپس به عنوان یک علف هرز در شمال ایران می‌رویند [نقوی و همکاران ۲۰۰۸] و از شمال تا جنوب و شمال شرقی تا شمال غربی و مرکز ایران گسترش یافته است، و به دو زیر گونه *Tauschii* و *Strangulate* به وسیله هامر^۶ در سال ۱۹۸۰ تقسیم شدند. از بین زیر گونه‌های *Ae. tauschii* زیر گونه *Strangulate* به عنوان گونه والدینی ژنوم D و ایران به عنوان مرکز تنوع و احتمالاً مرکز پیدایش این گونه شناخته شده است [سعیدی و همکاران، ۲۰۰۸؛ نقوی و همکاران، ۲۰۱۰]

1 - Monneveux
2 - Badaeva
3 - Karagoz
4 - Boyoko
5 - Lelly
6 - Hammer

۲-۱- گونه‌های آژیلوپس

ژنوم آژیلوپس شامل ۱۱ گونه دیپلوئید، ۱۰ گونه تتراپلوئید و ۲ گونه هگزاپلوئید بوده که تنوع ژنتیکی بالایی را نشان می‌دهند و فرمول ژنتیکی آن شامل ژنوم‌های M, N, C, U, S, D می‌باشد. بعضی از گونه‌های آژیلوپس حداقل در یکی از ژنوم‌های خود با گندم مشترک هستند که اجازه می‌دهد صفات مطلوب آن به وسیله تلاقی‌های منظم و یا روشهای نوترکیبی طبیعی به گندم انتقال پیدا کند [اشنایدر و مولنار، ۲۰۰۷]. گونه‌های آژیلوپس به عنوان دهنده بسیاری از صفات مفید زراعی مانند مقاومت به آفات و بیماری‌ها شناخته شده است. زنگ ساقه، زنگ برگ و زنگ نواری مهم‌ترین بیماری‌های جهانی هستند. تا کنون تعداد ۶۰ ژن برای زنگ برگ، ۴۰ ژن برای زنگ نواری و ۴۵ ژن برای زنگ ساقه به دست آمده است که از آن‌ها ۳۰ ژن برای زنگ برگ، ۱۲ ژن برای زنگ نواری و ۱۸ ژن برای زنگ ساقه از طریق دهندگان وحشی و غیر وحشی به گندم انتقال یافته است [مکیتاش^۱، ۲۰۰۷]. آژیلوپس‌ها همچنین به عنوان منابع مقاومت به بیماری‌های قارچی نیز شناخته شده‌اند [الیورا^۲ و همکاران، ۲۰۰۷]. از آنجا که پاتوژن‌های گیاهی دائما در حال تغییر هستند شناخت منابع جدید مقاومت برای متخصصین اصلاح نبات جهت حفظ مقاومت در گیاهان امری ضروری می‌نماید [سوخویندر^۳ و همکاران، ۲۰۰۳]. این گونه‌های وحشی مرتبط تا کنون بیشتر به عنوان دهنده ژن‌های مقاومت به آفات و بیماری‌ها شناخته شده تا به عنوان یک منبع تنوع که تغییرات عمده در گونه‌های زراعی مرتبط ایجاد کند [مونویکس و همکاران، ۲۰۰۰]. به علت ارتباط نزدیک بین گونه‌های آژیلوپس و گندم، تلاقی بین این ۲ ژنوتیپ به طور طبیعی رخ می‌دهد، همچنین می‌توان ژن‌های فوق را به طرق مختلف همانند تکنیک‌های نجات جنین، تلاقی برگشتی، تولید لاین‌های با کروموزوم اضافه شده، تلاقی‌های بین گونه‌ای و استفاده از روش‌های مولکولی انتقال داد [اشنایدر و مولنار، ۲۰۰۷]. لیست تعدادی از ژن‌های انتقال یافته در جدول ۱-۱ ذکر شده است. شکل ۱-۱ تصویر گیاه *Ae. tauschii* که مانند یک علف هرز در طبیعت ایران رشد می‌کند را نشان می‌دهد. بذور این گیاه درون یک پوسته ضخیم قرار دارد (شکل ۱-۲).

¹ -McIntoch

² - Olivera

³ - Sukhwinder

جدول ۱-۱ نمونه‌هایی از ژن‌های انتقال یافته از گونه‌های آزیلویپس به گندم.

منبع	گونه دهنده	بیماری
Sears (1956)	<i>Ae. Umbellulata</i>	زنگ برگ
Dvorak (1977)	<i>Ae. Speltoides</i>	
Dyck and Kerber (1970)	<i>Ae. Tauschii</i>	
Bariana and McIntosh(1993)	<i>Ae. Ventricosa</i>	
Dhaliwal <i>et al</i> (2002)	<i>Ae. Genticulata</i>	
Aghaee_Sarbarzeh <i>et al</i> (2002)	<i>Ae. Triuncialis</i>	
McIntosh(1988)	<i>Ae. Speltoides</i>	زنگ ساقه
McIntosh <i>et al</i> (1982)	<i>Ae. Comosa</i>	
مقاومت به استرس‌های محیطی		
شوری		
Farooq <i>et al</i> (1989), Gorham (1990), Farooq(1994)	<i>Ae. comosa</i> <i>Ae. tauschii</i> <i>Ae. umbellulata</i> <i>Ae. cylindrica</i> <i>Ae. neglecta</i> <i>Ae. triuncialis</i> <i>Ae. kotschyi</i> <i>Ae. crassa</i> <i>Ae. juvenalis</i>	
Bariana and McIntosh(1993)	<i>Ae. Ventricosa</i>	
Kerber and Dyck (1969)	<i>Ae. Tauschii</i>	
Miller <i>et al</i> (1987)	<i>Ae. Speltoides</i>	سفیدک سطحی
Ceoloni <i>et al</i> (1988)	<i>Ae. Longissima</i>	
Lutz <i>et al</i> (1995)	<i>Ae. Tauschii</i>	
Zeller <i>et al</i> (2002)	<i>Ae. Genticulata</i>	

ادامه جدول ۱-۱ .

		سرما
Barashkova (1981)	<i>Ae. Tauschii</i>	
Limin and Fowler(1981)	<i>Ae. Umbellulata</i>	
Barashkova and Vovilov (1991)	<i>Ae. Cylindrical</i> <i>Ae. Neglecta</i> <i>Ae. Triuncialis</i>	
		خشکی
Damania <i>et al</i> (1992)	<i>Ae. Tauschii</i>	
Waines <i>et al</i> (1993)	<i>Ae. Kotschyi</i>	
Rekika <i>et al</i> (1998)	<i>Ae. Genuculata</i> <i>Ae. Triuncialis</i> <i>Ae. Longissima</i> <i>Ae. Sharonensis</i>	



شکل ۱-۱- تصویر گیاه *Ae. tauschii* که به صورت علف هرز در طبیعت شمال ایران می‌روید



شکل ۱-۲- تصویری از بذور گیاه *Ae. tauschii* که درون یک پوسته ضخیم قرار دارد