بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد (*M.Sc.*) در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

بررسی تنوع ژنتیکی برخی از ارقام گندم نان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و برخی صفات فیزیولوژیک تحت تنش سرمای بهاره

نگارش

سمیه اصغری

استاد راهنما

دکتر سید رضا قلی میرفخرایی

بهار ۹۱

فهرست مطالب

فصل اول: کلیات و اهداف

۱-۱- مقدمه ۱

۱-۲- تاریخچه و گیاه شناسی گندم ۱

۱-۳- طبقه بندی زراعتی گندم ۲

۱-۳-۱- گندم های پائیزه ۲

۱-۳-۲- گندم بهاره ۲

۱-۳-۳- گندم بهاره- پائیزه ۳

۱-٤- اهداف تحقیق ۳

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- بررسی منابع ۵

۲-۱-۱- تنوع ژنتیکی، عوامل ایجاد کننده تنوع و نقش آن در برنامه‌های به‌نژادی ۵

۲-۱-۲- روش های برآورد تنوع ژنتیکی ۷

۲-۱-۳- مارکرهای ژنتیکی و کاربرد آن ها در بررسی تنوع ژنتیکی ۸

۲-۲- طبقه‌بندی نشانگرهای ژنتیکی ۹

۲-۲-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی ۹

۲-۲-۲- نشانگرهای مولکولی ۱۰

۲-۲-۲-۱- نشانگرهای ریزماهواره ۱۱

۲-۲-۲-۲- کاربرد نشانگرهای ریزماهواره ۱۵
۲-۳- اهمیت و ضرورت اصلاح گندم برای تنش سرمای بهاره ۱۵
۲-٤- خسارت سرمای بهاره ۱٦
۲-٤-۱- سرمای بهاره ۱٦
۲-٤-۲- درجه حرارت‌هایی که منجر به آسیب‌های سرمازدگی بهاره می گردد ۱۸
۲-٤-۳- علائم آسیب‌های یخزدگی بهاره ۱۸
۲-٤-۳-۱- مرحله پنجه‌زنی ۱۸
۲-٤-۳-۲- مرحله ساقه رفتن ۲۰
۲-٤-۳-۳- مرحله حبس سنبله در برگ پرچم ۲٤
۲-٤-۳-٤- مرحله خوشه دهی ۲۹
۲-٤-۳-۵- مرحله گلدهی ۳۱
۲-٤-۳-٦- مرحله شیری شدن ۳۲
۲-٤-۳-۷- مرحله خمیری ۳۵
۲-۵- نقش قندها و اسمولیت‌ها در مقاومت به سرما ۳۵
۲-۵-۱- فروکتان و ارتباط آن با تحمل به تنش های غیرزیستی در گیاهان ۳۷
۲-۵-۱-۱- مقدمه و تاریخچه ای از تحقیقات در رابطه با فروکتان و تنش های غیرزیستی . ۳۷
۲-۵-۱-۲- ساختار و انواع قند فروکتان ۳۸
۲-۵-۱-۳- بیوسنتز فروکتان ٤۱
۲-۵-۱-٤- حفاظت از تنش های غیرزیستی به‌وسیله قندها ٤۳
۲-۵-۱-۵- نقش فروکتان در سازگاری های زیر صفر درجه ٤۳

۲-۵-۱-٦-استفاده از گیاهان تراریخت در مطالعه بیوسنتز فروکتان و تحمل به تنش‌های غیرزیستی ٤٧
۲-۵-۱-۷- نمونه‌هایی از اطلاعات به دست آمده از سیستم های تراریخته ۵۰
۲-۵-۲- تغییرات اسید آمینه پرولین در اثر تنش های سرمایی ۵۰
۲-۵-۲-۲- نمونه هایی از سیستم های تراریخته ٥٦
۲-٦- مروری بر تحقیقات انجام گرفته ٥٦
فصل سوم: مواد و روش ها
۳-۱- مقدمه ٦١
۳-۲- مواد ژنتیکی (ارقام گیاهی) ٦١
۳-۳- تهیه بستر گلدان ها ٦٢
۳-٤- کاشت بذور ٦٢
۳-۵- زمان نمونه برداری ٦٣
۳-٦- سنجش مقدار پرولین ٦٣
۳-٦-۱- مواد مورد نیاز ٦٣
۳-٦-۲- روش استخراج پرولین ٦٤
۳-۷- سنجش فروکتان ٦۵
۳-۷-۱- مواد مورد نیاز ٦٦
۳-۸- ارزیابی مولکولی ٦٦
۳-۸-۱- استخراج DNA ژنومی ٦٦

۳-۸-۲- اندازه گیری کمیت و کیفیت DNA ژنومی ٦٨
۳-۸-۲-۱- روش اسپکتروفتومتری ٦٨
۳-۸-۲-۲- الکتروفورز ژل آگارز ٦٩
۳-۸-۳- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ٦٩
۳-۸-٤- انتخاب نشانگرهای ریزماهواره ی گندم ۷۰
۳-۸-٥- تکثیر آلل ها به کمک PCR ۷۱
۳-۸-٦- الکتروفورز محصولات PCR ۷۳
۳-۸-٦-۱- الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۳٪ ۷۳
۳-۸-٦-۲- الکتروفورز محصولات PCR روی ژل پلی آکریل آمید واسرشته ٦٪ ۷۳
۳-۸-٦-۲-۱- تهیه ژل پلی آکریل آمید ٦٪ ۷۳
۳-۸-٦-۲-۲- آماده سازی دستگاه ۷٤
۳-۸-٦-۲-۳- تزریق ژل به دستگاه ۷٤
۳-۸-٦-۲-۳-۱- آماده سازی محلول آمونیم پرسولفات ۱۰٪ ۷٥
۳-۸-٦-۲-٤- گرم کردن مقدماتی ۷٥
۳-۸-٦-۲-٥- بارگذاری محصولات PCR ۷٥
۳-۸-٦-۲-٦- رنگ آمیزی ژل به روش نیترات نقره ۷٥
۳-۸-۷- روش تجزیه و تحلیل داده‌های فیزیولوژیک ۷۷
۳-۸-۷-۱- نرم افزارها و روش‌های مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ۷۷
۳-۸-۷-۲- محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) ۷۷
۳-۸-۷-۳- تجزیه خوشه‌ای ۷۸

۳-۸-۷-۵- محاسبه ضریب همبستگی کوفنتیک ۷۸

فصل چهارم: نتایج و بحث

٤-۱- تجزیه و تحلیل‌های بخش فیزیولوژیک..... ۸۰

٤-۱-۱- بررسی اثر تنش سرمای بهاره بر پرولین ۸۰

٤-۱-۲-نتایج بررسی مقدار قند فروکتان برگی در ارقام گندم ۸٤

٤-۱-۲-۱-بررسی اثر تنش سرمای بهاره بر مقدار فروکتان. ۸٤

٤-۲- تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی ارقام گندم بر اساس نشانگرهای مولکولی SSR..... ۹۳

٤-۲-۱- ارزیابی نشانگرهای SSR براساس چند شکلی آللی..... ۹۳

٤-۲-۲- تجزیه خوشه‌ای ارقام مورد مطالعه ۹۸

٤-۲-۳-تعیین فاصله ژنتیکی بین افراد ۱۰۲

٤-۲-٤- تجزیه به مولفه‌های اصلی SSR..... ۱۰۳

٤-۳- تجزیه ارتباطی بین صفات فیزیولوژیکی با نشانگرهای ریزماهواره..... ۱۰٦

پشنهادات..... ۱۰۹

منابع..... ۱۱۱

فهرست جداول

جدول ۲-۱- تقسیم بندی ریز ماهواره ها بر حسب نوع واحد تکراری..... ۱۳

جدول ۲-۲- دماها، علائم و اثرات یخ زدگی بهاره بر عملکرد گندم..... ۱۷

جدول ۲-۳- انواع قند فروکتان و گونه‌های گیاهی تولید کننده قند فروکتان..... ۳۸

جدول ۲-٤- بیان هترولوگوس ژن های فروکتوزیل ترانسفراز از منبع باکتری، قارچی و گیاهی....٤۷

جدول ۳-۱- اسامی ژنوتیپ ها و ارقام گندم استفاده شده در این تحقیق..... ٦۰

جدول ۳-۲- طرز تهیه بافر استخراج..... ٦٦

جدول ۳-۳- طرز تهیه بافر TAE 50X..... ٦۸

جدول ۳-٤- مشخصات نشانگرهای ریز ماهواره ی گندم استفاده شده در این تحقیق..... ٦۹

جدول ۳-۵- اجزاء واکنش PCR..... ۷۰

جدول ۳-٦- برنامه PCR استفاده شده در این تحقیق..... ۷۱

جدول ۳-۷- مواد لازم برای ساختن پلی اکریل آمید ٦٪..... ۷۲

جدول ۳-۸- مواد مورد نیاز برای تهیه بافر TBE(۵X) ۷۳

جدول ٤-۱- جدول تجزیه واریانس مقدار پرولین برگی در ارقام گندم ۷۹

جدول ٤-۲- جدول تجزیه واریانس مقدار فروکتان برگی در ارقام گندم ۸٤

جدول ٤-۳- نتایج مقایسه میانگین های اثر متقابل تنش سرما و رقم در پرولین و فروکتان..... ۸۸

جدول ٤-٤- تغییرات پرولین در چهار سطح دمایی..... ۹۰

جدول ٤-۵- تغییرات فروکتان در چهار سطح دمایی..... ۹۰

جدول ٤-٦- میانگین چهار سطح دمایی مربوط به پرولین و فروکتان..... ۹۱

جدول ٤-٧- اطلاعات مربوط به چندشکلی آللی.....۹۵

جدول ٤-٨- فاصله ژنتیکی ۲۰ رقم گندم به دست آمده از نشانگرهای SSR بر اساس ماتریس تشابه دایس.....۱۰۱

جدول ٤-٩- تجزیه به مولفه‌های اصلی مربوط به نشانگرهای ریزماهواره.....۱۰۲

جدول ٤-۱۰- تعداد نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفات فیزیولوژیکی و درصد تغییرات توجیه شده این صفات به کمک نشانگرها.....۱۰٦

جدول ٤-۱۱- نتایج حاصل از رگرسیون گام به گام نشانگرهای ریزماهواره و صفات فیزیولوژیک.....۱۰۷

فهرست اشکال

شکل ۲-۱- مثال هایی از تکرارهای ۱-٦ نوکلئوتیدی..... ۱۲

شکل ۲-۲- ریزماهواره هموزیگوس..... ۱٤

شکل۲-۳- ریزماهوراه هتروزیگوس..... ۱٤

شکل ۲-٤- درجه حرارت‌های منتهی به آسیب‌های یخزدگی در مراحل رویشی گندم..... ۱۷

شکل ۲- ٥- سوختگی و زرد شدگی نوک برگها از علائم یخ زدگی بهاره در مرحله پنجه زنی..... ۱۹

شکل ۲-٦- زرد و سفید شدگی قسمت داخلی برگها و چروکیدگی گیاهچه ها در اثر آسیب های شدیدیخ زدگی..... ۱۹

شکل ۲-۷- یک نقطه مرسیتمی سالم به صورت متورم و به رنگ سبز روشن ۲۰

شکل ۲-۸- از دست دادن تورم و رنگ پریدگی یک نقطه مریستمی صدمه دیده چند روز بعد از یخ زدگی..... ۲۰

شکل ۲-۹- زردی یا نکروزه شدگی برگهای تازه تشکیل یافته از علائم صدمه دیدن نقطه مریستمی..... ۲۱

شکل ۲-۱۰- رنگ پریدگی و زبر شدگی ساقه های کوتاه از علائم آسیب های یخ زدگی بهاره..... ۲۲

شکل ۲-۱۱- شکاف دار شدن ساقه ها در اثر شدت زیاد آسیب های یخ زدگی بهاره..... ۲۲

شکل ۲-۱۲- متلاشی شدن میان گره ها در اثر شدت زیاد آسیب های یخ زدگی بهاره..... ۲۳

شکل ۲-۱۳- تصویر سمت راست، گرفتار شدن سنبله های پیچ خورده در داخل غلاف ها و شکافته شدن اطراف سنبله ها. تصویر میانی، آسیب دیدن سنبله ها در مرحله حبس سنبله و تصویر سمت چپ، صدمه دیدن قسمت بالای سنبله بعد از یخ زدگی..... ۲٤

شکل ۲-۱٤- تصویری از سنبله ظاهراً نرمال اما زرد رنگ و پر آب. ۲٤

شکل ۲-۱۵- ظاهر شدن گلچه های گندم حاوی سه بساک به رنگ سبز روشن و متورم و کلاله های سفید و پر مانند..... ۲۵

شکل۲-۱٦- پیچ خوردگی و چروکیدگی بساک ها ۲٤ تا ٤۸ ساعت بعد از یخ زدگی..... ۲٦

شکل۲-۱۷- بسته ماندن بساک های پیچ خورده و باز نشدن کلاله های سفید رنگ..... ۲٦

شکل ۲-۱۸- سفید شدگی و قهوه ای شدگی بساک های آسیب دیده بعد از چند روز سپری شدن از یخ زدگی و آزاد نشدن دانه های گرده از بساک ها یا گلچه ها..... ۲۷

شکل ۲-۱۹- طویل شدگی گره ها و بند بند شدن و خم شدگی ساقه در اثر آسیب های یخ زدگی بهاره..... ۲۷

شکل ۲-۲۰- پیچ خوردگی و سفید شدگی ریشک های سنبله در اثر آسیب های کم یخ زدگی بهاره..... ۲۸

شکل ۲-۲۱- زردی و پر آب شدن گلوم ها و قهوه ای- ارغوانی شدن محور سنبلچه از علائم آسیب های یخ زدگی بهاره..... ۲۹

شکل ۲-۲۲- احاطه کردن ساقه و برگ پرچم توسط حلقه سر مازده سفید در زمان یخ زدگی..... ۲۹

شکل ۲-۲۳- آسیب به قسمت های مختلف سنبله در زمان های مختلف یخ زدگی..... ۳۱

شکل ۲-۲٤- رشد دانه های صدمه ندیده و سبز رنگ چند روز بعد از گرده افشانی..... ۳۲

شکل ۲-۲۵- تداوم رشد دانه های صدمه ندیده در مرحله شیری..... ۳۲

شکل ۲-۲٦- توقف سریع رشد دانه ها بعد از یخ زدگی و خاکستری و چروکیده شدن آنها..... ۳۳

شکل ۲-۲۷- تصویری از دانه های صدمه ندیده در مرحله شیری..... ۳۳

شکل ۲-۲۸- ساختار اولین تری ساکارید های فروکتانی..... ۳۹

شکل ۲-۲۹- مدل پیشنهاد شده برای بیوسنتز فروکتان..... ٤۱

شکل ۲-۳۰- ساز وکار احتمالی تجمع قندها در بافت های گیاهی که تحت استرس سرمایی ٤٤

شکل ۲-۳۱- یک روش احتمالی برای اکسیداسیون قندها در بافت های گیاهی که تحت استرس سرمایی..... ٤٥

شکل ۲-۳۲-شمایی از اعمال فیزیولوژیک پرولین..... ٥۱

شکل ۲-۳۳- مسیر سنتز پرولین در گیاهان عالی ٥٤

شکل ۲-۳٤- مسیر متابولیکی پرولین در مخمر ساکارومایسز سرویسیه ٥٤

شکل ٤-۱- آغازگرهای تکثیر یافته *Xgwm 72*، *Xgwm 495*، *Xgwm 540* و *Xgwm 611* بر روی ژل آگارز ۳٪..... ۹۲

شکل ٤-۲- آغازگر Xgwm55 با ٤ آلل..... ۹٤

شکل ٤-۳- آغازگر Xgwm 611 با ۳ آلل..... ۹٥

فهرست نمودارها

نمودار ٤-١- تغییرات پرولین در تنش دمایی 8^oC ٨٠

نمودار ٤-٢- تغییرات پرولین در تنش دمایی 2^oC ٨١

نمودار ٤-٣- تغییرات پرولین در تنش دمایی 0^oC ٨١

نمودار ٤-٤- تغییرات پرولین در تنش دمایی -2^oC ٨٢

نمودار ٤-٥- تغییرات پرولین در تنش دمایی در چهار تنش دمایی 8^oC، 2^oC، 0^oC و 2^oC ٨٢

نمودار ٤-٦- تغییرات فروکتان در تنش دمایی 8^oC ٨٥

نمودار ٤-٧- تغییرات فروکتان در تنش دمایی 2^oC ٨٦

نمودار ٤-٨- تغییرات فروکتان در تنش دمایی 0^oC ٨٦

نمودار ٤-٩- تغییرات فروکتان در تنش دمایی -2^oC ٨٧

نمودار ٤-١٠- تغییرات فروکتان در تنش دمایی در چهار تنش دمایی 8^oC، 2^oC، 0^oC و ^oC ... ٨٧

نمودار٤-١١- دندروگرام ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این مطالعه بر اساس الگوهای باندی SSR با استفاده از ضریب تشابه دایس به روش دورترین همسایگی ١٠٠

نمودار ٤-١٢- بای پلات حاصل از تجزیه به مختصات اصلی ارقام گندم مورد مطالعه و نشانگرهای ریزماهواره ١٠٣

نمودار٤-١٣- پلات دو بعدی حاصل از تجزیه به مؤلفه های اصلی ارقام گندم نان مبتنی بر ضریب تشابه دایس ١٠٤

چکیده

مدیریت ذخایر ژنتیکی و در این راستا، آگاهی از تنوع ژنتیکی اصول مهم پروژه های به‌نژادی می باشند. گیاهان غالباً در معرض طیفی از تنش‌های محیطی، زیستی و غیرزیستی، هستند که بر میزان رشد و عملکرد آن‌ها می‌توانند مؤثر باشند. تنش دماهای پایین تولید غلات را در مناطق سرد و فراسرد محدود می کند و در بعضی از سال‌ها خسارات فراوانی وارد می سازد. با پایان یافتن فصل سرما و ادامه رشد گندم با شروع فصل بهار، تحمل این گیاه به دماهای پایین به تدریج کاهش پیدا می کند. لیکن هر یک از مراحل رشد در این بخش از حیات گیاه ممکن است با نوعی دیگر از مدل‌های کاهش دما که از آن به کاهش سریع دما در فصل بهار و یا به طور خلاصه "سرمای بهاره" نام برده می شود، مواجه گردد و در نتیجه بعضی از قسمت های گیاه متناسب با مرحله رشدی صدمه ببیند، که اگر این تنش در دوره زایشی گیاه واقع شود، کاهش در محصول این گیاه استراتژیک اجتناب ناپذیر خواهد بود. در این تحقیق که بخشی از یک برنامه به نژادی می باشد، تنوع ژنتیکی ۲۰ رقم گندم نان با استفاده از نشانگرهای مولکولی و صفات فیزیولوژیک مرتبط با تحمل به تنش سرمای بهاره، اسیدآمینه پرولین و قند فروکتان، بررسی گردید. برای صفات فیزیولوژیک، گیاهان در مرحله خوشه رفتن و معادل با کدهای زیداکی ۵۰ الی ٦٨، به طور مصنوعی در معرض تنش‌های دمایی در سطوح $8^{\circ}C$ (به عنوان شاهد)، $2^{\circ}C$، $0^{\circ}C$ و $-2^{\circ}C$ در یک آزمایش فاکتوریل، فاکتور دما در ٤ سطح و فاکتور ژنوتیپ در ۲۰ سطح و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل رقم در سرما در هر دو صفت در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد معنی دار بود. بررسی تنوع ژنتیکی در بخش مولکولی با استفاده از ۹ جفت نشانگر ریزماهواره انجام شد که ۸ جفت از آغازگرها توانستند چند شکلی مطلوبی را ظاهر سازند. تعداد آلل‌های تولید شده به ازای هر آغازگر از ۱ تا ٤ متغیر بود. میانگین تعداد آلل در هر لوکوس ۲/۷۵ و در مجموع ۲۲ آلل شناسایی شد. میزان محتوای اطلاعات چند شکلی از ۰/۲۷ تا ۰/۸۳ متغیر بوده و میانگین آن برابر ۰/۵۳ بود.

فواصل ژنتیکی با استفاده از ضرایب تشابه دایس محاسبه گردیده و تجزیه خوشه ای با استفاده از الگوریتم دورترین همسایه یا همبستگی کامل انجام گرفت و بدین ترتیب ۲۰ رقم مورد بررسی در ٤ گروه قرار گرفتند. تجزیه به مؤلفه های اصلی نیز ۵ مؤلفه را مشخص نمود که در مجموع توانستند بیش از ٦٢٪ از کل تغییرات را توجیه کنند. برای تعیین ازتباط بین داده های مولکولی و فیزیولوژیکی از روش تجزیه ارتباطی که بر اساس روش رگرسیون گام به گام عمل می کند، استفاده گردید که نتایج آن ارتباط معنی دار ۳ نشانگر از سری Xgwm و به شماره های ۵۵، ۱۹٤ و ۱۹۲ با مقدار پرولین و ٦ نشانگر از همان سری مذکور و به شماره های ٤۹۵، ۱۹٤ و ۵۵ در شرایط شاهد و شماره های ٤۹۵، ۱۹٤ و٦۱۰ در شرایط تنش $-2^{\circ}C$ با مقدار قند فروکتان به عنوان نشانگرهای آگاهی بخش به اثبات رساند. سرانجام بر اساس تحقیق حاضر، در ویژگی پرولین ارقام سرداری و فلات به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار و در ویژگی مقدار قند فروکتان ارقام مهدوی و تجن به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار شناسایی شدند.

واژگان کلیدی: گندم، تنش سرمای بهاره، تنوع ژنتیکی، صفات فیزیولوژیک، نشانگر ریزماهواره

فصل اول

کلیات و اهداف

۱-۱- مقدمه

غلات که قرن‌ها جان بشر را از گرسنگی نجات داده است، نقش مهمی در الگوی تغذیه هر کشوری دارد. غلات در تعریفی کلی شامل گیاهان یک‌ساله ای از خانواده گندمیان می باشند که ارزان‌ترین مواد غذایی واجد کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها به شمار می‌روند. در جهان، تمدنی را نمی‌توان یافت که اساس کشت و زرع آن بر گیاهانی جز غلات بنا شده باشد. غلات شامل گیاهانی از قبیل گندم، جو، یولاف، چاودار، ارزن، ذرت، ذرت خوشه ای و برنج می‌باشد. گندم از جمله گیاهانی است که بیش از همه گیاهان دیگر در جهان کشت می شود. تعداد گونه‌ها و ارقام گندم از هر نوع گیاه مولد دانه دیگری بیشتر است (بهنیا، ۱۳۷۳). گندم محصول عمده غذایی به شمار می رود. همچنین یک کالای استراتژیک است که می تواند یک ابزار فشار سیاسی قوی برای برخی از کشورها باشد و نباید فقط به عنوان یک ماده غذایی به آن توجه کرد. گندم از نظر تولید و سطح زیر کشت، مهم‌ترین محصول ایران می باشد و افزایش محصول آن روز به روز مورد توجه بیشتر قرار گرفته است (خدابنده، ۱۳۷۳).

۱-۲- تاریخچه و گیاه شناسی گندم

گندم بعد از جو یکی از قدیمی‌ترین گیاهانی است که به دست انسان کشت شده است. گمان می رود مبدأ گندم جنوب‌غربی آسیا باشد. در ۱۰تا ۱۵ هزار سال قبل از میلاد مسیح در این مناطق برای تغذیه انسان‌ها از گندم استفاده شده است. از مطالعات دانه‌های سوخته توسط باستان شناسان دانشگاه شیکاگو در حفرات یکی از مناطق عراق که قدمت آن به ٦٧٠٠ سال می رسد، دو نوع گندم به دست آوردند که یکی از آن‌ها به گندم وحشی شباهت زیادی داشته و دیگری مشابه گندم امروزی این‌کرن[1] بوده است (بهنیا، ۱۳۷۳؛ کریمی، ۱۳۷۱).

[1] Einkorn

گندم به شاخه گیاهان گلدار[1]، زیر شاخه نهاندانگان[2]، رده گیاهان تک‌لپه[3]، راسته گلومی فلورا[4]، تیره گرامینه[5] و جنس تریتیکوم[6] تعلق دارد. این نبات زراعی گیاهی است یک‌ساله، با ساقه نازک بندبند و توخالی، دارای برگ های بدون دمبرگ با رگبرگ های موازی و نیام‌دار که ساقه را در محل گره می پوشاند. گندم از لحاظ ژنتیکی دارای گونه‌های دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید بوده که به ترتیب دارای ١٤، ٢٨ و ٤٢ کروموزوم می باشند (بهنیا، ١٣٧٣).

گونه هگزاپلوئید گندم واریته های *(Triticum aestivum) , (T. vulgare Host; T. sativum Lam)* بسیاری دارد و به دلیل تطابق زیاد با شرایط مختلف محیطی، در تمام دنیا کشت می شود و به همین جهت دامنه پراکندگی آن بیش از هرگونه دیگر است. می توان گفت که بیشتر از ٩٥ ٪ گندم‌های ایران از واریته های این گونه گندم می باشد (کریمی، ١٣٧١).

١-٣- طبقه بندی زراعتی گندم

گندم‌ها را از نظر نیاز و یا عدم نیاز به یک دوره سرما، به سه دسته پائیزه، بهاره و بهاره – پائیزه تقسیم بندی می کنند.

١-٣-١- گندم های پائیزه

این نوع گندم برای این که بتواند به هنگام طولانی شدن ساعات روز از مرحله رویشی به مرحله زایشی منتقل شود، برای چندین هفته احتیاج به درجه حرارت پایین (٨°C-٠) دارد. اگر گندم پائیزه در بهار کاشته شود و به عبارت دیگر بهاره‌سازی نشود، پس از جوانه زنی و طی مراحل اولیه رشد نمی‌تواند به ساقه برود در نتیجه بوته کوتاه گندم به صورت مجموعه‌ای از برگ ها در سطح زمین گسترده می شود که این حالت را روزت می نامند (کریمی، ١٣٧١).

١-٣-٢- گندم بهاره

گندم‌های بهاره در اواخر زمستان و یا اوایل بهار کشت می شوند و نیاز به یک دوره سرد طولانی ندارند (بهنیا، ١٣٧٣) و هنگامی که روزها به اندازه کافی طولانی شدند به گل می‌روند. این

[1] Spermatophyta
[2] Angiosperm
[3] Monocotyledon
[4] Glumiflora
[5] Poaceae
[6] Triticum

گندم‌ها را می توان همراه با گندم‌های زمستانه در نقاطی که سرمای سخت زمستانی ندارند، کشت نمود (بهنیا، ۱۳۷۳).

۱-۳-۳- گندم بهاره- پائیزه

برخی از ارقام گندم چون نیاز چندانی به یک دوره طولانی ورنالیزاسیون ندارند می توان آن‌ها را در برخی از مناطق هم در پائیز و هم در بهار کاشت، چنین گندم‌هایی را بهاره- پائیزه می‌نامند (بهنیا، ۱۳۷۳).

۱-٤- اهداف تحقیق

در این تحقیق اهداف ذیل مورد توجه قرار گرفته اند:

۱. تغییرات میزان اسیدآمینه پرولین و قند فروکتان در ارقام مقاوم و حساس به سرما در اثر اعمال سطوح مختلف تیمارهای دمایی الگوی سرمای بهاره در مرحله خوشه‌دهی مطالعه شوند.

۲. تنوع ژنتیکی بین ۲۰ رقم گندم با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مشخص گردد.

۳. تنوع ژنتیکی بین ارقام گندم از طریق دو ویژگی فیزیولوژیک پرولین و فروکتان تعیین گردد.

٤. ارتباط بین داده های مولکولی و ویژگی های فیزیولوژیک مورد نظر بررسی گردد.

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱- بررسی منابع

۲-۱-۱- تنوع ژنتیکی، عوامل ایجاد کننده تنوع و نقش آن در برنامه‌های به‌نژادی

تنوع ژنتیکی به هر گونه تنوع موجود در نوکلئوتیدها، ژن‌ها، کروموزوم‌ها و یا ژنوم موجودات اشاره دارد و در ابتدائی‌ترین سطح خود تفاوت در توالی نوکلئوتیدهای DNA درون کروموزوم‌های سلول و برخی از اندامک‌های سلول (میتوکندری و کلروپلاست) است. در هر ارگانیسم دو یا بیشتر آلل ممکن است متفاوت باشد که این تفاوت ناشی از جهش در یکی از آلل‌ها یا در نتیجه تولید مثل جنسی است. همچنین زمانی که کروموزوم‌های نتاج پس از لقاح همانندسازی می شوند، ژن‌ها می توانند در اثر فرآیندی به نام نوترکیبی جنسی دستخوش تغییراتی شوند. جهش‌های بی ضرر و نوترکیبی جنسی در مواردی منجر به ظهور خصوصیات جدید می شود. علاوه بر داشتن ترکیب متفاوت ژنی، گونه‌ها ممکن است در شکل و ترکیب کروموزوم‌ها و یا در تعداد کل کروموزوم‌ها تنوع داشته باشند. بررسی ویژگی‌های کروموزومی که هسته‌شناسی ژنومی[1] نامیده می شود، یکی دیگر از روش های توصیف تنوع ژنتیکی است (Andayani *et al.*, 2001).

روش‌های متداول اصلاح گیاهان زراعی بر اساس گزینش ژنوتیپ‌های مورد علاقه از بین تنوع ژنوتیپی موجود و دست‌ورزی همه یا تعدادی از صفات ممکن در یک ژنوتیپ به منظور تولید یک واریته تجاری می باشد. با استفاده از فنوتیپ گیاهان می توان به این تنوع پی برد ولی با توجه به این که فنوتیپ تحت تأثیر شرایط محیطی است که گیاه در آن رشد می کند و ممکن است این تنوع در اثر تغییرات محیطی ایجاد شود نه تغییرات ژنتیکی، و از سوی دیگر بررسی تنوع ژنتیکی با این روش مستلزم صرف هزینه و دقت زیادی می باشد، بنابراین امروزه روش‌های مولکولی برای بررسی تنوع ژنتیکی بیشتر مورد استفاده قرار می گیرند (کاظمی، ۱۳۷۷).

روش‌های مولکولی ابزار مناسبی برای مطالعه اثر تنوع ژنتیکی گیاهی روی پایداری اکوسیستم‌ها است که می توانند برای ایجاد راهبردهای حفاظتی از ژرم پلاسم باشند. تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی ممکن است از طریق سازوکارهای متفاوتی نظیر جهش[2]، نوترکیبی جنسی[3]،

[1] Karyology
[2] Mutation
[3] Sexual recombination