بسم الله الرحمن الرحيم

مدیریت تحصیلات تکمیلی
دانشکده کشاورزی
گروه اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته اصلاح نباتات

عنوان:

« بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی گندم سیستان (بولانی) با استفاده از نشانگر مولکولی SSR

اساتید راهنما:

دکتر براتعلی فاخری
دکتر حسین اکبری مقدم

استاد مشاور:

مهندس مریم اله دو
تهیه و تدوین:

مهران جهانتیغ

شهریور ۱۳۹۳

تقدیم به

سمبل ایثار و تلاش

پدرم

الهه عطوفت و فداکاری

مادرم

تشکر و قدر دانی

حمد وسپاس بی‌کران خداوندی را که یاریم گردانید تا با بهره از گستره بی‌انتهایی لطفش گذر از مرحله‌ی دیگر از زندگانیم را تجربه نمایم.خداوندی را که بر هر نعمت حق سپاسی برای بندگان مقرر فرموده لذا این تقریر را ابتدا با قدردانی از زحمات پدرم که جای او واقعا خالیست... ومادر عزیزم که وجودم رو مدیون فداکاری های ایشان میدانم،وجودم بر ایشان همه رنج بود و وجودشان برایم همه مهر، و راستی قامتم در خمیدگی قامتشان تجلی یافت.

بر خود لازم می‌دانم از همه‌ی کسانی که در انجام این امر مهم یاری دادند،تقدیر تشکر نمایم.

از اساتید راهنمای پایان نامه آقایان دکتر براتعلی فاخری و دکتر حسین اکبری مقدم که همواره از رهنمود های ارزنده این بزرگواران بهرمند بوده‌ام،صمیمانه تشکر می نمایم.

از خانم مهندس مریم اله‌دو که مشاورت این پایان نامه را تقبل نمودند صمیمانه متشکرم.

خانم دکتر نفیسه مهدی‌نژاد که زحمت داوری این پایان نامه را بر عهده گرفت، آقای دکتر اصغری-پور نماینده محترم تحصیلات تکمیلی که حداکثر تلاش شان را برای مساعدت و همکاری با دانشجویان کارشناسی ارشد مبذول می‌دارند،نیز تشکر می نمایم.

همچنین از کلیه برزگان و دوستان دوران تحصیل و همراهان خوبم مهندس پودینه،مهندس خواجه، مهندس گلشنی،مهندس صالحه نادری،مهندس ارغوان شادلو، مهندس وحیده صباغی، مهندس فهیمه موسوی که از هر کدام به فراخور نکات زیادی را آموختم صمیمانه سپاسگزارم.برای همه‌ی این یاوران از خداوند متعال کامیابی و سلامتی را خواستارم.ایزد منان را شاکرم که مرا توفیق اعطا فرمود تا بتوانم در این مسیر سرافراز بیرون آیم.

این موفقیت را مدیون عزیزانی هستم که خالصانه مرا یاری نمودند از همکاری صمیمانه آنان، تقدیر وتشکر می نمایم.

چکیده

اولین گام در زمینه اصلاح توده های بومی گندم سیستان دسترسی به منابع ژنتیکی آن وبررسی تنوع ژنتیکی موجود می باشد ولی تاکنون اطلاعات موجود در زمینه‌ی توده های بومی گندم سیستان از طریق بررسی های مورفولوژیکی که متاثر از محیط هستند ونمی‌توانند نماینده کل ژنوم باشند،بدست آمده است.لذا استفاده از نشانگرهای **DNA** که چند شکلی را در سطح **DNA** اشکار می کنند،می توانند به عنوان روش های مکمل داده های مورفولوژیکی،روابط ژنتیکی توده‌های بومی گندم سیستان را به طور کارآتر تعیین کنند.به همین دلیل تنوع ژنتیکی ۶۹ توده بومی گندم سیستان با استفاده از نشانگر مولکولی **SSR** مورد بررسی قرار گرفت.استخراج **DNA** به روش تغییر یافته دلاپورتا و همکاران انجام گرفت.در مجموع ۱۵ جفت آغازگر مورد آزمایش قرار گرفت که ۸ مورد از انها تولید الگو های چند شکل میان توده‌ها نمودند(با میانگین پلی مورفیسم ۶۱/۳۷).تجزیه خوشه ای بر اساس ضریب تشابه جاکارد و به روش **UPGMA** ،زنوتیپ های مورد مطالعه در سطح تشابه ۰/۷۰ در سه گروه قرار داد.دامنه تشابه در بین ۶۹ توده‌ی بومی گندم سیستان از ۰/۵۳ تا ۱/۰۰ می باشد.تجزیه خوشه ای برای صفات کمی بر اساس فاصله اقلیدوسی و روش **UPGMA** انجام گرفت و تطابق بسیار کمی(۰/۰۰۲۱)بین صفات کمی با نشانگر مولکولی **SSR** دیده شد.نتایج بدست آمده از مقدار درصد پلی مورفیسم در این پژوهش نشان دهنده ی تنوع زنتیکی بسیار زیاد میان این توده‌ها می باشد،در نتیجه می توان از این توده‌ها جهت معرفی ژنهای جدید و همچنین در پژوهش‌های آینده می‌توان توده‌های برتر را شناسایی کرد و جایگزین این توده از اکوتیپ کرد.

کلمات کلیدی: گندم بومی سیستان، تنوع ژنتیکی، نشانگر SSR

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه ۲
۱-۲- اهداف اصلاحی گندم ۵
۱-۳- فرضیه ها و اهداف تحقیق ۶
۱-۳-۱ فرضیه ها ۶
۱-۳-۲ اهداف تحقیق ۶
۱-۴ جنبه جدید بودن و نوآوری طرح ۷

فصل دوم: مروری بر منابع

۲-۱- گیاه شناسی گندم ۹
۲-۲- خاستگاه و ژنتیک گندم ۱۰
۲-۳- تنوع ژنتیکی ۱۲
۲-۴- نشانگرهای ژنتیکی ۱۳
۲-۴-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی ۱۳
۲-۴-۲- نشانگرهای پروتئینی ۱۴
۲-۴-۳- نشانگرهای مولکولی ۱۴
۲-۵- تکنیک SSR ۱۶
۲-۶- منبع تغییر پذیری/ پلی مرفیسم ۱۶
۲-۶-۱- DNA الگو ۱۷
۲-۶-۲- طبیعت آغازگر مورد استفاده ۱۷
۲-۶-۳- روش تشخیص ۱۸
۲-۷- کاربرد مارکرهای SSR ۱۹
۲-۷-۱- انگشت نگاری ژنومی ۱۹
۲-۷-۲- تنوع ژنتیکی و آنالیز فیلوژنتیکی ۱۹
۲-۷-۳- برچسب زنی ژن (Gene tagging) و گزینش به کمک مارکر ۲۰
۲-۷-۴- تعیین تناوب موتیف SSR ۲۱
۲-۸- واکنش زنجیره ای پلی مراز ۲۲
۲-۸-۱- مراحل انجام واکنش PCR ۲۲
۲-۸-۲- ویژگی های یک آغازگر مناسب در واکنش PCR ۲۳
۲-۸-۳- مهارکننده ها و تشدیدکننده های PCR ۲۳
۲-۹- تجزیه های آماری بر روی داده های حاصل از بررسی ۲۴
۲-۹-۱- تشکیل ماتریس صفر ویک ۲۴
۲-۹-۲- آزمون مانتل ۲۴

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۹-۲- روش های آماری مطالعه تنوع زنتیکی ۲۵
۴-۹-۲- شاخص تنوع شانن: ۲۷
۵-۹-۲- فاصله ژنتیکی ۲۸
۶-۹-۲- ضریب نی و لی (GD NL) ۲۸
۷-۹-۲- ضریب جاکارد (GDJ) ۲۸
۸-۹-۲- گروه بندی افراد ۲۹
۹-۹-۲- تجزیه خوشه ای ۲۹
۱۰-۹-۲- تجزیه مولفه های اصلی ۲۹
۱۱-۹-۲- محاسبه ضریب کوفنتیک ۳۰
۱۰-۲- مروری بر تحقیقات انجام شده ۳۰

فصل سوم: مواد و روش ها

۱-۳- مواد گیاهی ۳۷
۲-۳- کاشت توده های بذری ۳۹
۳-۳- استخراج DNA ۴۲
۱-۳-۳- مراحل استخراج DNA ۴۲
۴-۳- تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده ۴۴
۵-۳- طراحی آغازگرها ۴۵
۶-۳- طرز تهیه آگارز ۴۷
۷-۳- ارزیابی DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه بیوفتومتر ۴۸
۸-۳- دستورالعمل SSR ۴۹
۹-۳- رقیق کردن آغازگرها ۵۰
۱۰-۳- برنامه واکنش PCR ۵۰
۱۱-۳- بررسی محصول PCR با الکتروفورز در ژل آگارز ۵۱

فصل چهارم: نتایج و بحث

۱-۴- نتایج حاصل از استخراج DNA ۵۳
۲-۴- تجزیه و تحلیل داده ها ۵۴
۱-۲-۴- بررسی تنوع ژنتیکی ۵۴
۲-۲-۴- معیارهای چند شکلی ۵۶
۱-۲-۲-۴- تعداد آلل هر آغازگر ۵۶
۲-۲-۲-۴- تنوع ارقام و شاخص شانون ۵۶
۳-۲-۴- تجزیه خوشه ای داده های مولکولی با نرم افزار NTSYS ۵۹
۴-۲-۴- تجزیه خوشه ای داده های کمی ۶۴

فهرست مطالب

عنوان	صفحه

۳-۴- نتیجه گیری کلی ۶۹
منابع ۷۳

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول۱-۲- میزان نکویی برازش براساس ضریب کوفنتیک ۳۰
جدول۱-۳ اسامی ارقام مورد بررسی ۳۷
جدول ۲-۳- عناصر ماکرو ۴۰
جدول۳-۳- عناصر میکرو ۴۰
جدول ۴-۳- استوک آهن ۴۱
جدول۵-۳- مقادیر مورد نیازاز محلول های استوک جهت تهیه ۱ لیتر محلول هوگلند ۴۱
جدول۶-۳- مقادیر مورد نیازاز محلول های استوک جهت ساخت بافر استخراج DNA ۴۴
جدول۷-۳- محلول اتیدیوم بروماید ۴۵
جدول ۸-۳- بافر نمونه گذاری (LOADING BUFFER) ۴۵
جدول۹-۳- بافر TAE(1X) ۴۵
جدول ۱۰-۳- اجزاء و مقادیر مورد نیاز آنها در واکنش زنجیره ای پلیمراز برای حجم ۲۵ میکرولیتر ۴۹
جدول ۱۱-۳ برنامه واکنش PCR ۵۰
جدول۱-۴- جدول تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) پنج جمعیت جغرافیایی گندم ۵۶
جدول ۲-۴- مقادیر آلل واقعی و آلل موثر برای جایگاه های مورد مطالعه ۵۷
جدول ۳-۴- مقادیر مربوط به محتوای اطلاعاتی چند شکل آغازگرها ۵۸
جدول۴-۴- مقادیر ویژه،نسبت واریانس توجیه شده توسط هر مولفه و واریانس تجمعی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی در مورد اغازگر های مورد استفاده ۶۲
جدول۵-۴- مقادیر ویژه،نسبت واریانس توجیه شده توسط هر مولفه و واریانس تجمعی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی در مورد ۳۳ متغیرمورد استفاده داده های کمی ۶۵

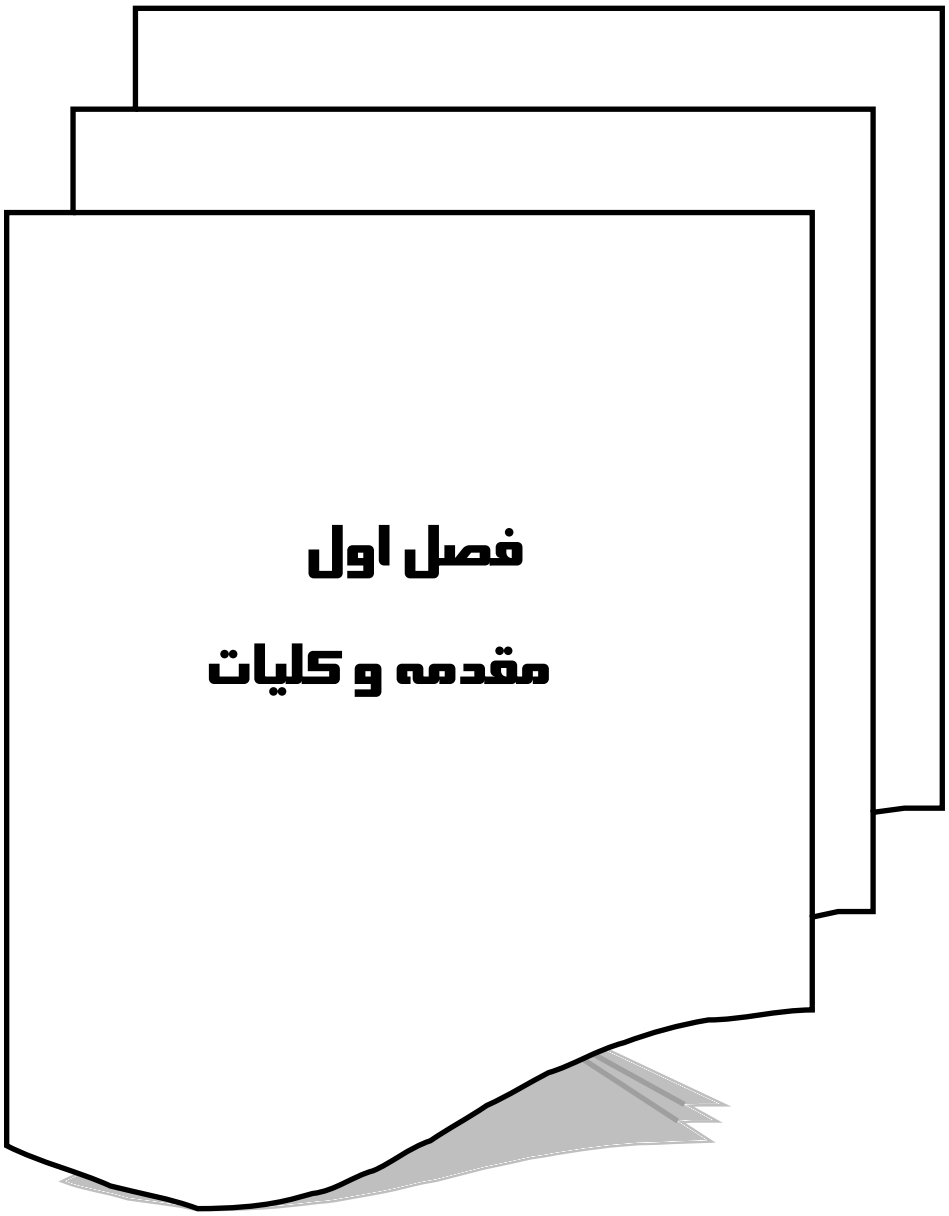
فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۴- نمونه ای از DNA استخراج شده ۵۳
شکل۲-۴- ۵۴
شکل۳-۴- سهم تنوع بین جمعیتها و درون جمعیتها از تنوع کل در بین هفت جمعیت جغرافیایی گندم ۵۵
شکل ۴-۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای ۶۹ رقم مورد مطالعه بر مبنای روش UPGMA حاصل از چند شکلی نشانگرهای SSR ۶۲
شکل۵-۴- نمودار دوبعدی مربوط به تجزیه به مولفه های اصلی نمونه های موردمطالعه ۶۳
شکل۶-۴- نمودار سه بعدی مربوط به تجزیه به مولفه های اصلی نمونه های مورد مطالعه ۶۴
شکل ۷-۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای ۶۹ رقم مورد مطالعه بر مبنای روش UPGMA حاصل از چند ۶۶
شکل۸-۴- نمودار پراکنش گروهها بر مبنای دو مولفه اول و دوم حاصل از تجزیه مولفه های اصلی ۶۹ رقم اکوتیپ گندم بومی سیستان ۶۸
شکل۹-۴- نمودار سه بعدی پراکنش ارقام مربوط به داده های کمی ارقام بومی گندم سیستان....۶۹

فهرست اشکال

عنوان صفحه



۱-۱ مقدمه

سطح زیر کشت گندم در جهان به طور متوسط ۲۱۹میلون هکتار بوده‌است که در سالهایی که خشکسالی قسمتهای وسیعی از جهان را در بر گرفته‌بود مثل سال ۲۰۰۳ الی ۲۰۰۴ که میزان سطح زیر کشت به کمترین حد خود یعنی۲۱۰میلیون هکتار رسیده بود. اما با توجه به اینکه خشکسالی تا حد زیادی برطرف شده است روند صعودی سطح زیر کشت گندم نیز شروع شده واین روند تا رسیدن به حدود ۲۲۰ میلیون هکتار ادامه خواهد داشت. به هر حال اکنون افزایش تولید از طریق افزایش سطح زیر کشت مد نظر جهانیان نمی‌باشد و عموماً کشورها به افزایش عملکرد درسطح هکتار معتقد هستند و در این راستا تلاش می کنند. میزان عملکرد گندم در هکتار به طور متوسط در سطح جهانی برابر ۲,۴۶ تن در سال‌های ۱۹۹۵ تا ۱۹۹۶ بوده‌است که این متغیر در سال‌های ۲۰۱۱ تا ۲۰۱۲ به حدود ۳ تن افزایش یافته‌است (Faosta, 2012).

در ایران سطح زیر کشت گندم حدود۶,۴۱ میلیون هکتار برآورد شده است که۳۷,۴۲ درصد آن آبی و ۶۲,۵۸ درصد به صورت دیم بوده‌است. استان خراسان با ۱۰,۸۵ درصد کل اراضی گندم کشور، بیشترین سطح را به خود اختصاص داده است. پس از آن استان های فارس، آذربایجان شرقی، کردستان، خوزستان، همدان و کرمانشاه به ترتیب با ۹,۳۲،۶,۷۲،۶,۵۹،۶,۲۹،۶,۸ درصد کل اراضی گندم کشور مقام‌های دوم تا هفتم را دارا می‌باشند ،به عبارت دیگر بیش از نیمی (۵۲,۵۱ درصد) اراضی گندم در این هفت استان کشت شده است. کمترین سطح نیز باحدود ۱۳ هزار هکتار (۰,۲۰درصد اراضی گندم) متعلق به استان هرمزگان می‌باشد.

میزان تولید گندم در سال ۱۳۸۴ حدود ۱۳,۴۴ میلیون تن برآورد شده است که ۶۴,۷۷ درصد آن از کشت آبی و مابقی(۳۵,۲۳درصد) از کشت دیم بدست آمده است. استان فارس علیرقم رتبه دوم از نظر سطح با ۱۳,۷۹درصد از تولید گندم کشور در جایگاه نخست قرار گرفته‌است واستان‌های

خراسان، گلستان، خوزستان، کرمانشاه و آذربایجان غربی به ترتیب با ۲۱،۵،۹۵،۸،۰۶،۱۱،۲۳.درصد از تولید گندم کشور در مقام‌های دوم تا ششم کشور قرار دارند. شایان ذکر هست که حدود ۵۲،۶۸ درصد از گندم کشور در شش استان مذکور تولید شده است و سهم سایر استان ها ۴۷،۳۲ درصد بیشتر نبوده است. گیلان با سهم ۰/۱۲ درصد درتولید گندم کشور در رتبه اخر قرار گرفته است. عملکرد گندم ابی کشور ۳۶۲۹ و عملکرد گندم دیم کشور ۱۱۸۱ کیلوگرم در هکتار بوده است. بیشترین عملکرد آبی گندم با ۴۸۷۹ کیلوگرم در هکتار متعلق به استان تهران کمترین آن با۱۵۸۰ کیلوگرم در هکتار به استان بوشهر تعلق دارد. استان‌های گلستان و بوشهر نیز به ترتیب با متوسط تولید ۲۷۵۸ و ۱۹۲ کیلوگرم در هکتاردر بین استان‌های گندم دیم کشور در جایگاه نخست و آخر قرار گرفته‌اند. در ایران گندم آبی در چهار منطقه مختلف،گرم و مرطوب شمال، گرم و خشک جنوب، معتدل و سرد کشت می‌شود .در بین این مناطق منطقه معتدل بیش از۷/۳۰ درصد از سطح زیر کشت گندم‌های بهاره و بینابین را به خود اختصاص داده است (Jalal Kamali and Duveirller, 2008)

در منطقه سیستان که روزگاری به انبار غله ایران معروف بوده، گندم عمده‌ترین و اساسی‌ترین محصول زراعی و از مهم‌ترین منابع کالری و پروتئین مورد نیاز مردم است. گندم بولانی دارای خصوصیاتی است که اگر در منطقه‌ی سیستان کشت شود حتماً باید در کشت‌های اولیه یعنی محدوده زمانی مهر ماه تا آبان ماه کشت شود و اگر از این زمان گذر کردیم و نتوانستیم ارقام آن را بکاریم بهتر و منطقی‌تر است برای اینکه عملکرد محصول بهتری هم از نظر دانه و هم از نظر کاه و کلش داشته باشیم از این ارقام برای کشت در ماه های پس از آبان ماه استفاده نکنیم، چون گندم بولانی دارای تیپ رشد بهاره نسبتاً دیررس با ارتفاع ۱۳۰-۱۰۰سانتی‌متر، حساس به خوابیدگی، حساس به اکثر بیماری‌های غلات و دارای درجه‌ی تحمل به خشکی و شوری و گرمای بالا می-باشد، لذا در ماه‌های غیر از مهر و آبان بهتر است از گونه‌هایی با دوره‌ی رویشی و زایشی کوتاه‌تری استفاده کنیم.

انتخاب آگاهانه از ژنوتیپ‌های مطلوب توسط کشاورزان از مرحله ابتدایی، به انضمام انتخاب طبیعی، افزایش تنوع و ایجاد مخزن ژنی غنی منبعی از تنوع یافت شده در گیاهان امروزی می-باشد(Khalighi, 2008) تنوع ژنتیکی برای حمایت کردن از یک محصول به منظور تهیه ژن‌های جدید جهت افزایش عملکرد، سازگاری و مقاومت به بیماری‌ها لازم و ضروری می‌باشد (Rajesh *et al.*, 2008). تعیین میزان تنوع ژنتیکی در مواد گیاهی گام اولیه برای شناسایی، حفظ و نگهداری ذخایر توارثی و نیز پایه اساسی و اولیه برای تحقیقات ژنتیکی و برنامه های اصلاحی می‌باشد.

در گذشته ژرم پلاسم‌ها از لحاظ صفات اقتصادی و مورفولوژیک مورد مطالعه قرار می‌گرفتند اما اخیراً جهت بررسی تنوع ژنتیکی استفاده از نشانگرهای مولکولی رواج یافته است. از مزایای کاربرد نشانگرهای مولکولی شناسایی مستقیم تنوع موجود در توالی‌های DNA گیاهان مورد بررسی می-باشد (Jewell, 2006). از آنجایی که در مطالعه تنوع ژنتیکی گندم بولانی نشانگر SSR معمولاً به ندرت بکار گرفته شده است. در این پژوهش تنوع ژنتیکی توده های گندم بولانی در سیستان با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR بررسی می‌شود.

نشانگرهای مولکولی ریزماهواره در حال تبدیل به ابزار مهمی برای محدوده وسیعی از کاربردها نظیر مطالعات نقشه ژنوم و بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشند (Jewell, 2006). پلی مورفیسم بالا و آسانی نسبی در اسکوربندی و تجزیه داده‌های حاصل، از ویژگی‌های مهم نشانگرهای ریزماهواره است که موجب توسعه مطالعات آن شده است (Zane *et al.*, 2002). گذشته از این ریزماهوره‌ها درجه بالایی از انتقال پذیری میان گونه‌ها را نشان داده‌اند. همبارز بودن و پراکنش ریزماهواره‌ها در تمام ژنوم از دیگر مزایای مهم این نشانگرها می‌باشد. از آنجا که برای یک جایگاه که آغازگر ریزماهواره بر اساس آن طراحی می‌شود، آلل‌های متعددی یافت می‌شود، این نشانگر برای بررسی تنوع ژنتیکی قابلیت بالایی دارد (Jewell, 2006). حال پس از اینکه مسأله اصلی این پژوهش را بیان نمودیم به ذکر سئوالات اصلی این پژوهش می‌پردازیم:

۱. آیا توده‌های بومی گندم سیستان دارای تنوع ژنتیکی هستند؟

۲. آیا نشانگر SSR قادر به بررسی تنوع ژنتیکی توده های بومی گندم سیستان می‌باشد؟

۲-۱- اهداف اصلاحی گندم

امروزه با وجود کشت انواع محصولات زراعی در اقصی نقاط جهان و کاهش اتکای بشر به گندم،این محصول استراتژیک هنوز درکانون توجه جهانیان قرار دارد وتحقیقات مختلفی در مورد بهبود کمی وکیفی ان در حال انجام است.افزایش عملکرد وکیفیت گندم، مقاومت به بیماریها و آفات، تحمل به گرما، سرما، شوری و اسیدیته خاک، تحمل به عدم تعادل ریز مغذی‌ها، تغییر رنگدانه‌ها مقاومت به جوانه زنی قبل از برداشت افزایش کارایی مصرف نیتروژن سرعت پر شدن دانه جزو هدف های مهم اصلاح گندم به شمار می‌روند (Soufizadeh *et al*., 2006). همچنین تغییراتی در خصوصیات ظاهری گیاه نظیر افزایش قطر واستحکام ساقه، افزایش طول سنبله، افزایش تعداد سنبلچه و تعداد گلچه ها، افزایش سطح برگ در گیاه به منظور افزایش تولید دانه بوجود آمده است (Rajaram and Borlaug,1997).

افزایش جهانی تولید گندم به منظور افزایش سطح زیر کشت، بهبود مدیریت گیاه، و توسعه واریته‌های پر محصول نسبت داده می‌شود (Feil,1992). نقطه عطف اصلاح گندم در زمینه عملکرد و پتانسیل عملکرد با معرفی ارقام پاکوتاه گندم در شروع انقلاب سبز اغاز شد. از آن زمان عملکرد گندم به طور پیوسته افزایش یافته است (Evert *et al*., 2005).

مقدار پروتئین دانه یکی از مهمترین معیار های کیفیت در گندم میباشد (Feil,1997). هر چند هنوز در مورد رابطه بین مقدار پروتئین دانه وکیفیت پخت تردید وجود دارد (*et al* .,2006. Sufizadeh).

بطور کلی واریته‌های مدرن امروزی هر چند نسبت به اجداد خود دارای عملکرد بالاتری هستند ولی کیفیت پخت انها کاهش یافته است. در صورتیکه تمایل بر این است که این کاهش درصد پروتئین به افزایش زیاد زیست توده دانه به همراه افزایش ناچیز درصد نیتروژن نسبت داده شود.

بطور کلی واریته های مدرن امروزی هر چند نسبت به اجداد خود دارای عملکرد بالاتری هستند ولی کیفیت پخت آنها کاهش یافته است. در صورتیکه تمایل بر این است که این کاهش درصد پروتئین به افزایش زیاد زیست توده دانه به همراه افزایش ناچیز درصد نیتروژن نسبت داده شود (Sufizadeh *et al*., 2006). بعضی از مطالعات نشان داده است که ارقام جدید گندم دارای کارایی مصرف نیتروژن بالاتری هستند که این امر می‌تواند ناشی از بهبود کارایی جذب نیتروژن یا افزایش کارایی مصرف نیتروژن در این ارقام باشد (Brancourt *et al*., 2003).

در ایران نیز با توجه به خشک و نیمه خشک بودن این سرزمین،تلاش‌های بسیاری جهت افزایش سطح زیر کشت گندم و یا معرفی ارقام پرمحصول و سازگار به شرایط اقلیمی صورت گرفته و یا در حال انجام است. با این همه، توجه به بهبود کیفیت نانوایی گندم‌های تولیدی کشور لازم به نظر می‌رسد ، زیرا کیفیت نازل برخی از ارقام گندم و در نتیجه قابل مصرف نبودن بخش عمده نان‌های تواید شده از آنها بدلیل خمیر بودن ،زود بیات شدن یا ماکول نبودن،سبب روانه شدن انها به سوی سطل‌های زباله منازل می‌شود. بنابراین، ایجاد و معرفی لاین‌ها و ارقام با کیفیت نانوایی مناسب و عملکرد مطلوب باید به عنوان امری ضروری شناخته شود.

۳-۱- فرضیه‌ها و اهداف تحقیق

۱-۳-۱ فرضیه ها

۱. توده‌های بومی گندم سیستان دارای تنوع ژنتیکی می‌باشد.
۲. نشانگر SSR به خوبی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی گندم سیستان را نشان خواهد داد.
۳. .تنوع ژنیتیکی این اکوتیپ ها با تنوع حاصل از صفات مورفولوژیکی ارتباط دارند.

۲-۳-۱ اهداف تحقیق

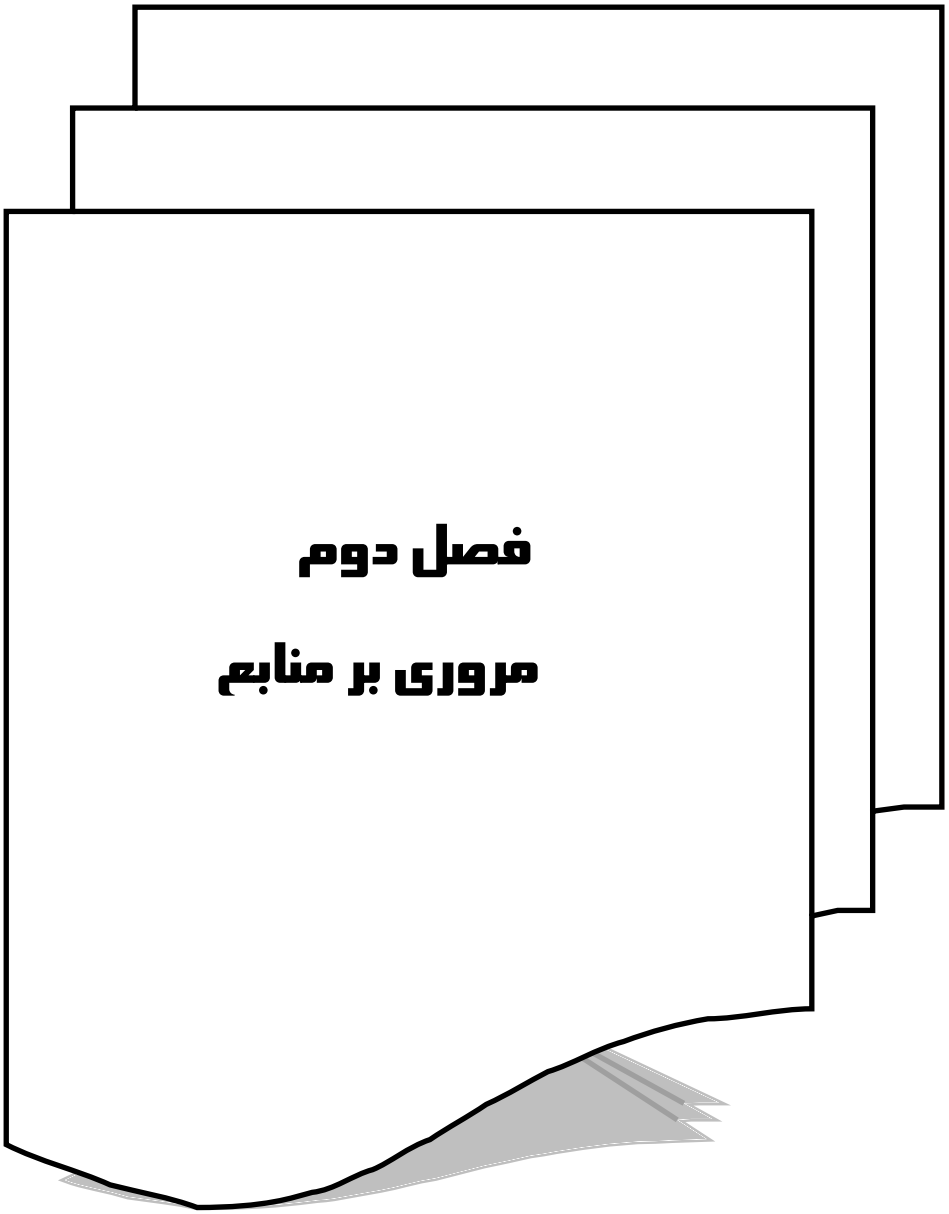
۱. .بررسی تنوع ژنتیکی ارقام و توده‌های گندم موجود با استفاده از نشانگر SSR
۲. گروه‌بندی ارقام بر اساس فاصله ژنتیکی
۳. فراهم اوردن اطلاعات مورد نیاز به منظور به نژادی این گیاه

۴. استفاده از نتایج این تحقیق در برنامه های اصلاحی برای بهبود ساختار ژنتیکی

۵. حفظ ذخایر ژنتیکی موجود در ارقام بومی گندم سیستان

۱-۴ جنبه جدید بودن و نوآوری طرح

مارکر SSR به علت داشتن خصوصیاتی از قبیل فراوانی زیاد، حضور در همه جا، توان تنوعی بالا در طبیعت و داشتن محتوای چند شکلی بالا، مهمترین مارکر برای بررسی تنوع ژنتیکی از جمله گندم که مسأله اصلی این تحقیق می‌باشد است. شایان ذکر است استفاده از این نشانگر تا به حال برای این جامعه انجام نشده است.



فصل دوم

مروری بر منابع

۱-۲- گیاهشناسی گندم

گندم معمولی یا گندم نان (Triticum aestivum) گیاهی است تک لپه، خودگشن، روز بلند و یکساله. از نظر سطح پلوییدی، گندم به سه گروه دیپلویید (۲n=۱۴)، تتراپلویید (۲n=۲۸) و هگزاپلویید (۲n=۴۲) تقسیم بندی می‌شود. ساقه‌های گندم راست، استوانه‌ای و بند بند یا ماشوره ای است. طویل‌ترین میانگره، بالاترین آنهاست که به سنبله ختم می‌شود. برگ‌های دوسویه به طور متناوب در دو ردیف ساقه قرار دارند.

برگ‌های فاقد دمبرگ وشامل زبانک وگوشوارک می باشند. پهنک برگ نواری شکل دارای رگبرگ‌های موازی و غلافی شکافدار می‌باشد. اهمیت برگ انتهایی ساقه گندم (برگ پرچم) که جوان‌تر از بقیه برگ‌ها می باشد و دیرتر از سایر برگها بوجود می آید، بسیار زیاد است و نقش مهمی در تامین مواد فتوسنتزی برای دانه‌ها دارد. گل آذین گندم سنبله است. محور اصلی از تعدادی گره و میانگره‌های کوتاه تشکیل شده است و سنبلچه‌ها بر روی محور اصلی بوجود می‌آیند که هر یک سه تا پنج گلچه می باشند. پس از تلقیح معمولا در هر سنبلچه سه گل بارور گردیده و به دانه تبدیل می شوند. گندم گیاهی دوجنسی با گلهای ناقص است. مادگی به کلاله دو شاخه پر مانند ختم می‌شود. تعداد پرچم ها اغلب به سه عدد و به ندرت به شش عدد یا یک عدد می باشد (خدابنده،۱۳۷۱). دانه گندم مانند سایر غلات از نوع گندمه، خشک و ناشکوفا می‌باشد. وزن هزار دانه در انواع گوناگون گندم بین ۵۲- ۱۵گرم است (خدابنده، ۱۳۷۱). دانه رسیده گندم از نظر ساختمانی شامل قسمتهای فرابر (پریکارپ)، پوسته حقیقی بذر، لایه آلئورون، آندوسپرم و جنین است. اجزای شیمیایی دانه گندم را کربوهیدرات‌ها،پروتئین‌ها،چربی، ویتامین ها، آب و مواد معدنی تشکیل می دهند. شایع‌ترین کربوهیدرات که در دانه ذخیره می شود نشاسته است که ۶۳ درصد

از ماده خشک دانه گندم کامل را شامل می‌شود. پروتئین‌ها منبع نیتروژن در بذر بوده که بر اساس خصوصیات حلالیت آنها به چهار گروه شامل: آلبومین‌ها،گلوبولین‌ها،پرولامین‌ها و گلوتامین‌ها تقسیم می شوند (خدابنده، ۱۳۷۱).

۲-۲- خاستگاه و ژنتیک گندم

گندم نان (Triticum aestivum L) یک گیاه آلوهگزاپلوییید (AABBDD) با ۴۲ کروموزوم‌های گندم در سه گونه دیپلوئید دارای ژنوم A، B وD بوجود آمده است (Kimber And sears, 1987).

دلایل لازم برای اینکه منشا ژنوم A در گندم‌های تتراپلوییید و هگزاپلوییید T.monococum می-باشد توسط Melbon و Thampson (۱۹۲۷) ارایه شده است (اهدایی،۱۳۷۲). بر اساس شباهت-های مورفولوژیکی و توزیع جغرافیایی،این احتمال وجود دارد که ژنوم A گندم های مختلف از T.aegilopides و یا از T.thaoudar بدست آمده باشد. مدارک باستان شناسی هم نشان می دهد که قدمت کشت گندم تتراپلوئید به قدمت گندم دیپلوئید بوده است (اهدایی،۱۳۷۲). بنابراین ژنوم Aگندم تتراپلوییید باید بوسیله فرم وحشی دیپلوئید ایجاد شده باشد .بعدها با استفاده از روش‌های مولکولی نتیجه گرفته شد که منشا ژنوم A در T.monococum وT.aegilopides و منشا ژنوم A در T.aestivum و T.diccocum از T.urartu می‌باشد (ارزانی،۱۳۸۳).

مطالعات سیتوژنتیکی Dvark و همکاران (۱۹۹۳) روی گونه‌های دهنده ژنوم A نشان داد که T.zhukovskyi دو جفت ژنوم A دارد.نتایج مطالعات روی تنوع و چند شکلی گیاهان اینکورن زراعی و وحشی نیز دلالت بر این دارد که ژنوم A گندم های پلی پلوییید از T.urartu بدست آمده است(ارزانی،۱۳۸۳).

Sasanuma و همکاران(۱۹۹۶) با کمک چندین تکنیک RFLP و کلون سازی مولکولی DNA به این نتیجه رسیدند که به احتمال قوی T.speltoides دهنده ژنوم B به گندم های تتراپلوئید و هگزاپلوئید است ولی اظهار نظر قطعی را منوط به انجام مطالعات بیشتر دانسته اند. یک توری قوی این است که ژنوم B پس از ورود به گندم هاب تتراپلوئید وهگزاپلوئید در طول دوره تکاملی تغییر