بسم الله الرحمن الرحيم

پردیس کشاورزی ومنابع طبیعی
گروه زراعت واصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته

مهندسی کشاورزی گرایش بیوتکنولوژی در کشاورزی

عنوان پایان نامه

ارزیابی مقاومت به خشکی ژنوتیپ‌های گندم (*Triticum aestivum*) در شرایط این ویترو (در شیشه) و این ویوو (در زیوه)

استاد راهنما:

دکتر عزت‌اله فرشادفر

نگارش:

پروین الیاسی سرزلی

دی ماه ۱۳۹۰

عنوان صفحه

فصل اول ۳
۱-۱- مقدمه ۳
۱-۲- بررسی منابع و کلیات ۶
۱-۲-۱- گندم ۶
۱-۲-۱-۱- سطح زیرکشت و میزان عملکرد گندم ۶
۱-۲-۲- خشکی ۷
۱-۲-۲-۱- تعریف تنش ۷
۱-۲-۲-۲- تعریف خشکی ۷
۱-۲-۳- تأثیر خشکی بر گیاهان ۸
۱-۲-۴- مفهوم و مکانیزم های مقاومت به خشکی ۸
۱-۲-۴-۱- گریز یا فرار از خشکی ۸
۱-۲-۴-۲- اجتناب از خشکی ۹
۱-۲-۴-۳- تحمل خشکی ۹
۱-۲-۴-۴- بهبود خشکی ۹
۱-۲-۵- بررسی نتایج تحقیقات مشابه (بخش این ویوو) ۱۰
۱-۲-۵-۱- صفات زراعی ۱۰
۱-۲-۵-۲- شاخص های مقاومت به خشکی ۱۱
۱-۲-۵-۳- صفات فیزیولوژیکی ۱۲
۱-۲-۵-۴- انتقال مجدد ماده خشک از اندام های رویشی به دانه ۱۲
۱-۲-۶- کاربرد فن آوری های جدیدتر ۱۳
۱-۲-۷- کشت بافت گیاهی ۱۴
۱-۲-۷-۱- کشت بافت گیاهی و اهمیت آن ۱۴
۱-۲-۷-۲- انواع کشت درون شیشه ای ۱۵
۱-۲-۷-۳- کشت جنین ۱۵
۱-۲-۷-۴- جنبه های کاربردی کشت جنین ۱۶

۱-۲-۷-۵- انواع کشت جنین ۱۶
۱-۲-۷-۵-۱- کشت جنین بالغ ۱۶
۱-۲-۷-۵-۲- کشت جنین نابالغ ۱۷
۱-۲-۷-۶- ترکیب محیط کشت ۱۸
۱-۲-۷-۶-۱- عناصر معدنی ۱۸
۱-۲-۷-۶-۲- ویتامین ها ۱۸
۱-۲-۷-۶-۳- منبع کربن ۱۸
۱-۲-۷-۶-۴- هورمون های رشد گیاهی ۱۹
۱-۲-۷-۶-۵- اکسیژن ۱۹
۱-۲-۷-۶-۶- نور ۱۹
۱-۲-۷-۶-۷- درجه حرارت ۲۰
۱-۲-۷-۷- کشت بافت و بررسی تنش خشکی ۲۰
فصل دوم ۲۲
۲-۱- ژنوتیپ های مورد بررسی ۲۳
۲-۲- موقعیت جغرافیایی محل اجرای آزمایش ۲۴
۲-۳- خصوصیات طرح آزمایشی و عملیات زراعی ۲۴
۲-۴- نحوه اندازه گیری صفات ۲۷
۲-۴-۱- صفات اندازه گیری شده در مزرعه ۲۷
۲-۴-۱-۱- روز تا گلدهی (DF) ۲۷
۲-۴-۱-۲- ارتفاع بوته (PH) ۲۷
۲-۴-۱-۳- میزان کلروفیل بر اساس واحد اسپد (SPAD) ۲۷
۲-۴-۱-۴- روز تا رسیدگی فیزیولوژیک (DPM) ۲۷
۲-۴-۱-۵- هدایت روزنه ای (SC) ۲۷
۲-۴-۱-۶- کلروفیل فلورسنس (CHF) ۲۷
۲-۴-۱-۷- دورهٔ پر شدن دانه (SFP) ۲۸
۲-۴-۱-۸- تعداد سنبله در متر مربع (NSP) ۲۸

۲-۴-۱-۹- عملکرد دانه در متر مربع (Y) ۲۸
۲-۴-۱-۱۰- تعداد دانه در سنبله (NSPS) ۲۸
۲-۴-۱-۱۱- طول سنبله (SL) ۲۸
۲-۴-۱-۱۲- طول پدانکل (PL) ۲۸
۲-۴-۱-۱۳- نسبت پدانکل به ارتفاع (PL/PH) ۲۸
۲-۴-۱-۱۴- شاخص برداشت (HI) ۲۸
۲-۴-۱-۱۵- تراکم سنبله (SD) ۲۹
۲-۴-۱-۱۶- وزن هزار دانه (TSW) ۲۹
۲-۴-۱-۱۷- اندازه گیری صفات مرتبط با انتقال مجدد مواد فتوسنتزی به دانه ۲۹
۲-۴-۲- صفات اندازه گیری شده در آزمایشگاه ۳۰
۲-۴-۲-۱- تعیین میزان پایداری غشاء سلولی (CMS) ۳۰
۲-۴-۲-۲- میزان آب نگهداری شده در برگ های بریده شده (ELWR) ۳۱
۲-۴-۳-۲- محتوای آب نسبی برگ (RWC) ۳۱
۲-۴-۲-۴- میزان آب نسبی از دست رفته (RWL) ۳۱
۲-۴-۲-۵- میزان پرولین برگ پرچم (PC) ۳۲
۲-۵- محاسبهٔ شاخصهای مقاومت به خشکی ۳۳
۲-۵-۱- شاخص حساسیت به تنش (SSI) ۳۳
۲-۵-۲- شاخص تحمل (TOL) ۳۳
۲-۵-۳- شاخص بهرهوری متوسط (MP) ۳۳
۲-۵-۴- میانگین هندسی بهرهوری (GMP) ۳۳
۲-۵-۵- شاخص تحمل تنش (STI) ۳۳
۲-۵-۶- شاخص عملکرد (YI) ۳۳
۲-۵-۷- شاخص پایداری عملکرد (YSI) ۳۳
۲-۶- شاخص انتخاب چندگانه (MSI) ۳۴
۲-۷- شاخص پاسخ به خشکی (DRI) ۳۴
۲-۸- بخش کشت بافت ۳۴

۲-۹- مواد گیاهی ۳۴
۲-۱۰- محل انجام آزمایش ۳۵
۲-۱۱- روش اجرای آزمایش ۳۵
۲-۱۲- تکنیک های مورد نیاز در کشت بافت گیاهی ۳۵
۲-۱۲-۱- ضدعفونی ظروف کشت و سایر وسایل ۳۵
۲-۱۲-۲- محیط کشت ۳۵
۲-۱۲-۳- ضدعفونی مواد گیاهی ۳۵
۲-۱۲-۳-۱- ضدعفونی بذور نابالغ گیاهی ۳۶
۲-۱۲-۳-۲- ضدعفونی بذور بالغ گیاهی ۳۶
۲-۱۲-۴- انتخاب محیط کشت ۳۶
۲-۱۲-۵- تهیه محیط کشت ۳۷
۲-۱۲-۵-۱- مواد غذایی پر مصرف ۳۷
۲-۱۲-۵-۲- مواد غذایی کم مصرف ۳۷
۲-۱۲-۵-۳- ویتامین ها ۳۷
۲-۱۲-۵-۴- محلول آهن ۳۷
۲-۱۲-۵-۵- تهیه استوک توفوردی ۳۷
۲-۱۲-۵-۶- تهیه یک لیتر محیط کشت MS از محلول های مادری ۳۸
۲-۱۳- کشت جنین ۳۸
۲-۱۳-۱- مرحله القاء کالوس ۳۹
۲-۱۳-۲- مرحله تنش خشکی ۳۹
۲-۱۴- صفات بررسی شده در کشت جنین ۳۹
۲-۱۴-۱- سرعت رشد کالوس (میلیمتر قطر در روز) ۳۹
۲-۱۴-۲- رشد نسبی کالوس (براساس وزنتر) ۴۰
۲-۱۴-۳-سرعت رشد نسبی کالوس (براساس وزنتر) ۴۰
۲-۱۴-۴- درصد القاء کالوس ۴۰
۲-۱۴-۵- سرعت رشد کالوس در خشکی (میلی متر قطر در روز) ۴۰

۲-۱۴-۶- رشد نسبی کالوس در خشکی (بر اساس وزن تر) ۴۰
۲-۱۴-۷- سرعت رشد نسبی کالوس در خشکی (براساس وزن تر) ۴۰
۲-۱۴-۸- درصد کلروز کالوس در خشکی ۴۱
۲-۱۴-۹- درصد محتوای آب کالوس ۴۱
۲-۱۴-۱۰- شاخص تحمل خشکی ۴۱
۲-۱۴-۱۱-پرولین کالوس ۴۱
۲-۱۴-۱۲-درصد تحمل نسبی ۴۲
۲-۱۴-۱۳-شاخص رشد کالوس ۴۲
۲-۱۴-۱۴-درصد کاهش ۴۲
۲-۱۵- تجزیه های آماری ۴۲
۲-۱۵-۱- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها ۴۲
۲-۱۵-۲- تجزیه همبستگی ۴۲
۲-۱۵-۳- پلات سه بعدی جهت گزینش ژنوتیپ های متحمل به خشکی ۴۲
۲-۱۵-۴- تجزیه به مؤلفه های اصلی و نمایش گرافیکی بای پلات ۴۳
۲-۱۵-۵- انحراف معیار رتبه(SDR) ۴۳
۲-۱۵-۶- تجزیه خوشه ای ۴۳
۲-۱۵-۷- تجزیه تابع تشخیص ۴۳
فصل سوم ۴۴
۳-۱- شاخص های مقاومت به خشکی مبتنی بر عملکرد دانه ۴۵
۳-۱-۱-۱- همبستگی شاخص های مقاومت به خشکی با عملکرد دانه ۴۵
۳-۱-۱-۲- انتخاب ژنوتیپ های متحمل به خشکی با استفاده از پلات سه بعدی ۴۶
۳-۱-۱-۳- انتخاب ژنوتیپ های متحمل به خشکی ۴۷
۳-۱-۱-۴- تجزیه بای پلات ۵۱
۳-۱-۱-۵- ارتباط بین شاخص های مقاومت به خشکی با استفاده از آنالیز تجزیه به مؤلفه های اصلی (PCA) ۵۳
۳-۱-۱-۶- گروهبندی ژنوتیپ ها بر اساس شاخصهای مقاومت به خشکی ۵۵

۳-۱-۲- صفات مورفولوژیک، فنولوژیک وفیزیولوژیک ۵۷
۳-۱-۲-۱- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ۵۷
۳-۱-۲-۲- تحلیل همبستگی در شرایط تنش و بدون تنش ۶۸
۳-۱-۲-۳- گروه بندی ژنوتیپ ها در شرایط تنش بر اساس صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک وفنولوژیک ۷۵
۳-۱-۲-۴- گروه بندی ژنوتیپ ها در شرایط بدون تنش بر اساس صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و فنولوژیک ۷۷
۳-۱-۳- قابلیت انتقال مجدد مواد خشک از اندام های رویشی به دانه ۷۹
۳-۱-۳-۱- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ۷۹
۳-۱-۳-۲- همبستگی صفات مرتبط با انتقال مجدد مادۀ خشک از اندام‌های رویشی به دانه در شرایط تنش و بدون تنش خشکی ۸۷
۳-۱-۳-۳- گروه بندی ژنوتیپ ها در شرایط تنش خشکی از نظر صفات مهم مرتبط با انتقال مجدد ماده خشک از اندامهای رویشی به دانه ۹۱
۳-۱-۳-۴- گروه بندی ژنوتیپ ها در شرایط بدون تنش خشکی بر اساس صفات مهم مرتبط با انتقال مجدد ماده خشک از اندامهای رویشی به دانه ۹۴
۳-۲-۱- کشت جنین بالغ ۹۶
۳-۲-۱-۱- تجزیه واریانس صفات در مرحله القاء کالوس ۹۶
۳-۲-۱-۲- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم بر اساس صفات اندازه گیری شده در مرحله القاء کالوس ۹۶
۳-۲-۱-۳- تجزیه همبستگی صفات در مرحله القاء کالوس در کشت جنین بالغ ۹۸
۳-۲-۱-۴- تجزیه خوشه ای بر اساس صفات اندازه گیری شده کالوس حاصل از جنین بالغ ۹۹
۳-۲-۱-۵- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده کالوس تحت تنش خشکی ۱۰۰
۳-۲-۱-۶- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم نان از نظر صفات مورد مطالعه کالوس های حاصل از جنین های بالغ در در محیط تنش ۱۰۲
۳-۲-۱-۷- شاخص های مقاومت به خشکی در شرایط درون شیشه ای در جنین بالغ (*In vitro*) .. ۱۰۴
۳-۲-۱-۸- غربال کردن صفات و شاخص های مقاومت به خشکی در کشت جنین بالغ ۱۰۷
۳-۲-۱-۹-غربالگری ژنوتیپ های مقاوم به خشکی ۱۰۸

۳-۲-۱-۱۰-تجزیه همبستگی صفات تحت تنش خشکی در کشت جنین بالغ ۱۰۹
۳-۲-۱-۱۱- تجزیه همبستگی صفات بین مرحله القاء کالوس و تنش خشکی در کشت جنین بالغ .. ۱۱۰
۳-۲-۱-۱۲- تجزیه خوشه ای بر اساس صفات اندازه گیری شده کالوس در شرایط تنش ۱۱۲
۳-۲-۲- کشت جنین نابالغ ۱۱۴
۳-۲-۲-۱- تجزیه واریانس صفات در مرحله القاء کالوس ۱۱۴
۳-۲-۲-۲- مقایسه میانگین ژنوتیپهای گندم بر اساس صفات اندازه گیری شده در مرحله القاء کالوس ۱۱۴
۳-۲-۲-۳-تجزیه همبستگی صفات در مرحله القاء کالوس در کشت جنین نابالغ ۱۱۷
۳-۲-۱-۴- تجزیه خوشه ای بر اساس صفات اندازه گیری شده در مرحله القاء کالوس حاصل از جنین نابالغ ۱۱۷
۳-۲-۲-۵- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده کالوس تحت تنش خشکی در جنین نابالغ ۱۱۹
۳-۲-۲-۶- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم نان از نظر صفات مورد مطالعه کالوس های حاصل از جنین های نابالغ در شرایط تنش خشکی ۱۲۱
۳-۲-۲-۷- شاخص های مقاومت به خشکی در شرایط درون شیشه ای در جنین نابالغ (*In vitro*). ۱۲۳
۳-۲-۲-۸- غربال کردن صفات و شاخص های مقاومت به خشکی در کشت جنین نابالغ ۱۲۶
۳-۲-۲-۹- غربالگری ژنوتیپ های مقاوم به خشکی در کشت جنین نابالغ ۱۲۷
۳-۲-۲-۱۰- تجزیه همبستگی تحت تنش خشکی در کشت جنین نابالغ ۱۲۸
۳-۲-۲-۱۱- تجزیه همبستگی صفات بین مرحله القاء کالوس و تنش خشکی در کشت جنین نابالغ ۱۲۹
۳-۲-۲-۱۲- تجزیه خوشه ای بر اساس صفات اندازه گیری شده در شرایط تنش کشت جنین نابالغ ۱۳۲
۳-۲-۳-ضرایب همبستگی بین شرایط مزرعه (*In vivo*) و کشت بافت (*In vitro*) ۱۳۴
منابع ۱۴۰
پیوست ۱۶۰

عنوان جدول **صفحه**

جدول ۲-۱- مشخصات ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۲۳
جدول ۲-۲- موقعییت جغرافیایی و آب و هوایی محل اجرای آزمایش ۲۴

جدول ۲-۳- فهرست صفات مورد بررسی به‌همراه علامت اختصاری آنها ۲۵
جدول ۲-۴- اجزاء مختلف محیط کشت موراشیک و اسکوگ ۳۶
جدول ۳-۱- ضرایب همبستگی بین شاخص‌های مقاومت به خشکی در ۲۰ ژنوتیپ گندم نان ۴۶
جدول ۳-۲--میانگین عملکرد دانه و شاخص های حساسیت و تحمل به خشکی و رتبه بندی آنها در شرایط تنش و آبیاری مطلوب ۴۹
جدول ۳-۳- مقادیر و بردارهای ویژه برای شاخص‌های مقاومت به خشکی ۵۲
جدول ۳-۴- نتایج تجزیه تابع تشخیص برای گروه‌بندی ۵۶
ژنوتیپ‌ها بر اساس شاخص‌ها و عملکرد دانه در شرایط تنش و نرمال ۵۶
۳-۵- نتایج آزمون یکنواختی واریانس خطای آزمایشی برای صفات مورفولوژیک، فنولوژیک و فیزیولوژیک ۵۸
جدول ۳-۶- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و فنولوژیک توسط آزمون دا نکن ۶۱
جدول۳-۷- ضرایب همبستگی میان صفات مورفولوژیک، فنولوژیک و فیزیولوژیک در شرایط تنش ۷۰
جدول ۳-۸- ضرایب همبستگی میان صفات مورفولوژیک، فنولوژیک و فیزیولوژیک در شرایط بدون تنش ۷۳
جدول ۳-۹- نتایج تجزیه تابع تشخیص برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات ۷۶
مورفولوژیک،فنولوژیک و فیزیولوژیک معنی‌دار در شرایط تنش ۷۶
جدول ۳-۱۰- نتایج تجزیه تابع تشخیص برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات ۷۸
مورفولوژیک،فنولوژیک و فیزیولوژیک معنی‌دار در شرایط بدون تنش ۷۸
جدول ۳-۱۱- نتایج آزمون یکنواختی واریانس خطای آزمایشی برای صفات مرتبط با انتقال مجدد ۸۰
جدول ۳-۱۲- مقایسه میانگین صفات مرتبط با انتقال مجدد مواد ذخیره‌ای اندام‌های رویشی به دانه ۸۲
جدول ۳-۱۳- ماتریس همبستگی صفات مرتبط با انتقال مجدد مواد ذخیره‌ای اندام‌های رویشی به دانه در شرایط تنش ۸۹
جدول ۳-۱۴- ماتریس همبستگی صفات مرتبط با انتقال مجدد مواد ذخیره‌ای اندام‌های رویشی به دانه در شرایط بدون تنش ۹۰
جدول ۳-۱۵- نتایج تجزیه تابع تشخیص برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات ۹۳
مرتبط با انتقال مجدد ماده خشک از اندام‌های رویشی به دانه در شرایط تنش ۹۳
جدول ۳-۱۶- نتایج تجزیه تابع تشخیص برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات ۹۵
مرتبط با انتقال مجدد ماده خشک از اندام‌های رویشی به دانه در شرایط بدون تنش ۹۵

جدول ۳-۱۷- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در کشت جنین بالغ درمرحله القاء کالوس ۹۶
جدول ۳-۱۸- مقایسه میانگین بیست ژنوتیپ گندم نان از نظر صفات مورد مطالعه حاصل از جنین بالغ در مرحله القاء کالوس ۹۷
جدول ۳-۱۹- ضرایب همبستگی بین صفات در مرحله القاء کالوس برای ژنوتیپهای مورد مطالعه گندم نان در کشت جنین با لغ ۹۸
جدول ۳-۲۰- نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص برای گروهبندی ژنوتیپها براساس صفات مورد مطالعه در القاء کالوس جنین بالغ ۱۰۰
جدول ۳-۲۱- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازهگیری شده بر روی کالوس حاصل از جنینهای بالغ تحت تنش خشکی ۱۰۲
جدول ۳-۲۲- مقایسه میانگین ژنوتیپهای گندم نان از نظر صفات مورد مطالعه در کالوسهای حاصل ازجنینهای بالغ در شرایط تنش خشکی ۱۰۳
جدول ۳-۲۳- رتبه ها، میانگین رتبه ها و انحراف معیار رتبه ها در صفات و شاخص های مقاومت به خشکی در کشت جنین بالغ ۱۰۵
جدول۳-۲۴= ضرایب همبستگی بین صفات در مرحله تنش کالوس برای ژنوتیپهای مورد مطالعه گندم نان در کشت جنین بالغ ۱۱۰
جدول ۳-۲۶- نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص برای گروهبندی ژنوتیپها بر اساس صفات اندازهگیری شده کالوس حاصل از کشت جنین بالغ گندم تحت تنش خشکی ۱۱۳
جدول ۳-۲۷- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در کشت جنین نا با لغ درمرحله القاء کالوس ۱۱۴
جدول ۳-۲۸- مقایسه میانگین بیست ژنوتیپ گندم نان از نظر صفات مورد مطالعه حاصل از جنین نابالغ در مرحله القاء کالوس ۱۱۶
جدول۳-۲۹- ضرایب همبستگی بین صفات در مرحله القاء کالوس برای ژنوتیپهای مورد مطالعه گندم نان در کشت جنین نابا لغ ۱۱۷
جدول ۳-۳۰- نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص برای گروهبندی ژنوتیپها براساس صفات مورد مطالعه در القاء کالوس جنین نابالغ ۱۱۸
جدول ۳-۳۱- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازهگیری شده بر روی کالوس حاصل از جنینهای نابالغ تحت تنش خشکی ۱۲۱
جدول ۳-۳۲- مقایسه میانگین ژنوتیپهای گندم نان از نظر صفات مورد مطالعه در کالوسهای حاصل ازجنینهای نابالغ در شرایط تنش خشکی ۱۲۲

جدول ۳-۳۳- رتبه ها، میانگین رتبه ها و انحراف معیار رتبه ها در صفات و شاخص های مقاومت به خشکی در کشت جنین نابالغ..... ۱۲۴

جدول۳-۳۴- ضرایب همبستگی بین صفات در مرحله تنش کالوس برای ژنوتیپهای مورد مطالعه گندم نان در کشت جنین نابالغ..... ۱۲۹

جدول ۳-۳۶- نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص برای گروهبندی ژنوتیپها بر اساس صفات اندازهگیری شده کالوس حاصل از کشت جنین نابالغ گندم تحت تنش خشکی ۱۳۳

جدول ۳-۳۷- ضرایب همبستگی صفات بین مرحله تنش خشکی در کشت جنین بالغ با عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش خشکی و شاخص نحمل تنش (STI) ۱۳۵

جدول ۳-۳۸- ضرایب همبستگی صفات بین مرحله تنش خشکی در کشت جنین نابالغ با عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش خشکی و شاخص نحمل تنش (STI) ۱۳۵

عنوان شکل **صفحه**

شکل ۳-۱- گزینش ژنوتیپ ها بر اساس مدل فرناندز با استفاده از STI ۴۷

شکل ۳-۲- نمودار بای‌پلات حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی برای شاخص‌های مقاومت به خشکی..... ۵۳

شکل۳-۳- نمودار بای پلات شاخص ها ۵۵

شکل ۳-۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس شاخص ها و عملکرد دانه در شرایط تنش و نرمال .. ۵۶

شکل ۳-۵- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس صفات ۷۶

مورفولوژیک، فنولوژیک و فیزیولوژیک معنی‌دار در شرایط تنش ۷۶

شکل ۳-۶- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس صفات ۷۸

مورفولوژیک، فنولوژیک و فیزیولوژیک معنی‌دار در شرایط بدون تنش ۷۸

شکل ۳-۷- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات مرتبط با انتقال مجدد ماده خشک ۹۳

از اندام‌های رویشی به دانه در شرایط تنش..... ۹۳

شکل ۳-۸- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات مرتبط با انتقال مجدد ماده خشک ۹۵

از اندام‌های رویشی به دانه در شرایط بدون تنش ۹۵
شکل۳-۹- نمودارخوشهای حاصل از تجزیه خوشهای صفات مورد مطالعه در مرحله القاء کالوس جنین بالغ به روش ward..... ۹۹
شکل ۳-۱۰ (الف) کالوسهای قرار گرفته در شرایط بدون تنش، (ب) کالوسها در شرایط تنش ۱۰۱
شکل ۳-۱۱- نمودار بای پلات شاخص ها و صفات مربوط به کشت جنین بالغ ۱۰۸
شکل ۳-۱۲- نمودار خوشهای حاصل از تجزیه صفات اندازهگیری شده کالوس حاصل از جنین بالغ تحت تنش خشکی به روشWard ۱۱۲
شکل۳-۱۳-نمودارخوشهای حاصل از تجزیه خوشهای صفات مورد مطالعه در مرحله القاء کالوس جنین نابالغ به روش ward..... ۱۱۸
شکل ۳-۱۴- (الف)کالوسهای قرار گرفته در شرایط بدون تنش، (ب)کالوسها در شرایط تنش ۱۲۰
شکل ۳-۱۵- نمودار بای پلات شاخص ها و صفات مربوط به کشت جنین نابالغ ۱۲۷
شکل ۳-۱۶- نمودار خوشهای حاصل از تجزیه صفات اندازهگیری شده کالوس حاصل از جنین نابالغ تحت تنش خشکی به روشWard ۱۳۳

چکیده

به منظور شناسایی مقاومت به خشکی ۲۰ ژنوتیپ گندم نان دو آزمایش در دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، در طول سال های ۹۰-۸۸ انجام شد. آزمایش اول در مزرعه در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار و در دو شرایط تنش و آبیاری انجام شد. آزمایش دوم در شرایط درون شیشه ای با استفاده از کشت جنین های بالغ و نابالغ از یک آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار برای القاء کالوس و یک آزمایش به صورت فاکتوریل۲×۲۰ در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با سه تکرار برای پاسخ ژنوتیپ ها به استرس خشکی در شرایط درون شیشه ای استفاده شد.

در بخش مطالعات زراعی نتایج تجزیه واریانس ژنوتیپ ها نشان داد که تنوع قابل ملاحظه ای برای صفات مورد بررسی در بین ژنوتیپ ها وجود دارد. بر اساس شاخص های مقاومت به خشکی و صفات فیزیولوژیکی ژنوتیپ های ۲، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۱۸ به عنوان ژنوتیپ های متحمل به خشکی شناسایی شدند.

در کشت جنین های بالغ و نابالغ صفات درصد القاء کالوس، سرعت رشد کالوس (میلی‌متر قطر در روز) ، رشد نسبی کالوس (بر اساس وزن تر) و سرعت رشد نسبی کالوس (بر اساس وزن تر) در محیط القاء کالوس، سرعت رشد کالوس (میلی‌متر قطر در روز)، رشد نسبی کالوس (بر اساس وزن تر)، سرعت رشد نسبی کالوس (بر اساس وزن تر)، درصد محتوای آب کالوس، درصد کلروز کالوس ، محتوای پرولین کالوس ، شاخص رشد کالوس ، شاخص تحمل کالوس، درصد تحمل نسبی و درصد کاهش در شرایط تنش مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که بین ژنوتیپ های مورد مطالعه در صفات بررسی شده در مرحله القاء کالوس و تحت شرایط تنش خشکی اختلاف معنی داری وجود داشت. ژنوتیپ شمارهٔ ۱۶ به عنوان ژنوتیپ برتر در مرحله القاء کالوس در کشت جنین بالغ و ژنوتیپ شمارهٔ ۹ به عنوان ژنوتیپ برتر در مرحله القاء کالوس در کشت جنین نابالغ شناسایی شدند. در مرحله تنش انتخاب ژنوتیپ های مقاوم بر اساس شاخص ها و صفات مختلف در کشت جنین بالغ و نابالغ متناقض بود. بنابراین با توجه به میانگین و انحراف معیار رتبه ها ژنوتیپ های ۲، ۱۸ و ۱۰ در کشت جنین بالغ و ژنوتیپ های ۶، ۱۹ و ۱ در کشت جنین نابالغ به عنوان ژنوتیپ های متحمل به خشکی شناسایی شدند. با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعات مزرعه ای و همبستگی آن با نتایج بدست آمده از کشت جنین بالغ و نابالغ می توان نتیجه گرفت که نتایج بدست آمده از کشت جنین بالغ مشابه نتایج مزرعه است و ژنوتیپ‌های ۲، ۱۰ و ۱۸ در هر دو شرایط به عنوان ژنوتیپ های متحمل به خشکی شناسایی شدند.

کلمات کلیدی: مقاومت به خشکی، گندم، کشت جنین، شاخص های فیزیولوژیکی و مولکولی

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع

۱-۱- مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum L.*) یک محصول مهم جهانی است و حدود ۲۰۰ میلیون هکتار از اراضی در رنج وسیعی از محیط ها با رشد سالانه ۶۰۰ میلیون تن را به خود اختصاص داده است. تولید جهانی گندم باید با افزایش سالانه ۲٪ تا سال ۲۰۲۰ ادامه یابد تا نیازهای جمعیت آینده برآورده شود(عبدل غنی و همکاران؛ ۲۰۰۴؛

سینگ و همکاران، ۲۰۰۷). محصولات گندم رشد یافته در هر دو شرایط آبی و دیم معمولاً تحت استرس های محیطی قرار می‌گیرد که در میان آنها خشکی یکی از مهم ترین عوامل کاهش عملکرد است. تقریباً ۳۲٪ مناطق رشد گندم در کشورهای در حال توسعه با تنش خشکی در طول فصل رشد همراه است (راجارم و همکاران، ۲۰۰۱). یکی از راهکارهای ممکن برای اطمینان از نیازهای غذایی آینده با افزایش جمعیت جهان شامل استفاده بهتر از آب از طریق توسعه واریته هایی با نیاز آبی کم و مقاوم به خشکی است(شائو و همکاران، ۲۰۰۶؛ شافعی و همکاران، ۲۰۰۹؛ مفاخری و همکاران، ۲۰۱۰). برای شناسایی ژنوتیپ های مقاوم چندین معیار انتخاب شده است که یکی از آنها انتخاب بر اساس شاخص ها است که بر اساس آن ژنوتیپ های مقاوم انتخاب می‌شوند(طالبی و همکاران، ۲۰۰۹؛ گراوندی و همکاران، ۲۰۱۱).

فرناندز (۱۹۹۲) شاخص جدیدی تحت عنوان شاخص تحمل استرس(STI) را معرفی کرد، بر اساس این شاخص می توان ژنوتیپ هایی را که در هر دو شرایط تنش آبی و بدون تنش عملکرد بالایی دارند انتخاب گردند. محققان زیادی از شاخص STI برای تخمین مقاومت به خشکی در ژنوتیپ های با عملکرد بالا استفاده کرده اند(فرشادفر و همکاران، ۲۰۰۲؛ شیرین زاده و همکاران، ۲۰۱۰؛ نوری و همکاران، ۲۰۱۱).

اصلاح برای مقاومت به خشکی به وسیله صرفاً عملکرد دانه مشکل است زیرا وراثت عملکرد تحت شرایط تنش به علت واریانس ژنتیکی کوچک یا به علت واریانس های بزرگ اثر متقابل ژنوتیپ × محیط پایین است(کوزگی و همکاران، ۱۹۹۶). بهبود گندم یک ارزش دراز مدت در زمینه افزایش عملکرد است، بنابراین تحت محیط های پر استرس عملکرد همیشه یک صفت انتخابی مناسب و آسان نیست بلکه روش هایی که بر اساس ارزیابی و الحاق صفات فیزیولوژیکی به ژنوتیپ هایی با عملکرد بالا نیز ممکن است سازگاری را بهبود بخشد (بلوم، ۲۰۰۵). تکنیک های غربالگری بر اساس معیارهای فیزیولوژیکی به خصوص برای ارزیابی جمعیت های بزرگ باید سریع، ساده و ارزان باشد(گاووزی و همکاران، ۱۹۹۷). ایجاد گیاهان مقاوم خشکی از طریق روش های سنتی بسیار وقت گیر و گاهی غیر ممکن است . بنابراین امروزه از شیوه‌های جدیدتر از جمله کشت بافت برای ایجاد گیاهان مقاوم به خشکی و سایر عوامل نامساعد استفاده می‌شود(رضوی زاده و همکاران، ۱۳۸۳). در سال های اخیر تلاش‌های زیادی به منظور تولید گیاهان مقاوم در برابر تنش و خصوصاً متحمل به شوری، با استفاده از تنوع موجود یا ایجاد شده در کشت بافت صورت گرفته است(برکت و همکاران، ۱۹۹۶). در کشت آزمایشگاهی سلول های گیاهی و بافت ها منافع قابل توجهی در طول سال‌های اخیر بدست آمده است، زیرا وسیله‌ای برای مطالعه فیزیولوژی گیاهی و فرآیندهای ژنتیکی ارائه می‌دهد و باعث افزایش پتانسیل در بهبود کولتیوارها به وسیله افزایش تنوع ژنتیکی و همچنین به عنوان یک مکمل مهم برای روش های اصلاحی کلاسیک می‌باشد(بینوت و همکاران، ۲۰۰۹؛ سورخه و همکاران، ۲۰۱۱).

یکی از روش‌های غربالگری براساس صفات فیزیولوژیکی استفاده از اسموتیک های مختلف برای القای استرس در بافت های گیاهی است. جوانه زنی در مانیتول و پلی اتیلن گلیکول[1] (PEG) برای غربالگری خشکی پیشنهاد شده است (شبیر، ۲۰۱۰). پلی اتیلن گلیکول به علت وزن مولکولی بالای آن نمی‌تواند از غشا عبور و وارد سلول و باعث تغییرات پتانسیل اسمزی گردد(دراجیسکا، ۱۹۹۶). PEG باعث تحریک شرایط کمبود آب در سلول های کشت شده شبیه به سلول‌های گیاهی که به طور طبیعی در معرض تنش قرار گرفته می‌شود(یائو و همکاران، ۲۰۰۷).

هدف این تحقیق:

۱) غربالگری ژنوتیپ های گندم متحمل به خشکی تحت شرایط این ویوو و این ویترو

1 - Poly ethylene glychol

۲) بررسی توانایی ژنوتیپ ها در القا کالوس با استفاده از کشت جنین های بالغ و نابالغ
۳) بررسی همبستگی بین شرایط این ویوو و این ویترو

۱-۲- بررسی منابع و کلیات

۱-۲-۱- گندم

گندم غذای اصلی بیش از ۳۵٪ جمعیت جهان است و وضعیت تولید آن به طور مستقیم به پایداری جامعه بستگی دارد (دای و همکاران، ۲۰۰۴). گندم به علت داشتن نشاسته،پروتئین و خواص نانوایی خوب بر سایر غلات ترجیح داده می‌شود. اگر چه از سایر غلات نیز می توان نان تهیه نمود، ولی تا امروز هیچ گیاهی در تهیه نان برای تغذیه انسان نتوانسته است با گندم رقابت کند(هینه، ۱۹۸۷) . ارزش بالایی گندم نان بدلیل بالا بودن نسبت پروتئین به هیدروکربن (تقریبا ۶ به ۱ یا ۷ به ۱) و ویژگی گلوتن آن است (ارزانی، ۱۳۸۳). گلوتن بخش چسبنده از پروتئین های سخت آندوسپرم می‌باشد و موجب کش آمدن یا انبساط خمیر تخمیر شده می‌شود(ارزانی،۱۳۸۳). این گیاه در محدودهٔ وسیعی از شرایط اقلیمی و مناطق جغرافیایی تولید می‌شود و غذای اصلی برای بخش عمده‌ای از جمعیّت افزایندهٔ جهان می‌باشد (جلال کمالی، ۱۳۸۷). تاریخ کشت آن به حدود ۱۲تا۱۸هزار سال قبل از میلاد می رسد. برای اولین بار در خاورمیانه و حدود ۱۰ الی۱۵هزار سال قبل از میلاد هم در آسیا دیده شده است(خدا رحمی،۱۳۸۶). زراعت غلات و به‌ویژه گندم قسمت اصلی کار کشاورزان مناطق نیمه‌خشک جهان را شامل می‌شود. در شرایط اقلیمی متغیر مناطق نیمه‌خشک، انواع گیاهانی که بتوانند بدون آبیاری کشت شوند نسبتاً محدودند و هیچ یک از آنها نتوانسته‌اند بر گندم که مهمترین گیاه این مناطق است ارجحیت پیدا کنند(کوچکی، ۱۳۸۱).

۱-۲-۱-۱- سطح زیرکشت و میزان عملکرد گندم

طی سال‌های ۲۰۰۶-۲۰۰۴ میلادی میانگین سطح برداشت گندم (گندم نان و گندم دوروم) بالغ بر ۲۱۷ میلیون هکتار و مقدار تولید ۶۲۱ میلیون تن دانه به ارزش تقریبی ۱۵۰ میلیارد دلار بود. حدود ۱۱۶ میلیون هکتار از این سطح برداشت در کشورهای در حال توسعه کشت شد و تولیدی معادل ۳۰۸ میلیون تن دانه به ارزش تقریبی ۷۵ میلیارد دلار داشت(جلال کمالی، ۱۳۸۷). سطح برداشت شده گندم کشور در سال زراعی ۱۳۸۷-۱۳۸۸ حدود ۶/۶۵ میلیون هکتار برآورد شده که ۳۶/۷۵ درصد آن آبی و ۶۳/۲۵ درصد دیم بوده است. استان خراسان رضوی با ۹/۲۱ درصد کل اراضی گندم کشور، بیشترین سطح را به خود اختصاص داده است. پس از آن استان‌های کردستان، فارس، همدان، آذربایجان شرقی، زنجان و کرمانشاه به ترتیب با ۸/۲۷، ۶/۹۱، ۶/۷۵، ۶/۶۱، ۶/۴۰ درصد از کل اراضی گندم کشور مقام‌های دوم تا هفتم را به خود اختصاص داده‌اند. میزان تولید گندم کشور حدود ۱۳/۴۸ میلیون تن برآورد شده که ۶۶/۵۴ درصد آن از کشت آبی و ۳۳/۴۶ درصد از کشت دیم به دست آمده است. عملکرد گندم آبی

کشور ۳۶۷۲/۴۶ کیلوگرم و عملکرد گندم دیم کشور ۱۰۷۳/۳۰ کیلوگرم در هکتاربوده‌است(دفتر آمار و فن آوری اطلاعات،۱۳۸۸).

۱-۲-۲- خشکی

۱-۲-۲-۱- تعریف تنش

هر عاملی که اثر منفی بر رشد گیاه بگذارد، اصطلاحا تنش گویند(سینگ و همکاران، ۱۹۹۴). تنش در بیشتر موارد به عنوان تغییر و دور شدن از شرایط مطلوب به حساب می‌آید که شامل تغییر تمام اعمال حیاتی در سطوح مختلف موجودات است. که این اثر می تواند در ابتدا موقت باشد و یا اینکه دائمی گردد. معمولاً شدت عامل تنش زا در مورد اعمال اثر خود کمتر از شدت اولیه آن در محل دیگر است. یعنی گیاه از طریق مکانیزم‌های مقاومت و تحمل تنش، شدت عامل تنش را تعدیل می‌نماید و در نتیجه از میزان اثرات سوء تنش می‌کاهد. تنش بلافاصله بعد از بروز کردن، اثر خود را ایجاد نمی‌نماید زیرا گیاهان مکانیزم‌های حفاظتی مختلفی را برای تاخیر یا متوقف کردن اختلالات شیمیایی و ترمودینامیکی داخل سلول بکار می‌برند(استوکر، ۱۹۸۶). تنش محیطی یکی از مهمترین عوامل کاهش دهنده رشد محصولات در مناطق خشک و نیمه خشک جهان می‌باشد و نقش مهمی را در متابولیسم گیاهان در تمامی مراحل رشد ایفا می‌کند(ترهان و همکاران، ۲۰۰۴). خشکی، شوری، گرما و یخزدگی شرایط محیطی هستند که اثرات نامطلوبی در رشد گیاهان دارند و کمبود آب نسبت به دیگر تنش‌های محیطی، رشد و تولید محصولات زراعی را به شدت محدود می‌کند(سینگ و همکاران، ۱۹۹۴). خشکی یکی از متداول‌ترین تنش‌های محیطی در سرتاسر دنیا است، که رشد و تولید گیاهان را از طریق تغییر متابولیسم و تظاهر ژن‌ها تحت تاثیر قرار می‌دهد(لئوپلد، ۱۹۹۰).

۱-۲-۲-۲- تعریف خشکی

در علوم تعاریف مختلفی از اصطلاح خشکی ارائه شده است. مثلا در هواشناسی به معنی یک دوره اساسی بدون بارش می‌باشد(عبدل جلیل و همکاران، ۲۰۰۸). از دیدگاه تایز و زایگر مناطق خشک و نیمه خشک مناطقی هستند که مجموع تعرق گیاهی ۵۰ درصد تعرقی است که گیاه در وضعیت عدم محدودیت آب انجام می‌دهد. در چنین مناطقی، آب عامل اصلی محدود کننده رشد گیاه به شمار می‌رود و به طور عمده تنش با استفاده از آبیاری مرتفع می‌گردد. از دیدگاه کشاورزی خشکی عبارت از وقوع دوره‌ای خشک است که منتج به کاهش عملکرد نسبت به حالت تأمین آب می‌گردد(کوچکی و همکاران، ۱۳۷۹).