١١٤٨٤٢

دانشگاه تبریز
دانشکده کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

عنوان

تغییرات ساختاری ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای (Leaf rust) در ارقام مقاوم و حساس گندم نان

استاد راهنما
دکتر سید ابوالقاسم محمدی

استاد مشاور
دکتر سعید اهری‌زاد

پژوهشگر
رحیمه همتی‌گوگه

ثبت اطلاعات مدارک علمی دانشگاه
تهیه مدارک
۱۳۸۸/۴/۲۲

خرداد ۱۳۸۸

شماره پایان‌نامه ۱

۱۱۴۸۴۲

این پایان نامه با حمایت قطب علمی اصلاح مولکولی غلات

دانشگاه تبریز انجام شده است.

تقدیم به آنانکه به من آموختند.

تقدیم به خداوندگاران مهر و مهربانی پدر و مادر عزیزم

آنانکه فروغ نگاهشان، گرمی کلامشان و روشنی سیمایشان سرمایه

جاودانی زندگی من است

و تقدیم به برادران و خواهران عزیزم.

پروردگار متعال را شاکر و سپاسگذارم که توانایی و شوق یادگیری و تحصیل علم و دانش را در وجود من به ودیعه نهاد و مرا با این دریای بیکران آشنا کرد و در سخت‌ترین لحظات نیز مرا به خود وا نگذاشت.

از پدر و مادر عزیز و فداکارم که در تمام مراحل زندگی‌ام با حمایت‌های بی‌دریغ خود مشوق و هموار کننده راهم بودند، کمال تشکر را دارم و این کوچکترین ثمره دستانم را به این دو گوهر گرانمایه تقدیم می‌کنم. از برادران و خواهران دلسوز و مهربانم که همواره یار و یاورم بودند، سپاسگذارم.

از استاد فرزانه و ارجمندم جناب آقای دکتر سید ابوالقاسم محمدی که در نهایت صبر و شکیبایی در تمامی لحظات اجرا و نگارش این پایان نامه راهنمایم بودند، کمال قدردانی و تشکر را دارم. بی شک بدون کمک و مساعدت ایشان این پایان نامه به ثمر نمی رسید.

از جناب آقای دکتر سعید اهری زاد استاد مشاور بزرگوارم که مشاوره اینجانب را بر عهده داشتند، سپاسگذاری می کنم.

از جناب آقای دکتر محمد مقدم که زحمت باز خوانی و داوری این پایان نامه را تقبل کردند، کمال تشکر را دارم.

از مدیریت محترم گروه، جناب آقای دکتر سید ابوالقاسم محمدی و سایر اساتید گروه زراعت و اصلاح نباتات که از محضرشان کسب علم نموده و از راهنمایی های ارزنده اشان بهره مند شدم، سپاسگذارم.

از کارشناس های محترم آزمایشگاه جناب آقای کهنمویی و سرکار خانم سگوئی و منشی گروه سرکار خانم رنجبریان و از دوستان عزیزم خانم ها فاطمه شفایی داریانی، زینب محمودیان، فهیمه صادق پور، سارا غفاریان، آسیه فیروزی، سهیلا شایان، آقایان قیاسی، اکبری، برزگری و سایر دوستان که صمیمانه به من یاری رساندند و مشوق من بودند، بی نهایت سپاسگذار و ممنونم.

نام خانوادگی: همتی‌گوگه **نام:** رحیمه

عنوان پایان‌نامه: تغییرات ساختاری ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای(Leaf rust) در ارقام مقاوم و حساس گندم نان

استاد راهنما: دکتر سید ابوالقاسم محمدی **استاد مشاور:** دکتر سعید اهری‌زاد

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته:** مهندسی کشاورزی **گرایش:** بیوتکنولوژی کشاورزی

دانشگاه: تبریز **دانشکده:** کشاورزی تاریخ فارغ التحصیلی: خرداد ۱۳۸۸ تعداد صفحه:۱۰۵

واژه‌های کلیدی: ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای، ژن‌های مقاومت به بیماری، تنوع نوکلئوتیدی.

چکیده

زنگ قهوه‌ای بوسیله قارچ *Puccinia triticina* ایجاد می‌شود و یکی از بیماری‌های مهم گندم در سطح جهان است که اپیدمی آن منجر به کاهش شدید عملکرد و کیفیت گندم نان می‌شود. در این مطالعه تغییرات ساختاری و تنوع نوکلئوتیدی برخی از ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای در هفت ژنوتیپ گندم نان با درجات متفاوت مقاومت بررسی شد. ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای و یا نواحی پیوسته با این ژن‌ها با استفاده از آغازگرهای اختصاصی طراحی شده بر اساس توالی‌های موجود در بانک‌های اطلاعاتی تکثیر شدند. قطعات تکثیری در باکتری *E. coli* همسانه‌سازی و توالی‌یابی شدند. هم‌ردیف کردن توالی ژن‌های جداسازی شده با توالی‌های موجود در بانک‌های اطلاعاتی NCBI، شباهت بالای آن‌ها را با توالی ژن‌های مقاومت از جمله ژن‌های NBS-LRR و RGAها نشان داد. ژن‌های *Lr35*، *Lr1* و *Lr21* با ژن‌های مربوطه از NCBI هم‌ردیف شدند. قطعات ژن *Lr1* با توالی ژن *Lr1* موجود در NCBI در رقم Glenlea شباهت ۱۰۰ درصد و با ژن *Lr34* شباهت ۸۸ درصد نشان داد که می‌تواند نشان دهنده شباهت ساختاری این دو ژن باهم باشد. ژن *Lr21* با توالی مربوط به الل نوترکیب S ژن *Lr21* موجود در NCBI شباهت ۱۰۰ درصد و با الل S شباهت ۹۸ درصد و با سایر پروتئین‌های مقاومت *Lr21* شباهت ۹۹ درصد نشان داد. ژن *Lr35* با توالی مرتبط با این ژن در NCBI و با ژن *Lr21* شباهت ۹۳ درصد داشت. همچنین این ژن با مکان ژنی مقاومت به سفیدک پودری

و تحمل به سرمازدگی در گندم، ۸٤ درصد همولوژی نشان داد. قطعات ژن‌های *Lr47* و *Lr51* به ترتیب با ژن ساکارز سنتاز نوع I و *agp2* که زیر واحد بزرگ ADP- گلوکز پیروفسفوریلاز را رمزمی‌کند، شباهت داشتند. ژن‌های *Lr29* و *Lr10* بترتیب با ژن‌های *ACC-1* و توالی‌های ریزماهواره شباهت نشان دادند. همچنین ژن *Lr39* با ژن *Lr1* دارای شباهت بود که می‌تواند نشان‌دهنده شباهت ساختاری این ژن‌ها باشد. بین این ژن و توالی ژن *VRN1* که مسئول بهاره‌سازی در گندم زمستانه است، شباهت ۸۸ درصد وجود داشت. نتایج بدست آمده از هم‌ردیف کردن توالی‌ها و گروه بندی آن‌ها، حاکی از وجود تغییرات ساختاری و تنوع نوکلئوتیدی در بین ارقام بود. برخی از توالی‌ها در بعضی از ژن‌ها فقط از نظر چند نوکلئوتید در بین ارقام تفاوت نشان دادند ولی توالی‌هایی نیز وجود داشتند که تفاوت بالایی داشتند. این تفاوت بالا احتمالاً می‌تواند بدلیل وجود توالی‌های تکراری و ترانسپوزون‌ها باشد. در گروه‌بندی براساس توالی‌های حاصل، رقم MKH4 براساس توالی اکثر ژن‌ها در گروه‌های مجزا قرار گرفت که ممکن است بدلیل وجود تنوع نوکلئوتیدی و تفاوت ساختاری بالا بین این رقم و سایر ارقام باشد. وجود توالی‌های تکراری، همسانه‌سازی برخی از ژن‌ها را با مشکل مواجه کرد. بعنوان مثال، وجود توالی‌های ریزماهواره‌ای مانع همسانه‌سازی موفقیت آمیز ژن *Lr10* شد.

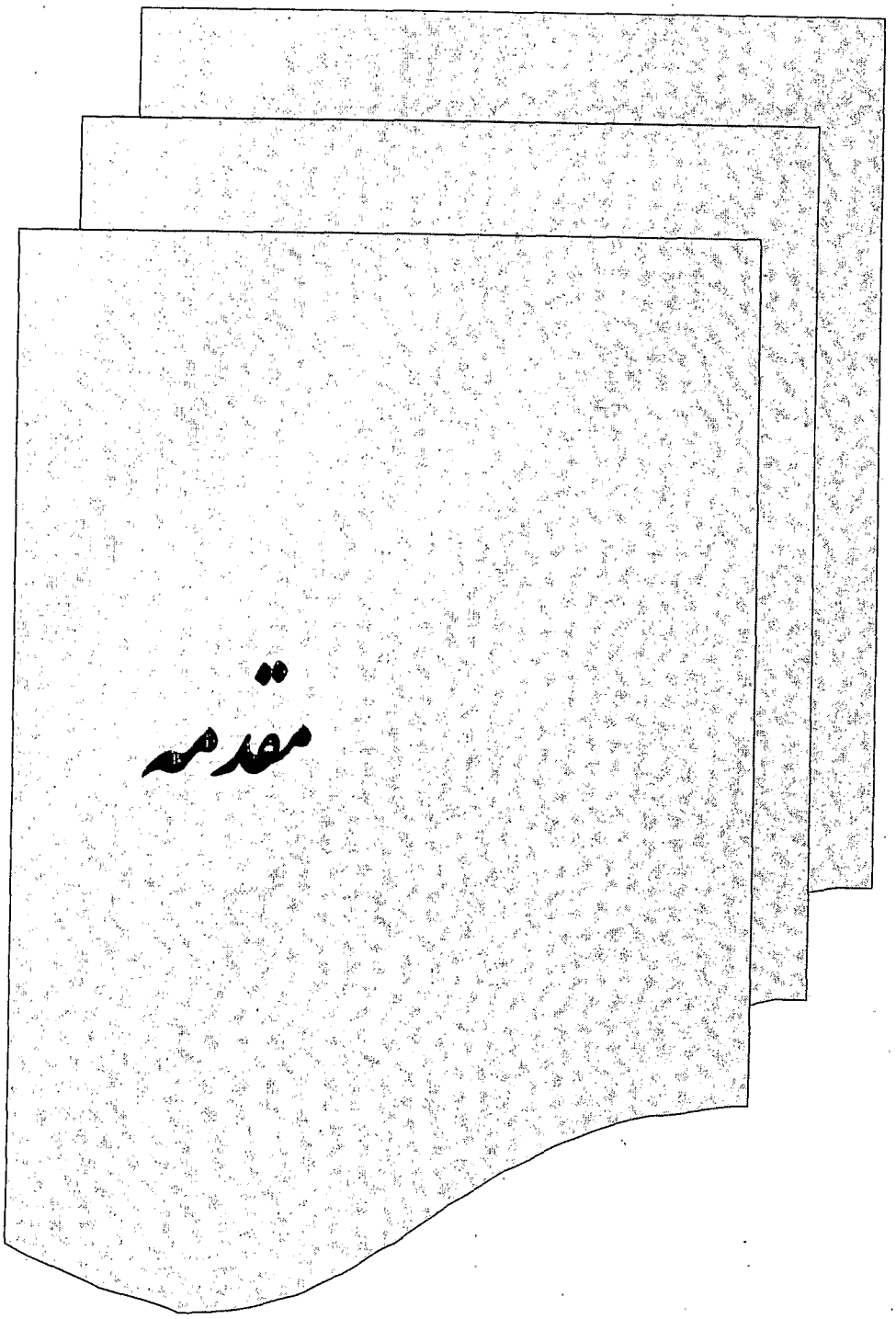
مقدمه ۱
فصل اول : بررسی منابع ٤
۱–۱ گندم ٤
۱–۲ زنگ قهوه‌ای گندم ٥
۱–۲–۱ تاریخچه بیماری ٦
۱–۲–۲ عامل بیماری ٦
۱–۲–۳ علائم بیماری ۷
۱–۲–٤ کنترل بیماری ۷
۱–۳ پاتوژن‌های گیاهی و اساس ژنتیکی دفاع گیاهان ۷
۱–۳–۱ روشهای تهاجم پاتوژن‌ها به گیاهان ۸
۱–۳–۲ مکانیسم‌های دفاعی گیاهان ۹
۱–۳–۳ مکانیسم مولکولی مقاومت ۹
۱–۳–٤ تظاهر واکنش‌های اولیه دفاع در گیاهان ۱۰
۱–۳–٥ نقش سیلیکون در دفاع گیاهان در مقابل عوامل بیماریزای قارچی ۱۱
۱–۳–٦ نقش یوبی‌کوئیتینی‌شدن در دفاع گیاهان بر علیه پاتوژن‌ها ۱۱
۱–۳–۷ نقش Ca^{2+} و H_2o_2در دفاع گیاه ۱۲
۱–۳–۸ واکنش‌های فوق حساسیت ۱۲
۱–٤ ژن‌های مقاومت ۱۳
۱– ٤–۱ ساختار ژن‌های مقاومت ۱۳
۱–٤–۱–۱ ساختار پروتئین‌های NBS–LRR ۱۳
۱–٤–۱–۲ گروه‌بندی ژن‌های رمزکننده NBS–LRR ۱٤
۱–٤–۱–۳ جایگاه‌های Leucine Zipper ۱٥
۱–٤–۱–٤ آنالوگ‌های ژن‌های مقاومت RGAs ۱٦
۱–٤–۱–٥ گروه واجد جایگاه کینازی و LRR، RLKs ۱٦
۱–٤–۱–٦ گروه واجد جایگاه خارج سلولی با یک جایگاه تراغشائی eLRRs یا RLPs . ۱۷
۱–٤–۱–۷ گروه واجد جایگاه سرین ـ ترئونین کیناز KIN ۱۷
۱–٤–۲ نقش جایگاه‌های LRR و CC ۱۸
۱–٤–۳ تنوع در ژن‌های مقاومت ۱۸
۱–٥ ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای ۱۹

۱–۵–۱ تاریخچه شناسائی ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای ۱۹
۱–۵–۲ مقاومت به بیماری ۲۰
۱–۵–۳ انواع مقاومت به زنگ‌ها ۲۰
۱–۵–٤ ویژگی ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای ۲۱
۱–۵–۵ منشاء ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای ۲۲
۱–۵–٦ استفاده از نشانگرهای DNA در شناسائی ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای ۲۳
۱–٦ ژن *Lr1* و ویژگی‌های آن ۲۳
۱–٦–۱ ساختار ژن *Lr1* ۲٤
۱–۷ ژن *Lr10* ۲۵
۱–۷–۱ ساختار ژن *Lr10* ۲٦
۱–۷–۲ مقایسه توالی ژن *Lr10* با سایر ژن‌های مقاومت ۲٦
۱– ۸ ژن *Lr21* ۲۷
۱–۸–۱ ساختار ژن *Lr21* ۲۷
۱–۹ ژن *Lr47* ۲۸
۱–۱۰ ژن *Lr29* ۲۸
۱–۱۱ ژن *Lr35* ۲۹
۱– ۱۲ ژن *Lr39* ۲۹
۱–۱۳ ژن *Lr50* ۲۹
۱– ۱٤ ژن *Lr51* ۳۰
فصل دوم : مواد و روشها ۳۱
۲–۱ مواد گیاهی ۳۱
۲–۲ استخراج DNA ژنومی ۳۱
۲–۳ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۳۲
۲–٤ استخراج DNA از ژل ۳۲
۲–۵ همسانه سازی ۳۵
۲–۵–۱ اتصال قطعات تکثیر شده به ناقل پلاسمیدی ۳۵
۲–۵–۲ سویه باکتریایی و محیط کشت آن ۳٦
۲–۵–۳ تهیه سلول‌های مستعد ۳٦
۲–۵–٤ تراریزش باکتری‌ها ۳۷

۲-٦ استخراج پلاسمید ۳۹
۲-۷ تیمار آنزیمی ٤۰
۲-۸ تجزیه توالی‌ها ٤۱
فصل سوم: نتایج و بحث ٤۳
۳-۱ تعیین کمیت و کیفیت DNA ٤۳
۳-۲ ژن *Lr47* ٤۳
۳-۲-۱ هم‌ردیف کردن توالی‌های ژن *Lr47* و بررسی تنوع نوکلئوتیدی ٤٤
۳-۲-۲ گروه‌بندی ارقام براساس توالی ژن *Lr47* و رابطه آنها با توالی ژن‌های مشابه ٤٦
۳-۳ ژن *Lr29* ٤٦
۳-۳-۱ هم‌ردیف کردن توالی‌های ژن *Lr29* و بررسی تنوع نوکلئوتیدی ٤۷
۳-۳-۲ گروه‌بندی براساس توالی ژن *Lr29* و رابطه آن با توالی‌های مشابه ٤۸
۳-٤ ژن *Lr1* ٤۹
۳-٤-۱ تکثیر ژن *Lr1* با استفاده از جفت آغازگر *Lr1*-2 ..... ٤۹
۳-٤-۱-۱ هم‌ردیف کردن توالی‌ها در ارقام و بلاست توالی‌های ژن *Lr1* تکثیر شده با استفاده از جفت آغازگر *Lr1*-2 ..... ۵۰
۳-٤-۱-۲ گروه‌بندی ارقام براساس توالی ژن *Lr1* تکثیر شده با استفاده از جفت آغازگر *Lr1*-2 و رابطه آن با توالی‌های موجود در NCBI ۵۲
۳-٤-۲ بررسی ژن *Lr1* با استفاده از جفت آغازگر *Lr1*-3 ..... ۵۳
۳-٤-۲-۱ هم‌ردیف کردن قطعه توالی‌یابی شده در ارقام مورد مطالعه و تنوع نوکلئوتیدی ۵۳
۳-٤-۲-۲ گروه‌بندی ارقام گندم براساس توالی قطعه ژن *Lr1* تکثیر شده با استفاده از جفت آغازگر *Lr1*-3 و رابطه آنها با توالی‌های موجود در NCBI ۵٦
۳-٤-۳ تکثیر قطعه‌هایی از ژن *Lr1* با استفاده از جفت آغازگر *Lr1*-4 ..... ۵٦
۳-٤-۳-۱ هم‌ردیف کردن قطعه توالی‌یابی شده در ارقام مورد مطالعه و بررسی تنوع نوکلئوتیدی ۵۷
۳-٤-۳-۲ گروه‌بندی ارقام براساس توالی قطعه ژن *Lr1* تکثیر شده با استفاده از جفت آغازگر *Lr1*-4 و رابطه آن با توالی ژن‌های مشابه ٦۱
۳-٤-٤ تکثیر قطعه ژن *Lr1* با استفاده ازجفت آغازگر *Lr1*-5 ..... ٦۲

۳-٤-٤-۱ هم‌ردیف کردن قطعه توالی‌یابی شده در ارقام مورد مطالعه و بررسی تنوع نوکلئوتیدی ٦٢
۳-٤-٤-۲ گروه‌بندی ارقام گندم براساس توالی قطعه تکثیری با استفاده از جفت آغازگر *Lr1*-5 و رابطه آنها با توالی‌های موجود در NCBI ٦٦
۳-۵ ژن *Lr21* ٦٧
۳-۵-۱ هم‌ردیف کردن توالی قطعات تکثیری در ارقام مورد مطالعه و بررسی تنوع نوکلئوتیدی ٦٨
۳-۵-۲ گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه براساس توالی ژن *Lr21* و رابطه آنها با توالی‌های موجود در NCBI ٧٢
۳-٦ ژن *Lr35* ٧٣
۳-٦-۱ هم‌ردیف کردن توالی قطعه ژن *Lr35* تکثیر شده توسط جفت آغازگر *Lr35*-1 در ارقام مورد مطالعه و بررسی تنوع نوکلئوتیدی ٧٤
۳-٦-۱-۱ گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه براساس توالی تکثیری با استفاده از جفت آغازگر *Lr35*-1 و رابطه آنها با توالی‌های موجود در NCBI ٧٧
۳-٦-۱-۲ گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه براساس توالی تکثیری با استفاده از جفت آغازگر *Lr35*-2 و رابطه آنها با توالی‌های موجود در NCBI ٧٨
۳-٦-۱-۳ گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه براساس توالی تکثیری با استفاده از جفت آغازگر *Lr35*-3 و رابطه آنها با توالی‌های موجود در NCBI ٧٨
۳-٦-۲ گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه براساس توالی کلیه قطعات ژن *Lr35* ٧٩
۳-۷ ژن *Lr39* ٨٠
۳-۷-۱ هم‌ردیف کردن توالی قطعات تکثیری در ارقام مورد مطالعه و بررسی تنوع نوکلئوتیدی ٨٠
۳-۷-۲ گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه بر اساس توالی تکثیری با استفاده از جفت آغازگر Gdm35 و رابطه آنها با توالی‌های موجود در NCBI ٨٢
۳-۸ ژن *Lr10* ٨٣
۳-۸-۱ هم‌ردیف کردن توالی قطعه ژن *Lr10* تکثیر شده توسط جفت آغازگر *Lr10*-1 در ارقام مورد مطالعه و بررسی تنوع نوکلئوتیدی ٨٤
۳-۸-۲ گروه‌بندی ارقام گندم براساس توالی قطعه تکثیر شده با استفاده از جفت آغازگر *Lr10*-1 و رابطه آنها با توالی‌های موجود در NCBI ٨٧

۳-۹ ژن *Lr51* ۸۷
۳-۹-۱ هم‌ردیف‌کردن قطعه توالی‌یابی شده در ارقام مورد مطالعه و بررسی تنوع نوکلئوتیدی ۸۸
۳-۹-۲ گروه‌بندی ارقام گندم براساس قطعه تکثیر شده با استفاده از جفت آغازگر S30-13L و AGA7-759 و رابطه آنها با توالی‌های موجود در NCBI ۹۰
۳-۱۰ ژن *Lr50* ۹۰
۳-۱۰-۱ هم‌ردیف کردن قطعه توالی‌یابی شده در ارقام مورد مطالعه و بررسی تنوع نوکلئوتیدی ۹۱
۳-۱۰-۲ گروه‌بندی توالی‌ها با استفاده از جفت آغازگر Gdm87 و رابطه آنها با توالی‌های موجود در NCBI ۹۲
۳-۱۱ گروه‌بندی ارقام گندم نان بر اساس توالی ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای توالی‌یابی شده ۹۳
۳-۱۲ میزان جایگزینی‌های مشابه (Ks) و جایگزینی‌های نامشابه (Ka) و نسبت Ka/Ks در ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای مورد بررسی ۹۳
نتیجه‌گیری ۹۵
پیشنهادها ۹۶
منابع ۹۷
ضمیمه ۱۰۵


مقدمه

مقدمه

گندم به همراه ذرت و برنج بیش از ٦٠ درصد از کالری‌ها و پروتئین مصرفی جمعیت دنیا را فراهم می‌کند. در سال ۲۰۰۲، سطح زیر کشت گندم در جهان، ۲۱۰ میلیون هکتار، برنج ۱٤۷ میلیون هکتار و ذرت ۱۳۹ میلیون هکتار بود (گیل و همکاران، ۲۰۰٤). سطح زیر کشت گندم حدود ۱۷ درصد از زمین‌های زیر کشت در جهان است و این گیاه، ماده غذایی عمده ۳۵ درصد از جمعیت جهان را تشکیل داده و ۲۰ درصد از کالری مصرفی را تامین می‌کند (هانگ و همکاران، ۲۰۰۳).

جهت تامین نیازهای تغذیه‌ای انسان تا سال ۲۰۵۰، تولید سبز بایستی سالانه دو درصد افزایش یابد (گیل و همکاران، ۲۰۰٤). پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۳۰ جمعیت دنیا دو میلیارد نفر با جمعیت کنونی فاصله داشته باشد (میرک‌زاده و غیاثوند، ۱۳۸۷). از سوی دیگر، تنش‌های زنده و غیر زنده سالانه ۲۵ درصد به عملکرد گندم خسارت وارد می‌کنند (گیل وهمکاران، ۲۰۰٤) که از بین آن‌ها، عوامل بیماریزا باعث کاهش ۱۲ درصد تولید گیاهان زراعی در جهان می‌شوند (رومنز و کیشور، ۲۰۰۰). بنابراین، برای رسیدن به افزایش عملکرد و حفظ محصول از آفات و بیماری‌ها باید پیشرفت زیادی در زیست‌شناسی، ژنتیک، فیزیولوژی گندم و چگونگی افزایش تولید آن صورت گیرد. شناسایی، همسانه‌سازی و توالی‌یابی ژن‌های مقاومت و تعیین ساختار آن‌ها، می‌تواند کمک زیادی به تولید ارقام مطلوب نماید (گیل و همکاران، ۲۰۰٤).

حاصل یک قرن مطالعات گسترده برای بکارگیری صدها ژن مقاومت، جمع آوری اطلاعات ارزشمندی از توانایی‌ها و محدودیت‌های استفاده از این ژن‌ها می‌باشد (رومنز و کیشور، ۲۰۰۰). وجود تعداد زیاد توالی‌های تکراری و بزرگ بودن ژنوم گندم نان از مشکلاتی است که شناسایی این ژن‌ها و همسانه‌سازی آن‌ها را با مشکل مواجه می‌سازد (فیولت و همکاران، ۲۰۰۳). تاکنون پنج گروه از ژن‌های مقاومت شناسایی شده‌اند، که بزرگترین گروه از این ژن‌ها، گروهی هستند که پروتئین‌هایی

را با جایگاه NBS–LRR[1] رمز می‌کنند (هانگ و همکاران، ۲۰۰۳). بکارگیری ژن‌های مقاومت به بیماری استفاده از قارچ‌کش‌ها را به‌حداقل رسانده، باعث جلوگیری از خطرات زیست محیطی شده و هزینه‌های تولید را کاهش می‌دهد (وانزتی و همکاران، ۲۰۰۶؛ کیو و همکاران، ۲۰۰۷).

زنگ قهوه‌ای از بیماری‌های قارچی مهم گندم است که بیشترین پراکنش را در سطح جهان داشته و تولید آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد. تولید گندم بدون استفاده از قارچ‌کش‌ها بطور معنی‌داری بوسیله بیماری زنگ غلات مخصوصاً زنگ قهوه‌ای محدود می‌شود که نتیجه آن کاهش جدی عملکرد در سطح جهانی است. بنابراین، اصلاح برای مقاومت به زنگ قهوه‌ای در اکثر برنامه‌های اصلاحی گندم یکی از اهداف اصلی است (فیولت و همکاران، ۲۰۰۳).

ایجاد نژادهای جدید عامل بیماری، نقش عمده‌ای در اپیدمی آن ایفا می‌کند (کولمر، ۲۰۰۳). با کشف اساس ژنتیکی مقاومت به زنگ توسط بیفن در سال ۱۹۰۵، تشخیص نژادهای فیزیولوژیک عامل بیماری بوسیله لوین و استاکمن در سال ۱۹۶۲ و تئوری ژن برای ژن توسط فلور در سال ۱۹۵۶، تولید ارقام مقاوم به بیماری بعنوان مناسب‌ترین روش اصلاحی رایج شد (نقل از سینگ و همکاران، ۲۰۰۲).

برخی از ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای در مرحله گیاهچه‌ای موثر بوده و برخی مقاومت را در مرحله بلوغ گیاه القاء می‌کنند. ژن‌های *Lr12*، *Lr13*، *Lr21*، *Lr34* و *Lr46* از جمله ژن‌های مؤثر و مفید در بین این ژن‌ها می‌باشند که بطور گسترده در برنامه‌های اصلاحی استفاده می‌شوند (جرمن و کولمر، ۱۹۹۲؛ مک اینتاش و همکاران، ۱۹۹۵؛ کولمر، ۱۹۹۷؛ هانگ و گیل، ۲۰۰۱ ؛ اسچنوربوش و همکاران، ۲۰۰۴ ؛ زو و همکاران، ۲۰۰۵).

1. Nucleotide Binding Site– Leucine Rich Repeat

هدف این بررسی شناسایی، همسانه‌کردن و توالی‌یابی تعدادی از ژن‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای یا نواحی ژنومی حامل آن‌ها در هفت رقم گندم نان با درجات متفاوت مقاومت به زنگ است. هم‌ردیف کردن توالی‌های حاصل در ارقام مورد مطالعه و شناسایی تفاوت‌های نوکلئوتیدی آن‌ها در این نواحی می‌تواند در طراحی آغازگرهای جدید برای برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر استفاده شود.

فصل اول

بررسی منابع

۱-۱- گندم

گندم اولین گیاه زراعی اهلی شده و جوانترین گونه پلی‌پلوئید در بین گونه‌های زراعی است که در شرایط محیطی مختلف می‌تواند بخوبی رشد کند (گیل و همکاران، ۲۰۰٤). در سال ۲۰۰۳ تولید گندم در دنیا برابر با ٥٦۰ میلیون تن و ارزش تجاری گندم درسال ۲۰۰۱، ۳۱ میلیون دلار و بیش از سایر محصولات زراعی بوده است (فائو، ۲۰۰٥). سطح زیر کشت گندم در ایران برابر با شش میلیون و چهار صد هزار هکتار و عملکرد گندم برابر با ۲۳٤۳۷ هکتوگرم در هکتار بر اساس تخمین فائو می‌باشد (فائو، ۲۰۰۸).

مبدا گندم جنوب غربی آسیا بوده و در ۱۰ تا ۱٥ هزار سال پیش از میلاد مسیح در این مناطق برای تغذیه انسان‌ها از گندم استفاده می‌شده است (کریمی، ۱۳۷۱). گندم نان *Triticum aestivum* L. (2n=6x=42) یک آلوهگزاپلوئید با هفت گروه کروموزومی است. هر گروه دارای یک مجموعه از سه کروموزوم هومیولوگ[1] می‌باشد که متعلق به ژنوم های A، B و D است (لاگودا و همکاران، ۲۰۰۱؛ گیل و همکاران، ۲۰۰٤). گونه وحشی *Triticum urartu*، دهنده ژنوم AA به گندم هگزاپلوئید بوده و دهنده ژنوم BB، احتمالاً *Aegilops speltoides* است، که در تلاقی باهم *Triticum turgidum* (AABB) را بوجود آورده‌اند و دهنده ژنوم DD نیز *Aegilops tauschii* می‌باشد. (گیل و همکاران ۲۰۰٤).

در بین گیاهان زراعی، گندم نان بزرگتـــــرین ژنـــوم را با اندازه ژنومی 16000Mb دارا است (آرموجاناتان و ارل، ۱۹۹۱). حدود ۹۰-۸۰ درصد از ژنوم گندم دارای توالی‌های تکراری بوده و ۷۰ درصد آن دارای عناصر متحرک (TEs)[2] شناخته شده می‌باشد (فیولت و همکاران، ۲۰۰۳؛

1. Homeologous
2. Transposable Elements

لای و همکاران، ۲۰۰٤). همچنین بیش از ۹۰ درصد ژنوم گندم شامل توالی‌های غیر رمز کننده بوده و میانگین نسبی فاصله ژنتیکی و فیزیکی آن نیز برابر4/4 Mb/cM می‌باشد (فاریس و گیل، ۲۰۰۲).

اکثر ژن‌های مهم زراعی یا الل‌های آنها مختص کروموزوم بوده وTriplicate نیستند. بعنوان مثال الل‌های مفید شناخته شده برای ژن‌های مقاومت به آفات و بیماری‌های قارچی در روی یکی از سه کروموزوم هومیولوگ قرار دارند. چگالی ژنی[1] در گندم متفاوت می‌باشد و بین ۱٦–۱ ژن در هر کلنی BAC[2] یا تقریباً یک ژن در 100Kb برآورد شده است (گیل و همکاران، ۲۰۰٤).

در حال حاضر چهار گونه از گندم کشت می‌شود:

Einkorn (*T. monococcum*)، Emmer (*T. durum*)، timopheevi و گندم نان. گندم دوروم و گندم نان جهت مصارف غذائی کشت می‌شوند (گیل و همکاران، ۲۰۰٤).

۱–۲– زنگ قهوه‌ای گندم

زنگ قهوه‌ای گندم یکی از بیماری‌های قارچی مهم گندم است که بیشترین پراکنش را در سطح جهان دارد و تولید گندم را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در مکان‌هایی که ارقام حساس کشت شده باشند و شرایط محیطی برای ایجاد آلودگی بوسیله یوردینیا مناسب باشد، به میزان زیادی بر روی پهنک برگ‌ها مشاهده می‌شود. اپیدمی این بیماری خسارات شدیدی به عملکرد دانه وارد کرده و کیفیت غذایی آن را پائین می‌آورد (لینگ و همکاران، ۲۰۰٤). این بیماری باعث کاهش ۳ درصد عملکرد سالانه در سطح جهان می‌شود که معادل دو بیلیون دلار آمریکا است (یوزدا، ۲۰۰۳)

1. Gene Density
2. Bacterial Artificial Chromosome

۱-۲-۱- تاریخچه بیماری

وجود نژادهای فیزیولوژیک زنگ قهوه‌ای اولین بار توسط مانیز و جکسون (۱۹۲۳) براساس آلوده‌سازی دو رقم مالاکف[1] و کانارد[2] گزارش گردید. این بیماری در ایران اولین بار توسط اسفندیاری (۱۳۲٦) در سال ۱۳۲۵ گزارش شده است. به علت این که زنگ قهوه‌ای غالباً در روی برگ‌ها دیده می شود به آن زنگ برگ[3] نیز می‌گویند. این زنگ نسبت به زنگ زرد و سیاه گندم حرارت دوست‌تر است و خسارت آن در مناطق گرم و مرطوب مانند دشت مغان، شمال خوزستان و... قابل توجه‌تر می‌باشد. این بیماری در تمام مناطق ایران گزارش شده‌است. اهمیت اقتصادی آن مشابه یا بیشتر از زنگ سیاه و کمتر از زنگ زرد می‌باشد (الهی نیا. ۱۳۷۵). ولی گستردگی آن از زنگ زرد بیشتر است (بهداد، ۱۳٦۲). این قارچ عملاً همزیست کشت گندم است و هر جا بلوغ گندم دیر هنگام باشد، بیشتر شایع است (شاهچراغی و معصومی، ۱۳۷٦).

۱-۲-۲- عامل بیماری

پاتوژن‌های زنگ گندم متعلق به جنس *Puccinia*، خانواده Puccinaceae، راسته Uredinales، رده Basidiomycetes می‌باشند. این پاتوژن تغییرات اسمی زیادی داشته است و در سال ۱۹۵٦ کامینس[4] و کالدول[5] (نقل از سینگ و همکاران، ۲۰۰۲)، نام *Puccinia recondita* را پیشنهاد کردند. امروزه از نام علمی *P. recondite f.sp. triticina* بطور وسیع استفاده می‌شود.

1. Malakof
2. Kanard
3. Leaf rust
4. Cummins
5. Caldwell