دانشکده تولید گیاهی

گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

پایان‌نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی‌ارشد (M.Sc.) در رشته اصلاح نباتات

تجزیه میانگین نسل‌ها و توارث مقاومت به بیماری سپتوریوز برگی در گندم

پژوهش و نگارش:

محبوبه محمدی

اساتید راهنما:

دکتر سیده ساناز رمضانپور

دکتر سعید نواب‌پور

اساتید مشاور:

دکتر حسن سلطانلو

مهندس شعبان کیا

مهندس مهدی کلاته‌عربی

۱۳۸۹

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱) قبل از چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً بطور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.

۲) در انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.

۳) انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **محبوبه محمدی** دانشجوی رشته **اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

حمد و سپاس

بسپار روحت را به نسیم رحمت پروردگار

موسیقی خداوند را در همه چیز بشنو

و بنوش تو گل باغ خدایی

گلبرگ‌هایت را یکی یکی باز کن

شادمانه شکوفا شد

ستوده باد پروردگاری که داده است به تو چنین

فرصتی را

ستوده باد خدا

تقدیم به

دو موجود مقدس

آنان که ناتوان شدند تا من به توانایی برسم،

موهایشان سپید شد تا من در اجتماع روسپید شوم

و عاشقانه سوختند تا روشنگر راهم باشند و گرمابخش وجودم

پدرم و مادرم

سپاسگزاری

سپاس خداوندی را که سخنوران از ستودن او عاجزند و حسابگران از شمارش نعمت‌های آن ناتوان و تلاشگران از ادای حق او درمانده. خداوندی که انکار ژرف اندیش، ذات او را درک نمی‌کند و دست غواصان دریای علوم به او نخواهد رسید. ستایش می‌کنم خداوند را برای تکمیل نعمت‌های او، تسلیم بودن در برابر بزرگی او و ایمن بودن از نافرمانی او؛ و در رفع نیازها از او یاری می طلبم. بر خود لازم می دانم که از استاد فرزانه، اسوه تلاش و معلم اخلاق سرکار خانم **دکتر سیده ساناز رمضانپور** که در کمال متانت و شکیبایی در کلیه مراحل این پایان نامه مرا مشمول راهنمائی‌های بی شائبه خود قرار دادند سپاسگزاری و تشکر نمایم. از استاد گرامی جناب آقای **دکتر سعید نواب پور** که به عنوان استاد راهنمای دوم این پایان نامه، مرا در به ثمر رسیدن این رساله راهنمایی نمودند سپاسگزارم. از اساتید ارجمند جناب آقای **دکتر حسن سلطانلو**، جناب آقای **مهندس مهدی کلاته عربی** و جناب آقای **مهندس شعبان کیا** که با بزرگواری مشاورت این پایان نامه را تقبل نمودند صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم. از اساتید عزیز آقایان دکتر اسدالله احمدی خواه و دکتر علی اصغر نصرالله نژاد به عنوان اساتید داور قدردانی می‌نمایم.

از نماینده تحصیلات تکمیلی سرکار **خانم دکتر شعبانپور**، مدیر گروه محترم سابق بخش اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی جناب آقای دکتر **محمدهادی پهلوانی**، ریاست و معاون محترم دانشکده علوم زراعی، مسئولین آزمایشگاه‌های مرکزی و ژنتیک و کلیه پرسنل مرکز تحقیقات کشاورزی گرگان به دلیل همکاری در اجرای این رساله تشکر می‌نمایم.

من مرهون الطاف و یاری اساتید ارجمند جناب آقای **دکتر فرهاد مهاجری** و جناب آقای **دکتر روح اله عبدالشاهی** که افتخار شاگردی شان را در دوره قبل داشتم، هستم و سلامتی و موفقیت شان را از خداوند منان خواستارم.

افتخار آشنایی با دوستان عزیز و گرامی این دوره خانم‌ها مائده کمالی، نازیلا کمالی، وکیلی، حیدری، قربانی، ارجمند، میرزائیان، کاظمی، نیک منش، عباسی، محمدیان، ملائیان و آقایان نوری و قادری موهبتی است که خداوند متعال به بنده ارزانی داشت، یاد و خاطره این عزیزان همواره با من خواهد بود.

از مادر و پدرم که همواره در طول زندگی پشتیبان و مشوق من بودند عاجزانه سپاسگزاری می کنم، سلامت و طول عمرشان را از خداوند متعال خواستارم.

از حمایت‌های برادر و خواهرم قدردانی می کنم و سلامتی و خوشبختی شان را آرزومندم.

چکیده

گندم به‌عنوان غذای اصلی جوامع بشری و یک محصول استراتژیک از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. بوته‌های گندم در تمام مراحل رشد در تمام محیط‌های طبیعی در معرض تنش‌های گوناگون قرار دارند و حفظ محصول گندم در برابر این تنش‌ها یکی از روش‌های رسیدن به تولید بیشتر و بالا بردن کیفیت آن می‌باشد. بیماری سپتوریوز برگی گندم با عامل *Mycosphaerella graminicola* در بسیاری از مناطق دنیا و از جمله مناطق مرطوب ایران شایع می‌باشد که سالانه باعث کاهش عملکرد می‌شود. در این مطالعه به‌منظور تعیین نحوه کنترل ژنتیکی صفات سطح نکروز برگ، سطح پوشش پیکنیدی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در مرحله گیاهچه‌ای و صفات شدت بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت آن در مرحله گیاه کامل، از ژنوتیپ‌های تجن، مروارید، مغان ۳، کوهدشت و لاین مقاوم و جمعیت‌های F_1، F_2، BC_1 و BC_2 حاصل از تلاقی آن‌ها در روش تجزیه میانگین نسل‌ها استفاده گردید. تلاقی‌ها و نسل‌ها در مرحله گیاهچه‌ای و گیاه کامل به‌ترتیب در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه و بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه با چند مشاهده در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین تمام نسل‌ها بود، بنابراین تجزیه ژنتیکی این صفات انجام گرفت. براساس نتایج حاصل، اثرات افزایشی و غیرافزایشی و اپیستازی در کنترل کلیه صفات به‌جز صفت شدت بیماری در تلاقی مروارید × تجن در مرحله گیاه کامل، نقش

داشتند، البته نقش اثرات غالبیت و اثرات متقابل غالبیت × غالبیت در کنترل صفات از اهمیت بیشتری برخوردار بود. بنابراین توصیه می‌شود که از روش‌های تولید هیبرید و یا گزینش در نسل‌های پیشرفته و انتهایی برای بهبود مقاومت به بیماری سپتوریوز برگی گندم استفاده گردد. الگوی تظاهر ژن‌های بتا- ۱و۳ گلوکاناز و کالکون سینتاز در مرحله دوبرگی در ژنوتیپ‌های لاین مقاوم و تجن با روش زنجیره‌ای پلی‌مراز کمی با نسخه‌برداری معکوس در زمان واقعی (qRT-PCR) مورد مطالعه قرار گرفت. الگوی تظاهر دو ژن متفاوت بود براساس نتایج، ژن بتا- ۱و۳ گلوکاناز به‌دلیل بیان بیشتر در هر دو ژنوتیپ، می‌تواند کاندید مناسبی برای ژن واکنش دفاعی گندم به بیماری سپتوریوز برگی محسوب شود.

واژه‌های کلیدی: تجزیه میانگین نسل‌ها، qRT-PCR، سپتوریوز برگی گندم

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول : مقدمه

فصل دوم: مرور منابع

۲-۱) مشخصات گندم..... ٦

۲-۲) بیماری سپتوریوز برگی گندم و عوامل بیماری‌زا..... ۷

۲-۲-۱) تاریخچه، مناطق انتشار و اهمیت بیماری..... ۸

۲-۲-۲) شرح گونه *Septoria tritici* Rob.ex Desm..... ۱۰

۲-۲-۳) ظهور علائم و پیشرفت بیماری..... ۱۰

۲-۲-٤) چرخه آلودگی بیماری سپتوریوز برگی گندم..... ۱۲

۲-۲-۵) شرایط محیطی مورد نیاز جهت جوانه‌زنی، نفوذ و آلودگی..... ۱۳

۲-۳) روش‌های ارزیابی بیماری..... ١٤

۲-۳-۱) روش رتبه‌دهی ساری- پرسکات..... ١٤

۲-۳-۱-۱) روش ۰-۹ ساری- پرسکات ۱٤
۲-۳-۱-۲) روش ۰۰-۹۹ ساری- پرسکات ۱٤
۲-٤) سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری ۱۵
۲-۵) روش‌های آماری و ژنتیکی ۱٦
۲-۵-۱) تجزیه میانگین نسل‌ها ۱٦
۲-۵-۲) فرضیه‌ها در تجزیه میانگین نسل‌ها ۱۹
۲-۵-۳) مزایای استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها ۲۰
۲-۵-٤) معایب استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها ۲۰
۲-۵-۵) آزمون معنی‌دار شدن اختلاف ژنتیکی ۲۱
۲-٦) آزمون‌های کفایت مدل‌های مورد استفاده در تجزیه میانگین نسل‌ها ۲۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۲-٦-۱) فرضیات آزمون‌های مقیاس ۲۲
۲-٦-۲) آزمون مقیاس ۲۲
۲-٦-۳) آزمون مقیاس مشترک ۲۳
۲-۷) مدل‌های مورد استفاده در تجزیه میانگین نسل‌ها ۲۵
۲-۷-۱) مدل سه پارامتری ۲۵
۲-۷-۲) مدل پنج پارامتری ۲۵
۲-۷-۳) مدل شش پارامتری ۲٦
۲-۸) برآورد اجزاء واریانس ۲٦
۲-۹) درجه غالبیت و توانایی نسبی ۲۷
۲-۱۰) هتروزیس و هتروبیلتیوسیس ۲۹
۲-۱۰-۱) اساس ژنتیکی هتروزیس ۳۰
۲-۱۰-۲) آزمون هتروزیس و هتروبیلتیوسیس ۳۰

۲-۱۱) توارث‌پذیری ۳۱
۲-۱۱-۱-۱) برآورد توارث‌پذیری ۳۲
۲-۱۱-۱-۲) توارث‌پذیری عمومی ۳۲
۲-۱۱-۲) توارث‌پذیری خصوصی ۳۲
۲-۱۲) آثار سوء ناشی از خویش‌آمیزی ۳۲
۲-۱۳) روش ملکولی بررسی مقاومت ژنوتیپ‌ها نسبت به بیماری سپتوریوز برگی گندم ۳۳
۲-۱۳-۱) مکانیسم‌های دفاعی در گیاه ۳۳
۲-۱۳-۲) بررسی روش‌های تعیین بیان ژن‌های دخیل در واکنش‌های دفاعی ۳۳
۲-۱۳-۳) واکنش کمی زنجیره‌ای پلیمراز با نسخه‌برداری معکوس در زمان واقعی ۳٤
۲-۱۳-۳-۱) دلایل استفاده از روش qRT-PCR ۳۵
۲-۱۳-۳-۲) مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۳۵

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۲-۱۳-۲-۳) مزایای Real Time PCR ۳٦
۲-۱٤) انواع تکنیک‌های Real Time PCR ۳٦
۲-۱٤-۱) Real Time PCR با استفاده از سایبرگرین ۳٦
۲-۱٤-۲) Real Time PCR با استفاده از کاوشگر هیدرولیز یا Taq man ۳۷
۲-۱٤-۳) Real Time PCR با استفاده از کاوشگر هیبریدشونده ۳۸
۲-۱۵) کنترل‌های Real Time PCR ۳۸
۲-۱٦) روش‌های ارزیابی کمی ۳۸
۲-۱۷) تجزیه داده‌ها ۳۸
۲-۱۸) مروری بر مطالعات گذشته ٤۰

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱) تهیه مواد آزمایشی جهت انجام طرح تجزیه میانگین نسل‌ها ۵۰

۳-۲) جمع‌آوری نمونه، کشت، جداسازی و تهیه مایه تلقیح قارچ عامل بیماری سپتوریوز برگی گندم ۵۱
۳-۲-۱) روش مستقیم ۵۲
۳-۳) ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها به بیماری سپتوریوز برگی گندم در مرحله گیاهچه‌ای ٥٤
۳-۳-۱) مرحله آلوده‌سازی گیاه به قارچ عامل بیماری ٥٤
۳-۳-۲) صفات مورد بررسی در مرحله گیاهچه‌ای ٥٥
۳-٤) ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها به بیماری سپتوریوز برگی گندم در مرحله گیاه کامل ٥٦
۳-٤-۱) مرحله آلوده‌سازی گیاه به قارچ عامل بیماری ٥٦
۳-٤-۲) صفات مورد بررسی در مرحله گیاه کامل ٥٦
۳-٥) روش‌های آماری و ژنتیکی تجزیه میانگین نسل‌ها ٥٧

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-٥-۱) تجزیه واریانس و تجزیه ژنتیکی ٥٧
۳-٥-۲) آزمون مقیاس ٥٧
۳-٥-۳) آزمون مقیاس مشترک ٥٧
۳-٥-٤) درجه غالبیت و توانایی نسبی ٥٧
۳-٥-٥) توارث‌پذیری ٥٨
۳-٥-٦) هتروزیس و هتروبیلتیوسیس ٥٨
۳-٥-۷) آثار سوء ناشی از خویش‌آمیزی ٥٨
۳-٦) آزمایشات ملکولی Real Time PCR ٥٨
۳-٦-۱) نمونه‌برداری ٥٨
۳-٦-۲) استخراج RNA ٥٩
۳-٦-۳) ساخت cDNA ٦٠
۳-٦-٤) مراحل انجام روش Real Time PCR ٦١

۳-٦-٤-۱) ژن‌های مورد استفاده در آزمایشات qRT-PCR و ارزیابی اختصاصی بودن آغازگرهای مورد استفاده ٦۱
۳-٦-٥) تجزیه داده‌ها ٦۳

فصل چهارم :نتایج و بحث
٤-۱) نتایج تجزیه‌های آماری مقاومت ژنوتیپ‌ها در مرحله گیاهچه‌ای ٦٦
٤-۱-۱) آزمون معنی‌دار شدن اختلاف‌های ژنتیکی ٦٦
٤-۱-۲) تعیین بهترین مدل آماری ٦۷
٤-۱-۳) برآورد اثرهای ژنی صفات مورد مطالعه براساس تجزیه میانگین نسل‌ها ٦۹
٤-۱-٤) آزمون مقیاس ۷۰

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

٤-۱-٥) برآورد اجزاء واریانس ۷۱
٤-۱-٦) درجه غالبیت ۷۳
٤-۱-۷) میزان توانایی نسبی ۷۳
٤-۱-۸) هتروزیس و هتروبیلتیوسیس ۷۳
٤-۱-۹) آثار سوء ناشی از خویش‌آمیزی ۷٤
٤-۱-۱۰) توارث‌پذیری ۷٥
٤-۱-۱۱) مقایسه میانگین نسل‌ها ۷٦
٤-۱-۱۲) همبستگی بین صفات در مرحله گیاهچه‌ای ۸۰
٤-۲) نتایج تجزیه‌های آماری مقاومت ژنوتیپ‌ها در مرحله گیاه کامل ۸۰
٤-۲-۱) آزمون معنی‌دار شدن اختلاف‌های ژنتیکی ۸۰
٤-۲-۲) تعیین بهترین مدل آماری ۸۱
٤-۲-۳) برآورد اثرهای ژنی صفات مورد مطالعه براساس تجزیه میانگین نسل‌ها ۸۲

٤-٢-٤) آزمون مقیاس ٨٣
٤-٢-٥) برآورد اجزاء واریانس ٨٣
٤-٢-٦) درجه غالبیت ٨٤
٤-٢-٧) میزان توانایی نسبی ٨٥
٤-٢-٨) هتروزیس و هتروبیلتیوسیس ٨٥
٤-٢-٩) آثار سوء ناشی از خویش‌آمیزی ٨٥
٤-٢-١٠) توارث‌پذیری ٨٦
٤-٢-١١) مقایسه میانگین نسل‌ها ٨٦
٤-٢-١٢) همبستگی بین صفات ٨٨
٤-٣) نتایج آزمایشات مطالعه تغییر در الگوی بیان ژن‌های دخیل در واکنش دفاعی ٨٩
٤-٣-١) استخراج RNA ٨٩

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

٤-٣-٢) ارزیابی اختصاصی بودن آغازگرهای مورد استفاده ٨٩
٤-٤) نتایج آزمون qRT-PCR ٩٠
٤-٤-١) الگوی تظاهر ژن بتا- ١و٣ گلوکاناز ٩٠
٤-٤-٢) الگوی تظاهر ژن کالکون سینتاز (CHS) ٩٣

فصل پنجم : نتیجه‌گیری کلی
٥-١) نتیجه‌گیری تجزیه ژنتیکی صفات مختلف در مرحله گیاهچه‌ای به روش تجزیه میانگین نسل‌ها ٩٨
٥-٢) نتیجه‌گیری تجزیه ژنتیکی صفات مختلف در مرحله گیاه کامل به روش تجزیه میانگین نسل‌ها ٩٩
٥-٣) نتیجه‌گیری آزمایش qRT-PCR ٩٩
٥-٤) پیشنهادات و کارهای آینده ١٠٠
فهرست منابع ١٠١

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- ترکیب شیمیایی بذر گندم ۷
جدول ۲-۲- طبقه‌بندی و نامگذاری گونه‌های *septoria* و *stagonospora* در غلات دانه ریز ... ۸
جدول ۲-۳- فرمول‌های آزمون مقیاس ۲۳
جدول ۲-٤- ضرائب پارامترهای ژنتیکی در مدل‌های ژنتیکی ۲٤
جدول ۲-۵- مقادیر میانگین مورد انتظار نسل‌ها و مقدار کای اسکور ۲٤
جدول ۲-٦- مدل سه پارامتری مدر و جینکز در تجزیه میانگین نسل‌ها ۲۵
جدول ۲-۷- مدل پنج پارامتری هیمن در تجزیه میانگین نسل‌ها ۲۵
جدول ۲-۸- مدل شش پارامتری مدر و جینکز در تجزیه میانگین نسل‌ها ۲٦
جدول ۲-۹- مدل شش پارامتری هیمن در تجزیه میانگین نسل‌ها ۲٦
جدول ۳-۱- ژنوتیپ‌های مورد استفاده در تلاقی‌ها جهت انجام تجزیه میانگین نسل‌ها ۵۰
جدول ۳-۲- زمان‌های نمونه‌برداری از ژنوتیپ‌ها جهت استخراج RNA ۵۹
جدول ۳-۳- آغازگرهای ژن‌های PR پروتئین مورد استفاده برای آزمایش Real-Time PCR ٦۲

جدول ۳-٤- شرایط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ٦٣
جدول ٤-١- تجزیه واریانس تلاقی مروارید × تجن در مرحله گیاهچه‌ای ٦٦
جدول ٤-٢- تجزیه واریانس تلاقی لاین مقاوم × کوهدشت در مرحله گیاهچه‌ای ٦٦
جدول ٤-٣- تجزیه واریانس تلاقی لاین مقاوم × مغان۳ درمرحله گیاهچه‌ای ٦٧
جدول ٤-٤- میانگین و انحراف معیار نسل‌ها در سه تلاقی (مروارید × تجن)، (لاین مقاوم × کوهدشت) و (لاین مقاوم × مغان ۳) در مرحله گیاهچه‌ای ٦٧
جدول ٤-٥- برآوردهای اجزاء ژنتیکی میانگین برای صفات مختلف در سه تلاقی (مروارید × تجن)، (لاین مقاوم × کوهدشت) و (لاین مقاوم × مغان ۳) در مرحله گیاهچه‌ای ٦٨
جدول ٤-٦- آزمون مقیاس صفات مختلف در سه تلاقی (مروارید × تجن)، (لاین مقاوم × کوهدشت) و (لاین مقاوم × مغان ۳) در مرحله گیاهچه‌ای ٧١

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ٤-٧- برآورد اجزاء واریانس صفات مختلف در سه تلاقی (مروارید × تجن)، (لاین مقاوم × کوهدشت) و (لاین مقاوم × مغان ۳) در مرحله گیاهچه‌ای ٧٢
جدول ٤-٨- برآورد مقادیر هتروزیس، هتروبیلتیوسیس، آثار سوء ناشی از خویش‌آمیزی ٧٥
جدول ٤-٩- برآورد توارث‌پذیری عمومی و خصوصی صفات مختلف در سه تلاقی (مروارید × تجن)، (لاین مقاوم × کوهدشت) و (لاین مقاوم × مغان ۳) در مرحله گیاهچه‌ای ٧٦
جدول ٤-١٠- ضرائب همبستگی چهار صفت در گندم در مرحله گیاهچه‌ای ٨٠
جدول ٤-١١- تجزیه واریانس صفات مختلف گندم در مرحله گیاه کامل تلاقی مروارید × تجن ٨٠
جدول ٤-١٢- تجزیه واریانس صفات مختلف گندم در مرحله گیاه کامل تلاقی لاین مقاوم × مغان ۳ ..... ٨١
جدول ٤-١٣- میانگین نسل‌ها و خطای معیار صفات مختلف در شش نسل پایه در تلاقی (مروارید × تجن) و (لاین مقاوم × مغان ۳) گندم در مرحله گیاه کامل ٨١
جدول ٤-١٤- برآوردهای اجزاء ژنتیکی میانگین برای صفات مختلف در دو تلاقی (مروارید × تجن) و (لاین مقاوم × مغان ۳) در مرحله گیاه کامل ٨٢

جدول ٤-١٥- آزمون مقیاس مختلف در دو تلاقی (مروارید × تجن) و (لاین مقاوم × مغان ۳) در مرحله گیاه کامل ۸۳
جدول ٤-١٦- اجزاء واریانس برای صفات مختلف در دو تلاقی (مروارید × تجن) و (لاین مقاوم × مغان ۳) در مرحله گیاه کامل در گندم ۸٤
جدول ٤-١٧- برآورد مقادیر هتروزیس، هتروبیلتیوسیس، آثار سوء ناشی از خویش آمیزی ۸٦
جدول ۲-۱۸- برآورد توارث‌پذیری عمومی و خصوصی صفات مختلف در دو تلاقی (مروارید × تجن) و (لاین مقاوم × مغان ۳) در مرحله گیاه کامل ۸٦
جدول ٤-١٩- ضریب همبستگی در دو صفت در مرحله گیاه کامل ۸۸
جدول ٤-۲۰- تغییرات سطح تظاهر ژن بتا -۱ و۳ گلوکاناز ۹۲
جدول ٤-۲۱- تغییرات سطح تظاهر ژن کالکون سینتاز ۹۵

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱- علائم بیماری *Septoria tritici* روی گندم ۱۱
شکل ۲-۲- چرخه زندگی *Septoria tritici* ۱۲
شکل ۲-۳- چرخه آلودگی *Septoria tritici* ۱۳
شکل ۲-٤- روش رتبه‌دهی (۰۰-۹۹) ساری- پرسکارت در ارزیابی بیماری‌های برگی در گندم و جو ۱۵
شکل ۲-۵- مدل ساده افزایشی- غالبیت با توجه به دو آلل A و a بر اساس سه پارامتر m، a و d ۱۷
شکل ۲-٦- مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۳٦
شکل ۲-۷- منحنی ذوب چند آغازگر و وجود محصولات اختصاصی و غیراختصاصی ۳۷
شکل ۲-۸- پلات تکثیر هلالی نشان‌دهنده حدآستانه، خط پایه و فاز خطی و افزایش در فلورسنس در نمونه A و B ۳۹
شکل ۳-۱- مراحل کاشت، تلاقی و برداشت گندم در مزرعه مرکز تحقیقات گرگان ۵۱
شکل ۳-۲- روش مستقیم جداسازی جدایه‌های *Septoria tritici* ۵۳

شکل ۳-۳- مراحل کشت و آلودگی گیاه به بیمارگر در محیط گلخانه ۵۵
شکل ۳-٤- علائم بیماری *Septoria tritici* روی برگ دوم گندم در ژنوتیپ‌های لاین
مقاوم و تجن..... ٥٦
شکل ٤-۱- نمودار مقایسه میانگین نسل‌ها در تلاقی مروارید × تجن در مرحله گیاهچه‌ای..... ۷۷
شکل ٤-۲-نمودار مقایسه میانگین نسل‌ها در تلاقی لاین مقاوم × کوهدشت در مرحله گیاهچه‌ای ۷۸
شکل ٤-۳- نمودار مقایسه میانگین نسل‌ها در تلاقی لاین مقاوم × مغان ۳ در مرحله گیاهچه‌ای ۷۹
شکل ٤-٤- نمودار مقایسه میانگین نسل‌ها در تلاقی لاین مقاوم × مغان ۳ در مرحله گیاه کامل.... ۸۷
شکل ٤-۵-نمودار مقایسه میانگین نسل‌ها در تلاقی مروارید × تجن در مرحله گیاه کامل ۸۸
شکل ٤-٦- الکتروفورز نمونه‌های RNA استخراج شده ۸۹
شکل ٤-۷- تأیید اختصاصی عمل نمودن یک آغازگر..... ۹۰
شکل ٤-۸- روند تغییرات سطح بیان ژن بتا -۱ و۳ گلوکاناز در لاین مقاوم..... ۹۱

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ٤-۹- روند تغییرات سطح بیان ژن بتا -۱ و۳ گلوکاناز در رقم حساس تجن..... ۹۱
شکل ٤-۱۰-روند تغییرات سطح بیان ژن کالکون سینتازدر لاین مقاوم..... ۹٤
شکل ٤-۱۱- روند تغییرات سطح بیان ژن کالکون سینتاز در رقم حساس تجن ۹۵

فصل اول

مقدمه

مقدمه

امروزه گندم غذای اصلی مردم بسیاری از کشورها می‌باشد. به‌طور متوسط سالیانه ۱۶-۱۵ درصد زمین‌های زیر کشت جهان به این محصول اختصاص داده می‌شود، و بیش از ۲۰ درصد کالری مورد نیاز جمعیت جهان را تأمین می‌کند (بوشاک و رسپر، ۱۹۹٤). در ایران نیز گندم به‌عنوان منبع تأمین کالری و پروتئین مورد نیاز جمعیت کشور بوده و حدود ۷۵ درصد پروتئین و ٦۱ درصد کالری دریافتی روزانه هر فرد از نان تأمین می‌شود (عبدمیشانی و بوشهری، ۱۳۷٦).

بوته‌های گندم در مراحل مختلف رشد در تمام محیط‌های طبیعی در معرض تنش‌های گوناگون قرار دارند. شرایط آب و هوایی، عناصر غذایی، آلاین مقاومده‌ها، آفات، عوامل بیماری‌زایی گیاهی و علف‌های هرز از جمله عواملی هستند که تولید گندم را تهدید می‌کنند. عوامل بیماری‌زا شامل قارچ‌ها، ویروس‌ها، باکتری‌ها، نماتدها و غیره می‌باشند که در بین آن‌ها قارچ‌ها از اهمیت بیشتری برخوردارند.

تعداد بیماری‌های گندم نامعلوم است اما بیش از ۵۰ بیماری شناخته شده است که دارای اهمیت اقتصادی هستند (وایز، ۱۹۷۷). در حال حاضرسپتوریوز برگی گندم[1] با عامل *Mycosphaerella graminicola* در بسیاری از مناطق دنیا شایع می‌باشد که باعث کاهش عملکرد از ۳۱ تا ٥٤ درصد می‌شود (ایال و همکاران، ۱۹۸۵). علائم بیماری ابتدا در برگ‌های پایینی و به‌صورت لکه‌های سفید و آب‌سوخته ظاهر شده، حاشیه لکه‌ها به رنگ زرد تا قرمز قهوه‌ای درآمده و در مرکز آن دانه‌های ریز سیاه رنگ فرورفته در بافت پدید می‌آید. بروز این لکه‌ها روی قاعده پهنک برگ‌ها باعث خشکیدگی آن می‌شود. در اثر آلودگی میزان دانه‌بندی کاهش یافته، پرشدن دانه‌ها ضعیف می‌شود و دانه‌های چروکیده هنگام برداشت همراه کاه از بین می‌روند. علت گسترش بیماری به‌طور عمده ناشی از متداول شدن ارقام نیمه کوتاه، زودرس و حساس به بیماری و جایگزینی سریع و استفاده گسترده از آن‌ها به‌جای ارقام محلی گندم می‌باشد (ایال و همکاران، ۱۹۸۵). مقاومت در گیاه باعث جلوگیری از رشد عامل بیماری و یا کندشدن سرعت رشد آن می‌شود. کنترل مقاومت به‌وسیله یک ژن بزرگ اثر در بعضی از مواد گیاهی و همچنین چندین ژن نیز شناسایی شده است.

از آنجایی‌که استفاده از سموم شیمیایی در کنترل بیماری‌ها موجب بالا رفتن آلودگی‌های زیست محیطی شده و از طرفی کم اثر بودن سموم، بالا رفتن هزینه تولید و مشکلاتی که در سر راه عملیات اجرایی وجود دارد، روز به روز عزم و هدف دستیابی به مقاومت‌های ژنتیکی را پررنگ‌تر نموده و به همین دلیل یافتن منابع مقاومت و به‌کارگیری آن‌ها در رأس کار بسیاری از برنامه‌های اصلاحی قرار گرفته است. توسعه استراتژی‌های جدید برای کنترل بیماری بر پایه مکانیسم‌های دفاعی گیاه امکان تولید محصولات کشاورزی مطمئن و افزایش سلامتی انسان و محیط را مهیا می‌سازد.

مطالعات ژنتیکی و ملکولی و دانستن نوع عمل ژن در بیان یک صفت و قدرت ترکیب‌پذیری در روش‌های اصلاحی جوامع گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است به‌خصوص آنکه اطلاعات و مطالعه دقیق ترکیب‌پذیری می‌تواند در رابطه با انتخاب روش‌های اصلاحی و انتخاب لاین مقاوم‌ها برای ترکیبات دورگی مفید واقع گردد (طالعی، ۱۳۷۵). به‌طورکلی اطلاعات و دانش در مورد نحوه عمل ژن‌ها، استراتژی انتخاب و روش اصلاحی مناسب را برای یک صفت مشخص می‌کند. چنان‌چه در برآوردهای ژنتیکی که اثرات غالبیت و اپیستازی ژن‌ها اهمیت بیشتری داشته باشند، روش‌های اصلاحی تولید هیبرید

1- *Septoria tritici blotch* (STB)