

سلامی

۴۷۲۷۴



دانشگاه رازی

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته اصلاح  
نباتات (مهندسی کشاورزی)

بررسی واکنش ژنوتیپ های گندم دوروم به القاء کالوس و تنش شوری از طریق  
کشت جنین

۱۳۸۷ / ۷ / ۱۱

اساتید راهنما:

دکتر کیانوش چقامیرزا

استاد مشاور:

دکتر عزت اله فرشادفر

نگارش:

مهستی عباسی تکیه

تیر ماه ۱۳۸۷

۴ ۶۳۶ ۶۴



دانشکده کشاورزی  
گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته ی مهندسی کشاورزی گرایش  
اصلاح نباتات

تحقیق و نگارش: مهستی عباسی تکیه

تحت عنوان

بررسی واکنش ژنوتیپ های گندم دوروم به القاء کالوس و تنش شوری از طریق  
کشت جنین

۱۳۸۷ / ۱۷ / ۱۱

در تاریخ ۱۳۸۷/۴/۱۶ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

دکتر کیانوش چقامیرزا	با مرتبه علمی استادیار	امضاء	۱- استاد راهنما
دکتر عزت اله فرشادفر	با مرتبه علمی استاد	امضاء	۲- استاد مشاور
دکتر سعید جلالی هنرمند	با مرتبه علمی استادیار	امضاء	۲- استاد داور داخل گروه
دکتر سید حسین صباغ پور	با مرتبه علمی استادیار	امضاء	۳- استاد داور خارج از گروه

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و  
نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه  
متعلق به دانشگاه رازی است.

## تقدیر و تشکر

منت خدای را عزوجل که طاعتش موجب قربت است و به شکر اندرش مزید نعمت، هر نفسی که فرو می رود ممد حیات است و چون بر می آید مفرح ذات.

خدای را سپاسگزارم که به من توانایی داد تا بتوانم گامی کوچک در راه علم بردارم. از خانواده عزیزم، پدر و مادر بزرگوارم به خاطر حمایت ها، مهربانی ها و از خود گذشتگی هایشان ممنونم و پاک ترین احساساتم را نثارشان می نمایم. تلاشهای بی دریغ و دلسوزانه اساتید بزرگوارم، دکتر کیانوش چقامیرزا و آقای دکتر عزت اله فرشادفر را ارج می نهم و از زحمات و راهنمایی های ایشان ممنونم. از داوران داخلی، خارجی و نماینده محترم تحصیلات تکمیلی، آقایان دکتر سعید جلالی هنرمند و دکتر سید حسین صباغ پور به خاطر پیشنهادهای سازنده شان و آقای دکتر حسنعلی واحدی قدردانی می نمایم. از مدیریت محترم گروه زراعت و اصلاح نباتات جناب آقای دکتر صحبت بهرامی نژاد تشکر می کنم. از اساتید محترم گروه زراعت و اصلاح نباتات آقای دکتر کهریزی، دکتر علیرضا زبرجدی و دکتر عبدالله نجفی بخاطر راهنمایی هایشان کمال تشکر را دارم. از دوستان عزیزم خانم ها آسیه مرادی، لیلا زارعی، فرزانه غاضلی، زینب چقا کبودی، نسرین محمودی، عادلہ افشاری ممنونم و زیباترین لحظات را برایشان آرزومندم. در خاتمه از کلیه کسانی که به نحوی در انجام این پایان نامه مرا یاری نمودند قدردانی نموده و از خداوند متعال توفیق روز افزون برایشان آرزو می نمایم.

## تقدیم به

۲ 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

و برادرهایم که بینهایت دوستشان دارم.

## چکیده

به منظور بررسی واکنش ژنوتیپ های گندم دوروم به القاء کالوس و استرس شوری از طریق کشت جنین، ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم از معاونت مؤسسه تحقیقات دیم سرارود تهیه و در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه مورد بررسی قرار گرفتند. در آزمون جوانه زنی ۲۰ ژنوتیپ تحت تأثیر شش سطح تیمار شوری صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ گرم در لیتر کلرور سدیم قرار گرفتند. همچنین واکنش کالوس های حاصل از جنین های بالغ و نابالغ به شوری نیز در محیط کشت موراشیک و اسکوگ حاوی نمک طعام (شش سطح شوری ۲۰-۰ گرم در لیتر) بررسی شد. ارزیابی ژنوتیپ ها به صورت آزمایش فاکتوریل ۶×۲۰ در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۸۶-۸۴ انجام گردید. در آزمون جوانه زنی صفات مورد بررسی شامل درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه، طول ساقه چه و تعداد ریشه چه بودند. نتایج نشان داد که این صفات با افزایش سطح شوری کاهش یافتند. تجزیه همبستگی نشان داد که بین صفت درصد جوانه زنی با سرعت جوانه زنی و طول ریشه چه همبستگی وجود داشت. بین سرعت جوانه زنی با طول ریشه چه، طول ساقه چه و تعداد ریشه چه همبستگی معنی داری وجود داشت. بین طول ریشه چه و طول ساقه چه و تعداد ریشه چه همبستگی مثبت و معنی داری دیده شد. تجزیه کلاستر ژنوتیپ های مورد مطالعه را به چهار گروه تقسیم نمود که ژنوتیپ های شماره ۱، ۲، ۴ و ۷ در یک گروه قرار گرفتند. 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)، سرعت رشد نسبی کالوس (بر اساس وزن تر) و درصد باززایی گیاهچه در محیط بدون تنش، سرعت رشد کالوس (میلیمتر قطر در روز)، رشد نسبی کالوس (بر اساس وزن تر)، درصد کلروز کالوس و سرعت رشد نسبی کالوس (بر اساس وزن تر) در شرایط تنش مورد مطالعه قرار گرفتند. بر اساس نتایج بدست آمده می توان ژنوتیپ شماره ۳ را در بین ژنوتیپ های مورد مطالعه از نظر واکنش به کشت جنین بالغ و نابالغ در شرایط بدون شوری ژنوتیپ برتر دانست. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که بین ژنوتیپ های مورد مطالعه در صفات بررسی شده تحت شرایط تنش و بین سطوح مختلف شوری اختلاف معنی داری وجود داشت. در جنین نابالغ بین سرعت رشد کالوس و سرعت رشد نسبی کالوس در محیط بدون تنش همبستگی معنی دار و مثبتی وجود داشت. بین رشد نسبی کالوس و سرعت رشد کالوس در شرایط تنش شوری همبستگی وجود داشت. در کشت جنین بالغ بین رشد نسبی کالوس در تنش با سرعت رشد کالوس، سرعت رشد نسبی کالوس و درصد کلروز کالوس در تنش همبستگی معنی داری وجود داشت. تجزیه کلاستر ژنوتیپ های مورد مطالعه را بر اساس صفات اندازه گیری شده کالوس تحت تنش شوری در جنین نابالغ به چهار دسته و در جنین بالغ به پنج دسته گروه بندی نمود. ژنوتیپ های شماره ۲ و ۴ در کشت جنین بالغ و نابالغ در یک گروه تحت عنوان گروه ژنوتیپ های مقاوم قرار گرفتند.

با توجه به نتایج بدست آمده در آزمون جوانه زنی، کشت جنین بالغ و نابالغ ژنوتیپ شماره ۴ به علت دارا بودن درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی بالاتر، رشد نسبی کالوس و سرعت رشد نسبی کالوس بیشتر و درصد کلروز پایین تر در سطوح مختلف شوری به عنوان متحمل ترین ژنوتیپ نسبت به شوری شناسایی شد.

کلمات کلیدی: کشت جنین، القاء کالوس، تحمل شوری، گندم دوروم.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	<b>فصل اول: مقدمه و بررسی منابع</b>
۲	..... مقدمه
۴	..... ۱- بررسی منابع و کلیات
۴	..... ۱-۱- گندم
۴	..... ۱-۱-۱- فراورده های گندم دوروم ژنتیک گندم دوروم
۵	..... ۱-۱-۲-۲- سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد در واحد سطح
۶	..... ۱-۱-۳- طبقه بندی تجاری گندم دوروم فراورده های گندم دوروم
۷	..... ۱-۱-۴- ژنتیک گندم دوروم
۷	..... ۱-۱-۵- اهمیت گندم دوروم در اصلاح نباتات
۸	..... ۲-۱- شوری
۹	..... ۱-۲-۱- تنش شوری و تنش یونی
۱۰	..... ۱-۲-۲- شوری در ایران
۱۱	..... ۱-۲-۳- علل شوری خاک
۱۲	..... ۱-۲-۴- طبقه بندی گیاهان در پاسخ به شوری
۱۲	..... ۱-۲-۵- تاثیر شوری بر رشد گیاه
۱۳	..... ۱-۲-۵-۱- کاهش رشد
۱۳	..... ۱-۲-۵-۲- سمیت یونی و عدم تعادل عناصر غذایی
۱۴	..... ۱-۲-۵-۳- کمبود آب
۱۴	..... ۱-۲-۶- تحمل به تنش شوری
۱۵	..... ۱-۲-۶-۱- آزمون جوانه زنی
۱۷	..... ۱-۲-۷- بیرون راندن و وارد کردن یونها راهی برای ممانعت از خسارت
۱۸	..... ۳-۱- اصلاح پدیده شوری در گیاهان
۱۸	..... ۱-۳-۱- اصلاح گیاهان زراعی برای افزایش مقاومت به شوری با هدف افزایش بازده مصرف آب
۱۹	..... ۱-۳-۲- اصلاح صفات گیاهان وحشی شوری پسندبه جای افزایش مقاومت گیاهان زراعی
۱۹	..... ۱-۳-۳- استفاده از تنوع ژنتیکی درون گونه ای
۱۹	..... ۱-۳-۳-۱- غربال ژنوتیپهای مختلف بر اساس فنوتیپ آنها
۲۰	..... ۱-۳-۳-۲- تلاقی های درون گونه ای
۲۱	..... ۱-۳-۴- استفاده از تنوع ژنتیکی برون گونه ای



۲۱	..... ۵-۳-۱- ایجاد تنوع
۲۱	..... ۱-۵-۳-۱- جهش زایی
۲۱	..... ۲-۵-۳-۱- کشت بافت
۲۴	..... ۴-۱- کشت سلول و بافت گیاهی
۲۵	..... ۱-۴-۱- کشت جنین
۲۶	..... ۱-۴-۱-۱- کشت جنین بالغ
۲۸	..... ۱-۴-۱-۲- کشت جنین نابالغ
۳۳	..... ۱-۴-۲- کاربردهای کشت بافت
۳۳	..... ۱-۴-۲-۱- ممانعت از سقط جنین حاصل از تلاقی های دور
۳۳	..... ۱-۴-۲-۲- تولید گیاهان هاپلوئید
۳۴	..... ۱-۴-۲-۳- غلبه یافتن بر خواب بذر
۳۵	..... ۱-۴-۲-۴- کوتاه کردن دوره اصلاح
	..... ۱-۴-۲-۵- ممانعت از سقط جنین در وارپته های زودرس درختان میوه
۳۵	..... هسته دار
۳۵	..... ۱-۴-۲-۶- جنین ها مواد مناسب برای تکثیر کلون در این ویترو می باشند
۳۶	..... ۱-۴-۲-۷- جوانه زنی بذر گیاهان انگل اجباری
۳۶	..... ۱-۴-۳- عوامل مؤثر در ایجاد گیاه کامل
۳۶	..... ۱-۴-۳-۱- ژنوتیپ
۳۷	..... ۱-۴-۳-۲- مرحله نمو جنین در هنگام جداسازی
۳۷	..... ۱-۴-۳-۳- شرایط رشد گیاه مادری
۳۷	..... ۱-۴-۳-۴- ترکیب محیط کشت
۳۸	..... ۱-۴-۳-۴-۱- عناصر معدنی
۳۸	..... ۱-۴-۳-۴-۲- مواد آلی
۳۸	..... ۱-۴-۳-۴-۳- مواد نیتروژن دار
۳۹	..... ۱-۴-۳-۴-۴- منبع کربن
۴۱	..... ۱-۴-۳-۴-۳- هورمون های رشد گیاهی
۴۲	..... ۱-۴-۳-۵- اکسیژن
۴۲	..... ۱-۴-۳-۶- نور

صفحه	عنوان
۴۲	..... ۱-۴-۳-۷- درجه حرارت
۴۳	..... ۱-۴-۴- باززایی گیاهچه
	فصل دوم: مواد و روشها
۴۶	..... ۲-۱- مواد گیاهی
۴۶	..... ۲-۲- محل انجام آزمایش
۴۷	..... ۲-۳- تکنیک های مورد نیاز در کشت بافت گیاهی
۴۷	..... ۲-۳-۱- شستشوی ظروف
۴۷	..... ۲-۳-۲- ضدعفونی کردن
۴۷	..... ۲-۳-۲-۱- محیط کشت
۴۷	..... ۲-۳-۲-۲- ظروف کشت و سایر وسایل
۴۷	..... ۲-۳-۲-۳- مواد گیاهی
۴۸	..... ۲-۳-۲-۳-۱- ضد عفونی بذور در آزمون جوانه زنی
۴۸	..... ۲-۳-۲-۳-۲- ضد عفونی نمونه های گیاهی نابالغ
۴۸	..... ۲-۳-۲-۳-۲- ضد عفونی نمونه های گیاهی بالغ
۴۸	..... ۲-۳-۲-۴- فضای انجام کار
۴۹	..... ۲-۴- انتخاب محیط های کشت
۴۹	..... ۲-۵- تهیه محیط کشت
۴۹	..... ۲-۵-۱- محلول مادری شماره ۱
۵۰	..... ۲-۵-۲- محلول مادری شماره ۲
۵۰	..... ۲-۵-۳- محلول مادری شماره ۳
۵۱	..... ۲-۵-۴- محلول مادری شماره ۴
۵۱	..... ۲-۵-۵- محلول مادری شماره ۵
۵۱	..... ۲-۵-۶- محلول مادری شماره ۶
۵۱	..... ۲-۶- تهیه یک لیتر محیط کشت MS برای کشت جنین
۵۲	..... ۲-۷- کشت جنین
۵۳	..... ۲-۸- انتقال کالوس ها به محیط کشت
۵۳	..... ۲-۹- خصوصیات طرح آزمایشی
۵۳	..... ۲-۱۰- صفات بررسی شده در آزمایش کشت جنین
۵۳	..... ۱-۱۰-۱- درصد القاء کالوس

۵۳	..... ۲-۱۰-۲- سرعت رشد کالوس (میلیمتر در روز)
۵۴	..... ۲-۱۰-۳- رشد نسبی کالوس (بر اساس وزن تر)
۵۴	..... ۲-۱۰-۴- سرعت رشد نسبی کالوس (بر اساس وزن تر)
۵۵	..... ۲-۱۰-۵- سرعت رشد کالوس در شوری
۵۵	..... ۲-۱۰-۶- رشد نسبی کالوس در شوری
۵۵	..... ۲-۱۰-۷- سرعت رشد نسبی کالوس در شوری (بر اساس وزن تر)
۵۵	..... ۲-۱۰-۸- درصد کلروز کالوس در شوری
۵۵	..... ۲-۱۰-۹- باززایی گیاهچه از کالوس
۵۶	..... ۲-۱۱- بررسی جوانه زنی در شرایط شوری
۵۶	..... ۲-۱۲- بررسی میزان شاخص استرس جوانه زنی
۵۶	..... ۲-۱۳- محاسبات آماری و تجزیه تحلیل داده ها
۵۶	..... ۲-۱۳-۱- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین
۵۶	..... ۲-۱۳-۲- تجزیه همبستگی
۵۷	..... ۲-۱۳-۳- تجزیه خوشه ای

**فصل سوم: نتیجه گیری و بحث**

۵۹	..... ۳-۱- آزمون جوانه زنی
۵۹	..... ۳-۱-۱- تجزیه واریانس
	..... ۳-۱-۲- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم دوروم از نظر صفات مورد مطالعه در آزمون جوانه زنی
۶۱	..... ۳-۱-۳- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در آزمون جوانه زنی در سطوح مختلف شوری
	..... ۳-۱-۴- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و شوری از نظر صفات مورد بررسی در آزمایش جوانه زنی
۶۹	..... ۳-۱-۵- همبستگی صفات در آزمون تنش جوانه زنی
۷۰	..... ۳-۱-۶- تجزیه خوشه ای بر اساس صفات اندازه گیری شده در آزمون جوانه زنی
۷۵	..... ۳-۲- کشت جنین بالغ
۷۶	..... ۳-۲-۱- تجزیه واریانس صفات در محیط بدون شوری
۷۶	..... ۳-۲-۲- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم دوروم بر اساس صفات اندازه گیری شده کالوس در محیط بدون تنش
۷۹	..... ۳-۲-۳- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده تحت تنش
	..... ۳-۲-۴- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم دوروم از نظر صفات اندازه گیری شده کالوس تحت تنش شوری

صفحه	عنوان
۸۳	۵-۲-۳- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری از نظر صفات مورد مطالعه در کالوس های حاصل از جنین های بالغ .....
۸۶	۶-۲-۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و شوری از نظر صفات مورد بررسی در کالوس های حاصل از جنین های بالغ تحت تنش شوری .....
۸۹	۷-۲-۳- تجزیه همبستگی صفات در کشت جنین بالغ .....
۹۰	۸-۲-۳- تجزیه خوشه ای بر اساس صفات اندازه گیری شده کالوس در شرایط تنش .....
۹۴	۹-۲-۳- باززایی گیاهچه از کالوس .....
۹۵	۱-۹-۲-۳- تجزیه واریانس درصد باززایی .....
۹۵	۲-۹-۲-۳- مقایسه میانگین ژنوتیپ های باززایی شده و سطوح مختلف هورمون BAP .....
	کشت جنین نابالغ
۹۷	۱-۳-۳- تجزیه واریانس صفات در محیط کشت بدون تنش .....
۹۷	۲-۳-۳- مقایسه میانگین صفات در محیط کشت بدون تنش .....
۹۹	۳-۳-۳- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده بر روی کالوس در شرایط تنش شوری .....
۱۰۱	۴-۳-۳- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم دوروم از نظر صفات مورد مطالعه کالوس های حاصل از جنین های نابالغ در شرایط تنش شوری .....
۱۰۳	۵-۳-۳- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری برای صفات مورد مطالعه در کالوس های حاصل از جنین های نابالغ .....
۱۰۶	۶-۳-۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و شوری از نظر صفات مورد بررسی در کالوس های حاصل از جنین های نابالغ تحت تنش شوری .....
۱۰۸	۷-۳-۳- تجزیه همبستگی صفات در کشت جنین نابالغ .....
۱۱۰	۸-۳-۳- تجزیه خوشه ای بر اساس صفات اندازه گیری شده کالوس تحت تنش شوری .....
۱۱۲	نتیجه گیری .....
۱۱۳	پیشنهادات .....
۱۱۴	فهرست منابع مورد استفاده .....
۱۲۷	پیوست .....

## فهرست جداول

صفحه	عنوان
۳۵	جدول ۱-۱- واریته های هیبرید حاصل از کشت جنین .....
۴۱	جدول ۱-۲- فرم قابل جذب و نقش بعضی از عناصر مورد نیاز در محیط کشت بافت گیاهی .....
۴۴	جدول ۱-۳- فهرست گونه های زراعی که باززایی گیاه توسط کشت سلولی برای آنها امکان پذیر بوده است.....
۴۷	جدول ۲-۱- فهرست ژنوتیپ های مورد مطالعه .....
۶۰	جدول ۳-۱- تجزیه واریانس صفات در آزمایش جوانه زنی در سطوح مختلف تنش شوری.....
۶۱	جدول ۳-۲- تجزیه واریانس شاخص استرس جوانه زنی در آزمایش جوانه زنی در سطوح مختلف تنش شوری .....
۶۳	جدول ۳-۳- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم دوروم از نظر صفات مورد مطالعه در آزمون جوانه زنی تحت تنش شوری.....
۶۴	جدول ۳-۴- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم دوروم از نظر صفات مورد مطالعه در آزمون جوانه زنی تحت تنش شوری.....
۶۵	جدول ۳-۵- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری از نظر صفات مورد بررسی در آزمون جوانه زنی .....
۷۳	جدول ۳-۶- ضرایب همبستگی بین صفات مختلف در آزمون جوانه زنی تحت تنش .....
۷۵	جدول ۳-۷- نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص برای گروه بندی ژنوتیپ ها بر اساس صفات مورد مطالعه در آزمون جوانه زنی .....
۷۶	جدول ۳-۸- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در کشت جنین بالغ در محیط بدون تنش.....
۷۸	جدول ۳-۹- مقایسه میانگین ژنوتیپ های مورد مطالعه از نظر درصد القاء کالوس، سرعت رشد کالوس و رشد نسبی کالوس حاصل از جنین بالغ در محیط بدون تنش .....
۷۹	جدول ۳-۱۰- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده بر روی کالوس حاصل از جنین های بالغ تحت تنش شوری .....
۸۲	جدول ۳-۱۱- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم دوروم از نظر صفات مورد مطالعه در کالوس های حاصل از جنین های بالغ تحت تنش شوری .....
۸۳	جدول ۳-۱۲- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف شوری بر صفات مورد مطالعه در کالوس های حاصل از جنین های بالغ .....
۹۱	جدول ۳-۱۳- ضرایب همبستگی بین صفات (در محیط کشت شور و غیر شور) برای ژنوتیپ های مورد مطالعه (بالغ) .....
۹۳	جدول ۳-۱۴- نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص برای گروه بندی ژنوتیپ ها بر اساس صفات اندازه گیری شده کالوس حاصل از کشت جنین بالغ تحت تنش شوری .....
۹۵	جدول ۳-۱۵- تجزیه واریانس درصد باززایی در ژنوتیپ های مورد مطالعه در سطوح مختلف BAP.....
۹۶	جدول ۳-۱۶- مقایسه میانگین درصد باززایی در ژنوتیپ های مورد مطالعه .....
۹۶	جدول ۳-۱۷- مقایسه میانگین درصد باززایی سطوح مختلف هورمون BAP.....

جدول ۳-۱۸- تجزیه واریانس درصد القاء کالوس، سرعت رشد و رشد نسبی کالوس نابالغ در محیط بدون شوری .....	۹۷
جدول ۳-۱۹- مقایسه میانگین ژنوتیپ ها از نظر درصد القاء کالوس، سرعت رشد کالوس و رشد نسبی کالوس در کشت جنین نابالغ .....	۹۹
جدول ۳-۲۰- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده بر روی کالوس حاصل از جنین های نابالغ در شرایط تنش شوری .....	۱۰۰
جدول ۳-۲۱- مقایسه میانگین ژنوتیپ های گندم دوروم از نظر صفات مورد مطالعه در کالوس های حاصل از جنین های نابالغ در شرایط تنش شوری .....	۱۰۲
جدول ۳-۲۲- مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری برای صفات مورد مطالعه در کالوس های حاصل از جنین های نابالغ .....	۱۰۳
جدول ۳-۲۳- ضرایب همبستگی بین صفات بررسی شده (در محیط کشت تنش و بدون تنش) در کشت جنین نابالغ گندم دوروم .....	۱۰۹
جدول ۳-۲۴- نتایج تجزیه تابع تشخیص برای گروه بندی بر اساس صفات اندازه گیری شده در کشت کالوس جنین نابالغ تحت تنش شوری .....	۱۱۰

## فهرست شکل ها

صفحه	عنوان
۴۸	شکل ۱-۲- ضد عفونی بذور در آزمون جوانه زنی
۵۲	شکل ۲-۲- جدا نمودن جنین ها بوسیله اسکارپل در مجاورت شعله
۶۵	شکل ۱-۳- نمودار رگرسیون درصد جوانه زنی در سطوح مختلف شوری
۶۶	شکل ۲-۳- نمودار رگرسیون سرعت جوانه زنی در سطوح مختلف شوری
۶۶	شکل ۳-۳- نمودار رگرسیون طول ساقه چه در سطوح مختلف شوری
۶۷	شکل ۴-۳- نمودار رگرسیون طول ریشه چه در سطوح مختلف شوری
۶۷	شکل ۵-۳- نمودار رگرسیون تعداد ریشه چه در سطوح مختلف شوری
۶۸	شکل ۶-۳- نمودار رگرسیون شاخص استرس جوانه زنی در سطوح مختلف شوری
۶۹	شکل ۷-۳- درصد جوانه زنی ژنوتیپ های گندم دوروم در سطوح مختلف شوری
۷۰	شکل ۸-۳- سرعت جوانه زنی ژنوتیپ های گندم دوروم در سطوح مختلف شوری
۷۰	شکل ۹-۳- طول ساقه چه ژنوتیپ های گندم دوروم در سطوح مختلف شوری
۷۱	شکل ۱۰-۳- طول ریشه چه ژنوتیپ های گندم دوروم در سطوح مختلف شوری
۷۱	شکل ۱۱-۳- تعداد ریشه چه ژنوتیپ های گندم دوروم در سطوح مختلف شوری
۷۲	شکل ۱۲-۳- شاخص استرس جوانه زنی ژنوتیپ های گندم دوروم در سطوح مختلف شوری
	شکل ۱۳-۳- نمودار خوشه ای حاصل از تجزیه صفات اندازه گیری شده در آزمون جوانه زنی ۲۰
۷۴	ژنوتیپ گندم دوروم تحت تنش شوری به روش UPGMA
۷۷	شکل ۱۴-۲- قرار دادن جنین بالغ در محیط کشت MS
۷۷	شکل ۱۵-۲- کالوس های ایجاد شده از کشت جنین بالغ
۸۰	شکل ۱۶-۲- کالوس های قرار گرفته در سطوح مختلف شوری
۸۰	شکل ۱۷-۲- کالوس های قرار گرفته در سطوح مختلف شوری
۸۴	شکل ۱۸-۳- نمودار رگرسیون رشد نسبی کالوس در سطوح مختلف شوری
۸۴	شکل ۱۹-۳- نمودار رگرسیون سرعت رشد کالوس در سطوح مختلف شوری
۸۵	شکل ۲۰-۳- نمودار رگرسیون درصد کلروز کالوس در سطوح مختلف شوری
۸۵	شکل ۲۱-۳- نمودار رگرسیون سرعت رشد نسبی کالوس در سطوح مختلف شوری
۸۷	شکل ۲۲-۳- رشد نسبی کالوس در سطوح مختلف شوری
۸۷	شکل ۲۳-۳- سرعت رشد کالوس در سطوح مختلف شوری
۸۸	شکل ۲۴-۳- درصد کلروز کالوس در سطوح مختلف شوری
۸۸	شکل ۲۵-۳- سرعت رشد نسبی کالوس در سطوح مختلف شوری
	شکل ۲۶-۳- نمودار خوشه ای حاصل از تجزیه صفات اندازه گیری شده کالوس حاصل از جنین
۹۲	بالغ تحت تنش شوری به روش UPGM
۹۴	شکل ۲۷-۲- بازرایی گیاهچه دو هفته بعد قرار گرفتن در محیط کشت بازرایی
۹۴	شکل ۲۸-۲- بازرایی گیاهچه چهار هفته بعد از قرار گرفتن در محیط کشت بازرایی
۹۶	شکل ۲۹-۳- نمودار رگرسیون درصد بازرایی در سطوح مختلف

صفحه	عنوان
۹۸	شکل ۲-۳۰- قرار دادن جنین نابالغ بر روی محیط کشت MS .....
۹۸	شکل ۲-۳۱- کالوس های ایجاد شده بعد چهار هفته در جنین نابالغ .....
۱۰۴	شکل ۳-۳۲- نمودار رگرسیون سرعت رشد کالوس در سطوح مختلف شوری .....
۱۰۴	شکل ۳-۳۳- نمودار رگرسیون رشد نسبی کالوس در سطوح مختلف شوری .....
۱۰۵	شکل ۳-۳۴- نمودار رگرسیون سرعت رشد نسبی کالوس در سطوح مختلف شوری .....
۱۰۵	شکل ۳-۳۵- نمودار رگرسیون درصد کلروز کالوس در سطوح مختلف شوری .....
۱۰۶	شکل ۳-۳۶- درصد کلروز کالوس ژنوتیپ های گندم دوروم در سطوح مختلف شوری .....
۱۰۷	شکل ۳-۳۷- رشد نسبی کالوس ژنوتیپ های گندم دوروم در سطوح مختلف شوری .....
۱۰۷	شکل ۳-۳۸- سرعت رشد نسبی کالوس ژنوتیپ های گندم دوروم در سطوح مختلف شوری .....
	شکل ۳-۳۹- نمودار خوشه ای حاصل از تجزیه صفات اندازه گیری شده از کالوس حاصل از جنین
۱۱۱	نابالغ تحت تنش شوری به روش UPGMA .....



فصل اول  
مقدمه و بررسی منابع

گندم دوروم جزء گندم های تتراپلوئید (2n=4x=28) با فرمول ژنتیکی AABB می باشد که از میان گندم های تتراپلوئید اولین گونه ی تریتیکوم تورجیدوم<sup>۱</sup> واریته ی دیکوکوئیدس<sup>۲</sup> و فرمهای وحشی تریتیکوم تیموفیوی<sup>۳</sup> می باشد. بعد ها از گونه های وحشی تریتیکوم دیکوکوئیدس، گندم امر زراعی به وجود آمد که بسرعت گسترش یافت و جایگزین دیکوکوئیدس و تیموفیوی گردید. گندم های دوروم نیز از طریق تجمع چندین موتاسیون در گندم امر به وجود آمدند (۴۳).

با توجه به اهمیت گندم دوروم و وسعت کشت آن در دنیا مرکز تحقیقات بین المللی ایکاردا در سال (۱۹۸۳) برنامه ی اصلاح گندم دوروم را با همکاری منطقه غرب آسیا و شمال آفریقا آغاز کرد و پس از آن در سال (۱۹۸۴) سیمیت نیز به آن پیوست. بخش عمده مساحت ایران از نظر اقلیمی جزء مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می گردد. از ویژگیهای این گونه مناطق، تبخیر زیاد و نزولات جوی اندک و پراکنده می باشد که منجر به تجمع املاح مختلف در لایه سطحی بیشتر خاک ها گردیده است (۲۳). اگر غلظت نمک به حدی باشد که باعث تقلیل پتانسیل آب به اندازه ۰/۰۵ تا ۰/۱ مگا پاسکال گردد به آن تنش ناشی از نمک گفته می شود (۲۴). بر اساس گزارش فاموری و دیوان (۱۳۴۹) بیشترین میزان گسترش خاکهای شور پس از کشورهای شوروی سابق، هند و پاکستان را می توان در ایران یافت (۲۲). سطح کلی خاکهای شور ایران ۲۵ میلیون هکتار تخمین زده می شود که حدود ۱۵ درصد کل ایران و ۳۰ درصد دشتهای است (۲۲ و ۲۹). می توان گفت به استثنای اراضی گیلان و مازندران تقریباً تمام خاکهای دشت و اراضی پست ایران کم و بیش شور بوده و بیشترین شوری در زمین هایی که فعلاً تحت آبیاری می باشند وجود دارند (۲۲). تأثیر تنش شوری بر رشد گیاه شامل کاهش رشد، سمیت یونی و عدم تعادل عناصر غذایی و کمبود آب می باشد. اصلاح گیاهان زراعی در مقابل تنش شوری از طریق اصلاح برای افزایش مقاومت به شوری با هدف افزایش بازده مصرف آب، اصلاح صفات گیاهان وحشی شور پسند به جای افزایش مقاومت گیاهان زراعی، استفاده از تنوع ژنتیکی درون گونه ای، استفاده از تنوع ژنتیکی برون گونه ای و ایجاد تنوع است که ایجاد تنوع از طریق جهش زایی و کشت بافت می باشد. فنون کشت بافت گیاهی روشهایی مطمئن و سریع برای ارزیابی ژرم پلاسما و تولید گیاهان متحمل به شوری است (۷۰). فن آوری کشت بافت برای باززایی سریع ژنوتیپ خاص گیاهی استفاده می شود. کشت جنین یکی از روش های بیوتکنولوژی است که از مدتها پیش در اصلاح نباتات برای تولید گیاهان هیبرید بین گونه ای یا بین جنسی بکار برده شده است. تکنیک های کشت بافت گیاه روش مناسبی را برای توسعه تحمل به نمک گیاهان در اختیار قرار می دهند. انتخاب این ویترو از لاین های سلول متحمل به نمک برای چندین گونه گزارش شده است.

1- *Triticum turgidum*

2- *T. dicocoides*

3- *T. timopheevii*

گزارشهای اخیر مبنی بر امکان تولید گیاهان بارور و متحمل به شوری در گندم که از لحاظ ژنتیکی ثبات بالایی دارند پیشنهاد می کند که انتخاب در سطح کشت بافت گیاهی می تواند به عنوان ابزاری مفید در اصلاح مقاومت به شوری به کار رود (۱۰۹). مزیت استفاده از جنین ها در اصلاح گندم باززایی سریع و غلبه بر سدهای طبیعی موجود در قابلیت تلاقی پذیری بین نژادها و ارقام مختلف گندم است (۱۰۹).

تال (۱۹۹۴) عنوان کرد هرچند تحمل به شوری در مرحله کالوس الزاماً بدین معنی نیست که رقم مربوطه در مرحله گیاه کامل و در طی مراحل رشد خود تحمل مشابهی نسبت به شوری نشان خواهد داد، لیکن حداقل نشان دهنده وجود یا فقدان ظرفیت ژنتیکی تحمل به شوری می باشد. علل عدم توسعه ی روشهای انتخاب و ارزیابی تحمل به شوری را می توان مربوط به وجود تفاوت در تحمل به شوری گیاهان در مراحل مختلف رشد (۱۰۶ و ۱۵۶)، مکانیسم های فیزیولوژیک متعدد درگیر تحمل به شوری (۱۴۲)، پیچیدگی اثر متقابل محیط و ژنوتیپ (۱۵۶) و عدم امکان ارزیابی ارقام در مزرعه شور به لحاظ غیر یکنواختی (۹۵ و ۶۱) دانست. در سالهای اخیر تلاشهای زیادی برای تکمیل روشهای متداول اصلاحی به منظور تولید گیاهان مقاوم در برابر تنش و خصوصاً متحمل شوری (۵۵، ۱۰۷، ۱۲۵، ۱۵۶ و ۱۶۰)، با استفاده از تنوع موجود یا ایجاد شده در کشت بافت و در سطح سلولی صورت گرفته است. اعتقاد بر آن است که کاربرد کشت بافت می تواند روشهای متداول به نژادی را در جهت بهبود تنش شوری گیاهان تقویت و تکمیل نماید. به طور کلی کاربرد مهم تر کشت بافت برای نیل به این هدف، مفروض بر توان استخراج مؤثر تنوع ژنتیکی مفید از طریق استراتژیهای گزینش بافت یا سلول با بازده بالا، دورگ گیری بدنی و انتقال ژنی می باشد. در این راستا استفاده از کشت بافت توسط عده زیادی از محققین توان بالقوه ی سیستم های این ویترو را در تحقیق برای شناسایی ویژگیهای سلولی مربوط به تحمل تنش شوری نشان داده است (۹۸). اگر چه ژنتیک تحمل به شوری پیچیده است، اما اختلاف گیاهان حساس و مقاوم به شوری ضرورتاً به معنی تفاوت در ژن های زیاد نیست (۱۶۱). در ژنوتیپ هایی که مکانیسم تحمل به شوری در گیاه کامل مکانیسمی سلولی است، ممکن است تحمل به شوری در آنها با تحمل شوری کالوس در محیط شور همبستگی داشته باشد. استفاده از کشت کالوس متفاوت از روش کشت سلول در محیط کشت تعلیقی است. اساساً در روش کشت کالوس سعی می شود که تنوع به وسیله ی ارزیابی رشد کالوس در محیط حاوی نمک طعام، در صورتی که از قبل وجود داشته باشد، تشخیص داده شود. در حالی که در روش کشت سلول، برای صفت تحمل به شوری تنوع در سلول ها ایجاد شده و سپس انتخاب برای آنها صورت می گیرد. در روش کشت کالوس معمولاً مشکلات ناشی از تنوع سوماکلونی و یا عدم باززایی گیاه کامل وجود ندارد. موفقیت در این روش نیز بستگی به ارتباط بین بافت کالوس در محیط کشت حاوی نمک طعام و تحمل به شوری در گیاه کامل دارد (۵).

از آنجایی که شناسایی و کاربرد ژنوتیپ های متحمل شوری در برنامه های به نژادی آینده دارای اهمیت بسزایی می باشد، لذا هدف این مطالعه بررسی واکنش ژنوتیپ های مختلف گندم دوروم به القاء کالوس حاصل از کشت جنین و ارزیابی تحمل به شوری ژنوتیپ ها با استفاده از آزمایش جوانه زنی و کالوس های حاصل از کشت جنین در سطوح مختلف شوری بود.

## ۱- بررسی منابع و کلیات

### ۱-۱- گندم

گندم شاید نخستین گیاه زراعی باشد که توسط انسان کشت شده، تاریخ کشت آن به حدود ۱۲ تا ۱۸ هزار سال قبل از میلاد می‌رسد. برای اولین بار در خاورمیانه و حدود ۱۰ الی ۱۵ هزار سال قبل از میلاد هم در آسیا دیده شده است. یکی از باستان شناسان به نام شوین فورت، گندم های مصری مومیایی شده را در گروه دیکو کوئیدس را حدود سه هزار سال قبل از میلاد مسیح در اطراف رودخانه نیل بدست آورد، بنابراین به نظر می‌رسد که گندمهای لخت این گروه مانند تریتیکوم دوروم<sup>۱</sup> و تریتیکوم تورجیدوم از زمانهای بسیار قدیم در شمال و شمال شرقی آفریقا، شوروی سابق، شمال غربی ایران و شمال هندوستان کشت گردیده اند (۱۸). در کشور ما، نمونه هایی از گندم در کاوشهای باستان شناسی در دامغان کشف شد که نشانه ی قدمت گیاه در آن منطقه می باشد. درغارهای نزدیک همدان نیز دانه های گندم به دست آمدند که باستان شناسان معتقدند گندم از حدود ۶-۵ هزار سال قبل از میلاد مسیح در این مناطق کشت شده است (۳۲). گندم دوروم از گیاهانی است که در مراکز تنوع آناتولی (آسیای صغیر) و خاورمیانه سازش پیدا کرده، با شرایط اقلیمی و مدیترانه ای کاملاً سازگار شده و در نیمه غربی ایران نیز ارقام بومی آن از دیرباز کشت شده اند.

### ۱-۱-۱- فراورده های گندم دوروم

موارد متعدد مصرف گندم دوروم اهمیت این محصول را روز به روز بیشتر می کند تهیه ی ماکارونی که در حال حاضر یکی از مهمترین محصولات غذایی است عمده ترین نوع مصرف این نوع محصول می باشد و این در حالی است که مصرف سرانه نان با افزایش مصرف فراورده های صنایع ماکارونی سازی کاهش نشان می دهد گندم دوروم دارای سخت ترین دانه در بین تمامی گندم هاست و از دانه ی آن برای تهیه نان پهن دو لایه، نان پهن یک لایه، بلغور، نان غنی شده<sup>۲</sup>، پستا<sup>۳</sup>، کوس کوس<sup>۴</sup>، دانه ی سبز برشته<sup>۵</sup> و سایر غذاها استفاده می شود که درصد مصرف آنها در کشورهای غرب آسیا و شمال آفریقا به ترتیب ۲۰، ۱۰، ۲۰، ۱۴/۵، ۱۴، ۱۲، ۵ و ۴/۵ درصد می باشد (۱۳۸).

- 
- 1- *T. durum*
  - 2- Raised bread
  - 3- pasta
  - 4- Couscous
  - 5- frike