۴۶۹۰۰

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه

برای دریافت درجهٔ کارشناسی ارشد در رشتهٔ بیوتکنولوژی

با عنوان

بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم دوروم (*Triticum durum*) با استفاده از نشانگرهای EST-SSR

اساتید راهنما

دکتر محمود تورچی　　دکتر محسن مردی

استاد مشاور

دکتر سید ابوالقاسم محمدی

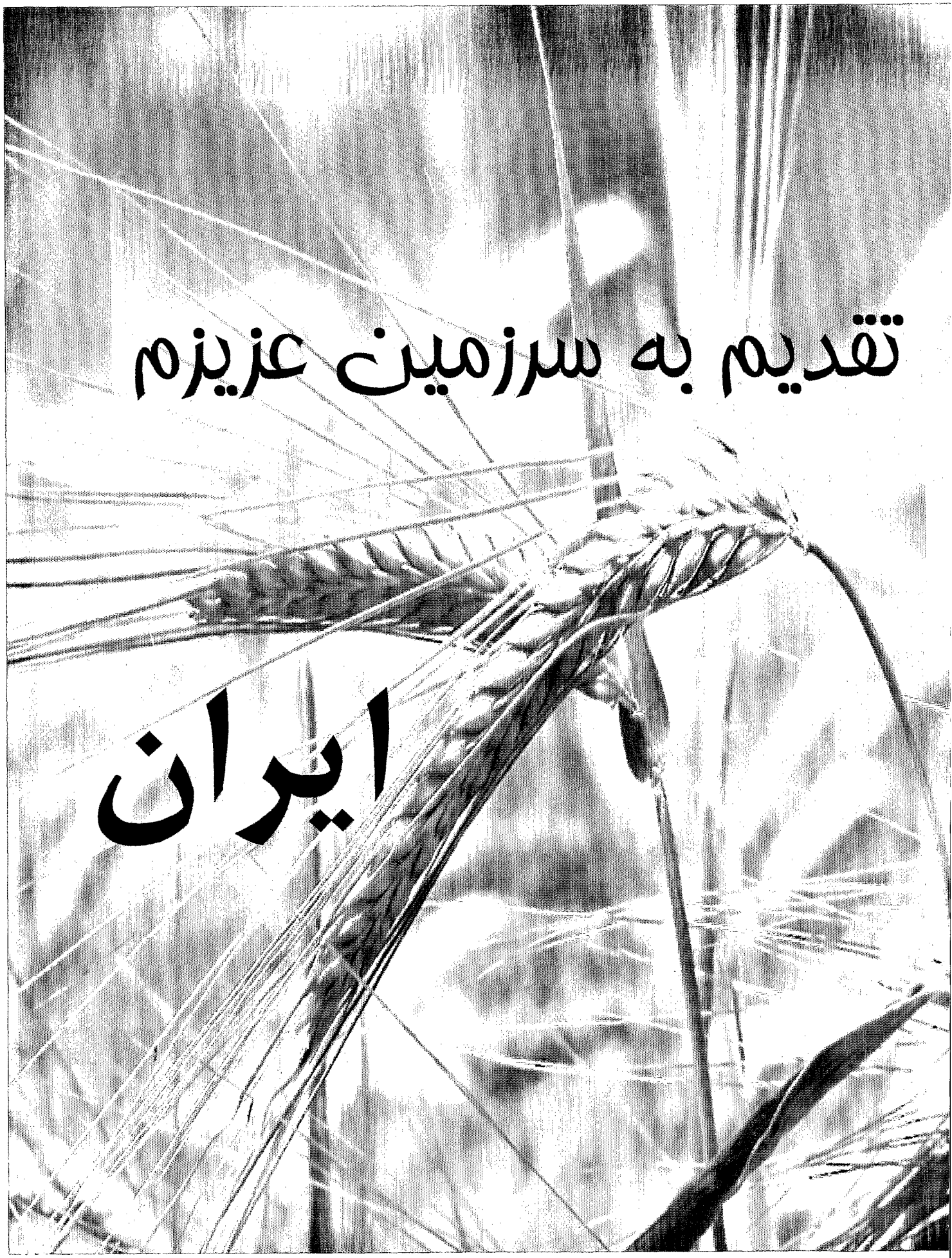
۱۳۸۷ /۱۶۱/ ۲۵

پژوهشگر

نزیهه سادات علوی

بهار ۱۳۸۶

٤٦٩ ٢٥


تقدیم به سرزمین عزیزم
ایران

حمد و سپاس شایسته آن خداوندی است که ذکر و یادش آرام بخش دلهاست هم او که بر بندگانش به لطف نظر می افکند و لطف او هموار کننده امور است و جز خیر بر بندگان خویش روا نمـی دارد، او که نعمت وجود به من ارزانی نمود و در پیشگاه پر مهر و محبت، پدر و مادری دلسوز و مهربان قـرارم داد، تا در دامان پر مهر و محبتشان بیاسایم و در تلاطم روزگار، آسایش یابم. گذشتهایشان، زنـدگی را در کامم شیرین کردند و از هر نقطه ضعف و عیب من، نکته ای مثبت به من آموختند. زبان قاصر از گفتن است ولی دلم سرشار از گویش، خدایا تو می دانی.....

از خواهر و برادران مهربانم به پاس محبت های بی دریغشان و زحمات دلسوزانه شان صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از جناب اقای دکتر محسن مردی که در نهایت حسن اخلاق، لطف و سعه صدر در تمام مراحل اجرا و تنظیم پایان نامه اینجانب را ارشاد فرموده و رهین محبت هـا و راهنمـایی هـای خـویش سـاختند صمیمانه تشکر می نمایم و توفیق روز افزون ایشان را از خداوند متعال خواستارم.

از جناب اقای دکتر محمود تورچی و دکتر سید ابوالقاسم محمدی که راهنمایی و مشاوره پایان نامـه اینجانب را بر عهده داشته اند و در تمام مراحل تحصیل پشتیبان اینجانب بوده اند و افتخار شاگردی در محضر ایشان نصیب این حقیر گردید بی نهایت سپاسگذارم و آرزوی موفقیت و سربلندی ایـشان را از خداوند منان خواستارم.

از استاد گرامی جناب آقای دکتر مصطفی ولیزاده که زحمت داوری و بازخوانی پایان نامه مـرا تقبـل فرموده اند سپاسگذارم.

مراتب تشکر و قدردانی خود را از مدیر محترم گروه جناب آقای دکتر محمد مقـدم و کلیـه اسـاتید گروه که در طول دوره تحصیل از محضرشان کسب علم نمودم اعلام می دارم.

از همکاران و دوستان عزیزم خانم ها مریم فارسی، لاله کریمی، شیما جمالی راد، طیبه بساکی، مونـا مظاهری، لیلا پازوکی، محبوبه فلاح، مهربانو کاظمی و آقایان سید مصطفی پیرسـیدی، امیـر محمـد ناجی، محمدرضا غفاری، هاشم ایراندوست، رضا طالبی، بهنام خطابی و همه عزیزانی که در موسـسه تحقیقات بیوتکنولوژی کرج همراه من در این مسیر بوده اند و همه آنانکه درهموار ساختن این طریق گامی برداشتند سپاسگذارم و برای همگی ایشان از درگاه خداوند متعال آرزوی بهروزی و شـادکامی دارم.

نام خانوادگی : غیاث علوی **نام :** نزیهه سادات

عنوان پایان نامه : بررسی تنوع ژنتیکی نمونه های گندم دوروم (*Triticum durum*) با استفاده از نشانگرهای EST-SSR

اساتید راهنما : دکتر محمود تورچی - دکتر محسن مردی

استاد مشاور : دکتر سید ابوالقاسم محمدی

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

دانشگاه : تبریز **دانشکده :** کشاورزی **تاریخ فارغ التحصیلی:** ۸۶/۲/۳۱ **تعداد صفحه :**

کلید واژه ها: نشانگر EST-SSR ، تنوع ژنتیکی ، گندم دوروم

چکیده:

اطلاع ازسطح تنوع ژنتیکی مجموعه های ژرم پلاسمی و تعیین روابط ژنتیکی مواد اصلاحی، گام اولیه و اساسی در برنامه های اصلاح نباتات می باشد. در این تحقیق ۱۲۹ ژنوتیپ ازکشور های مختلف (۱۰ کشور) با استفاده از ۲۰ نشانگر EST-SSR بررسی شد. درمجموع از ۲۰ نشانگر، ۹۶ آلل چند شکل متفاوت، با محدوده ۱ تا ۱۰ الل و با متوسط ٤/۸ در هر مکان ژنی مشاهده شد. سطح اطلاعات چند شکل(PIC) ۰/۰۱۵ (نشانگر NFA106) تا ۰/۹٦۷ (نشانگر PK40) متفاوت بود. شباهت ژنتیکی محاسبه شده بر اساس اطلاعات نشانگرهای EST-SSR از ۰/۳۸ (بین دو زنوتیپ از شوش و مصر) تا ۰/۸۹٤ (بین دو ژنوتیپ از شوش) متفاوت بود. نتایج تجزیه کلاستر با استفاده از روش دسته بندی COMPLETE، ژنوتیپ ها را در سه گروه اصلی قرار داد .ارتباط بسیار نزدیک بین ژنوتیپ ها، نشان دهنده ماهیت نشانگر است زیرا که این نشانگر براساس نقاط کاملا حفاظت شده و قابل بیان ژنوم طراحی شده، بنابراین احتمال بروز تغییرات و درنتیجه تنوع بین ژنوتیپ ها پایین است .تجزیه به مختصات اصلی تا حدودی ارقام بومی را از لاین ها جدا کرد .دراین تحقیق محدوده وسیعی از تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ ها مشاهده شد، که امکان استفاده ازآنها را دربرنامه های ویژه اصلاحی مقدور می سازد.

عنوان | صفحه

مقدمه ۱

فصل اول

بررسی منابع

الف: کلیات ٤

۱ – ۱ – گیاه شناسی و اهمیت گندم دوروم ٤

۱ – ۲ – خواستگاه و تکامل گندم دوروم ۷

۱ – ۳ – تنوع ژنتیکی و ضرورت مطالعه آن ۹

۱ – ۴ – کاربردهای بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان ۱۱

۱ – ۴ – ۱ – بررسی های فیلوژنتیکی ۱۱

۱ – ۴ – ۲ – ژنتیک جمعیت ۱۱

۱ – ۴ – ۳ – مدیریت گیاهان وحشی ۱۱

۱ – ۴ – ۴ – مدیریت منابع ژنتیکی ۱۲

۱ – ۴ – ۵ – کلکسیون های ذخایر ژنتیک گیاهی ۱۲

۱ – ۴ – ۶ – کنترل بیماری های گیاهی ۱۲

۱ – ۵ – روش های ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۳

۱ – ۵ – ۱ – نشانگرهای مورفولوژیکی ۱۳

۱-۵-۲- نشانگرهای مولکولی ۱٤

۱-۵-۳- نشانگرهای پروتئینی ۱۵

۱-۵-۴- نشانگرهای DNA ۱۵

۱- ۶ - ردیف تظاهر یافته برچسب دار یا EST ۱۸

۱ – ۷ – مبانی نشانگرهای ریزماهواره ۱۹

۱- ۷ -۱- فراوانی و توزیع ریزماهوارهها در ژنوم ۲۰

۱- ۷ – ۲ – جایگاه ژنومی ریزماهورهها ۲۱

۱ – ۸ – پیدایش ریزماهوارهها ۲۲

۱ – ۸ – ۱ – الحاق و جایگزینی نوکلئوتیدی ۲۲

۱ – ۸ – ۲ – عناصر متحرک و بوجود آمدن ریزماهوارهها ۲۳

۱ – ۸ – ۳ – مکانیسم کراسینگاور نا برابر ۲٤

۱ – ۸ – ۴ – لغزش پلی مراز در هنگام همانند سازی ۲٤

۱ – ۹ – عوامل موثر بر میزان جهش در ریزماهوارهها ۲۵

۱ – ۱۰ – اشکال مختلف ریزماهوارهها ۲۵

۱ – ۱۱ – خصوصیات ریزماهوارهها ۲٦

۱ – ۱۲ – نشانگرهای EST-SSR ۲۷

۱ – ۱۳ – تجزیه و تحلیل دادههای مولکولی برای مطالعه روابط تکاملی ۲۹

۱ – ۱۴ – فاصله ژنتیکی ۳۱

عنوان | صفحه

۱ – ۱۵ – روش های گروه بندی داده ها ۳۲
۱ – ۱۵ – ۱ – تجزیه خوشه ای ۳۲
۱- ۱۵- ۱- ۱- ضریب کوفنتیک ۳٤
۱ – ۱۵ – ۲ – تجزیه به مختصات اصلی (PCo) ۳۴
۱ – ۱۶ – معیارهای سودمندی نشانگرها ۳٦
۱ – ۱۶ – ۱ – محتوای اطلاعاتی چند شکل(PIC) ۳٦
۱ – ۱۶ – ۲ – احتمال همسانی (PI) ۳٦
۱ – ۱۶ – ۳ – قدرت تفکیک (D) ۳٦
ب: مقدمه ای بر کارهای انجام شده ۳۸
۱ – ۱ – کاربرد نشانگرهای DNA در بررسی تنوع ژنتیکی گندم ۳۸
۱ – ۲ – کاربرد نشانگرهای DNA در بررسی تنوع ژنتیکی سایر گیاهان ٤٤

فصل دوم

مواد و روش ها

۲ – ۱ – مواد گیاهی ۵۰
۲ – ۲ – استخراج DNA ۵۳
۲ – ۳ – شرح مراحل استخراج DNA ۵٤
۲-۴- واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR) ۵۵
۲-۴-۱- چرخه حرارتی ۵٦
۲ – ۵ – تجزیه و تحلیل قطعات حاصل از تکثیر بر روی ژل ۵۸
۲ – ۵ – ۱ ژل پلی اکریلامید واسرشته ساز ۵۹
۲ – ۵ – ۲ آماده کردن شیشه ها ۵۹
۲ – ۵ – ۳ – ساخت ژل پلی اکریلامید ۵۹
۲ – ۶ – الکتروفورز ۶۰
۲ – ۷ – رنگ آمیزی ۶۱
۲ – ۷ – ۱ – تثبیت ۶۱
۲ – ۷ – ۲ – آبشویی ۶۲
۲ – ۷ – ۳ – اشباع کردن سطح ژل با نیترات نقره ۶۲
۲ – ۷ – ۴ – آبشویی بسیار حساس ۶۲
۲ – ۷ – ۵ – ظهور ۶۲
۲ – ۷ – ۶ – توقف ۶۳
۲ – ۷ – ۷ – آبشویی انتهایی ۶۳
۲ – ۸ – ثبت اطلاعات ۶٤
۲ – ۹ – تجزیه و تحلیل آماری ۶۵
۲ – ۹ – ۱ – تجزیه و تحلیل آماری ۶۵
۲ – ۹ – ۲ – محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) ۶۵
۲ – ۹ – ۳ – احتمال همسانی (PI) ۶۵

عنوان | صفحه

۲ – ۹ – ۴ – قدرت تفکیک (D) ٦٦
۲ – ۹ – ۵ – ضریب همبستگی کوفتیک ٦٦
۲ – ۹ – ۶ – نرم افزارهای مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل ٦٦

فصل سوم
نتایج و بحث
۳-۱- تعیین کیفیت و کمیت DNA استخراج شده ٦٨
۳-۲- نتایج بررسی تنوع ژنتیکی ٦٩
۳-۲-۱- تعداد آلل‌های هر نشانگر ۷۱
۳-۲-۲- محتوای اطلاعاتی چندشکل (PIC) ۷۲
۳-۲-۳- احتمال یکسانی (PI) ۷٤
۳-۲-۴- شاخص D ۷۵
۳-۳- ضریب همبستگی کوفنتیک ۷٦
۳-۴- گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها ۷۷
۳-۵- گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۷۸
۳-۶- تجزیه به مختصات اصلی (PCO) ۸۵
۳-۷- نتیجه گیری کلی و پیشنهادات ۹۰

فصل چهارم
منابع ۹۲

فهرست جداول

عنوان | صفحه

جدول ۱-۱ نواحی تکراری ژنومی و طول آنها ۲۱
جدول ۲-۱ توزیع کلی نمونه ها ۵۰
جدول ۲-۲ مشخصات ارقام مورد استفاده و محل پراکنش آنها ۵۰
جدول ۲-۳ مواد لازم در واکنش PCR و غلظت نهایی آنها در واکنش ۵۶
جدول ۲-۴ مشخصات آغازگرهای نوع اول (PK) ۵۷
جدول ۲-۴ مشخصات آغازگرهای نوع دوم (NFA) ۵۸
جدول ۲-۶ مراحل رنگ آمیزی نیترات نقره ۶۳
جدول ۳-۱ تعداد باند چند شکل و میزان (PIC) ، (PI) و (D) ۷۶
جدول ۳-۲ ضرایب همبستگی کوفنتیک مربوط به دندروگرام های بدست آمده از روشهای مختلف ۷۷
جدول ۳-۳ مقادیر ویژه و درصد توجیه تغییرات PCo ۸۸

فهرست اشکال

عنوان | صفحه

شکل ۱-۱ دسته بندی نشانگرهای مولکولی ۱۷
شکل ۱-۲ چگونگی بوجود آمدن ریزماهواره های دو نوکلئوتیدی در اثر الحاق و جایگزینی نوکلئوتیدی..... ۲۳
شکل ۲-۱ پروفیل حرارتی چرخه های PCR..... ۵۷
شکل ۳-۱ الگوی نواری تعدادی از نمونه های DNA استخراج شده در ژل آگارز ۱٪ ۶۸
شکل ۳-۲ الگوی نواری تعدادی از نمونه های گندم دوروم تکثیر شده با استفاده از نشانگر EST-SSR..... ۷۰
شکل ۳-۳ دسته بندی ژنوتیپ ها در گروه A..... ۸۱
شکل ۳-۴ تجزیه خوشه ای نمونه های گندم دوروم..... ۸۴
شکل ۳-۵ نتایج PCo نمونه های گندم دوروم..... ۸۷
شکل ۳-۶ نمودار (D-3) نمونه های گندم دوروم..... ۸۹

مقدمه

بنابر آمار و گزارشات رسمی فائو[1]، برای تامین غذای جمعیت روز افزون دنیا در بیست و پنج سال آینده، عملکرد محصولات زراعی بایستی به میزان ۶۰٪ افزایش پیدا کند، در حالیکه منابع طبیعی و در پی آن منابع غذایی روز به روز محدودتر می‌شوند. به عقیده متخصصان علوم کشاورزی برای حل مشکل تامین غذا و حفظ سلامت محیط زیست، راهکاری به جز بیوتکنولوژی وجود ندارد. آگاهان علم بیوتکنولوژی معتقدند که می‌توانند تولید غذا را تا ۲۵٪ در کشورهای در حال توسعه افزایش داده و غذای ۳ میلیارد جمعیت اضافی را تامین نمایند. بنابراین، بیوتکنولوژی تکنیک جدید بشر برای مقابله با مشکلات و معضلات تامین غذا و حفظ محیط زیست در آینده است؛ بطوریکه این علم به عنوان یکی از ۷ علم برتر دنیا معرفی شده است.

تنوع ژنتیکی مهمترین عامل بقاء موجودات از جمله گیاهان زراعی در برابر تغییرات شرایط محیطی و آفات است. بیوتکنولوژی مدرن به دنبال استفاده گسترده از تنوع ژنتیکی می‌باشد. بهره برداری از مخازن ژن گیاهی خصوصا از اجداد وحشی و جستجوی منابع ژنتیکی جدید، تولید واریته‌هایی با عملکرد بالا، کیفیت مطلوب و مقاوم به تنش های محیطی، از اهداف اولیه بیوتکنولوژی می باشند. با استفاده از تکنولوژی مهندسی ژنتیک و تهیه کتابخانه ژنومی، امکان حفظ و ذخیره ژرم پلاسم میلیاردها ژنوتیپ در حجم کم و با هزینه نگهداری کم، وجود دارد (۹). در این راستا، آگاهی از میزان تنوع ذخایر توارثی و روابط ژنتیکی بین افراد یکی از اهداف ارزشمند اصلاح گونه‌های گیاهی است (۱۰). تاکنون گیاهان مختلفی مورد ارزیابی مولکولی قرار گرفته‌اند که از مهمترین آنها گندم می باشد.

یکی از انواع مهم گندم، گندم دوروم (*Triticum durum*)[2] می‌باشد که به واسطه داشتن سمولینا[3] از اهمیت خاصی در صنایع ماکارونی سازی و تامین غذای بسیار از کشورها بخصوص کشورهای اروپایی، برخودار می باشد.

در تحقیق حاضر سعی بر این است که با توجه به اهمیت گندم دوروم و نبود اطلاعات مولکولی در مورد این گیاه در کشور، گامی در جهت افزایش فهم ساختار ژروم پلاسم آن برداشته شود. از

---

1. FAO
2. Durum Wheat
3. Semolina

آنجایی که استفاده از نشانگرهای مولکولی در سطح DNA با استفاده از نشانگرهای SSR-EST بسیار دقیق و تکرار پذیر است در این تحقیق برای اولین بار در ایران و بر روی گندم دوروم از این نشانگر استفاده شد.

به طور کلی اهداف این تحقیق را می‌توان به صورت زیر خلاصه کرد :

۱- بررسی و مطالعه ژنتیکی در ژرم پلاسم دوروم‌های ایرانی و خارجی

۲- بررسی وجود تفاوت یا شباهت در میان ذخایر ژنتیکی دوروم‌های ایرانی و خارجی

۳- امکان طبقه بندی، تمایز و تعیین روابط بین فرم‌های مختلف دورم‌های بومی

۴- کمک به مطالعات بعدی اصلاحی در جهت یافتن آغازگرهای آگهی بخش[4] در نمونه‌های دوروم

[4]. Informative markers

فصل اول

بررسی منابع

الف: کلیات

الف: کلیات

۱ – ۱ – گیاه شناسی و اهمیت گندم دوروم

گندم دوروم گیاهی است با نام علمی *Triticum durum* متعلق به خانواده گرامینه[1]،رده تک لپه‌ای‌ها[2] و جنس تریتیکوم است. گندم دوروم، پس از گندم نان، مهمترین گونه جنس تریتیکوم است. اصولا گندم مهمترین و سازگار ترین گونه زراعی جهان است، که در مساحتی بالغ بر ۲۰۰ میلیون هکتار و با عملکرد سالانه‌ای در حدود ۶۰۰ میلیون تن در جهان کشت می گردد (۶۰). همچنین مهمترین و ارزانترین منبع تامین هیدرات کربن برای انسان است (۶). این گندم دارای فرم های بهاره و پائیره است (۱). ساقه این گیاه مثل سایر گونه‌های گندم ماشوره‌ای و بدون انشعاب است. درون ساقه برخی از نژادها پر، در تعدادی نیمه پر و در بسیاری خالی است. برجستگی‌های روی ساقه را گره و فاصله بین دو گره را میان گره می‌نامند. بر روی هر یک از این برجستگی‌ها، یک برگ بطور متناوب قرار دارد. طول ساقه گندم نیز بسته به نژاد و حاصلخیزی خاک و عوامل محیطی ممکن است کوتاه، متوسط و یا بلند باشد. طول ساقه از ۳۰ – ۱۵۰ سانتی متر بسته به میزان رطوبت، حاصلخیزی خاک و رقم گندم تغییر می‌کند (۶). پس از خروج گیاهچه از خاک، ریشه‌های اصلی گندم دوروم از محل اولین گره نزدیک خاک ظاهر می شوند. این ریشه‌ها از نظر شکل شبیه ریشه‌های اولیه هستند و به ریشه‌های ثانویه موسومند. سیستم ریشه‌دهی این گیاه بصورت افشان است. عمده ریشه‌های گندم در زراعت آبی در عمق ۲۰–۲۵ سانتی متر و در زراعت دیم در عمق ۱۰ – ۱۵ سانتی‌متر است (به علت عمق کم خاک زراعی وعدم توسعه ریشه‌ها). برگ گندم دوروم، از دو قسمت غلاف و پهنک تشکیل شده است. پهنک برگ، معمولا در محل گره بالاتر، به غلاف برگ متصل است. غلاف، فاصله میان گره را پوشانده و در محل گره پائین تر، به ساقه متصل است. برگها در روی ساقه به صورت منفرد و در دو ردیف بطور متناوب قرار دارند. در محل اتصال پهنک برگ به غلاف، در هر قسمت یک زائده بیرنگ به نام گوشوارک[3] وجود دارد (۳).

---

1. *Geramina (poaceae)*
2. Monocoty ledon
3. Auricule

در انتهای ساقه گندم دوروم، سنبله[1] گندم بوجود می‌آید. فاصله میان گره‌ها در سنبله خیلی بهم نزدیک شده، محور سنبله را تشکیل می‌دهند. محور سنبله به شکل زیگزاگ می‌باشد، که هر بند با بند دیگر زاویه منفرجه تشکیل می‌دهد. بر روی هر بند یک سنبله فرعی[2] و یا سنبله با دمگل بسیار کوتاه وجود دارد. تعداد سنبله‌ها در روی محور اصلی بین ۱۵ – ۲۰ عدد است. در داخل هر سنبله یک تا هفت گل ممکن است وجود داشته باشد، که حداکثر پنج گل بارور شده و بقیه عقیم می‌مانند. طول سنبله گندم بین ۱۶ – ۱۸ سانتی‌متر است، که در ارقام و شرایط اکولوژیکی متفاوت، ممکن است تغییرکند (۶).

گل گندم دوروم دوجنسی[3]، دارای سه پرچم و یک کلاله دوشاخه پر مانند است، که در آن پس از باروری دانه ایجاد می‌شود. این گیاه خود گشن است و دانه‌های گرده مستقیما از بساک‌ها بر روی کلاله می‌ریزند. گل‌دهی، چند روز پس از ظهور خوشه از داخل غلاف شروع می‌شود. ساقه اصلی، زودتر از ساقه-های حاصل از پنجه‌ها گل می‌دهد. گلدهی در اوائل صبح شروع شده و طی روز ادامه می‌یابد. دو تا سه روز برای اتمام گلدهی یک خوشه نیاز است. معمولا در خلال گلدهی گلوم‌ها باز است، بساک‌ها از گلوم خارج شده و قسمتی از گرده‌ها در خارج از گلها پراکنده می‌شوند. هنگامیکه گل باز است، ممکن است گرده بیگانه وارد شود، که معمولا به حدود یک یا دو درصد دگرگشنی می‌انجامد (۲).

بعضی از ارقام گندم دوروم، دارای ریشک هستند. ریشک زائده‌ای خار مانند، در انتهای آزاد یکی از پوشینه‌ها و در سمت خارج از دانه است. احتمال دارد برخی از نژادهای گندم، فاقد ریشک یا دارای ریشک کوتاهی باشند، ولی معمولا گندم‌های ریشک دار عملکرد بیشتری دارند و حتی کیفیت آنها از گندم‌های بدون ریشک برتر است. اصولا ریشک را برگ تغییر شکل یافته می‌دانند، که از برگ، فقط رگبرگ اصلی آن باقی مانده است (۶).

دانه‌ها نسبت به گندم نان، شیشه‌ای تر (غنی از مواد پروتیئنی) می‌باشند. گندم دوروم دارای وزن هزار دانه زیاد (بیش از gr ۴۵) است و مقدار گلوتن آن بیش از ۳۰ ٪ می باشد (۸).

گندم‌های دوروم تتراپلوئید زراعی، بیش از ۱۰ درصد کل گندمی که در سطح دنیا تولید می‌شود را تشکیل می‌دهند (۵). از نظر سطح زیر کشت درغرب ایران، بنا به گفته مسئول بخش دوروم موسسه

[1]. Spike
[2]. Spikelete
[3]. Bisexual

تحقیقات، اصلاح و تهیه نهال و بذر درایران، حدود ۳۰۰ هزار هکتار از اراضی قابل کشت، زیر کشت دوروم است.

دوروم، نوعی گندم سخت و مخصوص نقاط سردسیر و خشک مثل روسیه و کانادا است. این گونه گندم در کشورهایی مانند ایران، عراق، سوریه، ایالات متحده، و سایر کشورها بخوبی رشد می‌کند. گندم دوروم، گندمی است سخت، درازتر از حد معمول، زرد رنگ و کمی براق که مقدار کربوهیدرات‌های ساده و پروتئین و گلوتن آن بیش از سایر گونه های گندم است. از نظر ژنتیکی گونه های آلوتتراپلوئید با ژنوم AABB با فرمول کروموزومی ۲n = ۴x = ۲۸ و فاقد ژنوم D است.

گونه‌های دیپلوئیدی که یا اجداد آنها هستند و یا بطور نزدیکی با آن خویشاوندی دارند عبارتند از: تریتیکوم اورارتو و اسپلتوئیدس[1] (که حاوی ژنوم ss است و بطور بسیار نزدیکی خویشاوند ژنوم B گندم می‌باشد) (۵). دوروم حدود ۵ درصد از تولید گندم کشورهای صادر کننده گندم را تشکیل می‌دهد و تولید آن به دلیل گرانی قیمت تابع عرضه و تقاضا است.

بذر دوروم، معمولا به رنگ زرد کهربایی، کمی براق با وزن هکتولیتری حدود ۸۱، شیشه‌ای و سخت با گلوتن مرغوب که در تجارت به اسامی Hercules، Wells، Rolette، Leeds و غیره معروف است.

زیر گونه‌های گندم دوروم به ۳ دسته تقسیم می شوند :

۱- گندم دورم سخت کهربایی[2]

۲- گندم دوروم کهربایی[3]

۳- گندم دوروم عادی

در کشور ما در گذشته دور این گونه کشت نشده است اما اخیرا موسسه اصلاح و تهیه بذر و نهال، بررسی هایی را به منظور امکان تولید آن در کشور آغاز کرده است و از سال ۱۳۷۶ کشت گندم دوروم بطور رسمی در کشور آغاز گردیده و محصول سال ۱۳۷۷ حدود ۱۲۰۰۰۰ تن برآورد شده است (۷). گندم دوروم، معمولا در مقابل خشکی و بیماری‌ها از سایر ارقام گندم مقاومتر است و بنابراین در مناطق کم باران کاشته می‌شود. آرد این گندم، چون دارای مقادیر زیادی از گلوتن ضعیف است، برای مصارف نانوایی

1. *T. vratu & T. speltoides*
2. Hrad amber durum
3. Amber durum

مناسب نیست، اما در عوض دانه‌های سخت و شفاف این گندم در تهیه آرد جهت تهیه ماکارونی، اسپاگتی، ورمیشل و سایر مصارف خمیری کاربرد دارد (۷).

به آرد گندم دوروم، سمولینا گفته می‌شود. بهترین ماکارونی از سمولینا گندم دوروم حاصل می‌شود. ماکارونی یکی از فراورده‌های مهم گندم و در حال حاضر از پر مصرف‌ترین مواد غذایی در دنیا، بخصوص کشورهای اروپایی محسوب می‌شود. مصرف سرانه مردم کشور ایتالیا سالیانه ۳۲ کیلوگرم، آلمان ۱۲ کیلوگرم، یونان ۹ کیلوگرم، آمریکا، فرانسه و پرتقال ۶ کیلوگرم و انگلستان ۰/۵ کیلوگرم است (۱).

ماکارونی از نظر تکنولوژی جزو فرآورده‌هایی بنام Pasta که شامل اسپاگتی[1]، ورمیشل[2]، نودول[3]، لازانیا و راویولی است، می‌باشد. اختلاف این فرآورده‌ها در شکل و حالت فیزیکی آنها است (۷). سختی و نرمی دانه گندم های دوروم صرف نظر از عوامل وراثتی، تابع عوامل محیطی است، یعنی در شرایط آب و هوای خشک دارای دانه های کاملا سخت می‌شود و در شرایط مناطق مرطوب دارای دانه‌ای نرم تر و نشاسته‌ای تر می‌گردد (۶). نوع دیگری از گندم دوروم، به نام گندم دوروم قرمز هم وجود دارد، که آرد آن برای مصارف یاد شده در مورد گندم دوروم معمولی، مناسب نیست و بیشتر این گندم را برای مصارف خوراکی دام و طیور بکار می‌برند (۳).

۱ – ۲ – خواستگاه و تکامل گندم دوروم

خواستگاه گندم هم مثل بعضی از دیگر گیاهان مهم مثل جو و چاودار، هلال حاصلخیز واقع در منطقه خاور نزدیک در جنوب غربی آسیا است و احتمالا زمان اهلی شدن گندم به حدود ۱۰۰۰۰ – ۱۵۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح بر می‌گردد. اما گندم‌های دوروم، حدود ۳۰۰۰ سال پیش از میلاد مسیح در مصر ظاهر شدند. ظاهراً گندم دوروم، از طریق تجمع چندین موتاسیون، از گندم Emmer بوجود آمده است. گندم Emmer هم چندین هزار سال در خاورمیانه کشت می‌شده است (۱۴).

گونه تریتیکوم در سه گروه پلوئیدی متشکل از دیپلوئید (۲n=۲x=۱۴)، تتراپلوئید (۲n=۴x=۲۸) و هگزاپلوئید (۲n=۶x=۴۲) طبقه بندی می‌گردد. فقط دو گونه تریتیکوم از لحاظ تجاری مهم هستند، که

[1]. Spaghetti
[2]. Vermicelli
[3]. Noodle

یکی گندم نان و دیگری گندم دوروم (گندم ماکارونی) است. در حال حاضر ۱۱ (یا ۱۲) گونه تتراپلوئیدی گندم شناسایی شده است.

T.turgidum گونه‌ای تتراپلوئیدی است، که از ترکیب ژنوم‌های گونه دیپلوئید *T. monococcum* با ژنوم AA و گونه دیپلوئیدی ناشناخته و احتمالاً از بین رفته که دارای ژنوم BB بوده است، بوجود آمده است. ۱۴ کروموزوم (تعداد کروموزم‌های گامت) گندم تتراپلوئید، به هفت گروه که گروه‌های همیولوگ[1] نامیده می‌شوند، تقسیم می گردد. هر گروه همیولوگ، دارای دو کروموزوم جزئی هومولوگ است، که یک کروموزوم از هر کدام از ژنوم‌های A و B می باشند (۱۴).

توسعه ژنتیک مولکولی درگندم در مقایسه با سایر گیاهان زراعی مثل ذرت، برنج و گوجه فرنگی کندتر است و این به دلیل اندازه و پیچیدگی ژنوم آن، درصد بالای توالی‌های تکراری در ژنوم گندم و سطح پایین چند شکلی در آن است (۴۷).

اولین بار در سال ۱۷۵۳، لینه بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی، جنس تریتیکوم را طبقه بندی کرد. پس از آن در سال ۱۹۸۱، ساکامارا با توجه به نتایج کارهای سیتوژنتیکی، جنس تریتیکوم را در سه دسته دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید طبقه بندی کرد. در سطح تتراپلوئید دو گونه اصلی شناخته شده است : *T.timopheevi* و *T.turgidum*. هردوی این گونه های از منشا *T.monococcum* هستند. گونه *T.turgidum* حاوی ژنوم B هم هست، ولی گونه *T.timopheevi* حاوی ژنوم G است (۱). هنوز در مود منشا ژنوم‌های B و G اتفاق نظر وجود ندارد، ولی احتمال داده میشود که از جنس *Aegilops* (*Stiopsis*) یا از یک ژنوم تغییر یافته آمده باشد. از نقطه نظر مورفولوژیکی، انواع *T.dicoccoides*، بطور عمده در فلسطین، سوریه و لبنان پیدا شده‌اند و بطور واضح از جمعیت‌های *T.araraticum* قابل تفکیک نیست و در زمان حال در کوه‌های زاگرس، روی صفحه‌ای بین ایران و عراق و همچنین ارمنستان گسترده شده است. انواع پیشرفته گندم تتراپلوئید، شامل *T.turgidum* و *T.durum* به کل اروپا، خاور نزدیک و آفریقای شمالی و سایر نقاط گسترش یافته است. تفاوت عمده بین *T.turgidum* و *T.durum* در ساختمان دانه[2] است. ساختار نشاسته ای در *T.turgidum* و ساختار شیشه‌ای[3] در

[1]. Hemoeologous Group
[2]. Kernel
[3]. Vitrous

T.durum و سازش بیشتر *T.durum* به شرایط نیمه خشک در مقابل سازش بیشتر *T.turgidum* به شرایط مرطوب، وجه تمایز دوگونه ذکر شده است (۳۶).

۱ – ۳ – تنوع ژنتیکی و ضرورت مطالعه آن

به ترکیب ژنتیکی ناهمگون که در مقابل شرایط محیطی واکنش‌های متفاوت را ایجاد می‌کند، تنوع ژنتیکی می گویند. واژه حافظت[1] گیاهی بطور کلی به معنی اطمینان از حضور یک گونه خاص در فلور گیاهی یک منطقه معین می‌باشد. ابتدایی ترین هدف برای نیل به این مقصود شناسایی و حفظ تنوع ژنتیکی موجود در یک گونه گیاهی است که امکان دستیابی به یک مخزن ژنتیکی را فراهم می‌آورد. در برنامه های اصلاحی دو دیگاه کلی حائز اهمیت است. ابتدا مساله استفاده موثر از منابع ژرم پلاسمی مد نظر می‌باشد. زیرا بررسی‌های دقیق تر از روابط ساختار و هویت ژنتیکی بانک‌های ژنی اداره موثر آنها را برای محققین امکان پذیر خواهد ساخت. از سوی دیگر تعیین سطح تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی در جهت انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی و حداکثر بهره‌وری از پدیده هتروسیس از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است (۱۰).

تاکنون تنوع ژنتیکی در سه سطح گونه، جمعیت و ژن مورد بررسی قرار گرفته است. صرف نظر از اهمیت ارزیابی‌های مربوط به تنوع‌های اکولوژیکی در ریخت شناسی، اهمیت تنوع ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی در تمام تحقیقات ذکر شده است. ارزیابی تنوع ژنتیکی در سطح گونه به سه دلیل عمده حائز اهمیت است : (۱) ارتباط درجه تغییرات تکاملی با میزان تنوع ژنتیکی مشاهده شده. (۲) هتروزیگوسیتی (۳) خزانه ژن جهانی که نماینده تمام اطلاعات موجود درباره فرآیندهای بیولوژیکی است (۶۳).

تنوع ژنتیکی درگیاهان و جمعیت‌های گیاهی از نظر کاربردی مورد توجه است. کشاورزی و تولید غذا بستگی به استفاده از ژنوتیپ‌های گیاهی پر محصول دارد و روش‌های متداول اصلاح زراعی بر اساس گزینش ژنوتیپ‌های مورد علاقه از بین تنوع ژنتیکی موجود و دست ورزی همه یا تعدادی از صفات ممکن و مورد علاقه در یک ژنوتیپ به منظور تولید یک واریته تجاری می‌باشد.

[1]. Conservation

تنوع گونه‌ها در یک محیط به توانایی تولید و پایداری اکوسیستم[1] وابسته است (۸۱). روش‌های مولکولی ابزار مناسبی برای مطالعه اثر تنوع ژنتیکی گیاهی روی پایداری اکوسیستم‌هاست. این تنوع را ممکن است در چند سطح مورد بررسی قرار داد. تنوع حیاتی یک اکوسیستم معمولاً از روی تعداد گونه-های موجود در آن مشخص می شود. ضمن اینکه تنوع درون گونه‌های نیز ممکن است سهم قابل توجهی در باروری سیستم داشته باشد. روش‌های مولکولی امکانات ویژه‌ای را برای ارزیابی تنوع حیاتی ارائه می-دهند و می‌تواند روش کلیدی برای ایجاد راهبردهای حفاظتی مناسب باشد (۷۷).

در رابطه با اهمیت مطالعه تنوع ژنتیکی موجود در گیاهان، باید به این نکته مهم اشاره شود که یکنواختی ژنتیکی در گیاهان زراعی نامطلوب است، زیرا : (۱) گیاهانی تولید می‌شوند که نسبت به اپیدمی‌ها و متغیرهای محیطی آسیب پذیرند و این باعث کاهش عملکرد می‌شود و (۲)خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی که دارای منابع ژنی مفید هستند، از دست می‌روند (۷۶).

کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی در بین افراد یا جمعیت‌ها و آگاهی از روابط خویشاوندی گونه‌های مورد نظر در برنامه‌های اصلاحی، امکان سازمان‌دهی ژرم پلاسم و نمونه گیری موثر از ژنوتیپ‌ها را فراهم می-سازد (۱۲). تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی ممکن است از طریق سازوکارهای متفاوتی نظیر جهش، نو ترکیبی جنسی، مهاجرت و جریان ژن، رانده شدن ژنتیکی و گزینش ایجاد شود (۴).

چنانچه اشاره شد تنوع ژنتیکی در اطلاح نباتات بسیار حائز اهمیت است. در واقع اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانش و فن آوری‌هایی هستند که ساختار ژنتیکی گیاه را در جهت منافع اقتصادی انسان تغییر می دهند. لازمه هر تغییر وجود تنوع است، پس لازمه تغییر ژنتیکی نیز وجود تنوع ژنتیکی است. تنوع ژنتیکی یک صفت معین اندازه پراکنش ارزش‌های همان صفت است، بطوریکه تاثیر محیط بر آن زدوده شده باشد. تنوع، اساس برنامه‌های اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی و ماده خام ضروری برای آن است. یک به‌نژادگر در صورتی می‌تواند امید به موفقیت زیادی در برنامه‌های اصلاحی خود داشته باشد که شانس انتخاب مواد مناسب برای او موجود باشد. از این روست که منابع ژنتیک گیاهی یکی از مهمترین، پر ارزش ترین و حیاتی ترین ذخایر و منابع طبیعی بشر محسوب می شود (۱۵).

[1]. Ecosystem Productivity