دانشکده کشاورزی

گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

مهندسی کشاورزی- اصلاح نباتات

عنوان:

شناسایی دو جابجایی کروموزومی گندم - چاودار 1AL.1RS و 1BL.1RS در برخی ارقام گندم نان با استفاده از روش PCR اختصاصی

نگارش:

سعید باقری‌کیا

استاد راهنما:

دکتر قاسم کریم‌زاده

استاد مشاور:

دکتر محمدرضا نقوی

شهریور ۱۳۹۱

تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیأت داوران نسخه نهایی پایان‌نامه آقای سعید باقری‌کیا تحت عنوان **شناسایی دو جابجایی کروموزومی گندم - چاودار 1AL.1RS و 1BL.1RS در برخی ارقام گندم نان با استفاده از روش PCR اختصاصی**

را از نظر شکل(فرم) و محتوی بررسی نموده و پذیرش آن را برای دریافت درجه کارشناسی‌ارشد پیشنهاد می‌کنند.

ردیف	اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضا
۱	استاد راهنما	دکتر قاسم کریم‌زاده	دانشیار	
۲	استاد مشاور	دکتر محمدرضا نقوی	استاد	
۴	استاد ناظر داخلی	دکتر محمدصادق ثابت	استادیار	
۳	استاد ناظر خارجی	دکتر علیرضا عباسی	استادیار	
۵	نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر محمدصادق ثابت	استادیار	

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «**دفتر نشر آثار علمی**» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته **مهندسی کشاورزی-اصلاح نباتات** است که در سال**۱۳۹۰** در دانشکده **کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس** به راهنمایی جناب آقای **دکتر قاسم کریم‌زاده،** و **مشاوره** جناب آقای **دکتر محمدرضا نقوی** از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «**دفتر نشر آثار علمی**» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتاب‌های عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶: اینجانب **سعید باقری‌کیا** دانشجوی رشته **اصلاح نباتات** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی: سعید باقری‌کیا

تاریخ و امضاء:

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ٥- این آیین‌نامه در ٥ ماده و یک تبصره در تاریخ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **سعید باقری‌کیا** دانشجوی رشته **اصلاح نباتات** ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۹** مقطع **کارشناسی ارشد** دانشکده **کشاورزی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا:.....

تاریخ: .....

این ناچیز را اگر قدری است

تقدیم به اسوه‌های، همیشه پایدار

عشق، صبر و فداکاری

پدر و مادر مهربانم

و

خواهران و برادران گرامی‌ام

و

تقدیم به آنانکه با چشمانی نیک به زندگانی می نگرند.

تقدیر و تشکر:

سپاس و ستایش بیکران به درگاه ایزد منان که توفیق تلاش برای دانستن را به من عطا فرمود. اکنون که به یاری خداوند متعال پایان نامه خود را به اتمام رسانده‌ام به مصداق آیه شریفه "من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق" بر خود لازم می دانم مراتب امتنان و قدردانی فراوان خویش را تقدیم کسانی نمایم که در مراحل مختلف این پژوهش مرا یاری نمودند.

بدینوسیله از زحمات بی دریغ و راهنمائی های ارزنده استاد گرانقدر علم، اخلاق و تظم، جناب آقای **دکتر قاسم کریم زاده**، که در طی مراحل مختلف اجرا، تدوین و ارائه پایان نامه مرا یاری نموده اند با نهایت احترام سپاسگزاری می نمایم و از درگاه خداوند منان برای ایشان آرزوی سعادت و بهروزی را خواستارم.

از استاد ارجمندم جناب آقای **دکتر محمدرضا نقوی** که مشاوره این پایان نامه را بر عهده داشتند کمال تشکر و قدردانی را دارم. بی شک اگر عنایت و اهتمام ایشان نبود انجام این پژوهش تحقق نمی یافت.

از آقایان **دکتر علیرضا عباسی** و **دکتر محمد صادق ثابت** که داوری این پایان نامه را با وجود مشغله بسیار پذیرفتند صمیمانه سپاسگزاری می کنم.

از اساتید بزرگوار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی آقایان **دکتر میرفخرایی**، **دکتر معینی**، **دکتر دهقانی** و **دکتر جلالی** صمیمانه قدردانی می نمایم؛ همچنین از زحمات کارشناسان محترم گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی آقایان مهندس **ایری**، مهندس **یادگاری** و خانم مهندس **آزموده** تشکر می نمایم.

از **همکلاسی های** عزیز و گرانقدرم آقایان ارسلان رضایی، سید سجاد سهرابی، مسلم مرادی، ابوذر اسدی، علیرضا عسکری، مهرداد حنیفه ئی و خانم ها سمانه خلیلی، سمیرا کیانی و شقایق مهروی بخاطر تمام همراهی ها و خاطرات و لحظات تلخ و شیرینی که با آن ها داشتم صمیمانه تشکر می نمایم.

از تمامی **هم اتاقی ها و دوستان عزیزم** آقایان دکتر گندم کار، دکتر رحمانیان، دکتر پیوند، اسدی، زمانی، حسنی، جمالی، صلاحلو و محمودی سپاسگزارم و آرزومند موفقیت های روزافزون برایشان هستم.

در پایان خاضعانه ترین سپاس ها را به **پدر و مادرم** تقدیم می کنم و بوسه بر دستان پر مهرشان می زنم و پروردگار را به خاطر وجود سبز و پربرکتشان شاکرم. از **خواهران و برادران** نازنینم که همواره در طی زندگی همراه و پشتیبان من بوده اند نهایت سپاسگزاری را دارم و بهترین ها را برایشان آرزومندم.

سعید باقری کیاشهریور ۱۳۹۱

چکیده

بازوی کروموزومی 1RS چاودار (*Secale cereale* L.) منبع با ارزشی برای بهبود گندم نان (*Triticum aestivum* L.) است. این بازو به شکل‌های مختلفی (1AL.1RS, 1BL.1RS, 1DL.1RS) با کروموزوم‌های گندم جابجا شده است. جابجایی‌های 1AL.1RS و 1BL.1RS نقش بیشتری در اصلاح گندم ایفا می‌کنند. گندم‌هایی با این جابجایی‌ها مقاومت بیشتری به تنش‌های زیستی و غیر زیستی دارند و حامل ژن‌هایی برای مقاومت به بیماری‌های زنگ زرد، زنگ قهوه‌ای، زنگ ساقه، سفیدک پودری و موزائیک مخطط گندم می‌باشند. علاوه بر این، وجود 1RS در ژنوم گندم وزن بیوماس ریشه و مقاومت به خشکی را افزایش می‌دهد. روش PCR اختصاصی ابزاری سریع و قابل اطمینان جهت شناسایی جابجایی‌های گندم- چاودار است. با استفاده از ۳ نشانگر اختصاصی چاودار شامل "RyeR3/F3"، "O-SEC5'-A/O-SEC5'-R" و "PAWS5/S6"، حضور 1RS و توزیع دو جابجایی کروموزومی گندم- چاودار 1AL.1RS و 1BL.1RS، در ۶۶ رقم ایرانی و ۷۰ اکسیشن خارجی مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از نشانگر"RyeR3/F3" حضور 1RS در ۱۵ رقم گندم نان (۲۳٪) و ۲ اکسیشن گندم خارجی (۳٪) مورد تائید قرار گرفت. دو نشانگر "O-SEC5'-A/O-SEC5'-R" و "PAWS5/S6" برای تشخیص گندم‌ها با جابجایی‌های 1AL.1RS و 1BL.1RS استفاده شد. با این دو نشانگر 1BL.1RS در ۱۴ رقم گندم ایرانی (۲۱٪) و ۲ اکسیشن خارجی (۳٪) شناسایی شد. شعله تنها رقم ایرانی بود (۱/۵٪) که حامل 1AL.1RS تشخیص داده شد و هیچ یک از اکسیشن‌های گندم خارجی چنین جابجایی را نداشتند.

کلمات کلیدی: جابجایی‌های گندم-چاودار، 1AL.1RS، 1BL.1RS، نشانگر اختصاصی، *Triticum aestivum*، *Secale cereale*

فهرست منابع

فصل ۱- مقدمه

۱- مقدمه ۲

فصل ۲- کلیات و بررسی منابع

۲- کلیات و بررسی منابع ۶

۲-۱- تیره گندمیان ۶

۲-۲- تکامل و منشأ گندم ۶

۲-۳- اهمیت گندم ۸

۲-۴- ژن‌های موثر در تلاقی گندم با خویشاوندان وحشی ۱۰

۲-۴-۱- ژن *Ph1* ۱۰

۲-۴-۲- ژن *Kr* ۱۰

۲-۵- منشأ، ژنتیک و مشخصات چاودار ۱۱

۲-۶- استفاده از چاودار در اصلاح گیاهان ۱۱

۲-۶-۱- تولید گیاه جدید تریتیکاله ۱۱

۲-۶-۲- تولید هیبرید گندم × تریتیکاله ۱۳

۲-۶-۲-۱- تولید لاین‌هایی از گندم با کروموزوم اضافی ۱۳

۲-۶-۲-۲- تولید لاین‌هایی از گندم با کروموزوم جایگزین یا تعویضی ۱۵

۲-۷- وجود بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱ چاودار (1RS) در ریختهٔ ژنتیکی گندم ۱۶

۲-۷-۱- جابجایی 1AL.1RS و تأثیر آن در ریختهٔ ژنتیکی گندم ۱۷

۲-۷-۲- جابجایی 1BL.1RS و تأثیر آن در ریختهٔ ژنتیکی گندم ۱۷

۲-۷-۳- افزایش ظرفیت عملکرد دانه و سازگاری ناشی از حضور 1RS در گندم ۱۸
۲-۸- محدودیت بازوی 1RS در اصلاح گندم..... ۲۰
۲-۹- افزایش کیفیت پروتئین ذخیره‌ای دانه گندم‌های حاوی 1RS ۲۲
۲-۱۰- منشأ و توزیع جابجایی‌های 1RS در جهان..... ۲۳
۲-۱۱- تأثیر منشأ جابجایی در عملکرد بازوی 1RS در گندم..... ۲۸
۲-۱۲- سایر کروموزوم‌های چاودار در گندم ۲۹
۲-۱۲-۱- بازوی کروموزومی 1RL..... ۲۹
۲-۱۲-۲- کروموزوم 2R ۲۹
۲-۱۲-۳- کروموزوم 3R-7R..... ۳۰
۲-۱۳- روش‌های مختلف شناسایی بازوی شماره ۱ چاودار (1RS) در گندم ۳۱
۲-۱۳-۱- شناسایی بیوشیمیایی 1RS..... ۳۱
۲-۱۳-۱- ۱- الکتروفورز ۳۱
۲-۱۳-۱- ۲- کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) ۳۳
۲-۱۳-۱-۳- آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (MABs) و ELISA..... ۳۴
۲-۱۳-۱-۴- مقایسه روش‌های بیوشیمیایی جهت شناسایی1RS در گندم ۳۵
۲-۱۳-۲- شناسایی مولکولی 1RS..... ۳۶
۲-۱۳-۲-۱- کاوشگرهای مولکولی اختصاصی چاودار ۳۶
۲-۱۳-۲-۲- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۳۷
۲-۱۳-۲-۳- مقایسه تکنولوژی‌های مولکولی ۳۹
۲-۱۳-۳- شناسایی سیتوژنتیکی 1RS..... ۳۹

۲-۱۳-۳-۱- بررسی‌های کروموزومی میتوزی و میوزی و نواربندی کروموزومی ۳۹
۲-۱۳-۳-۲- روش هیبریداسیون در محل ۴۰
۲-۱۳-۳-۳- فلوسایتومتری ۴۲
۲-۱۳-۳-۴- مقایسه روش‌های سیتوژنتیکی شناسایی 1RS در گندم ۴۲

فصل ۳- مواد و روش‌ها

۳- مواد و روش‌ها ۴۵
۳-۱- مواد گیاهی ۴۵
۳-۲- استخراج DNA ۵۱
۳-۲-۱- تهیه بافر استخراج DNA ۵۱
۳-۲-۲- تعیین کمیت و کیفیت DNA ۵۳
۳-۲-۲-۱- روش اسپکتروفتومتری ۵۳
۳-۲-۲-۲- روش الکتروفورز ژل آگارز ۵۳
۳-۳- واکنش زنجیره ای پلیمراز ۵۴
۳-۴- الکتروفورز ژل آگارز ۵۷
۳-۴-۱- مواد و وسایل لازم برای الکتروفورز ژل آگارز ۵۷
۳-۴-۲- طرز تهیه ژل آگارز ۵۸
۳-۴-۳- بافر TAE 50 x ۵۸
۳-۴-۴- بافر بارگذاری ۵۹
۳-۴-۵- محلول اتیدیوم بروماید ۵۹
۳-۸- خالص‌سازی DNA از ژل به روش Glassmilk ۶۰

۳-۹- تشخیص و تفسیر توالی‌ها..... ۶۱

فصل ۴- نتایج و بحث

۴-۱- نتایج و بحث..... ۶۳

۴-۲- نتیجه‌گیری کلی..... ۸۶

۴-۳- پیشنهادها ۸۷

فصل ۵- فهرست منابع

۵- فهرست منابع..... ۸۹

فهرست جدول‌ها

جدول ۲-۱- آمار میزان تولید گندم (میلیون تن) در ایران و جهان..... ۹

جدول ۲-۲- ارقام و لاین‌های حامل 1BL.1RS و 1B(1R) در کشورهای آسیایی ۲۷

جدول ۲-۳- مقایسه روش‌های بیوشیمیایی جهت تشخیص 1RS در گندم ۳۵

جدول ۲-۴- مشخصات برخی از نشانگرهای اختصاصی چاودار مبتنی بر DNA..... ۳۸

جدول ۲-۵- مقایسه روش‌های سیتوژنتیکی شناسایی 1RS در گندم..... ۴۳

جدول ۳-۱- مشخصات ارقام گندم نان ایرانی مورد استفاده ۴۶

جدول ۳-۲- مشخصات اکسیشن‌های گندم نان خارجی..... ۴۸

جدول ۳-۳- مشخصات ارقام شاهد بین‌المللی گندم نان مورد استفاده ۵۱

جدول ۳-۴- روش تهیه بافر استخراج DNA..... ۵۱

جدول ۳-۵- مشخصات سه نشانگر به کار رفته در این مطالعه..... ۵۴

جدول ۳-۶- مواد به کار رفته در واکنش PCR با نشانگر PAWS5/S6 ..... ۵۵
جدول ۳-۷- مواد به کار رفته در واکنش PCR با نشانگر O-SEC ۵۵
جدول ۳-۸- مواد به کار رفته در واکنش PCR با نشانگر RYER3/F3 ..... ۵۶
جدول ۳-۹- برنامه اجرا شده برای PCR با نشانگر PAWS5/S6 ..... ۵۶
جدول ۳-۱۰- برنامه اجرا شده برای PCR با نشانگر / O-SEC ۵۷
جدول ۳-۱۱- برنامه اجرا شده برای PCR با نشانگر RYER3/F3 ..... ۵۷
جدول ۳-۱۲- ترکیبات و مقادیر بافر TAE 50 x ۵۸
جدول ۳-۱۳- ترکیبات بافر بارگذاری ۵۹
جدول ۳-۱۴- نحوه ساخت محلول اتیدیوم برماید ۵۹
جدول ۴-۱- اندازه باندها جهت شناسایی 1AL.1RS و 1BL.1RS ۶۳
جدول ۴-۲- توالی‌های رتروترانسپوزونی با بالاترین تشابه با توالی رقم فلات ۷۱
جدول ۴-۳- ارقام گندم نان که دارای رقم Kavkaz 1BL.1RS در شجره ۷۵
جدول ۴-۴- توالی‌های مربوط به جایگاه ژنی *Sec-1*، با بالاترین تشابه با توالی رقم مغان ۳ ..... ۷۷
جدول ۴-۵- توزیع باندهای تکثیر شده نشانگر PAWS5/S6 در ارقام مختلف گندم و چاودار. ۸۰

فهرست شکل‌ها

شکل ۲-۱- مسیر تکامل گندم هگزاپلوئید؛ گونه گندم نان ۷
شکل ۲-۲- مسیر تولید تریتیکاله و هیبرید گندم × چاودار ۱۳
شکل ۲-۳- مسیر تولید هیبرید گندم با کروموزوم اضافی از چاودار ۱۴

شکل ۲-۴- تولید هیبرید گندم با کروموزوم جایگزین از چاودار ۱۵

شکل ۴-۱- شناسایی جابجایی گندم - چاودار با نشانگر RyeR3/F3..... ۶۴

شکل ۴-۲- شناسایی جابجایی گندم - چاودار با نشانگر RyeR3/F3..... ۶۵

شکل ۴-۳- شناسایی جابجایی گندم - چاودار با نشانگر RyeR3/F3..... ۶۵

شکل ۴-۴- شناسایی جابجایی گندم – چاودار با نشانگر RyeR3/F3 ..... ۶۶

شکل ۴-۵- شناسایی جابجایی گندم - چاودار با نشانگر RyeR3/F3..... ۶۷

شکل ۴-۶- شناسایی جابجایی گندم - چاودار با نشانگر RyeR3/F3..... ۶۸

شکل۴-۷- رتروترانسپوزون Gypsy-Like ۶۹

شکل ۴-۸- توالی باند حاصل از محصول PCR رقم فلات با نشانگر RyeR3/F3..... ۷۰

شکل ۴-۹- هم‌ردیفی توالی رقم فلات با توالی اکسیشن شماره GU318208.1 چاودار..... ۷۲

شکل ۴-۱۰- شناسایی جابجایی 1AL.1RS و 1BL.1RS با نشانگر O-SEC5'-A/O-SEC5'-R.... ۷۴

شکل ۴-۱۱- شناسایی جابجایی 1AL.1RS و 1BL.1RS با نشانگر O-SEC5'-A/O-SEC5'-R.... ۷۵

شکل ۴-۱۲- توالی باند ۱۵۳۰ bp رقم مغان ۳ با نشانگر اختصاصی O-SEC5'-A/O-SEC3'-R.... ۷۶

شکل ۴-۱۳- هم‌ردیفی توالی باند ۱۵۳۰ bp رقم مغان ۳ با اکسیشن FJ949579.1 چاودار ۷۹

شکل ۴-۱۴- شناسایی جابجایی کروموزومی گندم –چاودار با نشانگر اختصاصی PAWS5/S6..... ۸۲

شکل ۴-۱۵- الگوی باندی ارقام شاهد حاوی جابجایی کروموزومی با نشانگر PAWS5/S6 ..... ۸۲

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

گندم به عنوان یکی از قدیمی‌ترین گیاهان اهلی شده بدست انسان، از سابقه کشت و کار طولانی برخوردار بوده و با تاریخ تمدن بشر همراه و عجین شده است. بسیاری از قحطی‌های بزرگ در طول تاریخ بشر، ناشی از کاهش میزان تولید گندم (به دلیل عواملی همچون خشکسالی، بیماری‌ها یا هجوم آفات) بوده است. گندم یکی از مهم‌ترین و اصلی‌ترین محصولات جهان است که با ۲۱۷ میلیون هکتار بیشترین سطح زیر کشت را در سراسر جهان به خود اختصاص داده است و در مجموع تولیدی به میزان ۶۵۱/۴ میلیون تن با عملکرد متوسط ۳ تن در هکتار را دارا است (Anonymous, 2012b). در ایران نیز گندم از نظر تولید و سطح زیر کشت مهم‌ترین محصول کشاورزی ایران است و افزایش محصول آن روز به روز مورد توجه قرار گرفته و از نظر اقتصادی و تأمین غذای اصلی مردم از اهمیت بسیاری برخوردار می‌باشد (نور محمدی و همکاران، ۱۳۸۶). جمعیت جهان در حال حاضر بالغ بر ۷ میلیارد نفر است که پیش‌بینی شده است در سال ۲۰۵۰ به بیش از ۹ میلیارد نفر برسد. همراه با رشد مداوم جمعیت جهان تقاضا برای تولید مواد غذایی به طور پیوسته افزایش می‌یابد. انتظار می‌رود که این تقاضا برای گندم بیشتر از هر محصول دیگری باشد. به منظور همگام شدن با رشد پیش‌بینی شده جمعیت جهان، میزان تولید گندم در سال ۲۰۱۸ باید به ۷۲۲ میلیون تن برسد (Anonymous, 2012b).

عملکرد گندم تحت تأثیر تعداد زیادی از عوامل زیستی و غیر زیستی است. از جمله عوامل زیستی، پاتوژن‌های قارچی است که از دلایل عمده کاهش عملکرد گندم است. حمله پاتوژن‌های قارچی کیفیت نانوایی گندم را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. بسته به محیط‌های مختلف خسارت ناشی از حضور پاتوژن‌ها متفاوت است. از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی می‌توان زنگ زرد، زنگ برگ، زنگ ساقه و سفیدک پودری را نام برد (Duveiller *et al*., 2005; Reynolds and Borlaug, 2006). خزانه ژنی گندم شامل انواع زیادی از ژرم‌پلاست مقاوم به عوامل بیماری‌زا است که بهره‌برداری از آن برای بهبود مقاومت به بیماری از اهداف بسیاری از برنامه‌های اصلاحی است.

اکثر بخش‌های بیگانه وارد شده به ژنوم گندم شامل مقاومت به آفات و بیماری است که از گونه‌های جنس آجیلوپس، تریتی‌پایرم و چاودار مشتق شده است (Friebe, 1996). بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱ چاودار (1RS) یکی از موفق‌ترین منابع خارجی استفاده برای بهبود ویژگی‌های گندم است و به طور گسترده‌ای در برنامه‌های اصلاحی جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. بر روی بازوی کوتاه کروموزوم 1R چاودار (1RS) منابع با ارزشی برای بهبود ویژگی‌های گندم شناسایی شده و به شکل‌های مختلفی (1AL.1RS, 1BL.1RS, 1DL.1RS) با کروموزوم‌های گندم جابجا شده است که دو جابجایی 1AL.1RS و 1BL.1RS نقش بیشتری در اصلاح گندم ایفا می‌کنند (Landjeva *et al*., 2006). گندم‌هایی با این جابجایی‌ها مقاومت بیشتری به تنش‌های زیستی و غیر زیستی دارند و دارای چندین ژن مقاومت به پاتوژن هستند. این گندم‌ها حامل ژن‌هایی برای مقاومت به بیماری‌های زنگ زرد، زنگ برگ، زنگ ساقه، سفیدک پودری و موزائیک مخطط گندم می‌باشند. علاوه بر این، وجود بازوی کروموزومی 1RS در ریختهٔ ژنتیکی گندم عامل افزایش وزن زیست‌توده ریشه و تطابق‌پذیری آن در شرایط مختلف محیطی و تحمل به خشکی است که در نهایت منجر به افزایش سازگاری و پایداری عملکرد گندم می‌شود. ژن‌های موجود در بازوی 1RS، رشد کالوس، جنین، ظرفیت باززایی و قابلیت دو برابر شدن را نیز در کشت بافت گندم افزایش داده و تولید جنین‌های هاپلوئید از میکروسپور را بهبود می‌بخشند (Rabinovich, 1998).

توسعه روش‌های سریع و مطمئن برای شناسایی جابجایی‌های کروموزومی 1AL.1RS و 1BL.1RS در برنامه‌های اصلاحی گندم بسیار با اهمیت است. با افزایش دسترسی به نشانگرهای مولکولی برای ژن‌های مهم کشاورزی گزینش با کمک نشانگر توجه تعداد زیادی اصلاحگران را به خود معطوف کرده است. از دلایل توجه به این بحث توانایی نشانگرها در شناسایی سریع و قابل اطمینان بازوی 1RS در ژنوم گندم می‌باشد (Weng *et al*., 2007).

عملکرد بالا و مقاومت به پاتوژن و آفات همیشه برای اصلاح‌گران جذاب بوده است. به همین دلیل از 1RS به صورت گسترده‌ای در برنامه‌های اصلاحی جهان استفاده می‌شود. بنابراین ضروری به نظر می‌رسد که این بازو در گندم‌های نان ایران نیز ابتدا مورد شناسایی و سپس بهره‌برداری قرار گیرد.

فرضیه‌ها:

- با استفاده از نشانگرهای اختصاصی چاودار می‌توان بازوی 1RS را در ارقام گندم نان شناسایی کرد.
- یک یا دو جابجایی کروموزومی گندم- چاودار 1AL.1RS و 1BL.1RS در ارقام گندم نان مورد بررسی، صورت گرفته است.

هدف‌ها:

- تشخیص ارقام گندم نان حامل بازوی 1RS توسط نشانگر DNA اختصاصی چاودار
- تشخیص ارقامی از گندم نان با یک یا دو جابجایی کروموزومی 1AL.1RS و 1BL.1RS

فصل دوم

کلیات و بررسی منابع

۲- کلیات و بررسی منابع

۲-۱- تیره گندمیان

گیاهان تک لپه‌ای دومین رده اصلی گیاهان گل‌دار[1] را تشکیل می‌دهند که حدود ۱۲۰ تا ۲۰۰ میلیون سال پیش از دولپه‌ای‌ها جدا شدند. گیاهان خانواده گندمیان[2] نماینده یک تیره اصلی از گیاهان تک لپه‌ای می‌باشند (Herendeen and Crane, 1995). خانواده گندمیان برای انسان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بیشتر مردمی که روی زمین زندگی می‌کنند، برای تأمین بخش عمده رژیم غذایی خود متکی به گندمیان شامل گندم، برنج و ذرت هستند. حیوانات اهلی نیز توسط جیره‌هایی که بخشی یا تمام آن را گندمیان تشکیل می‌دهند، پرورش داده می‌شوند. به علاوه آن‌ها بخش مهمی از پوشش گیاهی شهری و برون شهری را تشکیل می‌دهند. اعضای این خانواده از نظر بوم شناختی نیز غالب بوده و حدود ۲۰٪ از سطح زمین را می‌پوشانند. این تیره شامل حدود ۱۰ هزار گونه رده‌بندی شده در قالب ۶۰۰ تا ۷۰۰ جنس می‌باشد (Kellogg, 2001).

۲-۲- تکامل و منشأ گندم

گندم گیاهی متعلق به خانواده پواسه، زیر خانواده پومیده[3] و طایفه گندمیان است (Hrlan *et al*., 1981). گندم از جنس تریتیکوم[4] است، این جنس شامل گونه‌های دیپلوئید ($2n = 2x = 14$)، تتراپلوئید ($2n = 4x = 28$) و هگزاپلوئید ($2n = 6x = 42$) است. بنابراین، تعداد کروموزوم‌های پایه آن ۷ ($x = 7$) می‌باشد (Curtis *et al*., 2002). در حال حاضر ۱۱ گونه دیپلوئید، ۱۲ گونه تتراپلوئید و ۶ گونه هگزاپلوئید تریتیکوم شناسایی شده است. تمام گونه‌های هگزاپلوئید دارای ژنوم AABBDD هستند. فقط دو گونه تریتیکوم دارای ارزش تجارتی هستند که عبارتند از گونه هگزاپلوییید *T. aestivum* (گندم نان) که با ارزش‌ترین گونه تجاری است و گونهٔ *T. turgidum* (گندم دوروم) که

[1] Magnoliophyta
[2] Poaceae
[3] Pomoideae
[4] Triticum