بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دانشکده علوم زراعی

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات

عنوان:

بررسی تنوع ژنتیکی در لاین‌های دابل‌هاپلوئید گندم نان با استفاده از نشانگرهای SSR

دانشجو:

مهدی زرگانی

استاد راهنما :

دکتر غلامعلی رنجبر

استاد مشاور :

دکتر شاهپور ابراهیم نژاد

بهمن ۱۳۹۳

به نام خدا

معاونت آموزشی- تحصیلات تکمیلی

شماره: .....

تاریخ: .....

صورت‌جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

جلسه دفاع از رساله آقای **مهدی زرگانی** ، دانشجوی دوره کارشناسی ارشد اصلاح نباتات شماره دانشجوی **۹۱۱۱۲۳۱۰۵** گرایش اصلاح ، در ساعت ۱۵ بعد ازظهر ، روز یکشنبه در محل: سالن آمفی تئاتر(۲۰۲) در تاریخ **۱۳۹۳/۱۰/۱۴**

دانشکده: علوم زراعی ، با حضور امضاءکنندگان ذیل تشکیل گردید. پس از بررسی‌های لازم، پایان‌نامه نامبرده بنا به رای هیأت داوران با نمره به عدد: ۱۹/۱ ، به حروف: نوزده و یک دهم ، و با درجه: عالی

☐ بدون اصلاحات پذیرفته شد. ☑ با اصلاحات پذیرفته شد (دانشجو موظف است تا تاریخ: ۹۳/۱۰/۳۰ رساله اصلاح شده خود را که به تأیید: ..... رسیده است به گروه آموزشی تحویل دهد).

☐ مردود شناخته شد.

عنوان پایان نامه: بررسی مولکولی تنوع ژنتیکی در لاین های دابل هاپلوئید گندم نان با استفاده از نشانگرهای SSR

هیئت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	گروه	دانشکده	دانشگاه	امضاء
استاد راهنمای اول	دکتر غلامعلی رنجبر	دانشیار	اصلاح نباتات	علوم زراعی	علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری	
استاد راهنمای دوم	-	-	-	-	-	
استاد مشاور	مهندس شاهپور ابراهیم نژاد	مربی			مرکز تحقیقات مازندران	
داور اول	دکتر بابائیان	استادیار	اصلاح نباتات	علوم زراعی	علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری	
داور دوم	دکتر نجفی	استادیار	اصلاح نباتات	علوم زراعی	علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری	
نماینده تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر عمادی	استادیار	خاک شناسی	علوم زراعی	علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری	
مدیر گروه	حمید نجفی زرینی	استادیار	اصلاح نباتات	علوم زراعی	علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری	

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات

و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه

متعلق به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری است.

تقدیم به پدر و مادر عزیزم

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم پدر و مادری فداکار نصیبم ساخته تا در سایه

درخت پربار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان

در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم.

والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم چرا

که این دو وجود پس از پروردگار مایه هستی ام بوده اند دستم را گرفتند و راه رفتن

را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب آموختند.

آموزگارانی که برایم زندگی؛ بودن و انسان بودن را معنا کردند

حال این برگ سبزی است تحفه درویش تقدیم آنان...

تشکر و قدردانی

سپاس بیکران پروردگار یکتا را که هستی‌مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت.

در اینجا برخود لازم میدانم از استاد راهنمای گرانقدرم جناب آقای دکتر رنجبر که با صبر و حوصله بسیار پاسخگوی سوالات بنده بودند به پاس کمک‌های علمی بی‌دریغ‌شان نهایت تشکر و قدردانی را به عمل می آورم.

از مشاور ارجمندم جناب آقای دکتر ابراهیم نژاد صمیمانه سپاسگزارم.

از مسئول محترم آزمایشگاه سیتوژنتیک سرکار خانم مهندس کمالی نیز به خاطر کمک‌ها و راهنمایی‌هایشان کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از تمامی اساتید محترم دانشکده علوم زراعی که در مقطع کارشناسی ارشد افتخار شاگردیشان را داشتم بی‌نهایت سپاسگزارم.

همچنین از جناب مهندس حمیدرضا هاشمی، جناب مهندس محسن گودرزی و سرکارخانم مهندس ملکی که در امر این پایان نامه مرا بسیار یاری رساندند کمال تشکر را دارم.

و در انتها بهترین سپاس و قدردانی‌ها را به همکلاسی‌های گرامی، تمامی دوستان و هم‌اتاقی‌های عزیزم که از ابتدا تا به انتهای این پایان نامه کمک حال بنده بودند و فصلی از دوران جوانی خود را با آنها سپری نموده ام، تقدیم می‌نمایم.

چکیده

گندم (*Triticum aestivum* L.) به عنوان مهمترین گیاه زراعی در جهان و ایران و از جمله کالاهای اساسی و ارزشمند، که نقش و اهمیت زیادی از جنبه‌های مختلف، هم در تولید و هم مصرف دارد، دارای ژنوتیپ‌های زیادی است که لازمه استفاده کارآ و صحیح از آنها، شناسایی روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌ها و تعیین سطوح تنوع می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی و تعیین روابط ژنتیکی در بین جمعیتی متشکل از ۱۸۱ لاین دابل‌هاپلوئید گندم نان حاصل از تلاقی دو رقم ترایدنت و مولینکس با استفاده از نشانگرهای SSR (میکروساتلایت یا ریزماهواره) براساس تفاوت‌های موجود در ژرم پلاسم آنها می‌باشد. توصیف فاصله ژنتیکی لاین‌های دابل‌هاپلوئید گندم برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ارزشمند و در نتیجه تسهیل‌کننده‌ی استفاده از این لاین‌ها در برنامه های اصلاحی خواهد بود. استخراج DNA از برگ‌های جوان به روش CTAB و مشاهده محصولات PCR از طریق ژل پلی اکریلامید ۸ درصد واسرشته ساز انجام گرفت. داده های حاصل به کمک نرم افزارهای Excel و NTSYS pc V.2/02e مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با توجه به نتایج بدست آمده از محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرهای SSR، تعداد آلل‌های چندشکل از۲ تا ۸ متغیر بود و آغازگر *Xgwm46* با ۲ آلل کمترین میزان چندشکلی برابر با ۰/۰۸۶ و آغازگر *Xgwm186* با ۶ آلل بیشترین میزان چندشکلی برابر با ۰/۴۵۹ را نشان دادند. بعلاوه تعداد کل باندهای محاسبه شده توسط آغازگرهای SSR مورد استفاده ۳۹ باند بود. تجزیه خوشه‌ای ساختار و روابط ژنتیکی نمونه‌ها توسط روش‌های آماری جاکارد و UPGMA، لاین‌های مورد بررسی را در ۳ گروه مشترک طبقه‌بندی نمود که بیانگر وجود شباهت ژنتیکی بیشتری بین نمونه‌های این گروه-هاست. تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تایید نمود. بیشترین و کمترین میزان شباهت بین لاین‌ها به ترتیب برابر ۰/۹۷۲ و ۰/۶۹۲ و با میانگین ضریب شباهت ژنتیکی ۰/۸۴۴ بدست آمد.

کلمات کلیدی : گندم نان، لاین های دابل هاپلوئید، نشانگرهای SSR، چندشکلی، تنوع ژنتیکی

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول – مقدمه و کلیات ۱

۱-۱ مقدمه ۲

۱-۲ کلیات ۳

۱-۲-۱ تولید گندم در ایران و جهان ۳

۱-۲-۲ مشخصات گیاهشناسی گندم ۴

۱-۲-۳ طبقه بندی گندم ۵

۱-۲-۳-۱ طبقه بندی گندم بر اساس نام ۵

۱-۲-۳-۲ طبقه بندی گندم از نظر گیاه شناسی ۵

۱-۲-۳-۳ طبقه بندی گندم براساس نیاز رطوبتی ۶

۱-۲-۳-۴ طبقه بندی زراعی گندم ۶

۱-۲-۳-۵ طبقه بندی گندم از لحاظ خصوصیات بافتی ۶

۱-۲-۳-۶ طبقه بندی گندم از نظر شیشه ای یا آردی بودن ۷

۱-۲-۳-۷ طبقه بندی گندم از نظر رنگ ۷

۱-۲-۳-۸ طبقه بندی گندم از نظر آبیاری ۷

۱-۲-۳-۹ طبقه بندی گندم براساس طول ساقه ۷

۱-۲-۳-۱۰ طبقه بندی گندم براساس طول ریشک ۷

۱-۲-۳-۱۱ طبقه بندی گندم براساس تراکم سنبل ۷

۱-۲-۳-۱۲ طبقه بندی گندم از نظر مصارف ۷

۱-۲-۴ گروهبندی زراعی گندم های ایران ۸

۱-۲-۴-۱ گندم‌های بومی ۸

۱-۲-۴-۲ گندم‌های اصلاح شده ۸

۱-۲-۵ خصوصیات ژنتیکی گندم ۹

۱-۲-۶ تنوع ژنتیکی در گندم ۱۰

۱-۲-۷ اصلاح گندم ۱۰

۱-۲-۷-۱ اهداف اصلاحی در گندم ۱۰

۱-۲-۸ تولید گیاهان هاپلوئید و دابل هاپلوئیدی دراصلاح نباتات ۱۱

۱-۲-۸-۱ مزایای تولید گیاهان هاپلوئیدی ۱۲

۱-۲-۸-۲ دابل هاپلوئیدی در گندم ۱۴
۱-۲-۹ نشانگرهای ژنتیکی ۱۴
۱-۲-۱۰ نشانگرهای مورفولوژیک ۱۵
۱-۲-۱۱ نشانگرهای سیتوژنتیکی ۱۵
۱-۲-۱۲ نشانگرهای بیوشیمیایی ۱۵
۱-۲-۱۳ نشانگرهای مولکولی ۱۶
۱-۲-۱۳-۱ واکنش زنجیرهای پلیمراز (PCR) ۱۶
۱-۲-۱۳-۲ نشانگرهای غیرمبتنی بر PCR ۱۷
۱-۲-۱۳-۲-۱ تفاوت طول قطعات حاصل از هضم DNA (RFLP) ۱۷
۱-۲-۱۳-۲-۲ تعداد متفاوت ردیف‌های تکراری (VNTRs) ۱۷
۱-۲-۱۳-۳ نشانگرهای مبتنی بر PCR ۱۸
۱-۲-۱۳-۳-۱ نقاط نشانمند از ردیف (STS) ۱۸
۱-۲-۱۳-۳-۲ DNA چند شکل تکثیر شده تصادفی (RAPD) ۱۸
۱-۲-۱۳-۳-۳ تفاوت طول قطعه‌های حاصل از تکثیر (AFLP) ۱۸
۱-۲-۱۳-۳-۴ منطقه تکثیر یافته از توالی معلوم (SCAR) ۱۸
۱-۲-۱۳-۳-۵ تفاوت تک نوکلئوتیدی (SNP) ۱۹
۱-۲-۱۳-۳-۶ تفاوت ساختار تک رشته‌ای (SSCP) ۱۹
۱-۲-۱۳-۳-۷ توالی چند شکلی تکثیر یافته حاصل از برش (CAPS) ۱۹
۱-۲-۱۳-۴ توالی‌های ساده تکراری (SSR) ۱۹
۱-۲-۱۳-۴-۱ تاریخچه ۱۹
۱-۲-۱۳-۴-۲ تقسیم‌بندی توالی‌های ساده تکراری ۲۰
۱-۲-۱۳-۴-۲-۱ ماهواره‌ها ۲۰
۱-۲-۱۳-۴-۲-۲ ماهوارک‌ها ۲۰
۱-۲-۱۳-۴-۲-۳ ریزماهواره‌ها ۲۰
۱-۲-۱۳-۴-۳ بیولوژی ریزماهواره‌ها ۲۰
۱-۲-۱۳-۴-۴ انواع ریزماهواره‌ها ۲۱
۱-۲-۱۳-۴-۴-۱ ریزماهواره‌های کامل ۲۱
۱-۲-۱۳-۴-۴-۲ ریزماهواره‌ی ناقص ۲۱
۱-۲-۱۳-۴-۴-۳ ریزماهواره‌ی منقطع ۲۱

۱-۲-۱۳-۴-۴-۴ ریزماهواره‌ی مرکب ۲۱
۱-۲-۱۳-۴-۵ فراوانی، توزیع و سازماندهی ریزماهواره‌ها در داخل ژنوم ۲۱
۱-۲-۱۳-۴-۶ فرآیند جهش و میزان آن در ریزماهواره‌ها ۲۱
۱-۲-۱۳-۴-۷ عوامل مؤثر بر پایداری ریزماهواره‌ها ۲۲
۱-۲-۱۳-۴-۸ کاربرد و اثرات ریزماهواره‌ها ۲۲
۱-۲-۱۳-۴-۹ مهمترین آثار ریزماهواره ۲۳
۱-۲-۱۳-۴-۹-۱ ساختار DNA ۲۳
۱-۲-۱۳-۴-۹-۲ سانترومر ۲۳
۱-۲-۱۳-۴-۹-۳ ریزماهواره و رونویسی ۲۳
۱-۲-۱۳-۴-۹-۴ محل اتصال پروتئین ۲۴
۱-۲-۱۳-۴-۹-۵ ترجمه ۲۴
۱-۲-۱۳-۴-۱۰ پیدایش ریزماهواره‌ها ۲۴
۱-۲-۱۳-۴-۱۱ تکامل ریزماهواره ۲۴
۱-۲-۱۳-۴-۱۲ مکانیسم‌های ایجاد چندشکلی در ریز ماهواره‌ها ۲۵
۱-۲-۱۳-۴-۱۲-۱ مدل کراسینگ آور نامتقارن UCO (Unequal Crossing Over) ۲۵
۱-۲-۱۳-۴-۱۲-۲ مدل سرخوردن پلیمراز هنگام همانندسازی SSM ۲۵
۱-۲-۱۳-۴-۱۳ شناسایی و جداسازی ریزماهواره ۲۵
۱-۲-۱۳-۵ انتخاب نشانگر مناسب در بین انواع مختلف نشانگرها ۲۶
۱-۲-۱۳-۶ کاربرد نشانگرهای مولکولی در اصلاح نباتات ۲۷
۱-۲-۱۳-۷ انتخاب به کمک نشانگر ۲۷
فصل دوم - بررسی منابع ۲۸
۲-۱ ریزماهواره‌ی گندم ۲۹
۲-۲ تنوع ژنتیکی و نشانگرهای SSR ۲۹
۲-۳ تنوع ژنتیکی گندم و نشانگرهای SSR ۳۰
فصل سوم - مواد و روش‌ها ۳۹
۳-۱ زمان و مکان اجرای طرح ۴۰
۳-۲ مواد گیاهی ۴۰
۳-۳ ارزیابی ژنوتیپی ۴۰
۳-۳-۱ کشت مواد گیاهی ۴۰

۳-۳-۳ استخراج DNA ۴۱
۳-۳-۴ تعیین کیفیت و کمیت DNA ۴۴
۳-۳-۴-۱ تعیین غلظت DNA با استفاده از اسپکتروسکوپی فرابنفش ۴۴
۳-۳-۴-۲ تعیین غلظت و کیفیت DNA با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۴۴
۳-۳-۵ یکسان سازی غلظت نمونه های DNA استخراج شده..... ۴۵
۳-۴ نشانگرهای مورد استفاده ۴۶
۳-۴-۱ واکنش زنجیره پلی مراز ۴۷
۳-۵ الکتروفورز، رنگ آمیزی و مشاهده محصولات تکثیر شده ۴۸
۳-۵-۱ الکتروفورز ژل آگارز و رنگ آمیزی..... ۴۸
۳-۵-۲ الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید و رنگ آمیزی نیترات نقره ۴۸
۳-۵-۲-۱ واسرشته سازی محصولات PCR..... ۴۸
۳-۵-۲-۲ الکتروفورز عمودی (ژل پلی‌اکریل آمید) ۴۸
۳-۵-۲-۳ آماده‌سازی دستگاه الکتروفورز ۴۸
۳-۵-۲-۴ آماده‌سازی ژل..... ۴۹
۳-۵-۲-۵ رنگ آمیزی نیترات نقره ۴۹
۳-۵-۳ تجزیه و تحلیل مشاهدات و داده‌ها ۵۰
۳-۵-۳-۱ خواندن آل‌ها..... ۵۰
۳-۵-۳-۲ تجزیه و تحلیل داده‌ها..... ۵۰
۳-۵-۳-۲-۱ بررسی شاخص‌های نشانگرها..... ۵۰
۳-۵-۳-۲-۱-۱ شاخص PIC (Polymorphis Information Content) ۵۰
۳-۵-۳-۲-۱-۲ شاخص Rp (Resolving power) ۵۱
۳-۵-۳-۲-۱-۳ شاخص اطلاعاتی شانون (Shannon Information Index) ۵۱
۳-۵-۳-۲-۲ بررسی تنوع ژنتیکی ۵۱
فصل چهارم - نتایج ۵۲
۴-۱ نتایج حاصل از استخراج DNA..... ۵۳
۴-۱-۱ نتایج بررسی کیفیت DNA استخراج شده از طریق اسپکتروفتومتر ۵۳
۴-۲ نتایج واکنش زنجیره پلیمراز..... ۵۳
۴-۲-۱ بهینه سازی شرایط واکنش زنجیره پلیمراز..... ۵۳
۴-۲-۲ نتایج حاصل از الکتروفورز ژل آگارز محصولات PCR..... ۵۵
۴-۳ چند شکلی در جایگاههای ریزماهواره ۵۵

۴-۳-۱ شاخص چند شکلی (PIC) ۵۶
۴-۳-۲ شاخص Rp ۵۷
۴-۳-۳ شاخص اطلاعاتی شانون (I) ۵۷
۴-۴ تجزیه خوشه ای ۵۸
۴-۴-۱ نتایج انتخاب ضریب تشابه و الگوریتم خوشه‌بندی ۵۸
۴-۴-۲ ماتریس تشابه ۵۸
۴-۵ تجزیه به مولفه های اصلی ۵۹
فصل پنجم - بحث و نتیجه‌گیری ۶۲
۵-۱ چند شکلی در جایگاه‌های ریزماهواره ۶۳
۵-۱-۱ شاخص PIC ۶۳
۵-۱-۲ شاخص Rp ۶۵
۵-۱-۳ شاخص اطلاعاتی شانون ۶۶
۵-۲ تجزیه‌ی خوشه‌ای ۶۷
۵-۳ تجزیه به مولفه‌های اصلی ۶۸
۵-۴ نتیجه گیری نهایی ۶۹
۵-۵ پیشنهادات ۷۰
منابع و مآخذ ۷۲

فهرست شکل‌ها

شکل ۴-۱ بررسی کیفیت DNA ژنومی از طریق ژل آگارز ۵۳
شکل ۴-۲ الف و ب : شیب دمایی برخی آغازگرهای مورد استفاده ۵۵
شکل ۴-۳ نمونه ای از الکتروفورز ژل آگارز محصولات PCR ۵۵
شکل ۴-۴ الف و ب عدم تکثیرمناسب توسط دوتا از آغازگرها ۵۶
شکل ۴-۵ نمونه الگوی باندی نشانگر Xgwm501 روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد ۵۶
شکل ۴-۶ دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر لاینهای گندم نان ۵۹
شکل ۴-۷ پلات دوبعدی حاصل از آنالیز PCA ۶۱

فهرست جداول

جدول ۱-۱ وضعیت بازار گندم (واحد: میلیون تن) ۴
جدول ۲-۲ تنوع مصارف گندم در جهان پیشبینی سال ۲۰۱۵-۲۰۱۴ (واحد:میلیون تن) ۸
جدول ۱-۳ مقایسه نشانگرهای مولکولی مورد استفاده در اصلاح نباتات ۲۶
جدول ۳-۱ اطلاعات شجره مربوط به والدین لاین‌های دابل‌هاپلوئید ۴۰

جدول۳-۲ مواد گیاهی ۴۰
جدول ۳-۳ تهیه بافرCTAB..... ۴۳
جدول ۳-۴ مشخصات نشانگرهای مورد استفاده در این مطالعه..... ۴۶
جدول ۳-۵ ترکیب مواد واکنش PCR برای نشانگرهای SSR..... ۴۷
جدول ۳-۶ چرخه دمایی PCR در نشانگرهایSSR..... ۴۷
جدول ۴-۱ نتایج بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از طریق اسپکتروفتومتر ۵۴
جدول ۴-۲ شرایط بهینه شده واکنش زنجیره ی پلیمراز برای هر واکنش..... ۵۴
جدول ۴-۳ شاخص‌های چند شکلی در جایگاه‌های ریزماهواره..... ۵۷
جدول ۴-۴ شاخص‌های چندشکلی در سه ژنوم گندم..... ۵۸
جدول ۴-۵ ضرایب کوفنتیک حاصل از الگوریتم‌ها با ضرایب تشابه..... ۵۸
جدول ۴-۶ گروهبندی لاین‌های گندم بر اساس ماتریس تشابه جاکارد و روش UPGMA..... ۵۹
جدول ۴-۷ تجزیه به مولفه های اصلی ۶۰

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه

به تفاوت‌های ژنتیکی موجود بین افراد، ارقام یا لاین‌های موجود بین یک جمعیت یا بین جمعیت‌های گوناگون یک گونه یا جنس تنوع ژنتیکی می‌گویند. وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها اساس کار هر برنامه به‌نژادی است و تجزیه روابط ژنتیکی در گونه‌های زراعی یکی از مهمترین بخش‌های برنامه‌های اصلاحی است. زیرا به این وسیله می‌توان اطلاعاتی در مورد تنوع ژنتیکی جمعیت مورد مطالعه بدست آورد و به این ترتیب خط مشی اصولی برای نمونه‌برداری از جمعیت‌های اصلاحی فراهم نمود (محمدی و پراسانا، ۲۰۰۳). امروزه روش‌های زیادی برای اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیت‌های یک گونه وجود دارد. تنوع ژنتیکی در بین ارقام گیاهی را می‌توان بوسیله مشاهده فنوتیپ گیاهان، اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی و اطلاعات بیوشیمیایی که از طریق تجزیه آیزوزایم‌ها بدست می‌آید، برآورد نمود. با اینکه تجزیه مورفولوژیکی و بیوشیمیایی اطلاعات مفیدی برای انجام مطالعات ژنتیکی فراهم می‌نمایند اما این روش‌ها نیز به دلیل تعداد کم صفات مورفولوژیکی و آزمایش‌های آنزیمی محدودیت‌هایی دارند (عارف و همکاران، ۲۰۰۵). علاوه بر این صفات مورفولوژیکی محصولات حاصل از ژن‌ها هستند و شدیداً تحت تأثیر محیط می‌باشند (بیبی و همکاران، ۲۰۰۹). امروزه ارزش نشانگرهای مولکولی برای اهداف مختلف در زیست‌شناسی مولکولی اثبات شده است (عارف و همکاران، ۲۰۰۵). ژنتیک‌دانان جمعیت از نشانگرها برای برآورد منشا، تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت آلل‌ها استفاده می‌کنند. همچنین برای تشریح روابط ژنتیکی و تکاملی بین گونه‌ها و جمعیت‌ها و مطالعه عدم تعادل لینکاژی بین یا درون ژن‌ها از نشانگرها به طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. تنوع ژنتیکی رکن اصلی بیشتر برنامه های اصلاحی بوده و انجام گزینش منوط به وجود تنوع ژنتیکی مطلوب در صفت مورد بررسی می‌باشد. علاوه بر این، اطلاع از سطح تنوع موجود در ژرم پلاسم‌ها و خزانه‌های ژنی برای تشخیص تکرارها در بانک‌های ژنی، غنی‌سازی ذخـایر ژنتیکی از طـریق ورود ژن‌های مطلوب و شناسایی ژن‌های مناسب ضـروری به نظـر می‌رسد.

گندم به عنوان یکی از محصولات اساسی کشاورزی دارای اهمیت ویژه ای بوده و تامین این محصول برای جوامعی مانند ایران که گندم جایگاه خاصی در الگوی تغذیه مردم آن دارد به معنی ایجاد امنیت غذایی بوده و رفاه اجتماعی طبقات متوسط و ضعیف شدیداً تحت تاثیر این محصول می باشد. گندم یکی از قدیمی ترین و پرارزش ترین گیاهان روی زمین است که بیش از هر محصول دیگری در دنیا کشت می‌شود و بیش از هر محصول دیگری تأمین کالری نموده و بیشترین پروتئین را در جیرهٔ غذایی انسان عرضه می‌کند. بررسی های علمی نشان می‌دهد کشت گندم از حدود ۳۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح یعنی حدود ۵۰۰۰ سال پیش در مصر رواج داشته است، طبق مدارک موجود یکی از نباتاتی که در دنیا کشت می‌شده گندم می‌باشد و موطن اصلی گندم آسیای مرکزی است. منطقه‌ی پیدایش آن ابتدا در سوریه و فلسطین بوده و از آنجا به مصر و بین النحرین و سپس به ایران آمده و بعداً از طریق ایران به هندوستان، چین و روسیه و بالاخره به اروپا رفته و سپس به سایر نقاط دنیا انتقال یافته است. درایران کار اصلاح و هیبریداسیون گندم از سال ۱۳۰۹ در کرج و ورامین شـــروع و اولین هیبرید بین دو رقـــم به نام «عطایی» و «شاه پسند» برای تهیه‌ی گندم «شاه پسند زودرس» انجام گردید. در چند دهه اخیر به سبب رشد شدید جمعیت و افزایش جمعیت مصرف کننده شهری، تأمین نیازهای غذایی مردم مورد توجه بسیار قرار گرفته است. در این میان، گندم به عنوان محصولی استراتژیک و

تأمین کننده غذای بخش عمده‌ای از مردم، از اهمیت بسیاری برخوردار است. نکته اساسی در مورد گندم، تنوع گونه‌ها و ارقام آن است، که امکان تولید فرآورده‌های غذایی مختلف مانند ماکارونی و رشته آشی (از گندم دوروم) و انواع نان سنتی و صنعتی (از گندم نان) را فراهم می‌کند. همچنین علاوه بر زارعین و محققین به نژادی و به زراعی، صنایع مختلف همچون کارخانه‌های آرد سازی، تولید نان، ماکارونی، شیرینی پزی و ... نیز با موضوع تولید گندم و فرآورده‌های حاصل از آن درگیرند که هر یک به سهم خود بر کیفیت محصول نهایی آن اثر گذارند. اگرچه، تا یکی دو دهه پیش افزایش سطح زیر کشت و عملکرد گندم، هدف اصلی اصلاحگران بود، اما آمار بالای دورریز نان که تا اندازه‌ای متأثر از کیفیت نانوایی پایین ارقام گندم می‌باشد، و همچنین کیفیت نامطلوب و ارزش غذایی پایین ماکارونی‌های تولیدی، به سبب استفاده از آرد گندم نان بجای گندم دوروم، سبب شد که بهبود کیفیت نان و ماکارونی از طریق ایجاد و معرفی ارقام جدید با کیفیت مطلوب و فراهم نمودن شرایط مناسب کاشت، داشت، برداشت و فرآوری گندم و همچنین بهره‌گیری از آزمون‌های بین‌المللی خصوصیات کیفی گندم، در سرلوحه امور قرار بگیرد. انقلاب ژن دارای دو شاخه اساسی اصلاح نباتات به کمک نشانگرهای مولکولی و مهندسی ژنتیک می‌باشد. ویژگی بارز اصلاح نبات به کمک نشانگرهای مولکولی تلفیق ویژگیهای مطلوب و توانمندیهای اصلاح نبات سنتی و زیست شناسی مولکولی است (نقوی و همکاران، ۱۳۸۸). در میان انواع مختلف نشانگرها، نشانگرهای مولکولی به دلیل ویژگی های مطلوبی که دارند، مورد استفاده زیادی قرار می‌گیرند. از جمله کاربردهای این نشانگرها، عبارت‌اند از: نقشه یابی صفات، انگشت نگاری، تهیه نقشه پیوستگی، ژنتیک جمعیت و بررسی روابط تکاملی و ... می‌توان اشاره نمود. امروزه از نشانگرهای مولکولی DNA به عنوان ابزاری مفید برای ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسم و تعیین مکان ژنهای مقاومت به بیماری و تنش‌های محیطی و همچنین رابطه بین اجداد وحشی و رقم‌های اصلاح شده در گیاهان استفاده می‌شود. در این میان، نشانگرهای ریزماهواره یا SSRها به دلیل چندشکلی بالا، (کندون و همکاران، ۲۰۰۸) توارث پذیری، همبارز بودن و فراوانی در گیاهان، نشانگرهای ایده آلی برای دامنه وسیعی از کاربردها از جمله تهیه نقشه ژنتیکی، گزینش به کمک نشانگر، مطالعات ژنتیک جمعیت و تکاملی، انگشت نگاری ژنتیکی، تجزیه و تحلیل شجره نامه ها و مشخص کردن میزان تغییرات تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم هستند (کولیکر و همکاران، ۲۰۰۱). نشانگرهای ریزماهواره (SSR) عموما سطوح بالاتری از چند شکلی را نشان می دهند و با توجه به فراوانی تعداد آلل در هر لوکوس حتی قادر به تمایز بین رگه‌های بسیار مشابه نیز هستند (موهان و همکاران، ۱۹۹۷ ; ناچیت و همکاران، ۲۰۰۱).

یکی از سؤالات اساسی در رابطه با لاین های دابل هاپلوئید گندم این است که آیا این لاین ها می‌توانند تنوع ژنتیکی بالایی را از خود نشان بدهند؟ و دیگر اینکه آیا نشانگر مولکولی SSR می‌تواند از قابلیت خوبی برای تعیین تنوع ژنتیکی لاین‌های دابل‌هاپلوئید گندم برخوردار باشد؟ به همین منظور هدف از انجام این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی بین ۱۸۱ لاین دابل‌هاپلوئید گندم نان با استفاده از نشانگرهای SSR و بررسی مولکولی میزان قرابت و تفاوت لاین‌های دابل‌هاپلوئید گندم نان بوده است.

۱-۲ کلیات

۱-۲-۱ تولید گندم در ایران و جهان

سازمان جهانی خواروبار و کشاورزی در جدیدترین برآورد خود از میزان تولید گندم جهان اعلام کرد، در سال جاری میلادی کل تولید گندم در جهان ۷۰۱ میلیون تن می باشد که ۱۳/۴ میلیون تن نسبت به سال گذشته کاهش داشته است. براساس این گزارش، تولید گندم ایران در سال ۲۰۱۴ نسبت به سال گذشته ۳/۵ درصد کاهش یافته و به ۱۳/۵ میلیون تن می‌رسد. ایران در سال گذشته ۱۴ میلیون تن گندم تولید کرده بود. این گزارش، ایران را در سال ۲۰۱۴ همانند سال گذشته، دوازدهمین تولیدکننده بزرگ گندم جهان معرفی کرده است. براساس برآورد فائو، اتحادیه اروپا با تولید ۱۴۳/۷ میلیون تن گندم رتبه نخست جهان را به خود اختصاص داده و چین با ۱۲۲ میلیون تن و هند با ۹۶ میلیون تن به ترتیب در رتبه های دوم و سوم قرار گرفته اند. براساس گزارش فائو، آمریکا با تولید ۵۷ میلیون تن گندم در رتبه چهارم جهان و روسیه، کانادا، پاکستان، استرالیا، ترکیه، اوکراین و قزاقستان نیز به ترتیب در رتبه های پنجم تا یازدهم از این نظر قرار گرفته اند (فائو، ۲۰۱۴).

متوسط ۵ ساله تولید گندم ایران ۱۳/۵ میلیون تن بوده است که بر اساس پیش بینی فائو تولید گندم ایران در سال ۲۰۱۴ نیز برابر با این رقم خواهد بود. این گزارش همچنین از ذخایر ۶/۶ میلیون تنی گندم ایران در پایان سال ۲۰۱۳ خبر داده و پیش بینی کرده است در پایان سال ۲۰۱۴ ذخایر گندم ایران به ۷/۷ میلیون تن برسد. استان فارس علیرغم رتبه دوم از نظر سطح با ۱۳/۷۹ درصد از تولید گندم کشور در جایگاه نخست قرار گرفته است و استان‌های خراسان، گلستان، خوزستان، کرمانشاه وآذربایجان غربی به ترتیب با ۱۱/۲۳، ۸/۴۴، ۸/۰۶، ۵/۹۵ و ۵/۲۱ درصد از تولید گندم کشور در مقام های دوم تا ششم قرار دارند. شایان ذکر است که حدود ۵۲/۶۸ درصد از گندم کشور در شش استان مذکور تولید شده است و سهم سایر استان‌ها ۴۷/۳۲ درصد می باشد. گیلان با سهم ۰/۱۲ درصد در تولید گندم کشور در پائین ترین رتبه قرار گرفته است.

جدول ۱-۱ وضعیت بازار گندم (واحد: میلیون تن)

	سال زراعی ۲۰۱۵-۲۰۱۴	سال زراعی ۲۰۱۴-۲۰۱۳
تولید	۷۰۲	۷۱۰
تجارت	۱۴۵	۱۵۳
مصرف	۶۹۹	۶۹۱
موجودی ذخایر	۱۹۳	۱۹۰

گزارش تشریحی غلات- شماره ۵-۹۳

۱-۲-۲ مشخصات گیاه‌شناسی گندم

گندم گیاهی است یکساله، تک لپه ای و از خانواده گندمیان و از جنس تریتیکوم که دارای گونه‌های بسیار زیاد وحشی و اهلی است. نمونه‌های وحشی آن غالباً به صورت علف هرز خودنمایی کرده و مزاحم کشت و کار می‌گردند. گندم مانند هر گیاه دیگری دارای ریشه، ساقه، برگ، گل و دانه می‌باشد. هنگام جوانه زدن دانه گندم، اولین اندامی که پوسته دانه را می‌شکافد و از آن خارج می‌شود ریشه چه می‌باشد. از این پس رشد گیاهچه که

در زیر خاک و در تاریکی انجام می‌پذیرد شامل رشد طولی سریع ساقه همراه با تغییر حالت‌های ویژه آن می‌باشد تا اینکه ساقه چه گیاه جوان بتواند در خاک پیشروی کرده و از موانع موجود بر سر راه بگذرد و هر چه زودتر سر از خاک بیرون آورد. وقتی گیاهچه سر از خاک بیرون آورد و اولین برگ گندم که نشانی از تک لپه ای بودن آن است ظاهر شد، عمل کلروفیلی آغاز می‌شود، از محل اولین گره نزدیک خاک گیاهچه، ریشه‌های اصلی گندم بیرون می‌آیند. این ریشه‌ها که از نظر شکل به ریشه های اولیه شباهت دارند به ریشه‌های ثانویه موسومند. ساقه گندم ماسوره‌ای و بدون انشعاب است و درون ساقه برخی از نژادها پر و در تعدادی نیمه پر و در بسیاری خالی است. البته ملاک توپر یا خالی بودن ساقه را از وضعیت ساقه گندم در ۲۰-۱۵ سانتی متری زیر خوشه گندم می‌دانند. در روی ساقه گندم برجستگی‌هایی به نام گره وجود دارد. فاصله بین دو گره را میان گره می‌نامند. طول ساقه گندم نیز بسته به نژاد و حاصلخیزی خاک و عوامل محیطی ممکن است در سه حد کوتاه، متوسط و بلند باشد. هر برگ گندم از دو قسمت غلاف و پهنک تشکیل شده است. برگ‌ها در روی ساقه به صورت منفرد و در دو ردیف به طور متناوب قرار دارند. در انتهای ساقه گندم، سنبل گندم به وجود می‌آید. بر روی هر بند سنبل فرعی و یا سنبله با دم گل بسیار کوتاهی وجود دارد. تعداد سنبله ها در روی محور اصلی بین ۲۰-۱۵ عدد می‌باشد. در داخل هر سنبله از ۷-۱ گل ممکن است وجود داشته باشد که حداکثر ۵ گل بارور شده و بقیه عقیم می‌مانند. طول سنبل بین ۱۸-۱۶ سانتی متر در ارقام و شرایط اکولوژیکی ممکن است تغییر کند. گل گندم دو جنسی، دارای سه پرچم و یک مادگی که دارای دو کلاله پرمانند است، می‌باشد. هر سنبله به ترتیب از خارج به داخل از دو پوسته به ترتیب به نام‌های پوشه و پوشینه احاطه شده است. تعداد پوشه ها در هر سنبله دو عدد و تعداد پوشینه ها در اطراف هر گل دو عدد می‌باشد. پوشینه خارجی (تحتانی) را لما و پوشینه داخلی (فوقانی) را پالئا نامند. ریشک عبارت از زائده‌ای است خار مانند که معمولاً در انتهای آزاد یکی از پوشینه‌ها که در سمت خارج دانه قرار دارد ممکن است بروید. احتمال دارد برخی از نژادهای گندم فاقد ریشک و یا دارای ریشک کوتاهی باشند. معمولاً گندم‌های ریشک دار از گندم‌های بدون ریشک عملکرد بیشتری دارند. حتی کیفیت گندم‌های ریشک دار از بدون ریشک برتر است. دانه گندم در واقع میوه گندم است. میوه گندم را در اصطلاح گیاه شناسی کاریوپسیس یا گندمه نامند. دانه به سختی به پریکارپ و یا در واقع دیواره و یا پوست دانه چسبیده است. جدا کردن پریکارپ فقط با آسیاب کردن میسر است (بهنیا، ۱۳۷۶ ؛ پایان ۱۳۸۵).

۱-۲-۳ طبقه‌بندی گندم

گندم را می‌توان با اهداف مختلف طبقه بندی نمود.

۱-۲-۳-۱ طبقه بندی گندم بر اساس نام

برخی نام‌های متداول عبارتند از گندم تک دانه، گندم لهستانی، گندم جفت دانه، گندم نیازی، گندم سفت، گندم ترد، گندم سنگی و گندم مرغدانه (مهری و همکارن، ۱۳۸۷).

۱-۲-۳-۲ طبقه بندی گندم از نظر گیاه شناسی

گندم دیپلوئید با تعداد ۲n=۱۴ کروموزوم و ژنوم AA : گندم دیپلوئید که امروزه از اهمیت کمتری برخوردار

است فقط در مناطق کوهستانی کشت می‌شود. مشخصه این نوع گندم چسبیده بودن پوشینه آن به دانه می‌باشد.

گندم تتراپلوئید با تعداد ۲*n*=۲۸ کروموزوم و ژنوم AABB : مهمترین گندم‌هایی که در این گروه قرار می‌گیرند و پوشینه آن به دانه نچسبیده است عبارتند از گندم دوروم *T. durum*، *T. turgidum*، *T. polonicum* و ... می‌باشد. به طور کلی گندم دوروم و یا گندم سخت، بهاره بوده و سنبله آن حاوی ریشک می‌باشد و بیشتر در مناطق خشک و گرم آمریکای شمالی، جنوب استرالیا و برخی از مناطق گرم شوروی سابق کشت می‌شود. این نوع گندم جهت تهیه سمولینا، ماکارونی و سایر محصولات خمیری مناسب می‌باشد. عمده کشورهای تولید کننده گندم دوروم آمریکا (در ایالت داکوتای شمالی)، شوروی سابق، کانادا، فرانسه، ایتالیا و ترکیه می‌باشند.

گندم هگزاپلوئید با تعداد ۲*n*=۴۲ و ژنوم AABBDD : گندم هگزاپلوئید اهمیت زیادی داشته و مهمترین انواع آن *T. spelta*، *T. aestivum* هستند. گونه *T. spelta* در جنوب اروپا کشت شده و توسعه چندانی پیدا نکرده است، در حالی که *T. aestivum* به مقدار بسیار زیادی توسعه یافته و تعداد گونه‌های سخت آن به بیش از ۱۰۰۰۰ بالغ می‌گردد. قدمت گندم *T. aestivum* به حدود ۱۰۰۰۰ سال پیش می‌رسد. ژنوم A این گندم از *T. monococcum*، ژنوم B ناشناخته بوده و احتمال می‌رود که از *Aegilops* و ژنوم D احتمالا از *Aesguarsa* مشتق شده باشد (مهری و همکارن، ۱۳۸۷ ؛ بهنیا، ۱۳۷۶).

۱-۲-۳-۳ طبقه بندی گندم براساس نیاز رطوبتی

گندم‌ها را از نظر نیاز به رطوبت به تیپ‌های مختلف Xezophyle که احتیاج کمتری به آب دارند و Hydrophyle که بیشتر از گروه گزوفیل نیاز به آب دارند دسته بندی می‌کنند (مهری و همکارن، ۱۳۸۷).

۱-۲-۳-۴ طبقه بندی زراعی گندم

از نظر خواص زراعی می توان گندم‌ها را به سه گروه زمستانه، بهاره و زمستانه – بهاره تقسیم نمود. بهاره و زمستانه بودن مربوط به زمان کشت گندم است. گندم زمستانه در نقاطی که فصل زمستان در آنجا خیلی سرد نمی‌شود در اوایل پاییز کشت می‌شود و تا رسیدن زمستان جوانه می‌زند ولی در طی زمستان به علت سرمای زیاد رشد نمی‌کند بلکه در اوایل بهار رشد می‌نماید و بسته به شرایط اقلیمی و اواسط بهار تا اواسط تابستان برداشت می‌شود. درحالی که گندم بهاره ویژه مناطقی است که زمستان سخت و سرد و طولانی دارند. در این نقاط گندم پس از اتمام یخبندان‌های شدید کاشت و قبل از فرارسیدن زمستان محصول برداشت می‌شود (مهری و همکارن، ۱۳۸۷؛ پایان، ۱۳۸۵).

۱-۲-۳-۵ طبقه بندی گندم از لحاظ خصوصیات بافتی

گندم را از لحاظ خصوصیات بافتی به سه نوع گندم سخت، گندم نیمه سخت و گندم نرم تقسیم بندی می‌کنند. واژه نرم و سخت مربوط به قوام خمیر حاصل از آرد است. آرد گندم سخت برای نان و ماکارونی و آرد گندم نرم برای کیک و شیرینی مناسب است.

۱-۲-۳-۶ طبقه بندی گندم از نظر شیشه ای یا آردی بودن

از این نظر گندم به سه دسته شیشه ای، نیمه شیشه ای و آردی تقسیم می‌گردد.

۱-۲-۳-۷ طبقه بندی گندم از نظر رنگ

گندم را از نظر رنگ به سه دسته قرمز، سفید و کهربایی تقسیم بندی می‌کنند.

۱-۲-۳-۸ طبقه بندی گندم از نظر آبیاری

از لحاظ آبیاری گندم را به دو نوع آبی و دیم تقسیم بندی می‌کنند.

۱-۲-۳-۹ طبقه بندی گندم براساس طول ساقه

۱-۲-۳-۱۰ طبقه بندی گندم براساس طول ریشک

۱-۲-۳-۱۱ طبقه بندی گندم براساس تراکم سنبل

۱-۲-۳-۱۲ طبقه بندی گندم از نظر مصارف

انواع گندم را از نظر مصارف مختلف به شرح زیر طبقه بندی می‌نمایند:

- ✓ گندم مخصوص محصولات خمیری
- ✓ گندم مخصوص کیک و بیسکویت
- ✓ گندم مخصوص نان و محصولات تخمیری
- ✓ گندم چند منظوره
- ✓ گندم مخصوص دام و طیور

عمده مصرف گندم به عنوان مهمترین محصول زراعی به صورت نان است که کیفیت مطلوب آن از نظر طعم و مزه و طول مدت نگهداری و کاهش ضایعات، اهمیت بسزایی دارد. کیفیت نانوایی علاوه بر ساختار ژنتیکی دانه تحت تأثیر مجموعه‌ای از اثرات خاک، آب، هوا، ذخیره بذر و ترکیبات دانه است. شرایط اقلیمی و مدیریت‌های زراعی مانند میزان کود، آلودگی به آفات و عوامل بیماریزا، شرایط برداشت، نحوه نگهداری گندم تا زمان تبدیل به آرد بر کیفیت نهایی گندم اثر می‌گذارند. کیفیت گندم در هنگام آسیاب کردن، نتیجه برهم کنش ژنوتیپ و محیط است که شامل همه عوامل محیطی از کاشت تا تحویل به آسیاب می‌باشد. اصولاً برهم کنش ژنوتیپ و محیط برای هر یک از خصوصیات کیفی دانه گندم متفاوت است.