

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

**روابط سیتوژنتیکی گندم‌های *Triticum monococcum* subsp. *aegilopoides* و *Aegilops cylindrica***

پایان‌نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات

فاطمه قربانی سینی

استاد راهنما:

دکتر احمد ارزانی



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات خانم فاطمه قربانی سینی

تحت عنوان

**روابط سیتوژنتیکی گندم‌های *Triticum monococcum* subsp. *aegilopoides* و *Aegilops cylindrica***

در تاریخ ۱۳۹۲/۴/۳۱ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

دکتر احمد ارزانی

۱-استاد راهنمای پایان نامه

دکتر جمشید رزمجو

۲-استاد مشاور پایان نامه

مهندس محمد مهدی پور سیاهبیدی

۲-استاد مشاور پایان نامه

دکتر محمد حسین اهتمام

۳-استاد داور

دکتر مجید طالبی

۴-استاد داور

دکتر محمد مهدی مجیدی

سرپرست تحصیلات تکمیلی

## تشر و قدردانی

سپاس ایزد منان را، که در همواری‌ها و ناهمواری‌های مسیر زندگی پشتیبان و همراهم بوده و هست. از استاد ارجمندم دکتر ارزانی کمال تشر و قدردانی را دارم. از مادر بی‌همتا و مهربانم و پدر دلسوز و با پشتکارم که در زندگی همواره الگو و حامی من هستند، تشر می‌کنم. از علی، برادر خوبم که پشتیبان و راهنمایم بوده است کمال قدردانی را دارم. در نهایت از دوستان بزرگوارم خانم‌ها مهندس رضایی و عرب بیگی که با راهنمایی‌های خود راه را بر من هموارتر ساختند، سپاسگزارم.

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،  
ابتکارات و نوآوریهای ناشی از تحقیق موضوع  
این پایان نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به پدر دلسوز و

مادر مهربانم

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
هشت	فهرست مطالب
۱	چکیده
	فصل اول: مقدمه
	فصل دوم: بررسی منابع
۴	۱-۲ ذخائر توارثی
۵	۲-۲ مخازن ژنی
۵	۳-۲ جریان ژنی
۵	۳-۲-۱ جریان ژنی مصنوعی
۶	۳-۲-۲ جریان ژنی خودبه‌خودی
۷	۴-۲ به‌کارگیری ژنهای گونه‌های خویشاوند در اصلاح گندم
۸	۵-۲ مهندسی کروموزومی در گندم
۹	۶-۲ انتقال ژن با مهندسی کروموزومی در گندم
۱۰	۷-۲ سیتوژنتیک
۱۰	۸-۲ کاریوتیپ
۱۱	۹-۲ تهیه کاریوتیپ
۱۱	۹-۲-۱ پیش تیمار
۱۲	۹-۲-۲ تثبیت
۱۳	۹-۲-۳ نگهداری
۱۳	۹-۲-۴ هیدرولیز
۱۴	۹-۲-۵ رنگ آمیزی
۱۴	۹-۲-۶ تهیه اسلاید
۱۵	۹-۲-۷ قاب گرفتن و دائمی نمودن اسلاید
۱۵	۹-۲-۸ جستجوی میکروسکوپی، عکسبرداری و تجزیه و تحلیل
۱۶	۱۰-۲ نامگذاری کروموزوم‌ها
۱۶	۱۱-۲ تقارن کاریوتیپ
۱۶	۱۲-۲ پارامترهای سنجش تقارن کاریوتیپی
۱۶	۱۲-۲-۱ نسبت طول بازوی بلند به کوتاه

۱۷	۲-۱۲-۲ نسبت طول بازوی کوتاه به بلند
۱۷	۲-۱۲-۳ طول نسبی کوتاهترین کروموزوم یا شاخص تقارن
۱۷	۲-۱۲-۴ درصد شکل کلی کاریوتیپ
۱۷	۲-۱۲-۵ درصد شکل کروموزوم
۱۷	۲-۱۲-۶ طول نسبی کروموزوم
۱۸	۲-۱۲-۷ تفاوت دامنه طول نسبی کروموزومها
۱۸	۲-۱۲-۸ ضریب تغییرات
۱۸	۲-۱۲-۹ ضریب همبستگی پیرسون
۱۸	۲-۱۲-۱۰ حجم کروموزومها
۱۸	۲-۱۳-۱۳ دسته بندی کاریوتیپها
۱۸	۲-۱۳-۱ دسته بندی استینز
۱۹	۲-۱۳-۲ دسته بندی رومر و زارکو
۲۰	۲-۱۴ مطالعه میوز
۲۷	۲-۱۵ شاخص میوزی
۲۷	۲-۱۶ اهمیت بررسی میوز
<b>فصل سوم: مواد و روشها</b>	
۳۰	۳-۱ مواد ژنتیکی
۳۰	۳-۲ بررسی کروموزومهای سوماتیکی و تهیه کاریوتیپ
۳۰	۳-۲-۱ جوانه زنی بذور
۳۲	۳-۲-۲ پیش تیمار
۳۳	۳-۲-۳ تثبیت
۳۳	۳-۲-۴ شستشو
۳۳	۳-۲-۵ نگهداری
۳۳	۳-۲-۶ هیدرولیز
۳۳	۳-۲-۷ آرننگ آمیزی
۳۳	۳-۲-۸ اسکواش و پخش کردن سلولها در یک لایه
۳۳	۳-۲-۹ جستجو و عکسبرداری
۳۴	۳-۲-۱۰ تهیه کاریوتیپ و آیدیوگرام
۳۴	۳-۲-۱۱ تجزیه و تحلیل آماری
۳۴	۳-۳ بررسی میوز



۳۴	..... تثبیت ۱-۳-۳
۳۴	..... نگهداری ۲-۳-۳
۳۴	..... رنگ آمیزی ۳-۳-۳
۳۴	..... تهیه اسلاید میکروسکوپی ۴-۳-۳
۳۵	..... جستجوی میکروسکوپی و عکسبرداری ۵-۳-۳
۳۵	..... تجزیه و تحلیل رفتار میوزی ۶-۳-۳
	<b>فصل چهارم: نتایج و بحث</b>
۳۶	..... بررسی کاربوتیپی ۱-۴
۳۶	..... <i>Aegilops cylindrica</i> Ae <sup>۱</sup> ژنوتیپ ۱-۱-۴
۳۸	..... <i>Aegilops cylindrica</i> Ae <sup>۲</sup> ژنوتیپ ۲-۱-۴
۴۰	..... <i>Aegilops cylindrica</i> Ae <sup>۳</sup> ژنوتیپ ۳-۱-۴
۴۲	..... <i>Aegilops cylindrica</i> Ae <sup>۴</sup> ژنوتیپ ۴-۱-۴
۴۴	..... <i>Aegilops cylindrica</i> Ae <sup>۵</sup> ژنوتیپ ۵-۱-۴
۴۶	..... <i>Aegilops cylindrica</i> Ae <sup>۶</sup> ژنوتیپ ۶-۱-۴
۴۸	..... <i>Aegilops cylindrica</i> Ae <sup>۷</sup> ژنوتیپ ۷-۱-۴
۵۰	..... <i>Aegilops cylindrica</i> Ae <sup>۸</sup> ژنوتیپ ۸-۱-۴
۵۲	..... <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> T <sup>۱</sup> ژنوتیپ ۹-۱-۴
۵۴	..... <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> T <sup>۲</sup> ژنوتیپ ۱۰-۱-۴
۵۶	..... <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> T <sup>۳</sup> ژنوتیپ ۱۱-۱-۴
۵۸	..... <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> T <sup>۴</sup> ژنوتیپ ۱۲-۱-۴
۶۰	..... <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> T <sup>۵</sup> ژنوتیپ ۱۳-۱-۴
۶۲	..... <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> T <sup>۶</sup> ژنوتیپ ۱۴-۱-۴
۶۴	..... <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> T <sup>۷</sup> ژنوتیپ ۱۵-۱-۴
۶۶	..... <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> T <sup>۸</sup> ژنوتیپ ۱۶-۱-۴
۶۸	..... تجزیه و تحلیل کاربوتیپها ۲-۴
۶۸	..... <i>Aegilops cylindrica</i> ۱-۲-۴
۷۰	..... روابط صفات کاربوتیپی ژنوتیپهای <i>Aegilops cylindrica</i> ۲-۲-۴
۷۱	..... <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> ۳-۲-۴
۷۲	..... روابط صفات کاربوتیپی ژنوتیپهای <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> ۴-۲-۴
۷۳	..... مقایسه تقارن کاربوتیپی گونه‌های ژنوتیپهای دو گونه ۳-۴

۷۵.....	۴-۴ بررسی میوز.....
۷۵.....	۴-۴-۱ کروموزوم‌های تأخیردار.....
۸۰.....	۴-۴-۲ چسبندگی کروموزومی.....
۸۵.....	۴-۴-۳ کروموزوم‌های B.....
۸۶.....	۴-۴-۴ توزیع نابرابر کروموزوم‌ها.....
۸۷.....	۴-۴-۵ عدم همزمانی.....
۸۹.....	۴-۴-۶ میکرونوکلئ.....
۹۱.....	۴-۴-۷ موقعیت مکانی غیرطبیعی هسته‌ها.....
۹۲.....	۴-۴-۸ تشکیل گامت 2n.....
۱۰۱.....	۴-۴-۹ عدم تشکیل رشته‌های دوک.....
۱۰۱.....	۴-۴-۵ بررسی کلی رفتار میوزی دو گونه.....
۱۰۶.....	۴-۴-۶ روابط سیتوژنتیکی دو گونه <i>Aegilops cylindrica</i> و <i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i> .....

#### فصل پنجم

۱۱۰.....	۵-۱ نتیجه‌گیری کلی.....
۱۱۱.....	۵-۲ پیشنهادات.....
۱۱۲.....	منابع.....

## چکیده

بررسی‌های سیتوژنتیک در مطالعات اصلاحی جزء قدم‌های نخستین است. شناخت کروموزوم‌ها و رفتار آنها در موفقیت دورگ‌گیری مؤثر است. این مطالعه با هدف بررسی خصوصیات کاریوتیپی و رفتار میوزی *Aegilops cylindrica* و *Triticum monococcum* subsp. انجام شد. هشت ژنوتیپ *Ae. cylindrica* و *T. m. subsp. aegilopoides* جمع‌آوری شده از غرب کشور در دو تاریخ کاشت پاییزه در مزرعه کشت شدند. به منظور بررسی خصوصیات کاریوتیپی نوک ریشه‌های بذور جوانه زده تحت مراحل پیش تیمار آلفابروموفتالین، تثبیت با لویتسکی، هیدرولیز با سدیم هیدروکسید یک نرمال، رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و له کردن قرار گرفت. سنبله‌ها با رسیدن به مرحله مناسب برداشت شدند و در محلول کارنوی تثبیت و با هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. در بررسی‌های کاریوتیپی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین طول بازوی بلند، طول بازوی کوتاه و طول کروموزوم در هر یک از گونه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت. تفاوت درون‌گونه‌ای در طول کروموزوم‌ها احتمالاً ناشی از روش تهیه نمونه و تفاوت مرحله میتوزی در نمونه‌برداری‌ها بوده است. در شاخص سانترومیری و نسبت بازوها که کمتر تحت تأثیر عوامل ایجاد خطا قرار می‌گیرند، تفاوت معنی‌دار درون‌گونه‌ای مشاهده نشد که قابل انتظار بوده است. ژنوتیپ‌های *Ae. cylindrica* مطالعه شده همگی به کلاس ۳A در دسته‌بندی استینز تعلق داشتند. نوع کروموزوم‌ها بر اساس روش لوان و همکاران در اغلب موارد به صورت ساب متاسنتریک و ساب تلوسنتریک بود و در چهار ژنوتیپ  $Ae_2$ ،  $Ae_4$ ،  $Ae_5$  و  $Ae_8$  کروموزوم‌های متاسنتریک نیز مشاهده شد. درصد شکل کلی کاریوتیپ نیز در بین ژنوتیپ‌ها تا حدی تنوع داشت و در ژنوتیپ  $Ae_8$  بیشترین مقدار ۳۵/۴ را به خود اختصاص داد. شاخص تقارن در  $Ae_8$  بیشترین مقدار ۶۱/۹۴ و ژنوتیپ  $Ae_6$  کمترین مقدار را در بین ژنوتیپ‌ها داشت. بیشترین مقدار شاخص عدم تقارن درون کروموزومی  $A_1$  به ژنوتیپ  $Ae_4$  با مقدار ۰/۴۶ و کمترین آن به ژنوتیپ  $Ae_8$  با مقدار ۰/۱۴ اختصاص داشت. حداکثر و حداقل میزان شاخص عدم تقارن بین کروموزومی  $A_2$  به ترتیب در ژنوتیپ‌های  $Ae_7$  با مقدار ۰/۱۷ و  $Ae_2$  با مقدار ۰/۱۴ مشاهده شد. ژنوتیپ‌های *T. m. subsp. aegilopoides* مطالعه شده همگی به کلاس ۱A در دسته‌بندی استینز تعلق داشتند. از لحاظ تکاملی این گونه به دلیل داشتن کروموزوم‌های یکنواخت متاسنتریک جزء گونه‌های متقارن و ابتدایی به شمار می‌رود. حداکثر مقدار درصد شکل کلی کاریوتیپ ۴۳/۲۳ در ژنوتیپ  $T_1$  و حداقل آن ۴۰/۹۹ در ژنوتیپ  $T_7$  بود. ژنوتیپ  $T_2$  با ۷۲ درصد بیشترین و ژنوتیپ  $T_3$  با ۳۸/۴۶ درصد کمترین شاخص تقارن را دارا بود. بیشترین مقدار شاخص عدم تقارن درون کروموزومی  $A_1$  در ژنوتیپ  $T_7$  با مقدار ۰/۳ و کمترین آن مربوط به ژنوتیپ  $T_3$  با ارزش ۰/۲۱ اختصاص داشت. همچنین حداکثر و حداقل میزان شاخص عدم تقارن بین کروموزومی  $A_2$  به ترتیب در ژنوتیپ‌های  $T_3$  و  $T_4$  ۰/۱۶ و در ژنوتیپ  $T_2$  ۰/۱۱ مشاهده شد. تمامی شاخص‌های تقارن کاریوتیپی حاکی از پیشرفته‌تر بودن گونه *Ae. cylindrica* نسبت به گونه *T. m. subsp. aegilopoides* از لحاظ تکاملی می‌باشد. بررسی رفتار میوزی *T. m. subsp. aegilopoides* ناهنجاری‌هایی شامل کروموزوم‌های تأخیردار، چسبندگی و پل کروموزومی، موقعیت مکانی غیرطبیعی هسته‌های دختری و تشکیل گامت ۲n را آشکار نمود. این گونه نیز با شاخص میوزی ۹۷/۱٪ به لحاظ سیتولوژیکی پایدار محسوب می‌شود. بررسی رفتار میوزی سنبله‌های نارس در *Ae. cylindrica* ناهنجاری‌هایی شامل کروموزوم‌های تأخیردار، چسبندگی و پل کروموزومی، کروموزوم‌های B، توزیع نابرابر کروموزوم‌ها، عدم همزمانی، میکرونوکلئ، موقعیت مکانی غیرطبیعی هسته‌های دختری، تشکیل گامت ۲n از طریق مکانیسم‌های مختلف و عدم تشکیل رشته‌های دوک را نشان داد. این گونه با شاخص میوزی ۸۲/۶٪ از لحاظ سیتولوژیکی نسبتاً ناپایدار محسوب می‌شود. احتمالاً حضور ژن *Gc* در گونه *Ae. cylindrica* منجر به وقوع ناهنجاری‌های بیشتر در این گونه در مقام مقایسه با گونه دیگر شده باشد.

**نکات کلیدی:** کاریوتیپ، کروموزوم تأخیردار، چسبندگی و پل کروموزومی، کروموزوم B، عدم همزمانی، میکرونوکلئ، شاخص میوزی

## فصل اول

### مقدمه

گندم از جمله اولین گیاهان اهلی شده توسط بشر می‌باشد. این گونه پلی‌پلوئید از لحاظ تکاملی جوان، مهم‌ترین محصول کشاورزی ایران و جهان از نظر تأمین پروتئین و انرژی است [۸۰]. گندم برخلاف برنج و ذرت بهترین سازگاری را نسبت به نواحی معتدل دارد [۳۱]. خویشاوندان وحشی گندم ذخایر ژنتیکی ارزشمندی هستند که می‌توان از آنها در اصلاح گندم بهره گرفت [۶۹].

گندم نان (*Triticum aestivum*  $2n=6x=42$ ) با ژنوم AABBDD گونه‌ای آلوپلوئید است که حاوی ژنوم‌های سه گونه اجدادی دیپلوئید می‌باشد. گونه‌های منشأ ژنوم‌های A و D به ترتیب *Triticum monococcum* ( $2n=14 AA$ ) و *Aegilops squarrosa* ( $2n=14 DD$ ) می‌باشند در حالی که گونه وحشی اهداکننده ژنوم B هنوز ناشناخته است و احتمالاتی نظیر منقرض شدن، تحت تغییرات شدید قرار گرفتن و یا هنوز کشف نشدن آن مطرح است. بر اساس مطالعات سیتولوژیک معلوم شده است که ۶ کروموزوم از ۷ کروموزوم همولوگ گونه *Triticum monococcum* با ژنوم A گندم جفت می‌شوند. ضمن اینکه هر ۷ کروموزوم همولوگ گونه *Aegilops squarrosa* با کروموزوم‌های مربوطه در ژنوم D گندم جفت می‌شوند. درحالی که گونه‌های دیپلوئید مطرح شده به عنوان بخشنده ژنوم B همولوژی و جفت شدگی کروموزومی ناچیزی نشان دادند. با این وجود *T. speltoides* ( $2n=14 SS$ ) گونه‌ای است که به طور عمومی به عنوان بخشنده محتمل ژنوم B پذیرفته شده است. ارزیابی مجدد منشأ گندم‌های پلی‌پلوئید نشان داد که *T. speltoides* نمی‌تواند بخشنده ژنوم B باشد و با ژنوم G از *T. timopheevii* همولوگ است. بنابراین بخشنده ژنوم B تاکنون ناشناخته مانده است [۷۶].

گونه *Triticum monococcum* گونه‌ای دیپلوئید با ژنوم AA است [۷۰]. گندم وحشی اینکورن، *Triticum monococcum* subsp. *aegilopoides* خویشاوند گندم اینکورن زراعی *T. m. monococcum* است [۴۸]. زیستگاه اولیه اینکورن وحشی یا *Triticum monococcum* subsp. *aegilopoides* در بخش‌های شمالی و غربی هلال حاصلخیز است. امروزه اینکورن زراعی در زمینهای حاشیه‌ای کشت می‌شود [۶۹]. اینکورن اهلی یکی از غلات قدیمی است که ۹۰۰۰ سال قبل ایجاد شده است و به دلیل ویژگیهای ارزشمندی نظیر مقاومت به بیماری و کیفیت دانه حاوی ۱۷ تا ۲۲/۵ درصد پروتئین و منبع کارتنوئیدها مورد نظر قرار گرفته است. همچنین در تولید نان نیاز به استفاده از مخمر ندارد. گندم اینکورن به کشت در مناطق حاشیه‌ای و بدون نیاز به نهاده‌های کشاورزی سازش دارد و اخیراً به عنوان کشت ارگانیک مورد توجه قرار گرفته است [۸۱].

گونه *Aegilops cylindrica* در مدیترانه، غرب آسیا و بخش‌هایی از اروپا پراکنده است [۱۲۸]. همچنین این گیاه در شمال ایران از استان خراسان تا آذربایجان، در غرب از آذربایجان تا لرستان و تا مرکز ایران گسترش یافته است [۱۰۴]. این گیاه گونه‌ای آلوتتراپلوئید است که حاوی دو ژنوم D و C و با  $2n=4X=28$  کروموزوم می‌باشد [۱۲۸] و به عنوان یک منبع مفید از صفاتی نظیر تحمل به شوری، خشکی، مقاومت به آفات و بیماری‌ها و مقاومت به سرما شناخته است. ضمن اینکه ژنوتیپ‌های آن هم به عنوان خزانه اولیه (ژنوم D) و هم خزانه ثانویه (ژنوم C) تنوع مفید بالقوه‌ای را برای اصلاح گندم فراهم نموده است [۱۰۴].

اصلاح گندم در حدود ۲۰۰ سال قبل آغاز شد و منجر به اصلاح در عملکرد، کیفیت نانوائی و افزایش مقاومت به تنش‌های زنده و غیر زنده شده است. راهکارهای سیتوژنتیکی مفیدی به منظور دست‌ورزی بخش یا تمام ژنوم یک گونه جهت اصلاح گندم نان ایجاد شده است. به طوری که بعد از حدود یک قرن مطالعه، اطلاعات زیادی از ساختار ژنومی گندم زراعی که با آزمایشات ژنتیکی پیش‌گام نلسون ال در سال ۱۹۰۹ و مطالعات سیتولوژیکی ساکامورا و ساکس در سال ۱۹۱۸ آغاز شد؛ به دست آمده است. در دهه ۱۹۲۰، روش تجزیه و تحلیل ژنوم هسته‌ای بر اساس رفتار جفت شدگی کروموزومی در هیبریدهای داخل گونه‌ای، اطلاعاتی درباره ساختار ژنوم، فیلوژنی و تکامل گونه‌های *Aegilops* و *Triticum* فراهم آورد [۷۶].

در مطالعات به نژادی، بررسی‌های سیتوژنتیکی جزء قدم‌های نخستین است زیرا شناخت تعداد و ساختمان کروموزوم‌ها و رفتار کروموزوم‌ها در طی میوز در موفقیت دورگ‌گیری مؤثر است. از طریق مقایسه طول و شکل کروموزوم‌ها، موقعیت سانترومر و ماهواره‌ها می‌توان به میزان شباهت کروموزوم‌های دو گونه پی برد و در برنامه‌های تلاقی بین گونه‌ای استفاده کرد [۱۲]. ضمن اینکه مشخصات کروموزومی و رفتار میوزی آنها می‌تواند به عنوان ابزاری برای انتخاب والدین در تلاقی بین گونه‌ای به منظور انترگراسیون ژنی به کار رود [۹۹].

نظر به اینکه مطالعات اندکی در زمینه روابط سیتوژنتیک *Triticum monococcum* subsp. *aegilopoides* و *Aegilops cylindrica* صورت گرفته است، مطالعه حاضر جزئیات بیشتری در رابطه با روابط سیتوژنتیکی این دو گونه از لحاظ کاربوتیپ و رفتار میوزی را ارائه نموده است که در اصلاح آتی گندم از طریق انترگراسیون ژنی کمک خواهد نمود.

## فصل دوم

### بررسی منابع

#### ۱-۲ ذخائر توارثی

گندم به خانواده گراسها (Gramineae یا Poaceae) تعلق دارد. این خانواده یکی از بزرگترین خانواده‌های گیاهان گلدار با حدود ۱۰۰۰۰ گونه طبقه‌بندی شده در ۶۰۰ تا ۷۰۰ جنس است که ۵۰ تا ۷۰ میلیون سال قبل از، اجداد وحشی حاصل شده‌اند. گندم جزء قبیله Triticeae است. خویشاوندان وحشی گندم ذخایر ارزشمندی از ژنهای مفید برای صفاتی مثل مقاومت به بیماری‌ها و حشرات، افزایش مقاومت به تنشهای محیطی و بهبود کیفیت غذایی هستند [۶۲]. ذخائر توارثی به مواد ژنتیکی متشکل از فرم‌های اجدادی، وحشی و زراعی دارای پتانسیل مطلوب گفته می‌شود که اساس کلیه برنامه‌های ژنتیکی بر آن نهاده می‌شود. در روشهای متداول اصلاح گندم، اصلاحگران با انجام تلاقی و از طریق نوترکیبی ژنتیکی و انتخاب، بهبود ایجاد می‌کنند [۱۵]. همچنین بهره‌گیری از توده‌های بومی جهت ایجاد تنوع ژنتیکی موفق بوده است. ذخائر ژنتیکی به منظور بهبود ارقام موجود استفاده می‌شوند. این ذخائر ژنتیکی ارزشمند در میان گونه‌های مختلف در قبیله Triticeae یافت می‌شوند. حدود ۳۲۵ گونه در قبیله Triticeae وجود دارد که تنوع طبیعی موجود برای اصلاح گندم را فراهم می‌آورند [۶۲]. تنوع ژنتیکی می‌تواند به طور مصنوعی از طریق موتاسیون‌زایی نیز ایجاد شود اما ذخایر توارثی طبیعی که در طی تکامل حاصل شده‌اند به علت پایداری، دارا بودن ژنهای مطلوب فراوان و اقتصادی بودن آنها به مراتب با ارزشتر از تنوع مصنوعی حاصل از هیبریداسیون و جهش می‌باشد [۶]. لازمه بهره‌گیری از گونه‌های وحشی در اصلاح ارقام فهم و ادراک کامل روابط تاکسونومیک و تکاملی بین ارقام و گونه‌های وحشی با خویشاوندی نزدیک به آنها است [۱۴۳].

## ۲-۲ مخازن ژنی گندم

هارلن و وت در سال ۱۹۷۱ مفاهیم سه خزانه ژنی اولیه، ثانویه و ثالثیه را بر اساس ساختار ژنومی و میزان قرابت و سهولت تلاقی توصیف کردند. هیبریداسیون در خزانه ژنی اولیه به آسانی انجام می‌شود و به جز در موارد خاص به نجات جنین نیازی نیست. هیبریدها با بنیه هستند و جفت‌شدگی کروموزومی میوزی طبیعی دارند و دارای باروری کامل می‌باشند. انتقال ژن از این خزانه معمولاً به آسانی انجام می‌گیرد. خزانه ژنی اولیه گندم شامل ارقام بومی هگزاپلوئید، تتراپلوئیدهای زراعی ( $2n=4x=28$ )، *Triticum dicoccoides* وحشی و بخشندگان وحشی ژنوم‌های A و D به دوروم یا گندم نان است. انتقال ژنتیکی در این خزانه ژنی از طریق هیبریداسیون مستقیم، بهره‌مندی از نوترکیبی هومولوگی و راه‌کارهای نسبتاً ساده اصلاحی صورت می‌گیرد. خزانه ژنی ثانویه در گندم گسترده است. گونه‌های *Aegilops* و *Triticum* پلی‌پلوئید که یک ژنوم مشترک با گندم دارند در خزانه ژنی ثانویه گندم قرار دارند. همچنین این خزانه شامل گونه‌های دیپلوئید بخش *Sitopsis* (*Ae. searsi*، *Aegilop speltoides*)، *Ae. B* گندم هستند، اما جفت شدن کروموزوم‌های آنها با کروموزوم‌های گندم محدود بوده و انتقال ژن از این گونه‌ها به گندم با مشکل مواجه است. انتقال ژنتیکی امری عادی در ژنوم‌های همولوگ است اما در انواع همولوگ به نجات جنین نیاز می‌باشد. از این خزانه ژنی نیز با تلاقی مستقیم و گزینش برای ژن مورد نظر می‌توان انتقال ژن انجام داد؛ در صورتی که ژن مورد نظر روی ژنوم مشابه ژنوم گندم قرار داشته باشد. در غیر این صورت جهت انتقال ژن همانند خزانه ژنی ثالثیه به روشهای سیتولوژیکی ویژه نیاز دارد. گونه‌های دیپلوئید و پلی‌پلوئید با ژنوم غیرهمولوگ با گندم به خزانه ژنی ثالثیه تعلق دارند. برای کار کردن با این مخزن به منظور تبادل ژنتیکی نیاز به بهره‌گیری از تکنیک‌های پیچیده سیتوژنتیکی، کشت بافت و پرتوتابی است. گندم‌های با ترانسلوکاسیون کروموزوم‌های بیگانه محصول این موارد هستند. ژنها از خزانه‌های ژنی اولیه و ثانویه به طور مستقیم از طریق هیبریداسیون، تلاقی برگشتی و انتخاب از طریق نوترکیبی کروموزومی به گندم نان انتقال می‌یابند. انتقال ژنتیکی از خزانه ژنی ثالثیه از طریق نوترکیبی به راحتی انجام نمی‌شود [۶۲، ۱۴۳].

## ۲-۳ جریان ژنی

تبادل ژن بین جوامع نزدیک و متقارن<sup>۱</sup> از گیاهان و تاکسون‌های خویشاوند و یا معرفی ژن از تاکسون‌های خویشاوند به خزانه ژنی گیرنده و بر عکس جریان ژنی نامیده می‌شود. جریان ژنی به دو صورت مصنوعی و خودبه-خودی رخ می‌دهد [۶۵].

## ۲-۳-۱ جریان ژنی مصنوعی

اولین گام در معرفی تنوع بیگانه و انتقال ژنهای مطلوب از گونه‌های وحشی به گونه‌های زراعی تولید هیبریدهای درون گونه‌ای و درون جنسی است. ضمن اینکه این هیبریدها اطلاعات پایه برای فهم روابط تکاملی ژنوم‌های متفاوت

<sup>۱</sup> sympatric

را فراهم می‌کنند. این تکنیک در قبیله Triticeae به طور گسترده‌ای به کار گرفته شده است زیرا گونه‌های آلپولی‌پلوئید بسیاری در این قبیله وجود دارد [۵۱]. حدود صد سال از معرفی ژنهای بیگانه به خزانه ژنی محصولات توسط اصلاح‌کنندگان نبات می‌گذرد و صفات مطلوبی مثل مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی و بهبود کیفیت به محصولات انتقال داده شده است. گونه‌های *Aegilops* به عنوان بخشندگان صفت مقاومت به بیماری‌ها با موفقیت به کار گرفته شده‌اند. مقاومت به زنگ برگ از *Ae. umbellulata* و مقاومت به زنگ زرد از *Ae. comosa* از طریق تلاقی‌های اصلاحی و دستکاری‌های پیچیده کروموزومی به *Triticum aestivum* انتقال یافته است. وقوع نو ترکیبی بین کروموزوم‌های همیولوگ در هیبریدهای  $F_1$  گندم و *Aegilops* گزارش شده است که بروز ژنهای کنترل‌کننده جفت‌شدگی و یا عناصر جابه‌جا شونده همیولوگی را در آن دخیل دانسته‌اند [۲۱]. در برخی موارد جریان ژنی بین گونه‌های *Aegilops* و *Triticum* به صورت خودبه‌خودی و در طبیعت رخ می‌دهد و جلوگیری از این فرآیند تکاملی یکی از مباحثی است که در بانک‌های ژن خارج از محل مطرح می‌باشد. جریان ژنی مصنوعی در آینده از اهمیت بیشتری برخوردار خواهد شد زیرا تکنیک‌های مولکولی جدید امکان استفاده از دامنه گسترده‌تری از ژنها را فراهم می‌کنند [۶۵].

## ۲-۳-۲ جریان ژنی خودبه‌خودی

جریان ژنی تنها زمانی به صورت خودبه‌خودی رخ می‌دهد که محصول و خویشاوندان آن به لحاظ مکان جغرافیایی هم‌پوشانی داشته باشند و تلاقی پذیر بوده و حداقل تعداد اندکی از نتاج آن بارور باشد. مطابق این تعریف و طبقه‌بندی هارلن و وت از مخازن ژنی اساساً جریان ژنی در مخازن ژنی اولیه محصولات رخ می‌دهد. با این حال گزارشاتی مبنی بر وقوع هیبریداسیون خودبه‌خودی در مخازن ژنی دیگر وجود دارد. مثال بارز این فرآیند تولید گندم نان (*Triticum aestivum*) از ژنوم D متعلق به گونه *Aegilops tauschii* و ژنوم B و A از گندم تتراپلوئید *T. dicoccum* می‌باشد [۶۵]. ایژیلوپس سیلیندریکا آلوتتراپلوئیدی است که یک ژنوم مشترک با گندم نان دارد. بنابراین به دلیل رابطه فیلوژنتیکی و تکاملی نزدیک بین دو گونه احتمال تبادل مواد ژنتیکی از طریق هیبریداسیون و انتراگرسیون طبیعی وجود دارد [۱۲۷]. وقوع هیبریداسیون خودبه‌خودی بین گندم‌های زراعی و تعدادی از خویشاوندان وحشی از گونه‌های *Triticum* و *Aegilops* گزارش شده است. این گونه‌ها زمانی این قابلیت را خواهند داشت که در مجاورت هم رشد نموده و دوره گلدهی هم‌زمان داشته‌باشند. در قرن نوزدهم وقوع هیبریدهای طبیعی بین *Ae. geniculata*، *Ae. triuncialis* و *Ae. neglecta* و گندم گزارش شده است. هیبریدهای گندم و *Aegilops* بسیار عقیم هستند اما به صورت خودبه‌خودی و یا از طریق تلاقی برگشتی با هر یک از والدین عقیمی برطرف شده است. بنابراین وقوع این هیبریدها محتمل‌ترین جریان‌های ژنی گندم در طبیعت هستند [۱۶۶]. ویسمن و همکاران [۱۵۸] وقوع هیبریداسیون خودبه‌خودی و انتراگرسیون خودبه‌خودی DNA بین گندم پلی‌پلوئید زراعی و *Aegilops variabilis* با ژنوم  $2n=4x=28$  UUSS و تثبیت این توالی در جوامع وحشی *Aegilops variabilis* در طبیعت را علی‌رغم عدم وجود کروموزوم‌های همولوگ بین دو گونه گزارش نمودند. بین گونه‌های *Aegilops* مختلفی نظیر *Aegilops cylindrica*، *Ae. geniculata*، *Ae. biuncialis*، *Ae. triuncialis* و گندم نان



هیبریداسیون خودبه‌خودی رخ می‌دهد هیبرید بین گندم و *Ae. geniculata* و *Ae. triuncialis* در فرانسه و اسپانیا و هیبرید بین *Ae. biuncialis* و گندم در لبنان یافت شده است. هیبریدهای طبیعی بسیار عقیم هستند اما در برخی موارد بذرهایی بر روی هیبرید *Ae. geniculata* مشاهده شده است. همچنین با پیشروی نسل باروری و قابلیت زنده ماندن آنها افزایش یافته است. دو برابر شدن کروموزومی طبیعی معمولاً از گامت‌های کاهش‌نیافته نر و ماده اتفاق می‌افتد. این پدیده در تکامل قبیله *Triticeae* نقش دارد. چنانکه گندم دوروم حاصل هیبریداسیون *Ae. speltooides* و *T. urartu* است. گندم دوروم نیز با *Ae. tauschii* به صورت طبیعی تلاقی می‌یابد و گندم هگزاپلوئید *T. spelta* L. را حاصل می‌کند. همه گیاهان قابلیت تولید گامت‌های کاهش‌نیافته را دارند. بسیاری از هیبریدهای بین‌گونه‌ای از طریق اختلال در جفت‌شدگی کروموزومی و تولید فراوانی بالایی از گامت‌های نر و ماده کاهش‌نیافته ایجاد شده‌اند [۹۰].

فرآیند جریان ژنی به همراه عامل پلی‌پلوئیدی یا دوبرابر شدن کروموزومی در تکامل بسیاری از گیاهان نقش داشته است. اگر چه انتظار می‌رود که جریان ژنی خودبه‌خودی به طور گسترده در حال جریان باشد اما تاکنون این فرآیند به طور اندکی شناخته شده است. مطالعات مزرعه‌ای بادقت بالا به همراه تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی و بیوشیمیایی در شناسایی این مسئله می‌تواند راهگشا باشد. مطالعات اندکی در این زمینه صورت گرفته است و در اغلب این مطالعات تنها به گزارش این مسئله بدون سند و مدرک قطعی پرداخته شده است. در اروپا جریان ژنی به‌ویژه بین محصولات مهم زراعی و خویشاوندان آنها نسبتاً محدود است. جریان ژنی می‌تواند در سطوح تاکسونومیکی متفاوتی شامل داخل گونه‌ای، بین گونه‌ای و بین جنسی رخ دهد [۶۵].

## ۲-۴ به کارگیری ژنهای گونه‌های خویشاوند در اصلاح گندم

هیبریداسیون بین گونه‌ای و بین جنسی اولین گام در ایجاد تنوع و انتقال صفات مطلوب از گونه‌های وحشی به گندم زراعی است. بیشترین تعداد تلاقی بین گونه‌ای و بین جنسی در میان گیاهان زراعی، در گندم صورت گرفته است. براساس قرابت ژنتیکی، کروموزوم‌های گندم نان به هفت گروه کروموزوم همیولوگ تقسیم نموده‌اند. در هر گروه یک جفت کروموزوم از هر ژنوم A, B و D قرار دارند. کروموزوم‌های هر گروه محتوای ژنتیکی تقریباً مشابهی داشته و قابلیت جایگزینی با یکدیگر را دارند اما با این حال به دلیل وجود ژن *Ph1* روی بازوی بلند کروموزوم ۵B گندم نان دارای رفتار دیپلوئیدی است [۱۲۹]. مکان ژنی *Ph1* در طی پلی‌پلوئیدی در طبیعت ایجاد شده است زیرا اجداد دیپلوئید گندم فاقد این ژن می‌باشند [۴۱]. ژن *Ph2* که بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۳D قرار دارد، نیز چنین ویژگی را البته با اثر کمتر داراست. حذف مکان ژنی *Ph2* تنها به جفت‌شدگی بین همیولوگ‌های بسیار نزدیک مثل ژنوم S و B می‌انجامد [۵۰]. ژنهای بازدارنده و القاکننده جفت‌شدگی همیولوگی روی کروموزوم‌های ۳A و ۴D و بازوی کوتاه ۵B گزارش شده است. زمانی که این ژنها فعال باشند، جفت شدن کروموزوم‌های همیولوگ به ندرت اتفاق می‌افتد و در نتیجه امکان تبادل مواد ژنتیکی از طریق کراسینگ‌اور وجود ندارد. این قضیه در مورد کروموزوم‌های گونه‌های خویشاوند وحشی گندم که قرابت ژنتیکی با گندم دارند، نیز صادق است. کروموزوم‌های گونه‌های وحشی با کروموزوم‌های گندم به دلیل قرابت ژنتیکی، همیولوگ هستند. به

دلیل فعالیت ژن *Ph1* در هیبرید حاصل از تلاقی این گونه‌ها با گندم، کروموزوم‌های گونه‌های وحشی با کروموزوم‌های گندم جفت نشده و امکان تبادل مواد ژنتیکی میسر نمی‌باشد. بدین منظور بایستی به طور موقت اثر این ژن را خنثی کنند. حذف موقت اثر این ژن امکان تبادل مواد ژنتیکی را فراهم آورده و از طرفی از وقوع مولتی-والانت در میوز و نیز کاهش تعداد گامت‌های فعال و عقیمی جلوگیری به عمل می‌آورد [۱۲۹]. رایلی و همکاران [۱۲۵] وجود ژنهای بازدارنده ژن *Ph1* را در گونه‌های *Ae. mutica* و *Ae. speltoides* که قابلیت بازدارندگی فعالیت ژن *Ph1* در هیبریدهای بین گونه‌ای گندم داشتند را گزارش نمودند. این قابلیت به دلیل اثر اپیستازی این ژنها روی ژن *Ph1* می‌باشد. البته ژنوتیپ‌های مختلف در این زمینه متفاوت عمل کرده و تنها برخی ژنوتیپ‌ها چنین عملکردی دارند. گندم به دلیل خصوصیت سه نسخه‌ای بودن بخش گسترده‌ای از مواد ژنتیکی در ژنوم‌های *A*، *B* و *D* قابلیت ویژه‌ای را داراست. این ویژگی امکان انتقال ژنهای بیگانه را فراهم می‌آورد زیرا با وجود این خصوصیت، گندم می‌تواند حذف یا اضافه شدن یک یا چند کروموزوم کامل را تحمل کند. همچنین وجود دو نسخه دیگر از مواد ژنتیکی می‌تواند حذف قسمت مشابه روی ژنوم دیگر در اثر تبادل (ترانسلوکاسیون و نوترکیبی) با گونه وحشی مبادله شده است را جبران نماید. تلاقی‌پذیری گونه‌های خویشاوند با گندم به دو ژن *Kr1* و *Kr2* نسبت داده می‌شود. آلل غالب این ژنها باعث عدم سازگاری گندم و چاودار می‌شود. این ژنها دارای اثر افزایشی بوده و به ترتیب روی کروموزوم‌های *5B* و *5A* گندم قرار دارند. تا کنون چهار ژن که تلاقی‌پذیری را کنترل می‌کنند بر روی کروموزوم‌های همیولوگ شماره پنج (*5A*، *5B* و *5D*) شناسایی شده‌اند. اکثر ارقام زراعی گندم دارای آلل‌های غالب از این ژن هستند و تلاقی‌پذیری کمی دارند. گندم هگزاپلوئید چینی بهاره دارای سه ژن مغلوب از این ژن می‌باشد و یکی از بهترین ارقامی است که در برنامه‌های دورگ‌گیری استفاده شده است. هیبریداسیون موفق و انجام تلاقی‌های برگشتی، پیش‌نیاز استفاده از گونه‌های وحشی ژرم‌پلاسم است. متأسفانه اکثر ارقام سازگار گندم با گونه‌های بیگانه تلاقی‌پذیر نیستند. بنابراین تعداد لاین‌های اصلاحی که می‌تواند برای انترآگرسیون بیگانه استفاده شود؛ محدود است. تعداد کمی از ژنوتیپ‌های گندم زراعی دارای آلل‌های مغلوب *kr* از ژنهای مسئول تلاقی‌پذیری بالا هستند و اکثر هیبریدهای بین و درون گونه‌ای از طریق این ژنوتیپ‌ها تولید شده‌اند. مک فادن برای اولین بار ژن مقاومت به زنگ سیاه را از گونه تتراپلوئید *Triticum dicoccoides* به گونه هگزاپلوئید زراعی منتقل کرد و رقم مقاوم *Hope* را تولید کرد. از آن به بعد، گونه‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید گندم نه تنها در تمام ترکیبات به طور موفقیت‌آمیزی با هم تلاقی داده شدند؛ بلکه با گونه‌های متعلق به جنس‌های خویشاوند مثل *Elmus*، *Hordeum*، *Hynaldia*، *Agropyron*، *Secale*، *Aegilops* تلاقی داده شده‌اند [۱].

## ۲-۵ مهندسی کروموزومی در گندم

سیرز مجموعه کاملی از ۲۱ مونوسومی ممکن و انواع دیگر آنیوپلوئیدی را در رقم گندم هگزاپلوئید چینی بهاره ایجاد نمود. با دست‌ورزی آنیوپلوئید، می‌توان مکانهای ژنی برای یک صفت خاص را تعیین نمود که به کدام کروموزوم یا به کدام بازوی یک کروموزوم خاص اختصاص داشته و فواصل ژن تا سانترومر نیز ممکن است محاسبه گردد. کاربرد دیگر آنیوپلوئیدهای گندم برای جایگزینی یک کروموزوم خاص متعلق به یک گونه وحشی

خویشاوند با یک کروموزوم گندم زراعی و نیز انتقال ژنهای بیگانه از خویشاوندان وحشی به محصولات می‌باشد [۴].

## ۲-۶ انتقال ژن با مهندسی کروموزومی در گندم

مهندسی کروموزوم راه کاری سودمندی جهت انتقال ژنهای بیگانه از خویشاوندان وحشی متعلق به خزانه‌های ژنی ثانویه و ثالثیه به گیاهان زراعی است [۱۱۰]. سیرز حدود ۵۰ سال قبل با انتقال یک قطعه کروموزومی حامل ژن مقاومت به زنگ برگ از گونه وحشی به نام *Aegilops umbellulata* به یک کروموزوم از گندم نان با استفاده از اشعه ایکس مهندسی کروموزومی در گیاهان را بنا نهاد و بهره برداری از ذخایر وحشی برای اصلاح گندم را تسهیل نمود [۱۱۵]. در مهندسی کروموزومی ابزارهای سیتوژنتیکی مختلفی مثل هیبریداسیون و دستورزی جفت‌شدگی کروموزومی گندم و کروموزوم‌های بیگانه استفاده می‌شود تا کروموزوم‌های بیگانه مطلوب به گندم انتقال یابد. از آنجا که بسیاری از گونه‌های وحشی *Triticum* دارای ژنهای مقاومت به انواع تنش‌ها هستند؛ برای تکمیل نمودن ژنهای مقاومت در گندم زراعی سودمند می‌باشند. برخی گونه‌های وحشی به سختی با گندم زراعی تلاقی می‌یابند. در صورتی که ژن مقاومت در چنین گونه‌ای شناسایی شود، می‌توان با جایگزینی کروموزوم بیگانه با کروموزوم همیولوگ آن در گندم، آن را منتقل نمود. نژادی را که دارای کروموزوم جایگزین شده می‌باشد لاین جایگزین شده بیگانه گویند و ژن انتقال یافته ژن بیگانه نامیده می‌شود. برای اجتناب از انتقال ژنهای ناخواسته همراه ژن مورد نظر، باید قطعات کوچکی از کروموزوم بیگانه منتقل گردد که این کار به فنون ظریف سیتولوژیکی نیازمند است [۷۴]. ژن *Gc* یکی از ژنهایی است که با استفاده از مهندسی کروموزوم از گونه‌های وحشی به گندم انتقال یافته است. کروموزوم‌های حاوی ژنهای *Gc* در گونه‌های ایتیلوپس متفاوتی از جمله در کروموزوم ۳C از *Ae. caudata* L. و ۲C از کروموزوم *Ae. cylindrica* Host، ۴M از *Ae. geniculata* و ۳C از *Ae. triuncialis* L. و ۲S و ۴S از *Ae. longisima* و ۲S و ۴S از *Ae. sharonensis* و ۲S و ۶S از *Ae. speltoides* شناسایی شده‌اند [۱۰۵]. ژن *Gc* از طریق هیبریداسیون بین گونه‌ای و تلاقی برگشتی با گونه ایتیلوپس مربوطه؛ به گندم انتقال داده می‌شود. ماهیت ژنهای *Gc* در گامت‌زائی گیاهان با کروموزوم اضافی بیگانه مونوسومیک آشکار شد. گامت‌های نر و ماده فاقد ژن *Gc* عقیم می‌شوند و در نتیجه گامت‌های حاوی این ژن به نسل بعد منتقل می‌شوند. *Gc* فعال در نر منجر به ایجاد مخلوطی از دانه‌های گرده طبیعی و عقیم می‌شود [۱۵۰].

چرخه شکستگی-اتحاد-پل زمانی اتفاق می‌افتد که انتهای شکسته کروموزوم‌ها به هم پیوسته و تشکیل کروموزوم‌های دو سانترومیری را داده که این چرخه را ادامه می‌دهند. شکستگی کروموزومی حاصل از ژن *Gc* منجر به ایجاد قطعات کروموزومی در مراحل آنافاز و تلوفاز می‌شود. [۱۳۱].

تسوجیموتو و تسونواکی [۱۵۰] گزارش کردند که کروموزوم‌های بیگانه حامل ژنهای کشنده گامت (*Gc*) هستند و باعث ایجاد شکستگی کروموزومی در فراوانی بالا در زمینه ژنتیکی گندم نان می‌شوند. مکانیسم مولکولی شکستگی کروموزومی در اثر ژن‌های *Gc* ناشناخته باقی مانده است اما با این حال بسیاری از محققین فرضیه‌هایی را در این ارتباط ارائه داده‌اند. برخی محققین شکستگی کروموزومی را ناشی از نقص در مکانیسم ترمیم DNA دانسته-

اند که موقعیت مکانی کیاسما را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تئوری دیگری حاکی از نقش ترانسپوزون‌ها در فعالیت ژنهای کشنده گامت بوده است. همچنین شباهت این نظام با نظام برش انحصاری<sup>۱</sup> نیز نظریه دیگری است که مطرح شده است. بدین صورت که آنزیم برش انحصاری در تنظیم ژن GC از طریق متیلاسیون دخالت دارد [۱۳۱]. به هر حال ژنهای GC به طور گسترده‌ای در تولید صدها لاین حذف کروموزومی در گندم استفاده شده‌اند. لاین‌های حاوی حذف کروموزومی برای نقشه‌یابی ژنها و نشانگرهای مولکولی روی کروموزوم‌های گندم بسیار سودمند هستند. همچنین بسیاری از ترانسلوکاسیون‌ها در کروموزوم‌های گندم با استفاده از ژن GC کروموزوم‌های بیگانه به زمینه ژنتیکی گندم اضافه شده است [۱۴۹].

## ۲-۷ سیتوژنتیک

اندکی پس از کشف مجدد قوانین مندل، ساتن و بواری در سال ۱۹۰۳ نظریه کروموزومی را به طور مستقل گزارش کردند. بر اساس این نظریه عوامل ارثی بر روی کروموزوم‌ها قرار دارد. بدین ترتیب سیتوژنتیک<sup>۲</sup> با کشف نظریه وراثت متولد شد. سیتوژنتیک علم هیبریدی است که از ترکیب سیتولوژی که به مطالعه کروموزوم‌ها و سایر اجزای سلولی می‌پردازد و ژنتیک که به مطالعه وراثت اختصاص دارد، ساخته شده است. این علم مشتمل بر مطالعه کروموزوم‌ها از طریق روشهای رنگ‌آمیزی کروموزوم‌ها، فعالیت و حرکت کروموزوم‌ها در طی تقسیم سلولی میتوز و میوز، تعداد و ساختمان کروموزوم‌ها با تجزیه و تحلیل کاریوتیپ و بررسی تغییرات بی‌شمار ساختار و رفتار کروموزوم‌ها مرتبط با نوترکیبی و انتقال و بیان ژن می‌باشد [۱۴۳].

## ۲-۸ کاریوتیپ

سه واژه کاریوتیپ<sup>۳</sup>، کاریوگرام<sup>۴</sup> و آیدیوگرام<sup>۵</sup> برای تعیین مشخصه کروموزوم‌ها استفاده می‌شود. کاریوتیپ تعداد، اندازه و مورفولوژی مجموعه کروموزومی سلول متعلق به یک ژنوتیپ یا گونه است. در رده بندی و طبقه بندی گیاهان و مطالعات ژنتیکی و اصلاحی، آگاهی از مشخصات کروموزوم‌ها از طریق کاریوتیپ برای شناسایی گونه‌ها و تجزیه و تحلیل جوامع هیبرید مفید می‌باشد [۹۶].

کاریوتیپ طول کروموزوم‌ها، موقعیت سانترومرها و الگوی نواریندی و تفاوت‌های بین کروموزوم‌های جنسی و خصوصیات فیزیکی دیگر را مدنظر قرار می‌دهد [۷۸]. اگر چه بیش از صد سال تجزیه و تحلیل کاریوتیپ به طور گسترده در مطالعات فیلوژنتیکی و تکاملی و بررسی تنوع به کار رفته است و با وجود تکنیک‌های مدرن مولکولی، سیتولوژی هنوز ابزار مفیدی در مطالعات رده‌بندی و فیلوژنی و تنوع می‌باشد. مقایسه کاریوتیپ گونه‌های خویشاوند، به منظور شرح الگو و مسیر تکامل کروموزومی درون گروه و پی بردن به نقش تکامل از تغییر و تحول کاریوتیپی استفاده شده است [۱۰۲].

<sup>۱</sup> restriction modification  
<sup>۲</sup> cytogenetic  
<sup>۳</sup> karyotype  
<sup>۴</sup> karyogram  
<sup>۵</sup> idiogram