به نام مهربان پاک

دانشگاه گیلان

دانشکده علوم کشاورزی

گروه بیوتکنولوژی در کشاورزی

بررسی تنوع ژنتیکی کیفیت نانوایی ارقام گندم با استفاده از آغازگرهای اختصاصی

از:

هیرسا مصطفی‌پور کندلوس

استادان راهنما:

دکتر حبیب‌الله سمیع‌زاده لاهیجی

دکتر سیّد حسن حسنی

استاد مشاور:

مهندس سهیلا طالش ساسانی

اسفند ۱۳۸۹

تقدیم به بی‌بدیل‌ترین بهانه‌های هستی‌ام:

پدر مهربانم، که امروز من آرزوی دیروزش بود

مادر عزیزم، مهربانترین فرشته زندگیم و اسوه صبر و شکیبایی

و

یگانه برادرم، بخاطر تمام حمایتهایش

به نام مهربان پاک

اکنون که به پایان این دفتر رسیده‌ام، بر خود لازم می‌دانم از تمامی کسانی که در این مسیر، همواره پشتیبان و هدایتگر اینجانب بوده اند، قدردانی کنم.

نخست از حامیان و همراهان همیشگی زندگی‌ام، پدر و مادر عزیزم و یگانه برادرم، سپاسگزارم.

مراتب تشکر و سپاس خود را از اساتید راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر حبیب الله سمیع زاده لایمجی و جناب آقای دکتر سید حسن حسنی، که در این مقطع تحصیلی و در تمام مراحل انجام پایان نامه، با راهنمایی های خردمندانه و مساعدت های علمی، هدایت و پیشبرد امور را بر عهده داشتند ابراز می‌دارم. از سرکار خانم سهیلا طالش ساسانی به عنوان استادمشاور صمیمانه سپاسگزاری می کنم، از جناب آقای دکتر بابک ربیعی و جناب آقای دکتر علی اعلمی، که به عنوان داور زحمت باز خوانی این پایان نامه را بر عهده داشتند سپاسگزارم. از جناب آقای دکتر محمد مهدی سوهانی، مدیر گروه محترم بیوتکنولوژی، بخاطر راهنمایی هایشان تشکر و قدردانی می کنم. از جناب آقای دکتر محمود قاسم نژاد که مدیریت این جلسه را بر عهده داشتند سپاسگزاری می نمایم.

و در پایان از تمامی کسانی که بودن در کنارشان بر وسعت اندیشه و آگاهی‌ام افزود، سپاسگزارم.

هیرسا مصطفی پور کندلوس

۱۰ اسفند ۱۳۸۹ هجری شمسی

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده فارسی	خ
چکیده انگلیسی	د
مقدمه	۱
فصل اول: کلیات و مروری بر منابع	۵
۱-۱- خاستگاه و تکامل گندم	٦
۱-۲- اهمیت و مصارف گیاه گندم	۸
۱-۳- بررسی وضعیت سطح برداشت، میزان تولید و عملکرد گندم در ایران	۹
۱-٤- طبقه بندی پروتئین‌های ذخیره‌ای	۱۰
۱-۵- پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم و اثرات آنها بر کیفیت نانوایی آن	۱۱
۱-٦- اهمیت گلوتن در گندم	۱۲
۱-۷- ساختار گلوتن	۱۳
۱-۷-۱-گلوتنین	۱٦
۱-۷-۱- ۱- زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS)	۱٦
۱-۷-۱-۲- ژنتیک و پلی‌مورفیسم HMW-GS	۱۸
۱-۷-۱-۳- بیان ژنی	۱۹
۱-۷-۱-٤- ترکیبات اسیدآمینه‌ای و توالی‌های N-Terminal زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا	۲۱
۱-۷-۱-۵- زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین (LMW-GS)	۲۲
۱-۷-۲- گلیادین‌ها	۲۳
.۱-۸- بررسی وضعیت اثر زیرواحدهای مختلف گلوتنین برکیفیت نانوایی گندم	۲۵
۱-۹- نحوه ارزیابی کیفیت و رتبه بندی واریته‌ها	۲٦
۱-۱۰- نقش گلوتن در صنایع پخت	۲۷
۱-۱۱- پیوندهای شیمیایی مؤثر در تشکیل گلوتن و خمیر	۲۷
۱-۱۱-۱- پیوندهای کووالانسی	۲۸
۱-۱۱-۲- پیوندهای یونی یا الکترواستاتیک	۲۹
۱-۱۱-۳- پیوندهای هیدروژنی	۲۹
۱-۱۱-٤- پیوندهای واندروالسی	۳۰
۱-۱۱-۵- پیوندهای هیدروفوبیک (آب گریز)	۳۰
۱-۱۲- قابلیت آبگیری گلوتن	۳۰

۱-۱۳- طبقه‌بندی گلوتن ۳۱
۱-۱٤- استاندارد و طبقه‌بندی کیفی گندم در جهان ۳۲
۱-۱۵- کیفیت گندم‌های ایرانی ۳۳
۱-۱٦- مطالعات انجام شده در مورد الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه گندم ۳٤
۱-۱۷- کاربرد نشانگرهای مولکولی در برنامه‌های اصلاحی غلات ۳٦
۱-۱۸- استفاده از تکنولوژی نشانگرهایDNA ۳۷
۱-۱۹- نشانگرهای مبتنی بر نقاط نشانمند از ردیف (STS) ۳۹
۱-۲۰- مطالعات انجام شده در مورد ژن‌های زیرواحدهای گلوتنین ۳۹
۱-۲۱- استفاده از نشانگرهای مولکولی برای بررسی تنوع ژنتیکی گندم ٤۲
۱-۲۲- مروری بر روش‌های آماری مورد استفاده ٤۳
۱-۲۲-۱- روش‌های گروه‌بندی داده‌ها ٤۳
۱-۲۲-۱-۱- تجزیه خوشه‌ای ٤٤
۱-۲۲-۱-۲- تجزیه تابع تشخیص ٤٤
۱-۲۲-۱-۳- تجزیه به مختصات اصلی ٤٤
فصل دوم- مواد و روش‌ها **٤٦**
۲-۱- مواد گیاهی ٤۷
۲-۲- استخراج DNA ۵۰
۲-۲-۱- تعیین کیفیت و کمیت نمونه‌های DNA ۵۱
۲-۲-۲- اتیدیوم برماید ۵۱
۲-۳- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۵۲
۲-٤- الکتروفورز فرآورده‌های PCR ۵۷
۲-۵- تجزیه و تحلیل داده‌ها و محاسبات آماری ۵۷
۲-۵-۱- امتیازدهی نوارهای الکتروفورزی ۵۷
۲-۵-۲- محاسبه ماتریس تشابه ۵۷
۲-۵-۳-گروه‌بندی ارقام ۵۸
۲-۵-٤- ضریب **همبستگی** کوفنتیک ۵۸
۲-۵-۵- تجزیه تابع تشخیص ۵۸
۲-۵-٦- تجزیه به مختصات اصلی ۵۸
۲-٦- بررسی سودمندی آغازگرها و معیارهای تنوع ۵۹
۲-٦-۱- محتوای اطلاعات چندشکلی ۵۹
۲-٦-۲- تعداد آلل‌های مؤثر ۵۹

۲-٦-۳- شاخص شانون ٦٠
۲-٦-٤- هتروزیگوسیتی مورد انتظار برای یک جایگاه (تنوع ژنتیکی Nei) ٦٠
فصل سوم- نتایج و بحث ٦١
۳-۱- نتایج استخراج DNA ٦٢
۳-۲- بررسی نتایج حاصل از PCR ٦٣
۳-۲-۱- مکان ژنی Glu-A1 ..... ٦٣
۳-۲-۲- مکان ژنی Glu-B1 ..... ٦٤
۳-۲-۳- مکان ژنی Glu-D1 ..... ٦٤
۳-۳- تجزیه داده‌ها و محاسبات آماری ٧٢
۳-۳-۱- محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) ٧٢
۳-۳-۲- تنوع ژنتیکی نی ٧٢
۳-۳-۳- تجزیه خوشه‌ای ٧٤
۳-۳-٤- تجزیه تابع تشخیص ٧٦
۳-۳-٥- تجزیه به مختصات اصلی ٧٧
۳-٤- نتیجه گیری کلی ٨٢
۳-٥- پیشنهادات ٨٣
منابع ٨٤
ضمائم ٩٣

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- اجزاء اصلی یک دانه گندم..... ۸
جدول ۱-۲- رتبه‌های کیفیت که به اجزاء دارنده وزن مولکولی بالا درگلوتنین اختصاص داده شده است..... ۲۶
جدول ۲-۱- اسامی ارقام مورد استفاده و تیپ (نوع) آنها..... ۴۷
جدول ۲-۲- ترکیبات و مقادیر مورد نیاز برای انجام واکنش PCR..... ۵۳
جدول ۲-۳- برنامه حرارتی PCR برای آغازگرهای G1 و G2..... ۵۴
جدول ۲-۴- برنامه حرارتی PCR برای سایر آغازگرها..... ۵۵
جدول ۲-۵- آغازگرهای اختصاصی مورد استفاده در این آزمایش..... ۵۶
جدول ۳-۱- آلل‌های موجود در مکان ژنی Glu-1 در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه..... ۶۸
جدول ۳-۲- الگوی نواربندی الکتروفورزی، امتیاز کیفیت نانوایی ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه..... ۷۰
جدول ۳-۳- محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها در ژنوتیپ‌های گندم نان مورد مطالعه..... ۷۲
جدول ۳-۴- تعداد کل آلل‌ها، تعداد آلل مؤثر، شاخص نی و شاخص شانون آغازگرها در ژنوتیپ‌های گندم نان مورد مطالعه..... ۷۳
جدول ۳-۵- مقادیر ویژه، درصد و واریانس تجمعی هفت مؤلفه اول در تجزیه به مختصات اصلی..... ۷۸
جدول ۳-۶- بردار ویژه برای هفت مؤلفه اصلی..... ۸۰

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل۳ -۱- الکتروفورز نمونه DNA استخراج شده در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه..... ٦٢
شکل ۳-۲- نوارهای الکتروفورزی مربوط به مکان ژنی Axnull و Ax1+Ax2* در تعدادی از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه..... ٦٦
شکل ۳-۳- نوارهای الکتروفورز مربوط به مکان ژنی Dx5 در تعدادی از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه..... ٦٧
شکل ۳-٤- دندروگرام حاصل از روش UPGMA برای گروه‌بندی ۳۷ رقم گندم نان هگزاپلوئید..... ٧٤
شکل ۳-۵- نمودار پراکنش دوبعدی حاصل از تجزیه تابع تشخیص..... ٧٧
شکل ۳-٦- نمودار دوگانه برای عامل‌های اول و دوم حاصل از تجزیه به مختصات اصلی..... ٨١

چکیده

بررسی تنوع ژنتیکی کیفیت نانوایی ارقام گندم با استفاده از آغازگرهای اختصاصی

هیرسا مصطفی‌پور کندلوس

جهت تعیین تنوع ژنتیکی تعدادی از لاین‌ها و ارقام گندم نان از نظر ژن‌های کنترل کننده زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW-GS)، ۳۷ رقم گندم هگزاپلوئید، از نظر شش جفت آغازگر اختصاصی برای مکان‌های ژنی Glu-A1، Glu-B1، Glu-D1 استفاده شد. برای تفکیک محصولات واکنش PCR از ژل آگارز دو درصد استفاده شد. ارقام گندم با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای همبستگی متوسط و بر مبنای ضریب تطابق ساده، در ۱۰ گروه قرار گرفتند. روش همبستگی متوسط به‌خوبی توانست ارقام دارای آلل‌های مشترک را در یک گروه قرار دهد. ارقام نیک‌نژاد، شیرودی، تجن، اترک، نوید، ۱۱۱۹۹ دارای ترکیب آللی مناسب (Dx5+Dy10، Bx7، Ax1+Ax2*) از نظر ژن‌های کنترل کننده کیفیت نانوایی بودند. بالاترین محتوای اطلاعات چندشکلی در ارقام مورد مطالعه مربوط به آغازگر Ax1+Ax2* (برابر با ۰/۴۹۱) و کمترین آنها مربوط به آغازگر Dy12 (برابر با ۰/۳۶۸) بود.

واژه‌های کلیدی: AS-PCR، گندم هگزاپلوئید، زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا، کیفیت نانوایی، تنوع ژنتیکی.

Abstract

The study on genetic variation of wheat bread making quality using specific primers

Hirsa Mostafapour Kandelous

To investigation of the genetic variation among some hexaploid bread wheat lines and cultivars based on polymorphism of genes encoding high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS), the 37 hexaploid wheat cultivars were analysed with six paires of specific primers. The PCR products were separated on 2% agarose gel.The cluster analysis were done based on UPGMA on similarity matrix obtained from simple-matching procedure. The result of the investigation showed that the cultivars Nichnejad, Shiroudi, Tajan, Atrak, Navid, 11199 had the appropriate combination of the allelic genes (Dx5+Dy10,Bx7, Ax1+Ax2*) in terms of bread making quality genes. The highest polymorphism information content was related to primer Ax1+Ax2* with an quantity 0/491, and the least of them was related to primer Dy12 with an quantity 0/368.

Key words: AS-PCR, Hexaplod wheat, High Molecular Weight Glutenin Subunits, Bread-making quality, Genetic variation.

مقدمه

از زمان‌های قدیم بشر متوجه بذر علف‌های گندمیانی شد که دارای ذخیره غذایی و مواد آردینه‌ای بودند. در همان زمان بشر با فکر و ایده انتخاب بهترین وسیله امرار معاش اقدام به کشت و زرع نباتاتی نظیر برنج و ارزن وحشی در مناطق گرم، گندم و جو وحشی برای نواحی با گرمای کمتر، و پس از چندی چاودار و یولاف علوفه‌ای یا جو دوسر برای مناطق با آب و هوای نسبتاً سرد نمود. تا اواسط قرن نوزدهم تحول مهمی در زراعت گندم ایجاد نشده بود و اصولاً زراعت گندم به‌کندی تکامل یافته است. در اوایل قرن بیستم دانشمندان علاقمند از کشورهای مختلف از جمله روسیه، آلمان، سوئد، ایالات متحده آمریکا و ژاپن در صدد مطالعه نباتات مناطق مختلف جهان و انتخاب واریته‌هایی که دارای ارزش مناسب، بازدهی کافی و کیفیت لازم بودند، برآمدند تا آنجا که با استفاده از علم ژنتیک و اصلاح نباتات، به تهیه گونه‌هایی از گندم پرمحصول و مقاوم نایل آمدند [علی اکبر نیا وآذرباد، ۱۳۸۵] . پروتئین‌های ذخیره‌ای گیاهان، مخصوصاً پروتئین‌های ذخیره‌ای گندم، منبع اصلی پروتئین و کربوهیدرت موردنیاز مردم جهان را تأمین می‌کنند [پاین[1]، ۱۹۸۷] . گندم مهمترین غله در جهان است. به علت راندمان زیاد تولید و نیز امکان کشت آن در اکثر نقاط جهان و همچنین قابلیت پخت و خواص منحصربفرد تغذیه‌ای و صنعتی و کیفیت فوق‌العاده گلوتن، هیچ غله‌ای نمی‌تواند با آن رقابت نماید [علی اکبر نیا وآذرباد، ۱۳۸۵]. گندم در اغلب نواحی جهان کشت می‌شود. بطور کلی این گیاه از عرض جغرافیایی حدود ٦۰ درجه شمالی در شمال اروپا تا ٤۰ درجه جنوبی در آمریکای جنوبی، در مناطقی با ارتفاع چند متر، تا بیش از ۳۰۰۰ متر بالای سطح دریا کشت می‌شود [کافی و همکاران، ۱۳۸٦].

بخش اعظم جامعه ایرانی، در الگوی غذایی خویش، نان را به عنوان یک جزء ثابت و مهم تلقی می‌کنند، تلاش به‌نژادگران بر روی شناسایی و معرفی ارقام با کیفیت متوسط و قوی در گندم‌های نان متمرکز شده است [سعیدی، ۱۳۷۷]. تقریباً در همه برنامه های اصلاحی، کیفیت از اولویت بالایی برخوردار است. خصوصیات کیفی گندم بی‌شمار و پیچیده است. اهداف اصلاحی کیفیت معمولاً در جهت نیل به استاندارد قابل قبول تجاری است و ارقام جدید بایستی از حداقل معیارهای کیفی آسیاب و آرد برخوردار باشند. کیفیت پروتئین یکی از خصوصیات کیفی مورد توجه در اصلاح گندم است، که بر ارزش نانوائی تأثیر می‌گذارد بنابراین لازم است، متخصصین اصلاح نباتات از جنبه های مختلف کیفیت که یک واریته را از نظر ارزش نانوائی مطلوب یا نامطلوب می-سازد آگاهی داشته باشند [عبدمیشانی و شاه نجات بوشهری، ۱۳۷۷] کیفیت نهایی نان معمولاً از طریق آزمایش استاندارد پخت تعیین می‌شود که به وقت و هزینه نسبتاً زیادی نیاز دارد. ارزش نانوائی گندم از طریق آزمایش‌ها و اندازه‌گیریهای مختلفی تعیین می‌شود که هر یک تحت تأثیر عوامل محیطی نتایج متفاوتی در مقایسه ارقام بدست می‌دهند، بطوریکه ممکن است رقم واحدی

[1]. Payne

طی سالهای مختلف و یا در مناطق متفاوت و حتی با مختصر تغییری در شرایط تولید به‌نحو متفاوتی ارزیابی شود. از این‌رو جستجو برای عامل ذاتی و باثبات در تعیین ارزش نانوائی گندم ضروری بوده است [گرامی، ۱۳۷۲]. با وجود آنکه کیفیت در گندم هگزاپلوئید یک صفت بسیار پیچیده است، مشخص شده است که پروتئین‌های گلوتن غیرقابل حل در آب، مسئول کشسانی[۲] و استحکام خمیر هستند و بنابراین عامل تعیین کننده مهمی در کیفیت نانوایی به‌شمار می‌روند. خمیرهایی با کشسانی بالا و قابلیت گسترش‌پذیری[۳] مناسب ، برای پخت نان، خمیرهایی با گسترش‌پذیری بسیار بالا، برای شیرینی و کیک و خمیرهایی با ویژگیهایی در سطح متوسط برای تهیه نان‌های نازک در خاورمیانه وشبه‌قاره هند، یا برای نودل در خاور دور مناسب هستند [احمد[۴]، ۲۰۰۰]. کیفیت نانوائی هدف مهمی برای پیشرفت برنامه اصلاح گندم است، و گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا نقش کلیدی را برای این صفت بازی می‌کنند [وانوس و همکاران[۵]، ۲۰۰۳]. ترکیب زیرواحدهای گلوتنین، به تنهایی ممکن است ۶۰-۴۷ درصد، تفاوت در کیفیت نانوایی ارقام را توجیه کند. زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا، بدلیل تـأثیرشان، بر کیفیت محصول نهایی، برای انتخاب واریته‌های مناسب در بیشتر برنامه‌های اصلاحی گندم، مورد توجه قرار می‌گیرند [لیو و همکاران[۶]، ۲۰۰۸]. ارزش نانوائی ارتباط مستقیم با استحکام گلوتن دارد و این صفت به "انواع پروتئین" و نه "مقدار پروتئین" وابسته است [گرامی، ۱۳۷۲; عبدمیشانی و شاه نجات بوشهری، ۱۳۷۷]. بر اساس نتایج مختلف، مشخص شده است که تغییر در مقدار زیرواحدهای با وزن مولکولی بالا، با کیفیت نانوایی مرتبط است و تغییر در زیرواحدهای سیستئین، هدف مهمی در بهبود کیفیت دانه گندم به شمار می‌رود. بنابراین شناخت ساختار، ویژگی‌های عملکردی و بیوفیزیکی و مکانیسم بیولوژیکی این پروتئین‌ها برای حمایت از تلاش-های آینده بمنظور، بهبود کیفیت استفاده نهایی دانه گندم، بوسیله مهندسی ژنتیک، مهم است [محمد انجوم و همکاران[۷]، ۲۰۰۷]. گندم معمولی نان نوعی آلوهگزاپلوئید (2n=6x=42) است که از سه ژنومA ، B و D (هر ژنوم شامل هفت جفت کروموزوم) تشکیل شده و هر ژنوم از یک گونه دیپلوئید اجدادی مشتق شده است. این سه گونه دیپلوئید به‌نوبه خود از دیپلوئید واحدی ناشی شده‌اند. این اشتراک در اصل سبب گردیده است تا هر ژنوم دارای ژن‌هایی تقریباً مشابه با ژن‌های دیگر باشد، که این امر باعث ایجاد زمینه مناسب برای تحقیقات ژنتیکی به‌منظور تعیین محل ژن‌های کنترل کننده اجزاء گلوتنین، می‌شود [گرامی، ۱۳۷۲]. در برنامه های اصلاحی و گروهبندی ذخایر ژنتیکی گندم، از نشانگرهای مختلف مورفولوژیکی، پروتئینی و دی اِن آ استفاده شده

[2] . Elasticity
[3] . Extensibility
[4] . Ahmad
[5] . Wanous *et al.*
[6] . Liu *et al.*
[7] . Mohammad Anjum *et al.*

است [آکایا و همکاران[8]، ۱۹۹۲; ما و همکاران[9]، ۱۹۹٦; فهیما و همکاران[10]، ۱۹۹۸; پراساد و همکاران[11]، ۲۰۰۰]. استفاده از SDS-PAGE برای تفکیک زیرواحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا بازده بالایی ندارد [لیو و همکاران، ۲۰۰۸]. نشانگرهای مورفولوژیکی و پروتئینی بخاطر میزان چندشکلی کمتر نسبت به نشانگرهای دی اِن آ، کاربرد کمتری در طبقه بندی گیاهی دارند [گوپتا و همکاران[12]، ۲۰۰۲]. در حالی‌که نشانگرهای دی اِن آ معمولاً علاوه بر نواحی کدکننده، تفاوت های بین ردیف های غیر-کدکننده، و توالی‌های حاشیه‌ای ژنوم را آشکار می‌سازند. از طرف دیگر نشانگرهای دی اِن آ مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تسهیلاتی را در مطالعات پایه‌ای و کاربردی بیولوژی مولکولی فراهم کرده‌اند [پاول و همکاران[13]، ۱۹۹٦; گوپتا و همکاران، ۲۰۰۲]. آگاهی از تنوع ژنتیکی، نقش مهمی در حفاظت و اصلاح گیاهان زراعی دارد [وانوس و همکاران[14]، ۲۰۰۳]. وجود تنوع ژنتیکی در گندم، نیاز اولیه هر برنامه اصلاحی، با هدف بهبود حاصلخیزی گندم است. اصلاح گندم از طریق دورگه‌گیری، نیاز به انتخاب ژنوتیپ‌های متفاوت دارد، بدون توجه به‌اینکه محصول نهایی یک لاین خالص یا یک واریته هیبرید است. در این رابطه، تلاش‌های زیادی برای پیش‌بینی احتمال ایجاد ژنوتیپ‌های برتر از یک تلاقی بوسیله اندازه‌گیری شباهت ژنتیکی[15] (GS) یا فاصله ژنتیکی[16] (GD) انجام شده است، چون مورد آخر می‌تواند برای ارزیابی واریانس ژنتیکی موردانتظار در مجموعه‌های مختلف فرزندان بدست آمده از تلاقی‌های مختلف، استفاده شود [بورخامر و همکاران[17]، ۱۹۹۸; بوهن و همکاران[18]، ۱۹۹۹]. با عنایت به این امر، مطالعه حاضر با هدف تعیین تنوع ژنتیکی ۳۷ رقم گندم نان از نظر نشانگر اختصاصی همبسته با ژن‌های کنترل کننده کیفیت نانوایی گندم انجام شده است.

---

8 . Akkaya *et al.*
9 . Ma *et al.*
10 . Fahima *et al.*
11 . Prasad *et al.*
12 . Gupta *et al.*
13 . Powel *et al.*
14 . Wanous *et al.*
15 . Genetic similarity
16 . Genetic distance
17 . Burkhamer *et al*
18 . Bohn *et al.*

فصل اول

کلیات و مروری بر منابع

۱-۱- خاستگاه و تکامل گندم

گندم (*Triticum* spp) گیاهی است یکساله، خود گرده افشان و متعلق به خانواده *Poeceae*، زیرخانواده *Triticeae* و جنس *Triticum* [سرامکوا و همکاران[1]، ۲۰۰۹]. گندم یکی از مهمترین غلاتی است که بصورت غذا در سرتاسر جهان استفاده می‌شود. همه گونه‌های کشت شده گندم به جنس *Triticum* تعلق دارند و به گروه‌های اینکورن[2]، امر[3] و دینکل[4] تقسیم می‌شوند. گندم‌های اینکورن دارای تعداد کروموزوم پایه دیپلوئید 2n=14 و دهنده ژنوم A به *Triticum* هستند. گندم‌های امر، آلوتتراپلوئید (ژنوم AABB : 2N=28) هستند و گندم‌های دینکل(AABBDD) آلوهگزاپلوئید (با تعداد کروموزوم 2n=42). هستند. گندم نان امروزی (*Triticum aestivum* L.) به گونه دینکل تعلق دارد [سام و همکاران[5]، ۲۰۰۱]. گندم هگزاپلوئید (*Triticum aestivum* L.) دارای ژنوم بزرگی است که دارای 1.6×10^{10} جفت باز، از DNA است [هانگ و کلوتیر[6]، ۲۰۰۷]. خاستگاه دقیق گیاه گندم، بصورت امروزی هنوز شناخته نشده است. گندم از گیاهان وحشی، احتمالاً در جایی در خاور نزدیک، تکامل یافته است [وزارت بهداشت استرالیا- دفتر تنظیم فن‌آوری ژن[7]، ۲۰۰۵]. مبدأ پیدایش گونه‌های *Triticum* جنوب غربی آسیا است. مرکز جغرافیایی گندم‌های دیپلوئید و تتراپلوئید، که "هلال اخضر"[8] نام دارد، از سواحل شمال شرقی دریای مدیترانه و قسمت جنوبی آسیای صغیر[9] تا جلگه رود فرات امتداد دارد .شواهد ژنتیکی نشان دادند که گندم نان از طریق دورگه‌گیری بین توده‌ای *T. turgidum ssp. dicoccum* و *A. tauschii ssp. Strangulate* که در کشور ارمنستان و ناحیه سواحل جنوب غربی دریای کاسپین اتفاق افتاد، به وجود آمده است [سام و همکاران[10]، ۲۰۰۱]. کاوش‌های باستان شناسی اخیر نشان داده است که، گونه‌های گندم وحشی از حدود ۱۵۰۰۰ سال پیش از میلاد در مصر و بین‌النهرین می‌روییده است

1 . Sramkova *et al*
2 . einkorn
3 . emmer
4 . dinkel
5 . Hsam *et al.*
6 . Hang and Cloutier
7 . Department of Health and Ageing Ofiice of the Gene Technology Regulator
8 . fertile crescent
9 . Anatolia
10 . Hsam *et al.*

[پایان، ۱۳۸۵]. گندم نان یک هگزاپلوئید (6x) قطعه‌ای[1] است، که معمولاً در طی میوز، تشکیل ۲۱ جفت کروموزوم (2n=42) را می‌دهد. این کروموزوم‌ها به سه گروه کروموزومی هومیولوگ[2]، A, B, D تقسیم می-شوند. هریک از این گروه‌های هومیولوگ، به‌طورطبیعی دارای هفت جفت کروموزوم هستند. سیرز[3] [۱۹٦٦] ثابت کرد که، هر کروموزوم در گندم هگزاپلوئید، دارای یک هومیولوگ در هر یک از دو ژنوم دیگر است. این همولوژی در گندم هگزاپلوئید و تتراپلوئید (AABB)، باعث ایجاد و بقای تعدادی از ناهنجاری‌های کروموزومی (آنیوپلوئیدی) می‌شود که در گونه‌های دیپلوئید مانند جو و ذرت نمی‌تواند باقی بماند. یک جنبه مهم آنیوپلوئیدی گندم، مطالعه اصول تکاملی گندم نان است. امروزه فرض می‌شود که، گندم هگزاپلوئید، نتیجه دو هیبریداسیون است. در هیبریداسیون اول، اجداد ژنوم A با اجداد ژنوم B برای تشکیل گندم تتراپلوئید (2n=28,AABB) اولیه ترکیب شدند. این هیبریداسیون در سیتوپلاسم ژنوم B اتفاق افتاد. دومین هیبریداسیون، بین گونه تتراپلوئید (AABB) و اجداد ژنومD [کیمبر و سیرز[4]، ۱۹۸۷] برای تشکیل حالت پایه هگزاپلوئید، AABBDD ، مجدداً در سیتوپلاسم ژنوم B [سونواکی[5]، ۱۹۸۸] اتفاق افتاد. مشخص شده است که اجداد ژنوم A گونه، *Triticum boeticum* L. (مترادف‌های آن شامل، *T. urartu, T. monococcum, T. thaoudar* می‌باشد)، و اجداد ژنوم D، گونه *Triticum tauschii* (*Aegilops squarossa*) است. دهنده ژنوم B ناشناخته باقی مانده است. پیشنهاد شده است که، *T. speltoides, T. longissimum, T. searsii* ممکن است از اجداد ژنوم B باشند. نت و همکاران[6] [۱۹۸۳] نتیجه گرفتند که *T. searsii* می‌تواند منبع احتمالی ژنوم B باشد [وزارت بهداشت استرالیا- دفتر تنظیم فن‌آوری ژن، ۲۰۰۵].

[1] . Segmental
[2] . Homoeologous
[3] . Sears
[4] . Kimber and Sears
[5] . Tsunewaki
[6] . Nath *et al.*

۱-۲- اهمیت و مصارف گیاه گندم

گندم مهمترین منبع غلات برای غذای بشر است که بصورت‌های مختلفی مصرف می شود [لیو و همکاران، ۲۰۰۸]. به علت راندمان زیاد و نیز امکان کشت آن در اکثر نقاط جهان و همچنین قابلیت پخت و خواص منحصربفرد تغذیه‌ای و صنعتی و کیفیت فوق‌العاده گلوتن، هیچ غله‌ای نمی‌تواند با آن رقابت نماید [علی‌اکبرنیا و آذرباد، ۱۳۸۵] .گندم منبع اصلی انرژی، پروتئین و فیبر غدایی در تغذیه بشر است و بیشترین سطح کشت را در جهان به خود اختصاص می‌دهد [محمد انجوم و همکاران، ۲۰۰۷]. گندم در مقایسه با غلات دیگر، دارای موقعیت منحصر بفردی است، زیرا فقط آرد گندم توانایی تبدیل شدن به خمیری را دارد که، ویژگیهای رئولوژیک موردنیاز برای تولید نان ورآمده را داراست [گیانی بلی و همکاران[1]، ۲۰۰۱]. دانه رسیده گندم دارای ۸ تا ۲۰ درصد پروتئین است [محمد انجوم و همکاران، ۲۰۰۷].

جدول ۱-۱- اجزاء اصلی یک دانه گندم [کافی و همکاران، ۱۳۸٦]

اجزاء	میزان (٪)
کربوهیدرات	۷۰
پروتئین	۱۲
آب	۱۲
لیپیدها	۲
ویتامین‌ها و عناصر معدنی	۲
فیبر خام	۲

[1] . Gianibelli *et al.*

حدود ٦٥ درصد از دانه گندم بصورت مستقیم، بعنوان غذای بشر مورد استفاده قرار می گیرد که نشان دهنده پذیرش آن بعنوان ماده اصلی غذایی است ، ۲۱درصد از آن بعنوان خوراک دام، هشت درصد بصورت دانه و شش درصد برای مصارف دیگر، مانند ماده خام تجاری استفاده می شود. گندم به صورتهای مختلفی مانند چاپاتی، نان، نودل، ماکارونی، اسپاگتی، کیک، پیتزا و دونات مصرف می شود [محمد انجوم و همکاران، ۲۰۰۷]. علاوه بر این گندم در تغذیه دام و طیور مورد استفاده قرار می‌گیرد و می‌توان از آن نشاسته، گلوکز مایع، گلوتن و الکل نیز تهیه نمود [علی‌اکبرنیا و آذرباد، ۱۳۸۵] حدود ۹۵ درصد از گندمی که امروزه کشت می‌شود هگزاپلوئید است، که برای تهیه نان و سایر فرآورده‌ها استفاده می‌شود [بی بی و همکاران[1]، ۲۰۰۹].

۱-۳- بررسی وضعیت سطح برداشت، میزان تولید و عملکرد گندم در ایران

سطح برداشت شده گندم کشور در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ حدود ٦/٦٥ میلیون هکتار برآورد شد، که ٣٦//٧٥ درصد آن آبی و ٦٣//٢٥ درصد باقیمانده بصورت دیم بوده است. استان خراسان رضوی با ۹/۲۱ درصد از کل اراضی برداشت شده گندم کشور، بیشترین سطح را به خود اختصاص داده است. پس از آن استان های کردستان، فارس، همدان، آذربایجان شرقی، زنجان و کرمانشاه به ترتیب با ۸/۲۷، ٦/٩١، ٦/٧٥، ٦/٦١، ٦/٦٠، ٦/٤٠، درصد از کل اراضی گندم کشور مقام های دوم تا هفتم را به خود اختصاص داده اند، به عبارت دیگر بیش از نیمی از(٥٠/٧٦ درصد) اراضی گندم در این هفت استان برداشت شده است. کمترین سطح نیز با حدود هشت هزار هکتار (۰/۱۲ درصد اراضی گندم) متعلق به استان گیلان می باشد [دفتر آمار و فن‌آوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی، ۸۸-۱۳۸۷].

میزان تولید گندم کشور حدود ۱۳/٤٨ میلیون تن برآورد شده است که ٦٦/٥٤ درصد آن از کشت آبی و مابقی (٣٣/٤٦ درصد) از کشت دیم بدست آمده است. استان فارس علیرغم رتبه سوم از نظر سطح برداشت، با تولید ۱۰/۳٦ درصد از گندم کشور در جایگاه نخست تولیدکنندکان این محصول قرار گرفته است و استان های خوزستان، خراسان رضوی، گلستان، کرمانشاه، همدان و آدربایجان غربی به ترتیب با ۸/۷٥، ۸/۳٦، ۸/۱۷، ٦/۱۱، ٥/٦٩، ٥/٤٣ درصد از تولید گندم کشور در مقام های دوم تا هفتم قرار دارند. شایان ذکر است که ٥٢/٨٧ درصد

[1] . Bibi *et al*.