

مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۷، شماره ۴، سال ۱۳۹۰

تعیین مکان کروموزومی و رابطه بین شاخص‌های مزرعه‌ای و آزمایشگاهی تحمل به خشکی در لاین‌های دارای دو کروموزوم اضافی گندم- جو

Chromosomal Localization and Relationship Between Field and Laboratory Indices of Drought Tolerance in Wheat-Barley Disomic Addition Lines

عزت‌الله فرشادفر^۱، مجید قیطولی^۲، رضا حق پرست^۳، آنتینا یاقوتی پور^۱ و
مصطفی آقائی سربرزه^۴

- ۱- به ترتیب استاد و مربی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه
- ۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه
- ۳- دانشیار، معاونت موسسه تحقیقات کشاورزی دیم، سرارود، کرمانشاه
- ۴- دانشیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۴/۳۰

چکیده

فرشادفر، ع.، قیطولی، م.، حق پرست، ر.، یاقوتی پور، آ.، آقائی سربرزه، م. ۱۳۹۰. تعیین مکان کروموزومی و رابطه بین شاخص‌های مزرعه‌ای و آزمایشگاهی تحمل به خشکی در لاین‌های دارای دو کروموزوم اضافی گندم- جو. *مجله به‌نژادی نهال و بذر* ۱-۲۷: ۶۱۳-۶۰۱.

به منظور تعیین مکان کروموزومی ژن‌های کنترل‌کننده تحمل به خشکی در جو و رابطه بین شاخص‌های مزرعه‌ای و آزمایشگاهی تحمل به خشکی آزمایشی در سال زراعی ۱۳۸۳-در ایستگاه سرارود، کرمانشاه انجام شد. لاین‌های دارای دو کروموزوم اضافی گندم- جو (*Ch.s\Barley*) که از مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ایکاردا) با ترکیب کروموزومی $(2n=42+2)$ و علائم اختصاری ۱H، ۲H، ۳H، ۴H، ۵H، ۶H و ۷H (به ترتیب کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷) جو، به همراه والددهنده که در این پژوهش جو رقم *(Hordeum vulgare L. Betzes)* با ترکیب کروموزومی $(2n=2x=14)$ و والد گیرنده با گندم بهاره چینی *(Chinese Spring)* با ترکیب کروموزومی $(2n=6x=42)$ به همراه رقم گندم نان سرداری و جو سرارود-۱ به عنوان شاهد در سه تکرار با استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه و طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری را برای شاخص جوانه‌زنی (PI)، طول ریشه (RL)، طول کولئوپتیل (CL)، عملکرد در شرایط بدون تنش (Yp) و عملکرد در شرایط تنش (Ys) نشان داد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اکثر مکان‌های ژنی کنترل‌کننده تحمل به خشکی بر روی کروموزوم‌های ۴H و ۵H قرار گرفته‌اند. ارتباط بین شاخص‌های مزرعه‌ای (STI) و آزمایشگاهی (GSI) تحمل به خشکی مشخص کرد که GSI را می‌توان به عنوان یک شاخص انتخاب سریع تحمل به خشکی به کار برد. نتایج حاصل از نمودار سه بعدی و تجزیه کلاستر نیز این احتمال را که بیشتر مکان‌های ژنی کنترل‌کننده تحمل به خشکی در جو بر روی کروموزوم‌های ۴H و ۵H قرار گرفته‌اند تایید کرد.

واژه‌های کلیدی: لاین‌های دارای دو کروموزوم اضافی، کولئوپتیل، شاخص جوانه‌زنی.

مقدمه

به خشکی مستلزم شناسایی ژن‌های مقاومت در منابع ژنتیکی مختلف است. مطالعه سری کامل لاین‌های افزایشی دیزومیک در شناسایی کروموزوم‌های حامل ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی مختلف اثر مهمی دارد.

لاین‌های دارای دو کروموزوم اضافی، از افزوده شدن یک جفت کروموزوم هومولوگ از یک گونه خویشاوند به زمینه ژنتیکی گونه گیرنده به دست می‌آیند (Ellis et al., 2000). لاین‌های افزایشی دیزومیک که حامل یک جفت کروموزوم از گونه‌های خویشاوند به زمینه ژنتیکی گونه گیرنده هستند، می‌توانند به منظور تعیین کروموزوم‌های بیگانه که حامل ژن‌های کنترل‌کننده نشانگرهای مقاومت به خشکی هستند مورد استفاده قرار گیرند (Mahmood and Quarrie, 1993). بیشتر مطالعاتی که اخیراً انجام شده است (Knott, 1987; Gale and Miller, 1987; Jiang et al., 1994; Islam et al., 1991; Sharma and Gill, 1983; Mohammadi, 1999). بر اساس انتقال ژن‌های بیگانه و به منظور اصلاح برای مقاومت به تنش‌های زیستی (آفات و بیماری‌ها) در رقم‌های گندم بوده است. این در حالی است که تحقیقات و مطالعات اندکی در مورد انتقال کروموزوم‌ها یا ژن‌های بیگانه به گندم به منظور اصلاح مقاومت به تنش‌های غیر زیستی (خشکی، سرما و شوری) انجام شده است. دانش ما برای کنترل ژنتیکی صفات مرتبط با خشکی کافی نبوده و لذا نمی‌توان از

گیاهان زراعی در طول دوره رشد رویشی خود همواره با تنش‌های محیطی متعددی نظیر خشکی روبرو هستند که این تنش در بخش قابل توجهی از اراضی دنیا اتفاق می‌افتد (Mittier, 2002).

مطالعات زیادی در مورد مقاومت به خشکی انجام شده است اما پیشرفت چندانی به دست نیامده است زیرا مقاومت به خشکی یک صفت کمی است که تحت کنترل چند ژن است (Shao et al., 2005). در حال حاضر شاخص مطلوب و نهایی مقاومت به خشکی در برنامه‌های به‌نژادی ارزیابی عملکرد دانه در شرایط نرمال و تنش است. در صورتی که اساس فیزیولوژیکی مقاومت به خشکی شناخته شود و به‌نژادگران بتوانند از آن به عنوان یک ابزار گزینشی در جمعیت‌های بزرگ در حال تفرق استفاده کنند به فرایند اصلاح گیاهان کمک بسیار خواهد شد. یک راه برای جستجوی چنین ابزار فیزیولوژیکی مقایسه ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به خشکی در یک گونه گیاهی است (Winter et al., 1988). متخصصین اصلاح نباتات علاوه بر تولید ارقام پر محصول و با کیفیت از نظر ارزش غذایی، به دنبال اصلاح گیاهانی هستند که بتوانند در مقابل فشارها و تنش‌های محیطی سازگاری خوبی را نشان دهند. جو از غلاتی است که برنامه‌های به‌نژادی در جهت افزایش تحمل به خشکی آن اهمیت زیادی دارد. تولید ارقام دارای تحمل قابل قبول

تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های در دست بررسی را تعیین کرد (Ellis et al., 2000؛ Gale and Miller, 1987؛ Qaitoli, 2006؛ Mahmood and Quarrie, 1993).

هدف از این پژوهش تعیین ارتباط بین شاخص‌های آزمایشگاهی و مزرعه‌ای تحمل به خشکی و تعیین مکان کروموزومی ژن‌های مرتبط با شاخص‌های آزمایشگاهی و مزرعه‌ای تحمل به خشکی با استفاده از لاین‌های دارای دو کروموزوم اضافی گندم- جو بود.

مواد و روش‌ها

برای تعیین مکان کروموزومی ژن‌های کنترل‌کننده شاخص‌های آزمایشگاهی و مزرعه‌ای مربوط به تحمل خشکی و همچنین مشخص کردن ارتباط بین شاخص‌های فیزیولوژیکی و زراعی تحمل به خشکی، ۹ ژنوتیپ شامل هفت لاین دارای دو کروموزوم اضافی جو (*Hordeum vulgare*, $2n=2x=14$) (cv. Betzes AABDD *Triticum aestivum* cv. Chines spring) همراه با لاین‌های والدی گندم و جو و همچنین رقم گندم نان سرداری و جو سرارود-۱ به عنوان شاهد جمعاً ۱۱ ژنوتیپ استفاده شد. سری کامل لاین‌های افزایشی دیزومیک Ch.S/Barley با ترکیب کروموزومی $(2+42)$ = $2n$ و علائم اختصاری ۱H، ۲H، ۳H، ۴H، ۵H، ۶H و ۷H به ترتیب کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ مشخص شدند.

آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد. وراثت‌پذیری صفاتی همچون عملکرد نیز اغلب در شرایط خشکی پایین بوده که مربوط به کوچک بودن واریانس ژنتیکی یا بزرگ بودن واریانس‌های اثر متقابل ژنوتیپ و محیط است (Smith et al., 1990). بنابراین به روش‌هایی برای تمرکز بیشتر روی جنبه‌های ژنتیکی، تعریف و مدیریت ژن‌های سازگار با شرایط تنش نیاز است. از میان لاین‌های افزایشی متفاوت گندم که تولید شده‌اند، تولید لاین‌های افزایشی جو/گندم توسط اسلام و همکاران (۱۹۹۱) در استرالیا به عنوان یک موفقیت مورد توجه می‌باشد. لاین‌های افزایشی دیزومیک گندم/جو برای مطالعه و بررسی بیان ژن‌های خارجی در ژنوم گندم و ترسیم نقشه فیزیکی ژنوم جو توسط چو و همکارانش (Cho et al., 2004) مورد استفاده قرار گرفته است. برای تعیین ساختار ژنتیکی، مشخص کردن مکان ژن‌ها و بررسی ژن‌های سازگاری، برای بهبود تحمل به خشکی مورد نیاز است. به علت ماهیت پیچیده تحمل به خشکی، اطلاعات کمی از مکان‌های کروموزومی ژن‌های کنترل‌کننده تحمل به خشکی در دسترس است (Koszegi et al., 1996؛ Mohammadi, 1999).

با استفاده از لاین‌های دارای کروموزوم اضافی و با توجه به این که کدام یک از جفت کروموزوم‌ها از گونه‌های خویشاوند به کروموزوم‌های والد گیرنده اضافه شده‌اند، می‌توان مکان‌های ژنی کنترل‌کننده شاخص‌های

فاصله ردیف‌ها ۲۰ سانتی‌متر تشکیل شده بود. برای اندازه‌گیری عملکرد دانه در دو شرایط بدون تنش و تنش عملکرد دانه برای هر لاین در هر کرت محاسبه شد (سطح بر داشت شده $100\text{cm} \times 40\text{cm}$) با استفاده از عملکرد در شرایط بدون تنش (Y_p) و عملکرد در شرایط تنش (Y_s)، شاخص تحمل تنش به شرح زیر محاسبه شد (Fernandez, 1992):

$$STI = \left(\frac{Y_p}{\bar{Y}}\right)\left(\frac{Y_s}{\bar{Y}_s}\right)\left(\frac{Y_s}{\bar{Y}_p}\right) = \frac{(Y_p)(Y_s)}{(\bar{Y}_p)^2}$$

که در آن \bar{Y}_p, Y_p, Y_s به ترتیب عملکرد در شرایط تنش، عملکرد در شرایط بدون تنش و میانگین کل در محیط بدون تنش است.

۲- شاخص تنش جوانه زنی

(Germination stress index: GSI):

بذرهای ابتدا در محلول هیپوکلریت سدیم ۰.۵٪ به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد و سپس با استفاده از آب دو بار تقطیر شسته شدند تا کلرین باقیمانده از بین برود. بیست و پنج عدد بذر برای جوانه زنی روی کاغذ صافی درون تشتک پتری با قطر ۲۵ میلی‌متر در داخل آنکوباتور با دمای 22 ± 2 درجه سلسیوس قرار داده شدند. آزمایش در دو شرایط نرمال (bar) و تنش (0.7Mpa) انجام شد. که شرایط تنش با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ و با روش پیشنهادی مایکل و کوفمان (Michel and Kuffman, 1972) فراهم شد.

در این پژوهش به منظور تعیین اثر تنش

بذرهای توسط آقای دکتر طاهر (M. Tahir) از ایکاردا (ICARDA) در سال ۱۳۸۱ در سوریه تهیه شد. آزمایش در سال زراعی ۱۳۸۲-۱۳۸۳ در مزرعه آزمایشی و آزمایشگاه موسسه تحقیقات کشاورزی دیم سرارود کرمانشاه اجرا شد. از نظر آب و هوایی این منطقه جزء مناطق نیمه خشک با میانگین دمای سالانه $13/8$ درجه سلسیوس و میانگین بارندگی ۴۷۸ میلی‌متر است. در شرایط مزرعه عملیات تهیه زمین شامل شخم، دیسک و کوددهی با توجه به آزمایش خاک در زمان مناسب انجام شد. عملیات کاشت بذر با دست و آبیاری به روش نشتی پس از کاشت برای شروع جوانه‌زنی انجام و تا پایان دوره رشد و نمو گیاه برای جلوگیری از بروز هر گونه تنش خشکی در محیط بدون تنش (سایت آبی) به صورت کامل ادامه یافت اما برای محیط تنش (سایت دیم) آبیاری در طول فصل رشد فقط به نزولات آسمانی محدود شد. کنترل علف‌های هرز و تنک کردن به روش دستی انجام شد. همچنین با استفاده از حشره کش‌های عمومی، آفات مزرعه کنترل شد. شاخص‌های زراعی و آزمایشگاهی به شرح زیر اندازه‌گیری شدند:

۱- شاخص تحمل خشکی

(Stress tolerance index: STI):

شرایط مزرعه، یازده ژنوتیپ با استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو محیط مختلف (آبی و دیم) مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر کرت از سه ردیف یک متری و

$$GSI (\%) = [(PIS) / (PINS)] \times 100$$

که در آن PIS (Promptness Index in Stress) میزان سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی و PIN (Promptness Index in Normal) میزان سرعت جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش است. صفات درصد جوانه‌زنی، طول ریشه (سانتی‌متر) و طول کولتوپتیل (سانتی‌متر) ده روز بعد از کشت اندازه‌گیری شدند. تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS(ver11) و MSTAT-C انجام شدند.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس (جدول‌های ۱ و ۲) نشان داد که ژنوتیپ‌ها در شرایط آزمایشگاه از نظر صفات طول کولتوپتیل، طول ریشه‌چه، میزان سرعت جوانه‌زنی تحت شرایط تنش خشکی، میزان سرعت جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش و در شرایط مزرعه از نظر صفات عملکرد در شرایط بدون تنش (Yp) و عملکرد در شرایط تنش (Ys) تفاوت معنی‌داری داشتند که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی و امکان تعیین مکان کروموزومی ژن‌های کنترل‌کننده معیارهای آزمایشگاهی تحمل به خشکی بود. با استفاده از مقایسه میانگین‌ها، ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مختلفی قرار گرفتند (جدول ۳). بیشترین PIS مربوط به لاین‌های افزایشی ۴H و ۵H بود که با والد گیرنده اختلاف معنی‌داری نشان دادند. پس می‌توان نتیجه گرفت که اکثر مکان‌های

خشکی بر جوانه‌زنی بذر، لاین‌های افزایشی دیزومیک جو به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در دو محیط تنش و بدون تنش با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. در آزمایش بدون تنش از آب مقطر و در آزمایش تحت تنش از محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ با پتانسیل اسمزی ۰/۸ Mpa- استفاده شد. برای دو تشتک پتری ۱۰ میلی‌لیتر محلول در نظر گرفته شد، به طوری که ۶ میلی‌لیتر آن در ابتدای آزمایش و ۴ میلی‌لیتر باقیمانده در روز ششم به تشتک پتری اضافه شد (Sapra et al., 1991). ۲ میلی‌متر از ریشه‌چه و ساقه‌چه به عنوان شاخص جوانه‌زنی در نظر گرفته شد. زمانی که اندازه ریشه‌چه بذر به ۲ میلی‌متر رسید می‌توان آن را به عنوان یک بذر جوانه زده به شمار آورد.

تعداد بذرهای جوانه‌زده در مدت آزمایش در طی ۱۰ روز یادداشت‌برداری و مقدار سرعت جوانه‌زنی (Promptness index: PI) (GSI) برای هر لاین از فرمول زیر محاسبه شد (Bousslama and Schapaugh, 1984; Sapra et al., 1991).

$$PI = nd_2(1.0) + nd_4(0.8) + nd_6(0.6) + nd_8(0.4) + nd_{10}(0.2)$$

در این فرمول nd_2 ، nd_4 ، nd_6 ، nd_8 و nd_{10} به ترتیب درصد بذر جوانه‌زده در روزهای دوم، چهارم، ششم، هشتم و دهم است. شاخص تنش جوانه‌زنی (GSI) نیز از فرمول زیر محاسبه شد:

جدول ۱- تجزیه واریانس خصوصیات اندازه‌گیری شده در لاین‌های دیزومیک گندم- جو در آزمایشگاه

Table 1. Analysis of variance for different characteristics measured in wheat- barley disomic addition lines in laboratory

S.O.V.	منابع تغییرات	df.	سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش	سرعت جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش	طول ریشه	طول کولئوپتیل
			Promptness index in stress	Promptness index in normal	Root length	Coleoptile length
Line	لاین	10	577.60**	105.60**	7.17**	2.87**
Error	خطای آزمایش	22	37.17	30.65	0.73	0.62
CV (%)	ضریب تغییرات	-	10.91	6.70	10.40	21.3

ns, * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

ns, * and **: Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲- تجزیه واریانس خصوصیات اندازه‌گیری شده در لاین‌های دیزومیک گندم- جو در مزرعه

Table 2. Analysis of variance for different characteristics measured in wheat-barley disomic addition lines in field

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد در شرایط بدون تنش	عملکرد در شرایط تنش
		df.	Yield potential	Stress yield
Block	بلوک	2	115.36*	24.54
Line	لاین	10	389.11**	151.94**
Error	خطای آزمایش	22	29.93	9.93
CV (%)	ضریب تغییرات	-	6.15	6.39

ns, * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

ns, * and **: Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

برای همه ژنوتیپ‌ها محاسبه شد (جدول ۴). لاین‌های افزایشی ۴H و ۵H بیشترین مقدار GSI را نشان دادند بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش ژن‌های کنترل‌کننده شاخص مقاومت به خشکی (GSI) در شرایط آزمایشگاه بر روی کروموزوم‌های ۴H و ۵H قرار گرفته است لذا می‌توان با استفاده از روش‌های مهندسی کروموزوم نسبت به انتقال آن‌ها به زمینه ژنتیکی ارقام پر محصول اقدام و یا با استفاده از مارکرهای مولکولی نسبت نقشه‌یابی دقیق QTL های مربوطه اقدام کرد.

سپرا و همکاران (Sapra et al., 1991) و

ژنی کنترل‌کننده شاخص سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش بر روی کروموزوم‌های ۴H و ۵H قرار گرفته است و کروموزوم‌های ۴H و ۵H و ۶H نیز حامل ژن‌های کنترل‌کننده صفت شاخص سرعت جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش هستند. بلندترین طول ریشه و طول کولئوپتیل و بیشترین میزان عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و با تنش مربوط به لاین‌های ۴H و ۵H بود، بنابراین اکثر مکان‌های ژنی کنترل‌کننده این صفات بر روی کروموزوم‌های ۴H و ۵H قرار گرفته‌اند.

با استفاده از مقادیر PIS و PIN، مقدار GSI

جدول ۳- مقایسه میانگین خصوصیات اندازه گیری شده در لاین‌های دیزومیک گندم- جو و والدین

Table 3. Mean comparison of different characteristics measured in wheat-barley disomic addition lines and parents

ژنوتیپ	سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش	سرعت جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش	ریشه طول	طول کولئوپتیل	عملکرد در شرایط بدون تنش	عملکرد در شرایط تنش
Genotype	Promptness index in stress	Promptness index in normal	Root length (mm)	Coleoptile length (mm)	Yield potential (g/plot)	Stress yield (g/plot)
1H	37.5f	73.73b	7.43d	2.82de	72.74f	38.14f
2H	38.33f	77.40ab	7.50d	2.30e	77.28ef	42.90ef
3H	43.77ef	70.50b	5.76e	2.76de	79.47df	43.84df
4H	71.70ab	85.10a	10.23ab	4.53ac	99.20b	57.61a
5H	70.60ab	86.63a	9.56bc	4.96ab	102.60ab	55.19ab
6H	49.70de	86.23a	8.04d	2.88de	83.68de	47.56ce
7H	36.33ef	84.77a	7.18de	3.16ce	88.71cd	41.35f
CS (Recipient)	58.67cd	85.10a	7.54d	3.56be	95.22bc	49.09cd
H (Donor)	57.73cd	85.53a	7.44d	4.06ad	84.36de	51.27bc

میانگین با حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level according to Duncan's multiple rang test.

جدول ۴- میانگین شاخص‌های تنش جوانه‌زنی و تحمل خشکی و کارایی کروموزوم اضافه شده در لاین‌های دیزومیک گندم- جو و والدین در آزمایشگاه

Table 4- Means of germination stress and stress tolerance indices and efficiency of added chromosome in wheat-batley disomic addition lines and parents in laboratory

شماره	ژنوتیپ	شاخص تنش جوانه‌زنی	شاخص تحمل خشکی	کارایی کروموزوم اضافه شده
No.	Genotype	Germination stress index	Stress tolerance index	Efficiency of added chromosome
1	1H	51.0	0.35	-20.94
2	2H	49.3	0.42	-35.52
3	3H	63.6	0.44	-22.42
4	4H	84.2	0.72	27.08
5	5H	81.4	0.72	39.24
6	6H	57.4	0.50	-19.06
7	7H	54.7	0.47	-11.21
8	CS(Recipient)	68.8	0.59	-
9	H(Ponor)	67.4	0.55	-
10	Sararood-1	71.6	0.63	-
11	Sardar	89.2	0.80	-

خشکی آن‌ها بیشتر است. عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط با تنش و بدون تنش در مزرعه بررسی و از آن‌ها برای محاسبه شاخص تحمل تنش

فرشادفر و همکاران (Farshadfar *et al.*, 2008) نشان دادند که ژنوتیپ‌هایی که GSI بالایی دارند تحمل به

۵H و ۶H بود و همین ژنوتیپ‌ها به جز لاین افزایشی ۶H از مقادیر STI متوسط تا بالایی برخوردار بودند. سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش با شاخص تحمل خشکی همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r=0.928^{**}$) در سطح احتمال ۰/۰۱ داشت. از نظر سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش بیشترین میزان بعد از ژنوتیپ شاهد (سرداری) مربوط به لاین‌های ۴H و ۵H بود و همین ژنوتیپ‌ها از مقادیر STI متوسط تا بالایی برخوردار بودند. ضرایب همبستگی ساده بین طول ریشه‌چه با شاخص تحمل خشکی برابر با ۰/۷۴۲ بود که در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. از نظر طول ریشه‌چه بعد از ژنوتیپ شاهد (سرداری) بیشترین میزان مربوط به لاین‌های ۴H و ۵H است و این ژنوتیپ‌ها از مقادیر STI متوسط تا بالایی برخوردار بودند. ضرایب همبستگی بین طول کولئوپتیل با شاخص تحمل خشکی برابر با ۰/۶۸۱ بود که در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. از نظر طول کولئوپتیل بعد از ژنوتیپ‌های شاهد و والددهنده بیشترین میزان مربوط به لاین‌های ۴H و ۵H بود و این ژنوتیپ‌ها از مقادیر STI متوسط تا بالایی برخوردار بودند. ضرایب همبستگی ساده بین شاخص تحمل به خشکی با شاخص GSI برابر با ۰/۸۷۸ بود که در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. این همبستگی بالا نشان‌دهنده این است که شاخص GSI مانند شاخص تحمل به خشکی، شاخصی است که از مقادیر بالای آن می‌توان برای گزینش ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش استفاده

(STI) استفاده شد. نتایج نشان داد که مقادیر بالای STI (جدول ۲) مربوط به کروموزوم‌های ۴H، ۵H و ۷H است، اما کارایی کروموزوم اضافی ۷H منفی بود، پس بیشتر مکان‌های ژنی مربوط به تحمل به خشکی در شرایط مزرعه‌ای بر روی کروموزوم‌های ۴H و ۵H بود (Sapra et al., 1991; Farshadfar et al., 2003) (Mohammadi et al., 2003).

کارایی کروموزوم‌های اضافه شده نشان می‌دهد (جدول ۴) که مکان‌های ژنی موجود بر روی کروموزوم‌های ۴H و ۵H بالاترین مقدار کارایی مثبت بر افزایش تحمل خشکی در جو را دارند.

کروموزوم‌های ۳R و ۵R در چاودار و ۳E و ۵H در آگروپایرون باعث افزایش تحمل به خشکی می‌شوند که این مطلب بیانگر آن است که بین خویشاوندان گندم و جو ارتباط نزدیکی وجود دارد. پس می‌توان از آن‌ها در نقشه‌یابی مقایسه‌ای استفاده کرد (Farshadfar et al., 2003)

ماتریس ضرایب همبستگی صفات آزمایشگاهی (PIS، CL، RL، PIN و PIS) با شاخص مزرعه‌ای تحمل به خشکی (STI) در جدول ۵ آمده است. ضرایب همبستگی ساده سرعت جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش با شاخص تحمل خشکی برابر با ۰/۵۷۱ بود که در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار است. از نظر سرعت جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش بیشترین میزان مربوط به ژنوتیپ‌های شاهد و لاین‌های

جدول ۵- رابطه بین شاخص‌های تحمل به خشکی در لاین‌های دیزومیک گندم- جو در شرایط مزرعه و آزمایشگاه (n=۹)

Table 5. Relationship between laboratory and field indices of drought tolerance in wheat-barley disomic addition lines(n=9)

Characteristics	Promptness index in stress	Promptness index in normal	Root length	Coleoptile length	Yield potential	Stress yield	Germination stress index
Promptness index in normal	0.64**						
Root length	0.71**	0.34*					
Coleoptile length	0.78**	0.38*	0.60**				
Yield potential	0.83**	0.61**	0.69**	0.61**			
Stress yield	0.88**	0.64**	0.66**	0.64**	0.71**		
Germination stress index	0.94**	0.34*	0.70**	0.79**	0.80**	0.81**	
Stress tolerance index	0.92**	0.57**	0.74**	0.68**	0.92**	0.93**	0.88**

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

* and **: Significant at 5% and 1% levels of probability.

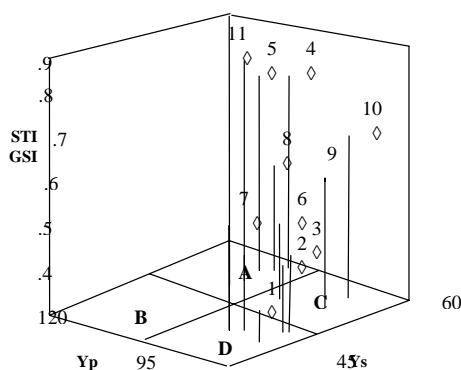
را انتخاب کرد. بنابراین می‌توان از شاخص تنش جوانه‌زنی به عنوان یک شاخص تحمل به خشکی برای انتخاب زود هنگام ارقام متحمل به خشکی استفاده و از این طریق در هزینه‌های اجرای آزمایش صرفه‌جویی کرد. شاخص تنش جوانه‌زنی با طول ریشه‌چه، طول کولئوپتیل و سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش و بدون تنش همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد. بنابراین برای افزایش مقاومت به خشکی، بایستی لاین‌هایی که دارای طول ریشه‌چه و کولئوپتیل بالایی هستند، انتخاب شوند. محل‌های کروموزومی ۴H و ۵H از نظر طول کولئوپتیل و ریشه‌چه نسبت به سایر لاین‌ها بلندتر بودند.

محمدی (Mohammad, 1999) و فرشادفر و همکاران (Farshadfar *et al.*, 2003) نشان دادند که ضرایب همبستگی بالایی بین PI،

کرد (Sapra *et al.*, 1991). ضریب همبستگی ساده بین سرعت جوانه‌زنی و طول کولئوپتیل برابر با ۰/۳۸۰ بود. این مساله نشان می‌دهد که جوانه‌زنی بیشتر سبب جذب آب سریع‌تر شده و رشد کولئوپتیل بیشتر می‌شود. این نتیجه مطابق نتایج مطالعه صفایی و غدیر (Safaei and Ghadiri, 2006) در ارقام گندم بود. لاین‌هایی که دارای شاخص تنش جوانه‌زنی بالایی بودند جزء لاین‌هایی بودند که مقدار شاخص تحمل خشکی آن‌ها نیز بالا بود و متحمل به خشکی بودند. با توجه به این نتایج در بررسی لاین‌ها از نظر تحمل به خشکی می‌توان قبل از آزمایش مزرعه‌ای، ابتدا بررسی آن‌ها را از نظر مقادیر شاخص تنش جوانه‌زنی (GSI) در آزمایشگاه انجام داده و آن‌هایی که دارای شاخص تنش جوانه‌زنی متوسط و بالایی هستند

(Safaei and Ghadiri, 2006). در هزینه و زمان صرفه‌جویی شود (Zarei et al., 2007؛ Farshadfar et al., 2003). نمودار سه بعدی مربوط به Y_p ، Y_s ، STI و GSI در شکل ۱ نشان داده شده است. سطح نمودار سه بعدی به چهار نقطه A ، B ، C و D تقسیم شده است. لاین‌های افزایشی $4H$ و $5H$ در منطقه A قرار گرفتند که دارای بالاترین مقادیر مربوط به STI ، GSI ، Y_s و Y_p هستند. در نتیجه کروموزوم‌های $4H$ و $5H$ حامل مکان‌های ژنی کنترل‌کننده شاخص‌های آزمایشگاهی و مزرعه‌ای تحمل به خشکی هستند و می‌توان از آن‌ها به عنوان مواد ژنتیکی اولیه برای تهیه نقشه و تجزیه QTL تحمل به خشکی و نیز انتخاب به کمک نشانگر استفاده کرد.

STI و GSI وجود دارد که نتایج آن‌ها مطالب مربوط به این بررسی را تایید می‌کند. آن‌ها همچنین گزارش کردند که قابلیت رشد ریشه‌ها در شرایط تنش یک فاکتور مهم برای زنده ماندن و شاخص جوانه‌زنی گیاه است. طول ریشه و کولتوپیتیل نیز به عنوان شاخص‌های تحمل به خشکی مشخص شدند (Farshadfar et al., 1993؛ Farshadfar et al., 2003؛ Zarei et al., 2007). اختلاف معنی‌دار بالا و همبستگی مثبت بین همه صفات STI نشان می‌دهد که این صفات باعث تحمل به خشکی ژنوتیپ‌ها می‌شوند. بنابراین در برنامه‌های به‌نژادی می‌توان از آن‌ها به عنوان شاخص انتخاب برای تحمل به خشکی در شرایط کنترل شده و در مراحل ابتدایی رشد گیاه استفاده کرد.



شکل ۱- نمودار سه بعدی پراکنش لاین‌های دی‌زومیک گندم- جو و والدین بر اساس شاخص‌های STI و GSI

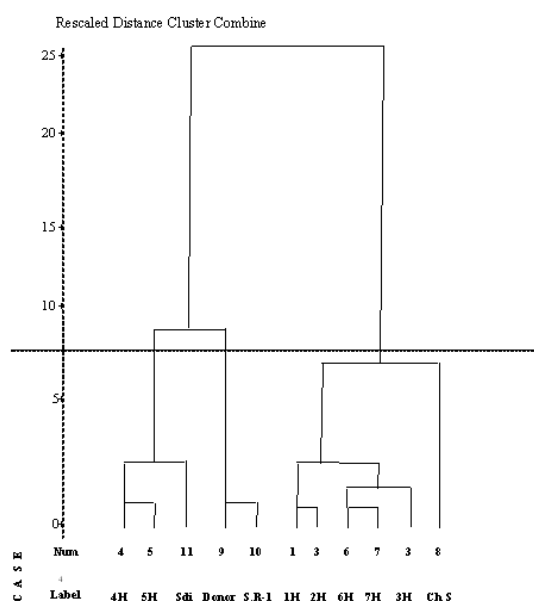
Fig. 1. Distribution of wheat-barley disomic addition lines and parents in 3-D plot based on STI and GSI

For parents and lines name see Table 4.

برای نام والدین و لاین‌ها به جدول ۴ مراجعه شود.

گرفتند و با گیرنده (CS) اختلاف معنی داری نشان دادند. والددهنده و ژنوتیپ شاهد (سرارود-۱) در یک گروه و لاین های افزایشی ۱H، ۲H، ۳H، ۶H، ۷H و والد گیرنده نیز در گروه دیگر قرار گرفتند (شکل ۲).

تجزیه کلاستر برای لاین های دارای دو کروموزوم اضافی از نظر شاخص استرس جوانه زنی (GSI) و شاخص تحمل به خشکی (STI) با استفاده از روش UPGMA انجام شد که بر مبنای آن کروموزوم های ۴H و ۵H و ژنوتیپ شاهد (سرداری) در یک گروه قرار



شکل ۲- تجزیه کلاستر لاین های دیزومیک گندم- جو و والدین بر اساس شاخص های STI و GSI با استفاده از روش UPGMA

Fig. 2. Cluster analysis of wheat-barley disomic addition lines and parents based on STI and GSI using UPGMA procedure

For parents and lines name see Table 4.

برای نام والدین و لاین ها به جدول ۴ مراجعه شود.

۵H به عنوان جایگاه های ژنی کنترل کننده صفات مقاومت به خشکی باشند.

بر اساس پژوهش انجام شده و نتایج به دست آمده در شرایط آزمایشگاه و مزرعه و با توجه به این که خشکی یک صفت کمی و پلی ژنیک است، ممکن است محل های کروموزومی ۴H و

References

- Bousslama, M., and Schapaugh, W.T. 1984.** Stress tolerance in soybeans. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Science* 24: 933-937.

- Cho, S., Garvin, D. F., and Muehlbauer, G. J. 2004.** Barley gene expression in wheat-barley chromosome addition lines and transcriptome-based physical mapping of barley genes. International Triticeae Mapping Initiative Workshop. Abstract No. 18.
- Ellis, R. P., Forster, B. P., Robinson, D., Handley, L. L., Gordon, D. C., Russell J. R., and Powell, W. 2000.** Wild barley: a source of genes for crop improvement in the 21st century. *Journal of Experimental Botany* 51(342): 9-17.
- Farshadfar, E., Koszegi, B., and Sutha, J. 1993.** Some aspects of genetic analysis of drought tolerance in wheat. *Cereal Research Communications* 21: 223-330.
- Farshadfar, E., Mohammadi, R., Aghaee Sarbarzeh, M., and Jutka, J. 2003.** Identification of QTLs involved in physiological and agronomic indicators of drought tolerance in rye using multiple selection index. *Acta Agronomica Hungarica* 51(4): 419-428.
- Farshadfar, E., Safavi, S. A., and Aghaee-Sarbarzed, M. 2008.** Locating QTLs controlling salt tolerance in barley using wheat-barley disomic addition lines. *Asian Journal of Plant Sciences* 7(2): 149-155.
- Fernandez, G. C. J. 1992.** Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. pp. 257-270. In: *Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crops in Temperature and Water Stress*. Taiwan.
- Gale, M. D., and Miller, T. E. 1987.** The introduction of alien genetic variation into wheat. pp. 173-210. In: Lupton, F. G. H. (ed.), *Wheat Breeding, Its Scientific Basis*. Chapman and Hall, London, UK.
- Islam, A. K. M. R., and Shepherd, K. W. 1991.** Alien genetic variation in wheat improvement. pp. 291-312. In: Gupta, P. K. and Tsachiya, P. (eds.), *Chromosome Engineering in Plants, Part ,A*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Jiang, J., Friebe, B., and Gill, B. S. 1994.** Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica* 73: 199-212.
- Knott, D. R. 1987.** Transferring alien genes to wheat. pp. 462-471. In: Heyne, E. G. (ed.) *Wheat and Wheat Improvement (Second edition)*. American Society of Agronomy Inc. Madison, Wisconsin, USA.
- Koszegi, B., Farshadfar, E., Vagujfalvi, A., and Sutka, J. 1996.** Drought tolerance studies on wheat\rye disomic chromosome addition lines. *Acta Agronomic Hungarica* 44 (2): 121-126.
- Mahmood, A., and Quarrie, S. A. 1993.** Effects of salinity on growth, ionic relations and physiological traits wheat, disomic addition lines from *Thinopyrum bessarabicum* and two amphiploids. *Plant Breeding* 110:265-276.
- Mohammadi, R. 1999.** Chromosomal localization of the genes controlling drought tolerance in Rye and Agropyron. M.Sc. Thesis, Razi University of Kermanshah, Kermanshah, Iran (in Persian).
- Mohammadi, R., Farshadfar, E., Aghaee-Sarbazeh, M., and Sutka, J. 2003.** Locating QTLs controlling field and laboratory predictors of drought tolerance in Agropyron using multiple selection index. *Cereal Research Communications* 31(3-4):257-264.
- Michel, B. E., and Kauffman, M. R 1972.** The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Department of Botany, University of Georgia, Athens, Georgia and Department of Plant Science, University of California, Riverside, California.
- Mittler, R. 2002.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Tren Plant Science*

7: 405-410.

- Qaitoli, M. 2006.** Locating the genes controlling drought tolerance in barley using wheat/barley disomic addition lines, M.Sc. Thesis. Razi University of Kermanshah, Kermanshah, Iran (in Persian).
- Safaei, H., and Ghadiri, H. 2006.** The effect of different moisture potentials on germination and seedling development in wheat. Iranian Journal of Agricultural Sciences 19(1,2):37-42 (in Persian).
- Sapra, V. T., Sarage, E., Anaele, A. O., and Beyl, C. A. 1991.** Varieties differences of wheat and triticale to water stress. Journal of Agronomy and Crop Science 167: 23-28.
- Shao, H. B., Liang, Z. S., Shao, M. A., and Wang, B. C. 2005.** Changes of antioxidative enzymes and membrane peroxidation for soil water deficits among 10 wheat genotypes at seedling stage. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 42: 107-113.
- Sharma, H. C., and Gill, B. S. 1983.** Current status of wide hybridization in wheat. Euphytica 32: 17-31.
- Smith, M.E., Coffman, W. R., and Baker, T. C. 1990.** Environmental effects on selection under high and low input conditions. pp. 261-272. In: Karaj, M.S. (ed.) Genotype-by-Environmental Interaction and Plant Breeding. Louisiana State University, Baton Rouge, USA.
- Winter, S. R., Musik, J. T., and Porter, K. B. 1988.** Evaluation of screening techniques for breeding drought-resistance in winter wheat. Crop Science 28: 512-516.
- Zarei, L., Farshadfar, E., Haghparast, R., Rajabi, R., and Mohammadi, M. 2007.** Evaluation of some indirect traits and indices to identify drought tolerance in bread wheat. Asian Journal of Plant Science 6(8): 1204-1210.