

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 قسطولی^۲، رضا حق‌پرست^۳، آنیتا یاقوتی‌پور^۱ و
مصطفی آقائی سربزه^۴

- ۱- به ترتیب استاد و مریبی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه
- ۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح بناهات، 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.، قسطولی، م.، حق‌پرست، ر.، یاقوتی‌پور، آ.، آقائی سربزه، 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 ۶۱۳:۶۰۱-۶۷-۱.

به منظور تعیین مکان کروموزومی ژن‌های کنترل کننده تحمل به خشکی در جو و رابطه بین شاخص‌های مزرعه‌ای و آزمایشگاهی تحمل به خشکی در لاین‌های دارای دو کروموزوم اضافی گندم-جو 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 $2n=42+2$ (۲H_۱, ۴H_۲, ۳H_۳, ۲H_۴, ۵H_۵, ۶H_۶) و (به ترتیب کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷) جو، به همراه والد هنده که در این پژوهش جو رقم ۷H (به ترکیب کروموزوم‌های 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 کولتوپتیل (CL)، عملکرد در شرایط بدون تنش (Yp) و عملکرد در شرایط تنش (Ys) نشان داد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اکثر مکان‌های ژنی کنترل کننده 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 کنترل کننده تحمل به خشکی در جو بر روی کروموزوم‌های ۴H و ۵H قرار گرفته‌اند تایید کرد.

واژه‌های کلیدی: لاین‌های دارای دو کروموزوم اضافی، کولتوپتیل، 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 کنترل کننده صفات کمی مختلف اثر مهمی دارد.

لاین‌های دارای دو کروموزوم اضافی، از افروده 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 کنترل کننده 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 نظری 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 کنترل کننده 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*, $2n=2x=14$) از ژنوم گندم نان (cv. Betzes ۲ $n=6x=42$) و علائم اختصاری $1H$, $2H$, $3H$, $4H$, $5H$ و $7H$ به ترتیب کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ مشخص شدند.

آن‌ها در برنامه‌های بهنژادی استفاده کرد. وراثت پذیری 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 تنفس 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 کنترل کننده 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 کنترل کننده شاخص‌های

فاصله ردیف‌ها ۲۰ سانتی‌متر تشکیل شده بود. برای اندازه‌گیری عملکرد دانه در دو شرایط بدون تنفس و تنفس عملکرد دانه برای هر لاین در هر کرت محاسبه شد (سطح برداشت شده ۱۰۰ cm × ۴۰ cm) با استفاده از عملکرد در شرایط بدون تنفس (Yp) و عملکرد در شرایط تنفس (Ys)، شاخص تحمل تنفس به شرح زیر محاسبه شد (Fernandez, 1992):

$$STI = \left(\frac{(Yp)}{\bar{Y}} \right) \left(\frac{Ys}{\bar{Ys}} \right) \left(\frac{Ys}{\bar{Yp}} \right) = \frac{(Yp)(Ys)}{(\bar{Yp})^2}$$

که در آن \bar{Yp}, Yp, Ys به ترتیب عملکرد در شرایط تنفس، عملکرد در شرایط بدون تنفس و میانگین کل در محیط بدون تنفس است.

۲- شاخص تنفس جوانه‌زنی

(Germination stress index: GSI)

بذرها ابتدا در محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪/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 (صفر bar) و تنفس (-0.8 MPa) انجام شد. که شرایط تنفس 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 تنفس

بذرها 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 سالیانه $13/8$ 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 ونمودن گیاه برای جلوگیری از بروز هر گونه تنفس خشکی در محیط بدون تنفس (سایت آبی) به صورت کامل ادامه یافت اما برای محیط تنفس (سایت دیم) آبیاری در طول فصل رشد فقط به نزوالت آسمانی محدود شد. کنترل علف‌های هرز و تنک کردن به روش دستی انجام شد. همچنین با استفاده از حشره‌کش‌های 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

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

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 (سانتی متر) و طول کولوپتیل (سانتی متر) ده روز بعد از کشت اندازه گیری شدند. تجزیه های آماری با استفاده از نرم افزارهای SPSS(ver11) و MSTAT-C انجام شدند.

نتایج و بحث

جزیه واریانس (جدول های ۱ و ۲) نشان داد که ژنوتیپ ها در شرایط آزمایشگاه از نظر صفات طول کولوپتیل، طول ریشه چه، 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 معنی داری داشتند که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی و امکان تعیین مکان کروموزومی ژن های کنترل کننده معیارهای آزمایشگاهی تحمل به خشکی بود. با استفاده از مقایسه میانگین ها، ژنوتیپ ها در گروه های مختلفی قرار گرفتند (جدول ۳). بیشترین PIS مربوط به لاین های افرایشی H و H5 بود که با ولد گیرنده اختلاف معنی داری نشان دادند. پس می توان نتیجه گرفت که اکثر مکان های

خشکی بر جوانهزنی بذر، لاین های 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 پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ با پتانسیل اسمزی ۰/۸ Mpa استفاده شد. برای دو تشتک پتری ۱۰ میلی لیتر محلول در نظر گرفته شد، به طوری که ۶ میلی لیتر آن در ابتدای آزمایش و ۴ میلی لیتر باقیمانده در روز ششم به تشتک پتری اضافه شد (Sapra *et al.*, 1991). ۲ میلی متر از ریشه چه و ساقه چه به عنوان شاخص جوانهزنی در نظر گرفته شد. زمانی که اندازه ریشه چه بذر به ۲ میلی متر رسید می توان آن را به عنوان یک بذر جوانه زده به شمار آورد.

تعداد بذر های جوانه زده در مدت آزمایش در طی ۱۰ روز یادداشت برداری و مقدار سرعت جوانهزنی (GSI) (Promptness index: PI) برای هر لاین از فرمول زیر محاسبه شد (Bouslama 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 جوانه زده 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.	درجه آزادی	سرعت جوانهزنی در شرایط بدون تنش	سرعت جوانهزنی در شرایط بدون تنش	طول ریشه	طول کولوپتیل
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 غیرمعنی دار، معنی دار 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	df.	درجه آزادی	عملکرد در شرایط بدون تنش	عملکرد در شرایط تنش
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 غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

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

برای همه ژنتیپ‌ها 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 QTL‌های مربوطه اقدام کرد.
 سپرا و همکاران (Sapra et al., 1991)

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 کولوپتیل 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، PIN و GSI، مقدار

جدول ۳- مقایسه میانگین خصوصیات اندازه گیری شده در لاین های 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 بدون تنفس	سرعت جوانهزنی در شرایط بدون تنفس	ریشه طول	طول کولوپتیل	عملکرد در شرایط بدون تنفس	عملکرد در شرایط تنفس
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 معنی دار 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 تنفس جوانهزنی و تحمل خشکی و کارآیی کروموزوم اضافه شده در لاین های دیزومیک گندم- جو و والدین در آزمایشگاه

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

شماره No.	ژنوتیپ Genotype	شاخص تنفس جوانه زنی Germination stress index	شاخص تحمل خشکی Stress tolerance index	کارایی کروموزوم اضافه شده 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 تنفس و بدون تنفس در مزرعه بررسی و از آنها برای محاسبه شاخص تحمل تنفس

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

H_5 و H_6 بود و همین ژنوتیپ‌ها به جز لاین افزایشی H_6 از مقادیر STI متوسط تا بالای برخوردار بودند. سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنفس با شاخص تحمل خشکی همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = 0.928^{**}$) در سطح احتمال ۰/۰ داشت. از نظر سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنفس بیشترین میزان بعد از ژنوتیپ شاهد (سرداری) مربوط به لاین‌های H_4 و H_5 بود و همین ژنوتیپ‌ها از مقادیر STI متوسط تا بالای برخوردار بودند. ضرایب همبستگی ساده بین طول ریشه‌چه با شاخص تحمل خشکی برابر با 0.742 بود که در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. از نظر طول ریشه‌چه بعد از ژنوتیپ شاهد (سرداری) بیشترین میزان مربوط به لاین‌های H_4 و H_5 است و این ژنوتیپ‌ها از مقادیر STI متوسط تا بالای برخوردار بودند. ضرایب همبستگی بین طول کولوپتیل با شاخص تحمل خشکی برابر با 0.681 بود که در سطح احتمال ۰/۰ معنی‌دار بود. از نظر طول کولوپتیل بعد از ژنوتیپ‌های شاهد و والده‌مند بیشترین میزان مربوط به لاین‌های H_4 و H_5 بود و این ژنوتیپ‌ها از مقادیر STI متوسط تا بالای برخوردار بودند. ضرایب همبستگی ساده بین شاخص تحمل به خشکی با شاخص GSI برابر با 0.878 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 تنفس استفاده

(STI) استفاده شد. نتایج نشان داد که مقادیر بالای STI (جدول ۲) مربوط به کروموزوم‌های H_4 ، H_5 و H_7 است، اما کارایی کروموزوم اضافی H_7 منفی بود، پس بیشتر مکان‌های ژنی مربوط به تحمل به خشکی در شرایط مزرعه‌ای بر روی کروموزوم‌های H_4 و H_5 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 H_4 و H_5 بالاترین مقدار کارایی مثبت بر افزایش تحمل خشکی در جو را دارند.

کروموزوم‌های $3R$ و $5R$ در چاودار و $3E$ و $5H$ در آگرورپایرون 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 و PIN) با شاخص مزرعه‌ای تحمل به خشکی (STI) در جدول ۵ آمده است. ضرایب همبستگی ساده سرعت جوانه‌زنی در شرایط بدون تنفس با شاخص تحمل خشکی برابر با 0.571 بود که در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار است. از نظر سرعت جوانه‌زنی در شرایط بدون تنفس 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.

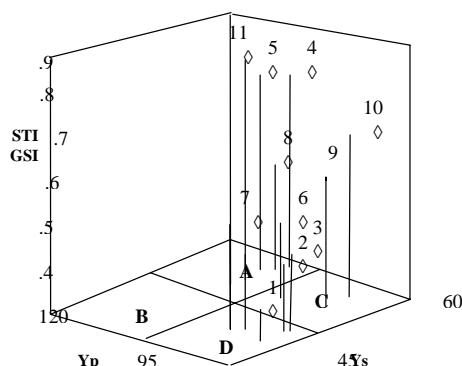
* and **: Significant at 5% and 1% levels of probability.

را انتخاب کرد. بنابراین می‌توان از شاخص تنفس جوانه‌زنی به عنوان یک شاخص تحمل به خشکی برای انتخاب زود هنگام ارقام متتحمل به خشکی استفاده و از این طریق در هزینه‌های اجرای آزمایش صرفه‌جویی کرد. شاخص تنفس جوانه‌زنی با طول ریشه‌چه، طول کولوپتیل و سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنفس و بدون تنفس همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد. بنابراین برای افزایش مقاومت به خشکی، بایستی لاین‌هایی که دارای طول ریشه‌چه و کولوپتیل بالایی هستند، انتخاب شوند. محل‌های کروموزومی H₄ و H₅ از نظر طول کولوپتیل 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 کولوپتیل برابر با ۰/۳۸۰ بود. این مساله نشان می‌دهد که جوانه‌زنی بیشتر سبب جذب آب سریع‌تر شده و رشد کولوپتیل بیشتر می‌شود. این نتیجه مطابق نتایج مطالعه صفايی و غدير (Safaei and Ghadiri, 2006) در ارقام گندم بود. لاین‌هایی که دارای شاخص تنفس جوانه‌زنی بالایی بودند جزء لاین‌هایی بودند که مقدار شاخص تحمل خشکی آن‌ها نیز بالا بود و متتحمل 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 تنفس جوانه‌زنی (GSI) در آزمایشگاه انجام داده و آن‌هایی که دارای شاخص تنفس جوانه‌زنی متوسط و بالایی هستند

(Safaei and Ghadiri, 2006). در هزینه و زمان صرفه جویی 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, Y_s , Y_p و STI هستند. در نتیجه کروموزوم‌های $4H$ و $5H$ حامل مکان‌های ژنی کنترل کننده 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 تنفس یک فاکتور مهم برای زندگانی و شاخص جوانه‌زنی گیاه است. طول ریشه و کولوپتیل نیز به عنوان شاخص‌های تحمل به خشکی مشخص شدند (Farshadfar et al., 1993; Zarei et al., 2007; Farshadfar et al., 2003) اختلاف معنی‌دار بالا و همبستگی مثبت بین همه صفات و 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.

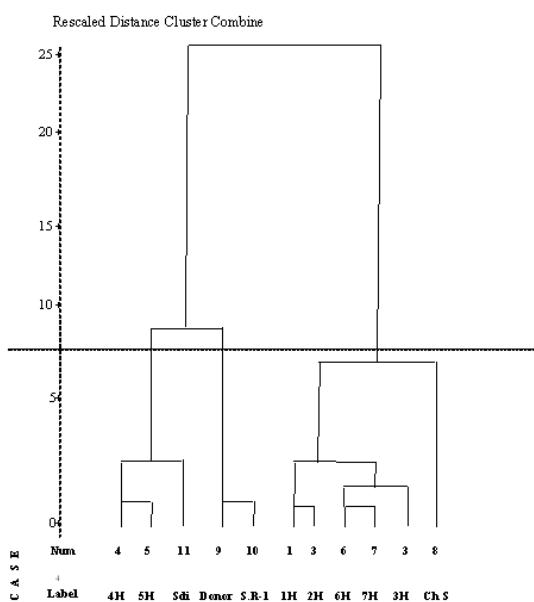


شکل ۱- نمودار سه بعدی پراکنش لاین‌های دیزومیک گندم- جو و والدین بر اساس شاخص‌های STI و GSI

Fig. 1. Distribution of wheat-barley disomic addition lines and parents in 3-D plot based on STI and GST
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. والدنه و ژنوتیپ شاهد (سرارود-۱) در یک گروه و لاين های افزایشی ۱H، ۲H، ۳H، ۶H و والد گیرنده نیز در گروه دیگر قرار گرفتند (شکل ۲).

تجزیه کلاستر برای لاين های دارای دو کروموزوم اضافی از نظر شاخص استرس جوانهزنی (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 لاين های ديزومیک گندم-جو و والدين 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 والدين و لاين ها به جدول ۴ مراجعه شود.

H5 به عنوان جایگاه های ژئی 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 ژئیک است، ممکن است محل های کروموزومی ۴H و

References

- Bouslama, 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. Internatioal Triticeae Maping 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., Fribe, 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-Sarbaze, 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 anti-oxidative 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.