

بررسی توزیع جابه‌جایی بازوی 1RS چاودار در برخی ژنوتیپ‌های امید بخش و ارقام گندم دیم ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی

The evaluation of rye 1RS translocation distribution in some Iranian wheat promising genotypes and wheat cultivars using molecular markers

صابر گلکاری^{۱*}

۱- استادیار، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مراغه، ایران

Golkari S^{*1}

1- Assistant Professor, Dryland Agricultural Research Institute (DARI), Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Maragheh, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sgolkari@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۶)

چکیده

بازوی کوتاه کروموزوم 1RS چاودار (*Secale cereal*) حامل ژن‌های مقاومت به تنش‌های زنده و غیر زنده می‌باشد و منبع با ارزشی برای اصلاح گندم (*Triticum aestivium*) به‌شمار می‌رود. بازوی 1BL.1RS و 1AL.1RS به‌طور وسیعی در جهان در برنامه‌های اصلاحی گندم استفاده شده‌است. در این تحقیق جهت بررسی توزیع بازوی 1RS در ۲۲ لاین امید بخش دیم کشور (19thERWYT)، هفت رقم گندم دیم، پنج رقم خارجی، رقم Kavkaz (کنترل مثبت 1BL.1RS)، رقم Tam 107 (کنترل مثبت 1AL.1RS) و رقم Chiness Spring (کنترل منفی 1BL.1RS و 1AL.1RS) از سه آغازگر اختصاصی چاودار (RyeR3/F3، O-SEC5/A و PAW161) استفاده شد. با استفاده از آغازگرهای RyeR3/F3 و PAW161 حضور بازوی 1RS در ۸۶ درصد لاین امید بخش دیم کشور تأیید شد، جهت تشخیص بین جابه‌جایی 1BL.1RS و 1AL.1RS از آغازگر O-SEC5/A استفاده شد که بر اساس استفاده از این آغازگر در هفت (۳۱ درصد) لاین امید بخش دیم (19thErwyte-4, 5, 6,) 7, 9, 20, 24 و دو (۲۸ درصد) رقم تجاری دیم (رصد و ریژاو) جابه‌جایی 1BL.1RS مشاهده شد اما در هیچ کدام از لاین‌های امید بخش و ارقام تجاری دیم جابه‌جایی 1AL.1RS مشاهده نشد. نتایج این تحقیق استفاده موفقیت آمیز نشانگرهای اختصاصی چاودار را در شناسایی بازوی 1RS در ارقام گندم و توزیع بالای جابه‌جایی 1BL.1RS را در ژنوم ارقام گندم دیم ایران نشان داد که از این تنوع می‌توان به‌عنوان منبعی برای ایجاد جمعیت‌های جدید گندم استفاده کرد. برای بررسی اثر جابه‌جایی 1RS بر روی صفات کیفی گندم صفات عدد زنی، نشاسته، پروتئین و سختی اندازه‌گیری شدند. همبستگی این صفات با نشانگرهای مورد مطالعه با رگرسیون اینتر انجام شد که همبستگی بین این نشانگرها و صفات کیفی مشاهده نشد. با توجه به تأثیر منفی شناخته شده جابه‌جایی‌های چاودار در گندم بر روی صفات کیفی، عدم مشاهده همبستگی منفی بین نشانگرهای 1RS و صفات کیفی گندم در این مطالعه ممکن است به‌علت تجمع ژن‌های کیفی در ارقام اصلاح شده مورد مطالعه باشد.

واژه‌های کلیدی

جابه‌جایی 1RS
چاودار
صفات کیفی
گندم
نشانگر مولکولی

مقدمه

استفاده از روش‌های آزمایشگاهی برای شناسایی سریع و مطمئن جابه‌جایی کروموزوم 1BL.1RS و 1AL.1RS در اصلاح گندم بسیار با اهمیت است. یک نشانگر سریع و قابل اطمینان که قادر به شناسایی جابه‌جایی IRS گندم چاودار باشد برای انتخاب لاین‌های مورد نظر گندم می‌تواند بسیار مفید باشد. نشانگرهای مبتنی بر PCR زیادی برای شناسایی بازوی کروموزومی IRS استفاده شده‌اند (Shimizu et al. 1997; Nadella et al. 2002; Nagy and Lelley 2003; Weng et al. 2007). در نتایج حاصل از تحقیقات (Katto et al. 2004) یک نشانگر مبتنی بر PCR گزارش شده که می‌تواند قطعات چاودار در گندم را شناسایی کند. برای شناسایی جابه‌جایی‌های IRS گندم-چاودار از روش‌های C-banding, GISH و FISH نیز استفاده شده‌است (Rayburn and carver 1988; Miller et al. 1995; Anugrahwati et al. 2008). اما این روش‌ها گران قیمت و زمان‌بر بوده و کارهای آزمایشگاهی طاقت‌فرسایی را می‌طلبد. در این تحقیق سه نشانگر مولکولی PAW161 و O-SEC5/A, RyeR3/F3 برای شناسایی جابه‌جایی-های 1AL.1RS و 1BL.1RS گندم-چاودار در ارقام گندم دیم مورد استفاده قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تعداد ۲۲ لاین امید بخش گندم دیم شرکت کننده در آزمایش یکنواخت سازگاری اقلیم سردسیر و معتدل سرد کشور (19thERWYT)، هفت رقم تجاری گندم دیم آذری، اوحدی، رصد، سبلان، کریم، ریژا و ۳ رقم گندم با منشأ بین المللی شامل Seri82، 21thFAWWON236 و 21thFAWWON-244 رقم Chinese Spring به‌عنوان کنترل منفی جابه‌جایی 1AL.1RS و 1BL.1RS، رقم Kavkaz به عنوان کنترل مثبت جابه‌جایی 1BL.1RS و ارقام TAM107 و Amigo به عنوان کنترل مثبت جابه‌جایی 1AL.1RS مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۱). استخراج DNA از برگ‌های جوان با استفاده از روش CTAB انجام گرفت (Doyle and Doyle 1987). کیفیت سنجی DNA بر روی ژل آگارز یک درصد انجام شد. توالی‌های مورد استفاده آغازگرها و دمای اتصال آن‌ها در جدول ۲ ارائه شده‌است. تکثیر توالی‌ها در دستگاه PCR BioRad با ۳۰ چرخه تکثیر برای هر

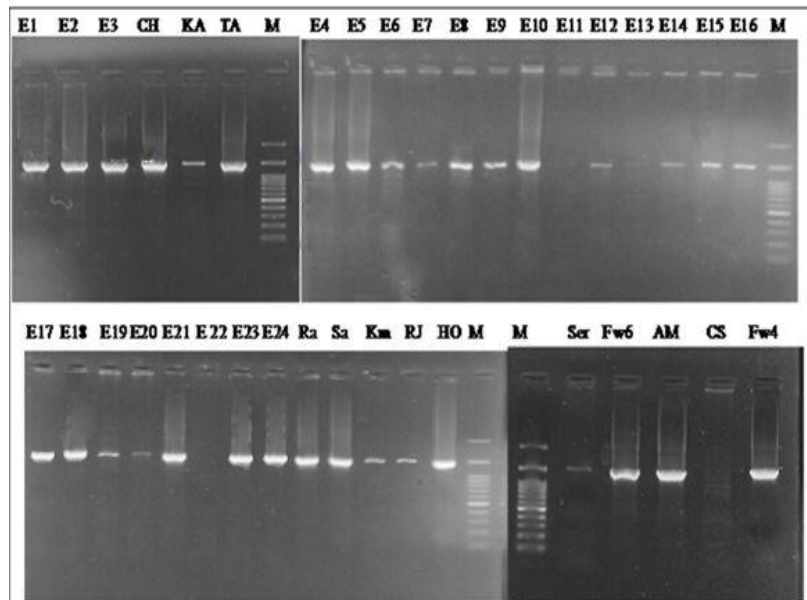
جابه‌جایی^۱ IRS چاودار در اصلاح گندم با اهمیت بوده و به میزان زیادی استفاده شده‌است. در بین این جابه‌جایی‌ها، انواع 1AL.1RS و 1BL.1RS گندم چاودار برای تولید صدها رقم تجاری گندم استفاده شده‌اند (Rabinovich 1998). جابه‌جایی 1BL.1RS از ارقام گندم روسی "Kavkaz" و "Aurora" به گندم نان انتقال یافته است، منشأ این جابه‌جایی وارپته "Petkus" چاودار می‌باشد. این جابه‌جایی دارای ژن‌های عامل مقاومت به زنگ زرد Yr9 (*Striiformis westend puccinia*)، زنگ سیاه (*Puccinia graminis*) Sr31، زنگ قهوه‌ای (*Puccinia recondite*) و سفیدک پودری pm8 و pm17 می‌باشد (Rob, Ex Desm 1998). منشأ جابه‌جایی 1AL.1RS رقم گندم "Amigo" و ژرم پلاسما لاین GRS1201 است که 1AL.1RS را از وارپته "Insave" چاودار دریافت کرده‌اند (Porter et al. 1991; Sebesta et al. 1995). این جابه‌جایی دارای ژن‌های عامل مقاومت به زنگ قهوه‌ای (*Puccinia graminis* Pers)، شته گندم (*Schizaphis graminum* Rondani) و سفیدک پودری (*Erysiphe graminis* DC) است (Sebesta et al. 1995).

هم‌چنین گزارش شده‌است که بازوی IRS باعث افزایش سازگاری به شرایط نامساعد طبیعی از طریق افزایش تحمل به شوری، خشکی و خاک‌های اسیدی شده و کارایی مصرف آب را نیز افزایش می‌دهد (Merker 1982). در کنار تمام این مزایا حضور بازوی IRS در گندم اغلب با کاهش کیفیت گندم نان همراه می‌باشد که یکی از چالش‌های پیش روی اصلاحگران گندم است (Graybosch. 1998; Graybosch et al. 1995; Lee et al. 2001). ۳۳۰ ژنوتیپ گندم از ۳۵ کشور متفاوت شناسایی شده‌اند که دارای بازوی IRS چاودار هستند (Rabinovich, 1998). ۷۰ درصد ارقام گندم کشت شده در شمال غرب چین و ۵۵ درصد ارقام کشت شده در شمال چین دارای بازوی IRS می‌باشند (Zhou et al. 2004). همچنین ۵۳ درصد ارقام گندم کشت شده در مجارستان طی ۲۰ سال اخیر دارای جابه‌جایی IRS هستند (Hoffman 2008).

¹ Translocation

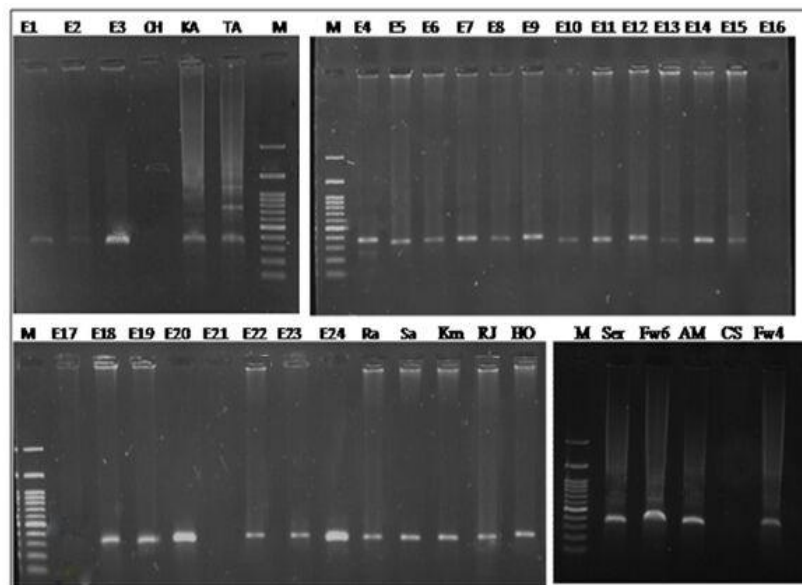
میکرومولار از هر کدام از آغازگرها انجام شد. محصول PCR بر روی ژل آگارز دو درصد تفکیک شد (شکل‌های ۱، ۲ و ۳). رنگ‌آمیزی قطعات به‌وسیله اتیدیوم بروماید و آشکارسازی با اشعه UV انجام شد.

کدام از واکنش‌ها انجام شد. واکنش‌های PCR در حجم نهائی ۲۰ میکرولیتر حاوی ۵۰ نانوگرم DNA الگو، یک واحد آنزیم *Taq* DNA polymerase، ۱۰۰ میکرومولار از هر کدام از dNTPs، ۷۵ میلی‌مولار Tris-HCL، pH 8.8، دو میلی‌مولار $MgCl_2$ و ۰/۱



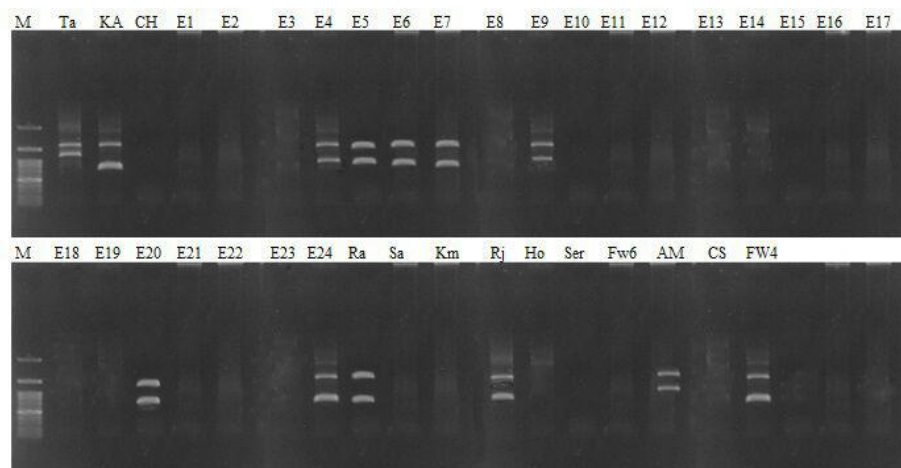
شکل ۱- تکثیر آغازگر RyeR3/F3 بر روی ژنوتیپ‌های امید بخش و ارقام گندم مورد بررسی.

M: نشانگر وزن مولکولی، E1-E24: ژنوتیپ‌های امید بخش 1-24thERWYT، CS: رقم Chiness Spring، KA: رقم Kavkaz، TA: رقم Tam107، Ra: رقم رصد، Sa: رقم سیلان، Km: رقم کریم، Rj: رقم ریژاو، HO: رقم هما، Ser: رقم Seri82، Fw6: رقم 21FW-236، AM: رقم Amigo، Fw4: رقم 21FW-244



شکل ۲- تکثیر آغازگر PAW161 بر روی ژنوتیپ‌های امید بخش و ارقام گندم مورد بررسی.

M: نشانگر وزن مولکولی، E1-E24: ژنوتیپ‌های امید بخش 1-24thERWYT، CS: رقم Chiness Spring، KA: رقم Kavkaz، TA: رقم Tam107، Ra: رقم رصد، Sa: رقم سیلان، Km: رقم کریم، Rj: رقم ریژاو، HO: رقم هما، Ser: رقم Seri82، Fw6: رقم 21FW-236، AM: رقم Amigo، Fw4: رقم 21FW-244



شکل ۳- تکثیر آغازگر O-SEC5/A بر روی ژنوتیپ‌های امید بخش و ارقام گندم مورد بررسی.

M: نشانگر وزن مولکولی، E1-E24: ژنوتیپ‌های امید بخش 1-24th ERWYT، CS: رقم Chiness Spring، KA: رقم Kavkaz، Ta: رقم Tam107، Ra: رقم رصد، Sa: رقم سیلان، Km: رقم کریم، Rj: رقم ریژاو، HO: رقم هما، Ser: رقم Seri82، Fw6: رقم 21FW-236، AM: رقم Amigo، Fw4: رقم 21FW-244

جدول ۱- اسامی و علامت اختصاری مربوط به ژنوتیپ‌های امید بخش و ارقام گندم مورد مطالعه در این تحقیق.

| علامت اختصاری | ردیف | نام رقم / لاین | منشا |
|---------------|------|---------------------------|------------------------|
| E1 | ۱ | Ohadi | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E2 | ۲ | Azar2 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E3 | ۳ | 19 th ERWYT-3 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E4 | ۴ | 19 th ERWYT-4 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E5 | ۵ | 19 th ERWYT-5 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E6 | ۶ | 19 th ERWYT-6 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E7 | ۷ | 19 th ERWYT-7 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E8 | ۸ | 19 th ERWYT-8 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E9 | ۹ | 19 th ERWYT-9 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E10 | ۱۰ | 19 th ERWYT-10 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E11 | ۱۱ | 19 th ERWYT-11 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E12 | ۱۲ | 19 th ERWYT-12 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E13 | ۱۳ | 19 th ERWYT-13 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E14 | ۱۴ | 19 th ERWYT-14 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E15 | ۱۵ | 19 th ERWYT-15 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E16 | ۱۶ | 19 th ERWYT-16 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E17 | ۱۷ | 19 th ERWYT-17 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E18 | ۱۸ | 19 th ERWYT-18 | موسسه تحقیقات دیم کشور |
| E19 | ۱۹ | 19 th ERWYT-19 | موسسه تحقیقات دیم کشور |

| منشا | نام رقم / لاین | ردیف | علامت اختصاری |
|------------------------|-----------------------------|------|---------------|
| موسسه تحقیقات دیم کشور | 19 th ERWYT-20 | ۲۰ | E20 |
| موسسه تحقیقات دیم کشور | 19 th ERWYT-21 | ۲۱ | E21 |
| موسسه تحقیقات دیم کشور | 19 th ERWYT-22 | ۲۲ | E22 |
| موسسه تحقیقات دیم کشور | 19 th ERWYT-23 | ۲۳ | E23 |
| موسسه تحقیقات دیم کشور | 19 th ERWYT-24 | ۲۴ | E24 |
| موسسه تحقیقات دیم کشور | Rasad | ۲۵ | Ra |
| موسسه تحقیقات دیم کشور | Sabalan | ۲۶ | Sa |
| موسسه تحقیقات دیم کشور | Homa | ۲۷ | Ho |
| موسسه تحقیقات دیم کشور | Karim | ۲۸ | Ka |
| موسسه تحقیقات دیم کشور | Rijaw | ۲۹ | Rj |
| CIMMYT | Seri82 | ۳۰ | Ser |
| CIMMYT | Chiness Spring | ۳۱ | CS |
| CIMMYT | 21 th FAWWON-236 | ۳۲ | FW6 |
| CIMMYT | 21 th FAWWON-244 | ۳۳ | Fw4 |
| CIMMYT | Kavkaz | ۳۴ | KA |
| CIMMYT | TAM107 | ۳۵ | TA |
| CIMMYT | Amigo | ۳۶ | AM |

جدول ۲- اطلاعات مربوط به توالی‌های آغازگرها و شرایط PCR.

| منبع | توالی آغازگر (5'→3') | اندازه محصول PCR (bp) | دمای اتصال | نام آغازگر |
|------------------------|---|-----------------------|------------|------------|
| Weng et al. 2007 | F: GATCGCCTCTTTTGCCAAGA R: TCACTGATCACAAGAGCTTG | ۱۴۰۰ | ۶۱°C | RyeR3/F3 |
| Yediy et al. 2010 | F: CTATTAGTTCGAAAAGCTTATGA R:GCATATGACTCAAATTATTTTT | ۱۰۹۵، ۱۰۷۰، ۱۰۵۳۰ | ۵۲°C | O-SEC5/A |
| Tabbizadeh et al. 2013 | F: TGAGGGCCAGACGGCCCTTTTTG R: TTATCGCAATTACAACCTCAAATT | ۳۶۶ | ۶۱ °C | PAW161 |

شده و کیفیت نانوبی از رگرسیون چندگانه گام به گام استفاده شد.

برای تعیین کیفیت نانوبی، صفات کیفی درصد پروتئین، مقدار نشاسته، عدد زلنی و سختی بذر با دستگاه NIR در چهار تکرار اندازه‌گیری شدند. برای تعیین ارتباط بین باندهای PCR مشاهده

نتایج و بحث

در این مطالعه با استفاده از آغازگرهای اختصاصی چاودار حضور جابه‌جایی‌های 1AL.1RS و 1BL.1RS در ژنوم گندم نان بررسی شد. توزیع جابه‌جایی‌ها بر مبنای اندازه باندهای حاصل از PCR تعیین شد. بدین‌منظور سه آغازگر اختصاصی چاودار (PAW161 و O-SEC5/A, RyeR3/F3) بر روی ژنوم گندم استفاده شدند. نشانگر RyeR3/F3 یک باند حدود ۱۴۰۰ bp در Kavkaz (کنترل مثبت 1BL.1RS)، Tam107 (کنترل مثبت 1AL.1RS) (Weng et al. 2007) و ۱۹ (۸۶ درصد) لاین امید بخش دیم ایران (19thERWYT-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12,) (۱۳ درصد) لاین امید بخش دیم ایران (آذر^۲، اوحدی، رصد، سبلان، کریم، ریژاو و هما) و هر سه رقم (۱۰۰ درصد) خارجی (Seri82، 21thFAWWON236 و Chines Spring 21thFAWWON-244) تکثیر کرد. در رقم Chines Spring (کنترل منفی) و ۳ لاین امید بخش (۱۳ درصد) (19thERWYT-11, 19thERWYT-13 و 19thERWYT-22) این باند تکثیر نشد (شکل ۱). بررسی با نشانگر RyeR3/F3 نشان داد که ۸۶ درصد لاین‌های امید بخش و تمام ارقام دیم استفاده شده در این تحقیق دارای بازوی IRS هستند. RyeR3/F3 مربوط به توالی رتروترانسپوزون Ty3/gypsy-like بوده که در نواحی سانترومری چاودار قرار دارد (Katto et al. 2004). مهم‌ترین نواحی این ترانسپوزون توالی رمز کننده برای ژن‌های رونوشت‌بردار معکوس^۱، آنزیم Integrase، آنزیم ریبونوکلاز H (RNase H)، توالی‌های تکراری انتهایی^۲، جایگاه اتصال آغازگر^۳ و ناحیه غنی از پورین^۴ می‌باشد (Kovalchuk et al. 2005).

نشانگر PAW161 یک باند ۳۶۶ bp در رقم Kavkaz (کنترل مثبت 1BL.1RS)، Tam107 (کنترل مثبت 1AL.1RS) (Tabibzadeh et al. 2013)، ۱۹ لاین امید بخش دیم (۸۶ درصد) (19thERWYT-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15,) (۱۸, 19, 20, 22, 23, 24,) و تمام رقم‌های تجاری دیم ایران (آذر^۲، اوحدی، رصد، سبلان، کریم، ریژاو و هما) و هر سه رقم

¹ Reverse transcriptase

² Long terminal repeat

³ Primer-binding site

⁴ Poly purine tract

(۱۰۰ درصد) خارجی (Seri82، 21thFAWWON236 و Chines Spring 21thFAWWON-244) تکثیر کرد. این نشانگر در رقم Chines Spring (به‌عنوان کنترل منفی 1AL.1RS و 1BL.1RS) و سه لاین امید بخش دیم (۱۳ درصد) (19thERWYT-16, 19thERWYT-17 و 19thERWYT-21) هیچ باندهای تکثیر نکرد (شکل ۲). این نشانگر بر اساس نواحی تکراری تلومر چاودار طراحی شده‌است (Weng et al. 2007).

جهت تمایز بین جابه‌جایی 1AL.1RS و 1BL.1RS از نشانگر O-SEC5/A استفاده شد، به‌طوری که سه باند با اندازه‌های ۷۰۰ bp، ۱۰۹۵ bp و ۱۵۳۰ bp در گندم‌هایی تولید می‌کند که دارای هر دو جابه‌جایی 1AL.1RS و 1BL.1RS باشند (Yediay et al. 2010). این آغازگر دو باند ۱۵۳۰ bp و ۷۰۰ bp برای جابه‌جایی 1BL.1RS در رقم Kavkaz (به‌عنوان کنترل مثبت 1BL.1RS)، ۷ (۳۱ درصد) لاین امید بخش دیم (19thErwyte-4, 5, 6, 7, 9, 20,) (۲۸ درصد) رقم تجاری دیم (رصد و ریژاو) تکثیر کرد. همچنین این نشانگر دو باند ۱۵۳۰ bp و ۱۰۹۵ bp برای جابه‌جایی 1AL.1RS در رقم TAM 107 و Amigo (به‌عنوان کنترل مثبت 1AL.1RS) و یک (۳۳ درصد) رقم خارجی 21thFAWWON-244 تکثیر نمود. در رقم Chines Spring (کنترل منفی برای 1AL.1RS و 1BL.1RS) و هیچ‌کدام از لاین‌های امید بخش و ارقام تجاری دیم این دو باند مشاهده نشد (شکل ۳). جفت آغازگر O-SEC5/A بر اساس ژن omega-Secaline که در لوکوس Sec-1 قرار گرفته طراحی شده که در نواحی ماهواره‌ای کروموزوم IRS قرار گرفته است (Shimizu et al. 1997). جابه‌جایی بین omega-Secaline چاودار (که Sec-1 را کد می‌کند) با Omega-gliadin (کد کننده Gli-B1) در جابه‌جایی گندم-چاودار با استفاده از ژل SDS-PAGE در تعدادی از ارقام ایرانی تأیید شده‌است (Afashari 2006; Tabibzadeh et al. 2013).

جابه‌جایی IRS-rye در ژنوم گندم باعث افزایش تحمل گندم به برخی تنش‌های زنده و غیر زنده و در نتیجه افزایش عملکرد گندم می‌شود (Villareal et al. 1991). بنابراین ضروری است که فراوانی و توزیع هرکدام از این جابه‌جایی‌ها در ژرم پلاسما موجود شناسایی و تعیین شود. چندین روش برای شناسایی بازوی IRS در گندم استفاده شده‌است (Gill and Kimber. 1977; Weng et

امید بخش و تمام رقم‌های تجاری دیم ایران دارای جابه‌جایی بازوی 1BL.1RS هستند، این در حالی‌ست که در مطالعات دیگر بر روی ارقام گندم ایرانی با نشانگر Rye R3/F3 و PAW161 در ۱۷ درصد ارقام گندم ایرانی حضور بازوی 1BL.1RS تایید شده است (Tabibzadeh et al. 2013; Bagherikia et al. 2014). فراوانی بیش‌تر بازوی 1RS در ارقام و لاین‌های مورد مطالعه در این تحقیق در مقایسه با سایر ارقام گندم کشور می‌تواند بیانگر اهمیت ژن‌های کنترل‌کننده تحمل به تنش‌های محیطی انتقال یافته از طریق بازوی 1RS در ژنوتیپ‌ها و ارقام گندم دیم باشد که تحت شرایط تنش محیطی به‌ویژه تنش خشکی ارزیابی و انتخاب شده‌اند. ارقام و لاین‌های سازگار برای کشت در شرایط دیم دارای تحمل بیش‌تری نسبت به تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش خشکی هستند (Hoffmann 2008) و این امر می‌تواند فراوانی بیش‌تر بازوی 1RS در ژنوتیپ‌ها و ارقام گندم دیم نسبت به ارقام گندم آبی کشور را توجیه نماید. این بررسی اولین مطالعه بر روی بازوی 1RS در ارقام گندم دیم کشور است. ارقام و لاین‌های دارای بازوی 1RS شناسایی شده در این تحقیق می‌توانند به منظور انتقال ژن‌های مسئول افزایش سطح تحمل تنش‌های محیطی به سایر ژنوتیپ‌های مورد نظر در بلوک‌های تلاقی مورد بهره‌برداری قرار گیرند. هر چند که میزان جابه‌جایی 1RS در ژنوتیپ‌ها و ارقام دیم کشور نسبتاً بالاست اما با توجه به مزایای جابه‌جایی‌های گندم چاودار در افزایش تحمل به تنش‌های زنده و غیر زنده محیطی، بهره‌برداری بیشتر از بازوی 1RS با منشا متنوع در برنامه‌های اصلاحی کشور قابل توصیه است. در مطالعه حاضر حضور جابه‌جایی 1AL.1RS در هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌ها و ارقام گندم دیم ایران مشاهده نشد، در مطالعات قبلی نیز فقط در رقم ایرانی Sholeh جابه‌جایی 1AL.1RS گزارش شده است. مطالعات بازوی 1RS در ارقام گندم سایر نقاط دنیا نیز بیانگر فراوانی بیشتر جابه‌جایی 1BL.1RS در مقایسه با جابه‌جایی 1AL.1RS می‌باشد (Yediay et al. 2010; Landjeva et al. 2006; Hoffman, 2008)، زیرا این نوع جابه‌جایی‌ها جدیدتر بوده و کم‌تر در برنامه‌های اصلاحی مورد بهره‌برداری قرار گرفته‌اند (Rabinovich 1995). با توجه به اهمیت جابه‌جایی 1AL.1RS در تحمل به تنش‌های زنده و غیر زنده (Sebesta et al. 1995; Merker 1982) وارد کردن این

(al. 2007; Zuniga et al. 2008). کاربرد روش SDS-PAGE نشان داده که ۵۰ درصد رقم‌های گندم نان در چین دارای بازوی 1RS هستند (Zhou et al. 2004). بر اساس روش SDS-PAGE، Giemsa-C banding و GISH حضور جابه‌جایی 1BL.1RS در ۳۵ رقم گندم نان مجارستانی تایید شده است (Hoffman 2008). علاوه بر این N-banding، پروتئین ذخیره‌ای و تجزیه نشانگرهای DNA نشان داده است که ۱۷ رقم (۵۵ درصد) گندم نان در بلغارستان دارای جابه‌جایی 1BL.1RS گندم-چاودار هستند (Landjeva et al. 2006). نشانگرهای DNA مبتنی بر PCR نسبت به سایر روش‌ها برای تشخیص جابه‌جایی 1BL.1RS و 1AL.1RS در ژنوم گندم ابزاری ارزان‌تر، سریع‌تر و آسان‌تر را فراهم می‌کنند. (Yediay et al. 2010) تعداد ۹ نشانگر اختصاصی چاودار را برای شناسایی این جابه‌جایی‌ها در رقم‌های گندم نان و دوروم ترکیه استفاده کردند که از بین آن‌ها شش نشانگر را انتخاب کردند. مطالعه آنان نشان داد که تنها چهار رقم گندم نان دارای جابه‌جایی 1BL.1RS بودند درحالی‌که جابه‌جایی 1AL.1RS در هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی شناسایی نشد. (Tabibzadeh et al. 2013) با استفاده از SDS-PAGE و نشانگرهای DNA مبتنی بر PCR توزیع جابه‌جایی 1AL.1RS و 1BL.1RS گندم چاودار را در ۲۹ رقم گندم نان ایرانی و ۱۵ رقم گندم دوروم بررسی و گزارش کردند که تنها پنج عدد (۱۷ درصد) از رقم‌های گندم نان دارای جابه‌جایی 1BL.1RS هستند و در هیچ‌کدام از ارقام جابه‌جایی 1AL.1RS مشاهده نشد. (Mirzaghaderi et al. 2011) با استفاده از تکنیک GISH حضور 1BL.1RS را در چهار مورد از ارقام فوق تایید کردند. در مطالعه Bagherikia et al. (2014) از بین ۶۶ رقم گندم ایرانی که اکثراً ارقام آبی بودند، ۱۴ (۱۷ درصد) رقم گندم حاوی جابه‌جایی 1BL.1RS و تنها رقم Sholeh دارای جابه‌جایی 1AL.1RS بود. رقم Kavkaz به عنوان منشا جابه‌جایی 1BL.1RS همواره در بسیاری از کشورها برای اصلاح ارقام گندم مورد استفاده قرار گرفته است (Trubacheeva et al. 2011). در این تحقیق ارقام و لاین‌های امید بخش گندم دیم دارای درصد بیش‌تری از بازوی 1RS در مقایسه با سایر گندم‌های ایرانی بودند به طوری‌که نتایج نشانگر Rye R3/F3 و PAW161 نشان داد ۸۶ درصد لاین‌های

بازوی IRS را دریافت کرده‌اند ناشی شود، مطالعات متعدد نشان داده‌اند که ژن‌ها یا بلوک‌های ژنی پس از ورود به زمینه ژنتیکی جدید، بسته به ناحیه‌ای از ژنوم که ژن‌ها وارد آن می‌شوند ممکن است افزایش یا کاهش بیان داشته باشند (Matzke et al. 1998; Kumar et al. 2001; Hanin et al. 2003). احتمالاً IRS در زمینه ژنتیکی جدید در جایی از کروموزوم قرار گرفته که ژن‌های نامطلوب امکان ظهور ندارند یا به میزان پایینی ظهور می‌کنند که تاثیر چندانی بر روی کیفیت نان نخواهند داشت. روشن شدن این موضوع نیازمند انجام مطالعات بیش‌تری است.

نتایج این تحقیق استفاده موفقیت‌آمیز نشانگرهای اختصاصی چاودار برای شناسایی تنوع بازوی IRS در زمینه ژنتیکی گندم نان را نشان داده و حضور جابه‌جایی بازوی IRS در تعداد زیادی از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را تایید کرد. ارقام و لاین‌های شناسایی شده واجد بازوی IRS می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی گندم دیم کشور برای افزایش سطح تحمل تنش‌های محیطی، ایجاد جمعیت‌های جدید گندم، افزایش تنوع ژنتیکی و نیز در مطالعات ارزیابی مواد گیاهی دارای بازوی IRS با استفاده از نشانگرهای مولکولی مورد بهره‌برداری قرار گیرند. این تحقیق یافته‌های قبلی مبنی بر بیشتر بودن فراوانی جابه‌جایی IBL.IRS نسبت به جابه‌جایی IAL.IRS را در ارقام گندم نان تأیید می‌کند. نتایج حاصل از این تحقیق مبنی بر اینکه اغلب ارقام و لاین‌های امید بخش گندم دیم کشور علی‌رغم دارا بودن جابه‌جایی IRS گندم چاودار، الزاما از کیفیت پایینی برخوردار نیستند برای اصلاح‌گران گندم بسیار با اهمیت است.

نوع جابه‌جایی در ژنوم گندم‌های ایرانی به‌ویژه ارقام گندم دیم ضروری به‌نظر می‌رسد. حضور بازوی IRS در گندم اغلب با کاهش کیفیت گندم نان همراه می‌باشد (Graybosch. 1998; Graybosch et al. 1995; Lee et al. 1998; McKendry et al. 2001)، بررسی کیفیت آرد نان با روش‌های مختلفی از جمله پخت نان، تعیین میزان و کیفیت گلوتن، عدد زلنی و میزان پروتئین اندازه‌گیری می‌شود (Graybosch et al. 1993). در این بررسی برای درک اثر جابه‌جایی IRS بر روی کیفیت گندم نان چهار صفت کیفی عدد زلنی، نشاسته، پروتئین و سختی گندم با دستگاه NIR مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (جدول ۳). در تعیین ارتباط بین نشانگرها و کیفیت گندم نان با استفاده از روش رگرسیون گام به گام هیچ کدام از نشانگرها وارد مدل نشدند. در نتیجه تجزیه رگرسیون با روش ایتتر انجام شد. در این روش در هر مرحله نشانگرها به عنوان متغیر مستقل (X) و صفات کیفی (Y) به‌عنوان متغیر وابسته در تجزیه وارد شدند. هیچ‌کدام از نشانگرها رابطه معنی‌داری با صفات کیفیت گندم نان نشان ندادند. تعداد کم ژنوتیپ‌ها و نمونه‌ی مورد بررسی و نیز وقوع نوترکیبی‌های ژنتیکی در ارقام و لاین‌های اصلاح شده می‌تواند از دلایل عدم مشاهده همبستگی بین نشانگرها و صفات کیفی ارزیابی شده باشد. کاهش کیفیت گندم نان از پیوستگی بسیار نزدیک بازوی IRS با ژن‌های نامطلوب کیفی از گیاه چاودار ناشی می‌شود که به ارقام گندم دارای جابه‌جایی IRS منتقل شده‌اند (Graybosch 2001). عدم کاهش کیفیت گندم نان در حضور بازوی IRS در ژنوتیپ‌ها و ارقام دیم کشور می‌تواند از چگونگی عملکرد ژن‌های منتقل شده از چاودار در زمینه ژنتیکی جدید که

جدول ۳- تجزیه رگرسیون ایتتر برای چهار صفت کیفی به‌عنوان متغیرهای وابسته و سه نشانگر PAW161، RyeR3/F3 و IBL.IRL به‌عنوان متغیر مستقل.

| منابع تغییر | درجه آزادی | صفات | | | |
|----------------|------------|--------------------|---------------------|----------------------|--------------------|
| | | نشاسته | سختی | عدد زلنی | پروتئین |
| Regression | ۳ | ۱/۹۹ ^{ns} | ۲/۸۱۶ ^{ns} | ۱۲۴/۵۳ ^{ns} | ۱/۵۴ ^{ns} |
| Residual | ۲۵ | ۲/۸۱ | ۱۲/۸۱۷ | ۱۹۷/۵۸ | ۲/۸۴ |
| R ² | | ۰/۰۷۸ | ۰/۰۲۶ | ۰/۰۷ | ۰/۰۶ |

اعداد داخل جدول MS هستند و حروف ns به معنی عدم همبستگی معنی‌دار بین نشانگرها و صفات کیفی است.

منابع

- Anugrahwati DR, Shepherd KW, Verlin DC, Zhang P, Mirzaghaderi G, Walker E, Francki MG, Dundas IS (2008) Isolation of wheat-rye 1RS recombinants that break the linkage between the stem rust resistance gene SrR and secalin. *Genome* 51:341-349.
- Afshari F (2006) Protein Marker Assisted Identification of Yr9, Lr26 and Sr31 Genes in a Group of Iranian Wheat Cultivars. *Journal of Agricultural Science and Technology* 8:265-8.
- Bagherikia S, Karimzadeh G, Naghavi MR (2014) Distribution of 1AL. 1RS and 1BL. 1RS wheat-rye translocations in *Triticum aestivum* using specific PCR. *Biochemical systematics and ecology* 55:20-26.
- Doyle J, Doyle J (1987) a rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bull* 19:11-15.
- Gill BS, Kimber G (1977) Recognition of translocations and alien chromosome transfers in wheat by the Giemsa C-banding technique. *Crop Science* 17:264-266.
- Graybosch RA (2001) Uneasy unions: Quality effects of rye chromatin transfers to wheat. *Journal of Cereal Science* 33:3-16.
- Graybosch RA, Peterson CJ, Hansen LE, Worrall D, Shelton DR, Lukaszewski A (1993) Comparative flour quality and protein characteristics of 1BL/1RS, and 1AL/1RS wheat-rye translocation lines. *Journal of Cereal Science* 17:95-106.
- Hanin M, Jerzy P (2003) "Plant genome modification by homologous recombination." *Current opinion in plant biology* 6:157-162.
- Hoffmann B (2008) Alteration of drought tolerance of winter wheat caused by translocation of rye chromosome segment 1RS. *Cereal Research Communications* 36:269-278.
- Katto MC, Endo TR, Nasuda S (2004) A PCR-based marker for targeting small rye segments in wheat background. *Genes and genetic systems* 9:245-250.
- Kovalchuk A, Senam S, Mauersberger S, Barth G (2005). Tyl6, a novel Ty3/gypsy-like retrotransposon in the genome of the dimorphic fungus *Yarrowia lipolytica*. *Yeast* 22: 979-991.
- Kumar, Sandeep, and Matthias Fladung (2001) Gene stability in transgenic aspen (*Populus*). II. Molecular characterization of variable expression of transgene in wild and hybrid aspen. *Planta* 5:731-740.
- Lee JH, Graybosch RA, Peterson CJ (1995) Quality and biochemical effects of a 1RS.1BL wheat-rye translocation in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 90:105-112.
- Landjeva S, Korzun V, Tsanev V, Vladova R, Ganeva G (2006) Distribution of the wheat-rye translocation 1RS. 1BL among bread wheat varieties of Bulgaria. *Plant breeding*. 125:102-104.
- Matzke AJM, Marjori A (1998) position effects and epigenetic silencing of plant transgenes. *Current opinion in plant biology* 2:142-148.
- McKendry AL, David N, Tague DN, Kathleen RK (2001) Comparative Effects of 1BL.1RS and 1AL.1RS on soft red winter wheat milling and baking quality. *Crop Science* 41:712-720.
- Merker A (1982) 'Veery' - a CIMMYT spring wheat with the 1B/1R chromosome translocation. *Cereal Research Communication* 10:105-106.
- Miller TE, Reader SM, Purdie KA, Abbo S, Dunford RP, King IP. (1995) Fluorescent in situ hybridization as an aid to introducing alien genetic variation into wheat. 85: 275-279.
- Mirzaghaderi G, Zeinali G, Rafiepour M, Karimzadeh G (2011) Wheat-rye translocation in Iranian bread wheat cultivars and their ion distribution in response to salinity stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 13:1163-72.
- Nadella KD, Peake AS, Bariana HS, Cooper M, Godwin ID, Carroll BJ (2002) A rapid PCR protocol for marker assisted detection of heterozygotes in segregating generations involving 1BL/1RS translocation and normal wheat lines. *Crop and Pasture Science*. 53:931-938.
- Nagy ED, Lelley T (2003) Genetic and physical mapping of sequence-specific amplified polymorphic (SSAP) markers on the 1RS chromosome arm of rye in a wheat background. *Theoretical and Applied Genetics* 107:1271-7.
- Porter DR, Webster JA, Burton RL, Puterka GJ, Smith EL (1991) New sources of resistance to greenbug in wheat. *Crop Science* 31:1502-1504.
- Rabinovich SV (1995). History, Achievements, and Perspectives of Using Wheat-Rye Translocations and Substitutions in Bread Wheat Breeding. *Wheat breeding: Objectives, methodology, and progress* 34.
- Rabinovich SV (1998) Importance of wheat-rye translocations for breeding modern cultivar of *Triticum aestivum* L. *Euphytica* 100:323-340.
- Rayburn AL, Carver BF (1998) cytological 1B.1R wheat-rye translocations in winter wheat breeding lines, *Euphytica* 38:237:240.
- Sebesta EE, Wood EA, Porter DR, Webster JA, Smith EL (1995) Registration of amigo wheat germplasms resistant to greenbug. *Crop Science* 35:293-293.
- Shimizu Y, Nasuda S, Endo TR (1997). Detection of the Sec-1 locus of rye by a PCR-based method. *Genes and genetic systems* 72:197-203.
- Tabibzadeh N, Karimzadeh G, Naghavi M (2013) Distribution of 1AL. 1RS and 1BL. 1RS wheat-rye translocations in Iranian wheat, using PCR based markers and SDS-PAGE. *Cereal Research Communications* 41:458-67.
- Trubacheeva NV, Rosseeva LP, Belan IA, Osadchaya TS, Kravtsova LA, Kolmakov YV, Pershina LA (2011) Characteristics of common wheat cultivars of West Siberia carrying the wheat-rye 1RS. 1BL translocation. *Russian journal of genetics*. 47:13-18.
- Villareal RL, Rajaram S, Mujeeb-Kazi A, Toro ED (1991) The effect of chromosome 1B/1R translocation on the yield potential of certain spring wheats (*Triticum aestivum* L.). *Plant Breeding* 106:77-81.

Weng Y, Azhaguvel P, Devkota RN, Rudd JC (2007) PCR-based markers for detection of different sources of 1AL. 1RS and 1BL. 1RS wheat-rye translocations in wheat background. *Plant Breeding* 126:482-6.

Yediay FE, Baloch FS, Kilian B, Özkan H (2010) Testing of rye-specific markers located on 1RS chromosome and distribution of 1AL. RS and 1BL. RS translocations in Turkish wheat (*Triticum aestivum* L., *T. durum* Desf.) varieties and landraces. *Genetic resources and crop evolution* 57:119-29.

Zhou Y, He Z, Zhang G, Xia L, Chen X, Gao Y, Jing Z, Yu G (2004) Utilization of 1BL/1RS translocation in wheat breeding in China. *Acta Agronomica Sinica* 30:531-535.

Zuniga J, Soto B, Campos H (2008) Using a gel-free PCR-ELISA for the molecular identification of wheat genotypes carrying wheat-rye translocations. *Plant breeding* 127:15-19.