

کروموزومها و تعداد ژنهای کنترل کننده تاریخ خوشده‌ی وزن هزار دانه با استفاده از رگه‌های جایگزین در گندم

حسین دشتی^۱، بهمن یزدی صمدی^۲، محمد رضا قنادها^۳، سیروس عبدالهیانی^۴ و احمد صرافی^۵
الی ۴ - به ترتیب دانشجوی سابق دوره دکتری، استاد، استادیار و استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات
دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران ۵ - استاد دانشگاه تولوز فرانسه

تاریخ پذیرش مقاله ۷۹/۸/۱۱

خلاصه

برای شناسایی ژنها در گندم نان، گام اول شناسایی کروموزوم حامل صفات مورد نظر است. در این بررسی به منظور شناسایی کروموزوم‌های موثر در تاریخ ظهور خوشه و وزن هزار دانه از رگه‌های جایگزین کروموزومی مقابله بین دو واریته شاین و ویچیتا بصورت دو گانه استفاده شد. آزمایش در دو طرح بلوك کامل تصادفی هر کدام با دو تکرار برای هر گروه در جوار یکدیگر اجرا گردید. تاریخ خوشده‌ی تا ظهور ۵۰٪ خوشها بر اساس دو خط وسط از چهار خط موجود در هر کرت محاسبه شد. پس از برداشت دو خط وسط، وزن هزار دانه با وزن کردن ۲۵۰ دانه از هر ژنوتیپ در هر تکرار محاسبه گردید. برای برآورد حداقل تعداد ژنهای موثر در ظهور خوشه، جمعیت‌های P_1 ، P_2 و F_1 ، F_2 حاصل از تلاقی بین ویچیتا و شاین در مزرعه با فاصله کشت شده و تاریخ ظهور خوشه اصلی برای هر بوته ثبت گردید. ویچیتا دارای ژنهای روی کروموزوم‌های ۳A، ۳D و ۱D می‌باشد که باعث زودرسی می‌شوند. شاین روی کروموزوم‌های ۳A، ۳D، ۶A، ۶D و ۴ دارای ژنهای است که باعث دیررسی می‌شوند. همچنین ویچیتا روی کروموزوم‌های ۳A، ۳D، ۶A و ۲A دارای ژنهای است که باعث افزایش وزن هزار دانه می‌شوند، و شاین روی کروموزوم‌های ۳A، ۳D، ۶A و ۷B دارای ژنهای است که باعث کاهش وزن هزار دانه می‌شوند. حداقل تعداد ژنهای موثر در تاریخ خوشده‌ی در شرایط مزرعه (۲/۳۸) با اشتباہ معیار استاندارد (۰/۹۱) برآورد گردید که با توجه به برآورد نقصانی تعداد ژن توسط فرمولهای موجود، می‌توان تعداد ژن را تقریباً ۳ در نظر گرفت، که کم و بیش با نتایج بدست آمده از آزمایش‌های کروموزومی مطابقت دارد.

واژه‌های کلیدی: تعداد ژنها، کروموزوم، تاریخ خوشده‌ی وزن دانه، رگه‌های جایگزین، گندم

بخشیدن به مکانیابی و تهیه نقشه ژنها در گندم نموده است (۱۱ و ۴). به طور کلی دو روش اساسی برای تعیین کروموزوم حامل ژنهای خاص بکار گرفته می‌شود: یک روش مطالعه جمعیت‌های F_2 حاصل از تلاقی بین یک واریته و ۲۱ منوسومیک واریته دیگر و مشاهده تفرق غیر طبیعی است، که

مقدمه

برای شناسایی ژن‌ها در گندم و دستیابی به مکان آنها در روش‌های متداول، گام اول شناسایی کروموزوم حامل ژن یا ژن‌های کنترل کننده صفت مورد نظر است. از طرفی این موضوع خدمت بزرگی به روش‌های بیوتکنولوژیکی و سرعت

دارند، تشکیل طرح اولیه گل به تاخیر می‌افتد و از خسارت سرما اجتناب می‌کند و با غیر حساس بودن گیاه به فتوپریود، از روزهای کوتاه اول بهار استفاده کرده و سریع به خوش رفته و از خشکی آخر فصل فرار می‌کند^(۹). کروموزومهایی که حامل ژنهای تاریخ خوشده‌اند، در ارقام مختلف متفاوتند و بطور کلی نزدیک به تمام ۲۱ کروموزوم در ارقام مختلف مرتبط با این صفت گزارش شده‌اند. در واریته بررسی ژنهای خوشده‌ی روی کروموزومهای ۲A، ۳A، ۴B، ۲B و ۷A قرار دارند^(۸).

لاؤ (۱۹۶۵) با استفاده از رگه جایگزین کروموزوم ۷B از واریته هوپ در چاینیز‌سپرینگ و تلاقی این رگه با والد دریافت کننده ثابت کرد دو ژن روی کروموزوم ۷B وجود دارند که در ظهور خوشة موثرند. این کروموزوم دارای ژن دیگری به نام PC است که باعث رنگ ارغوانی ساقه در هوپ می‌شود. در آزمایش دیگری لاؤ (۱۹۶۷) رابطه بین کروموزوم ۷B در چاینیز‌سپرینگ و هوپ را با وزن دانه کشف و یک ژن کنترل کننده وزن دانه را روی کروموزوم ۷B مشخص و فاصله آن را با ژنهای PC, e1 ارتفاع و تعداد پنجه تعیین کرد^(۶).

زمtra (۱۹۸۶)، رگه‌های جایگزین متقابل ویچیتا^۷ و شاین^۸ را از نظر تاریخ خوشده‌ی بررسی کرد و نشان داد که ویچیتا روی کروموزومهای ۳D و ۳A دارای ژنهایی است که باعث زودرسی می‌شوند و شاین نیز روی این کروموزومها و همچنین ۶A ژنهایی دارد که باعث دیررسی می‌گردد^(۱۶). دشتی و همکاران (۱۳۷۷)، در آزمایشی که با یک سری از این مواد انجام دادند نتایج مشابهی بدست آوردند^(۱).

در مطالعات کروموزومی معمولاً از رگه‌های دو گانه^۹ برای بررسی یکنواختی زمینه ژنتیکی رگه جایگزین استفاده می‌شود، یعنی از هر رگه دو عدد رگه جایگزین در برنامه جایگزینی کروموزوم انتخاب می‌شود. این رگه‌ها از نظر کروموزوم جایگزین شده یکسان بوده ولی از نظرسایر کروموزوم‌ها (زمینه ژنتیکی^(۱۰)، ممکن است یکنواخت نباشد و این عدم یکنواختی بستگی به نوع صفت و تعداد ژنهای کنترل کننده آن صفت دارد. در

بطور گسترده‌ای برای تعیین کروموزوم حامل ژن‌های صفات کیفی استفاده شده است. روش دیگر استفاده از جایگزینی ۲۱ کروموزوم از یک واریته بخشندۀ به جای همولگ آن در واریته گیرنده (رگه جایگزین^(۱)) می‌باشد. اگر چه این روش به زمان زیادی برای تولید رگه جایگزین نیاز دارد، ولی یکی از کارآترین روشهای برای مطالعه صفات کمی در گندم است^(۶).

برای این منظور یک رگه جایگزین با والد دریافت کننده مورد مقایسه قرار می‌گیرد و از این طریق کروموزوم حامل ژن یا ژن‌های صفات کمی و یا کیفی تعیین خواهد شد. با استفاده از رگه‌های جایگزین کروموزومی واریته تاچر^۲ و هوپ^۳ در چاینیز سپرینگ^۴ کروموزومهای کنترل کننده صفاتی مثل عملکرد، تعداد دانه در خوشة و وزن هزار دانه و ارتفاع را تعیین کرده اند (اقتباس از منبع^(۸)).

با استفاده از ۲۱ منوسومی واریته بررسی^(۵) در شرایط مزرعه معلوم شده است، که کروموزومهای ۱A، ۲A، ۳B، ۵A، ۷A و ۷D در وزن هزار دانه موثرند و در آزمایش دیگری با استفاده از رگه‌های جایگزین واریته هوپ در چاینیز سپرینگ، کروموزومهای ۱B، ۳A، ۴A، ۵B و ۶A و ۷B حامل ژنهای موثر در وزن هزار دانه شناخته شدند^(۷). از رگه‌های جایگزین بین واریته‌ای همچنین در تعیین کروموزومهای حامل ژن‌های مقاومت به تنشهای محیطی استفاده زیادی شده است^(۱۳). علاوه بر صفات عملکرد و اجزای آن و تنشهای محیطی یکی از صفات مهم در گندم که همبستگی آن با صفات فوق ثابت شده است، تاریخ ظهور خوشه است. بطور کلی این صفت تحت کنترل دو سیستم ژنتیکی است، سیستم ورنالیزاسیون و سیستم فتوپریود و این دو سیستم در سازگاری گندم به مناطق مختلف جغرافیایی اهمیت زیادی دارند. ماسایا فوجیتا و همکاران (۱۹۹۲) در بررسی رابطه مقاومت به سرما و تکامل طرح اولیه^(۹) گل و تاریخ ظهور خوشه به این نتیجه رسیدند که با افزایش نیاز ورنالیزاسیون در مناطقی که زمستان طولانی

1. Substitution line

2. Thatcher

3. Hope

4. Chinese spring

5. Bersee

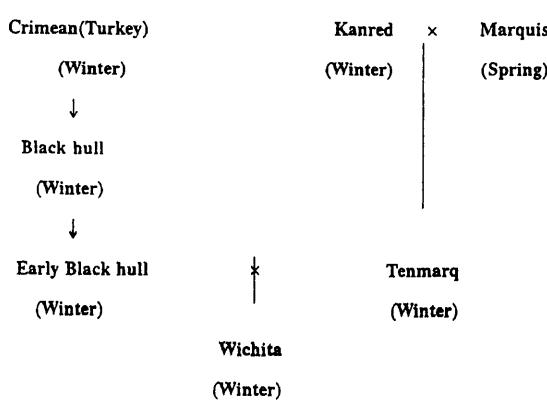
6. Primorida

7. Wichita

8. Cheyenne

9. Duplicate

10. Background



برای تهیه رگه‌های جایگزین، ابتدا سری منوسومیک‌های شاین و ویچیتا برای ۲۱ کروموزوم از طریق تلاقی برگشتی (تلاقی برگشتی) با منوسومیک‌های رقم چاینیزسپرینگ بدست آمدند. سپس منوسومیک به عنوان دریافت کننده کروموزوم مورد نظر بادی سومیک به عنوان بخششده تلاقی برگشتی داده شده است تا رگه‌های با زمینه ژنتیکی یکنواخت بدست آیند (نقل از منبع^۳). لازم به ذکر است که برای همه رگه‌های جایگزین تعداد تلاقی برگشتی مساوی نبوده است (۱۵). در این مقاله علاوه (WI(Cnn) و Cnn(WI) برای نشان دادن رگه‌های جایگزین استفاده شده است. مثلاً رگه جایگزینی که کروموزوم ۵A را از ویچیتا دارد، بصورت Cnn(WI5A) و رگه جایگزین متقابل آن بصورت WI(Cnn5A) نشان داده می‌شود و چون از هر رگه جایگزین دو عدد بصورت دوگانه وجود دارد، هر یک از آنها با اندیسه‌های x, y, z نشان داده می‌شوند. مثلاً از Cnn(WI5A) دو عدد داریم x و Cnn(WI5A)y. بنابراین ۴۲ رگه جایگزین متقابل در گروه x و ۴۲ رگه جایگزین متقابل در گروه y داریم که همراه با والدین در دو طرح بلوك کامل تصادفی جداگانه با ۲ تکرار یکی برای x ها همراه با والدین (۴۴ ژنوتیپ) و یکی برای y ها همراه با والدین (۴۴ ژنوتیپ) در جوار یکدیگر پیاده شد. در هر آزمایش علاوه بر ژنوتیپ‌های فوق دو رقم قدس (بهاره) و سبلان (زمستانه) به عنوان شاهد، برای مقایسه با ویچیتا و شاین کاشته شدند. بنابراین در هر آزمایش ۴۶ ژنوتیپ و در هر کرت آزمایشی چهار خط با فاصله ۲۵ سانتی‌متر بطول ۲ متر و ۶۰ عدد بذر روی هر ردیف در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی کرج در مهرماه ۱۳۷۷ کشت گردید. بذرهای کشت شده بذرهایی بودند که در سال ۱۳۷۶ تکثیر شده بودند. بر اساس دو

مطالعه صفات کمی اگر این دو رگه دو گانه تفاوت معنی‌داری نشان بدهند، نشان دهنده این است که زمینه ژنتیکی برای صفت تحت مطالعه یکنواخت نیست و نیاز به تلاقی برگشتی بیشتری با والد دریافت کننده می‌باشد (۸ و ۱۴).

برآورد تعداد ژنهایی که در بروز یک صفت کمی دخالت دارند، اغلب مورد علاقه متخصصین ژنتیک و اصلاح نباتات می‌باشد (۸). تئوری چند فاکتوری وراثت و تکامل صفات کمی بر این اساس است که واریانس ژنتیکی در صفات کمی داخل جمعیتها ناشی از تفرق فاکتورهای چندگانه است. فرمولهای زیادی برای برآورد حداقل تعداد ژن موثر در یک صفت کمی ارائه شده است، که تحت فرضیاتی استفاده می‌شوند. این فرضیات عبارتند از اینکه، تمام واریانس اندازه‌گیری شده افزایشی است، مکان‌های ژنی دیپلولوئیدن، ژنها دارای اثر مساوی‌اند، لینکاز بین ژنها وجود ندارد و توزیع فنوتیپی در تمام جمعیتها نرمال است. این فرضیات بندرت فراهم می‌شوند (۱۰ و ۱۲). در این فرمولها از جمعیته‌های P₁, P₂, F₁ و (در BC) استفاده شده است. پاور (۱۹۴۲) دو واریته گوجه فرنگی را که در وزن میوه تفاوت بسیار زیادی داشتند تلاقی داد و بعد رایت در سال ۱۹۶۸ با تبدیل لگاریتمی اعداد، جهت نرمال شدن توزیع فنوتیپی داخل جمعیتها، تعداد ژنهای موثر در وزن میوه را حدود ده ژن برآورد کرد. (به نقل از منبع ۱۲).

مواد و روشها

مواد ژنتیکی استفاده شده در این مطالعه سری رگه‌های جایگزین متقابل بین دو واریته شاین و ویچیتا بصورت دوگانه بود که در دانشگاه نبراسکا^۱ تهیه شده‌اند. شاین واریته‌ای است زمستانه که از واریته کربیمین^۲ انتخاب شده است (۵). شاین حامل آلهای مغلوب Vrn در تمامی مکان‌های vrn می‌باشد. ویچیتا دارای شجره زیر بوده، و روی کروموزوم ۳B دارای ژن غالب Vrn است، که احتمالاً از مارکوئیس دریافت کرده ولی این ژن در زمینه ژنتیکی ویچیتا بیان نمی‌شود (۱۵).

1. Nebraska

2. Crimean

$$SE.n = \left[n^2 E \left(\frac{4[\sigma_{p1}^2 / Np_1 + \sigma_{p2}^2 / Np_2]}{(\mu p_1 - \mu p_2)} + \frac{\text{var}(\sigma_s^2)}{(\sigma_s^2)^2} \right) \right]^{1/2}$$

$$\text{var}(\sigma_s^2) = 2 \frac{\sigma_{f2}^4}{N^2} / NF_2 + \frac{1}{2} \sigma_{F1}^4 / Nf_1 + \frac{1}{8} \sigma_{p1}^4 / Np_1 + \frac{1}{8} \sigma_{p2}^4 / Np_2$$

در این فرمولها:

$$\sigma_s^2 = \mu_{\text{میانگین}} = \mu$$

$$nE = \text{تعداد} = N$$

$$SE.n = \text{برآورد نقصانی}^2 \leq n$$

نتایج و بحث

تجزیه واریانس جدأگانه هر یک از آزمایش‌های y, x و تجزیه مرکب دو آزمایش برای والدین، رگه‌های جایگزین و شاهدهای قدس و سبلان (جداول ۱) نشان داد که اولاً ژنتیپ‌ها از نظر تاریخ ظهر خوش و وزن هزار دانه متفاوتند. قدس زودرس‌ترین و شاین دیررس‌ترین می‌باشد. قدس واریته‌ای است بهاره و زودرس. ویچیتا بطور متوسط ۱۵ روز زودرس‌تر از شاین بوده ولی با سبلان که رقمی زمستانه است تفاوت معنی‌دار ندارد.

با توجه به تفاوت بین شاین و ویچیتا از نظر تاریخ ظهر خوش، شاین دارای ژنهای است که باعث دیررسی آن نسبت به ویچیتا می‌شود، و ژنهای ویچیتا باعث زودرسی آن نسبت به شاین (جداول ۴). جایگزینی کروموزومهای ۳A و ۳D از شاین در ویچیتا و متقابلاً از ویچیتا در شاین در هر دو گروه x, y اثر معنی‌داری روی والد دریافت کننده داشته‌اند. این نتیجه با آزمایش قبلی که فقط با گروه y در گلدان در خارج از گلخانه انجام گرفت (۱)، همچنین با نتایج زمینه ۱۹۸۶ مطابقت دارد (۱۵). جایگزینی ۶A از شاین در ویچیتا باعث دیررسی آن بطور معنی‌داری نسبت به ویچیتا در هر دو گروه x, y شده، یعنی شاین روی این کروموزوم دارای ژن یا ژنهای است که باعث دیررسی می‌شوند. ولی جایگزینی متقابله آن از ویچیتا به شاین اثر معنی‌داری روی زودرس کردن شاین نداشت، بنظر می‌رسد که ویچیتا روی این کروموزوم برای ظهر خوش فاقد ژن بوده و یا اینکه اثر آنها کم است. رگه‌های وجود دارند که فقط در یکی از گروههای x و یا y با والد دریافت کننده تفاوت معنی‌دار نشان داده‌اند و این رگه‌ها در دو گروه قرار می‌گیرند. یک گروه شامل Cnn(WI1D) و WI(Cnn1D) که فقط در

خط وسطی وقتی که ریشک‌های ۰.۵٪ از بوته‌ها از غلاف خوش خارج شدند، تاریخ خوش‌دهی بر حسب روز اول فروردین ۱۳۷۸ محاسبه شد. پس از برداشت دو خط وسط، با وزن کردن ۲۵۰ عدد بذر از هر کرت وزن هزار دانه محاسبه شد.

تجزیه آماری: ابتدا تجزیه واریانس برای هر یک از آزمایش‌های y, x انجام گرفت و با مقایسه میانگین رگه‌های جایگزین با والد دریافت کننده کروموزوم مورد نظر با روش LSD، کروموزومهای موثر در هر یک از صفات، در دو آزمایش تعیین گردید. برای آزمون یکنواختی زمینه ژنتیکی رگه‌های جایگزین، LSD جدأگانه‌ای محاسبه شد، که در آن واریانس ادغام شده S^2_m حاصل از مجموع مربعات خطای آزمایش‌های x, y و خطای آزمایش حاصل از تجزیه مرکب تیمارهای مشابه (شاین، ویچیتا، قدس، سبلان) بدست می‌آید. سپس میانگین‌های ژنتیپ‌ها در دو آزمایش نسبت به اثر آزمایش تصحیح شد (۲) و مقایسات دو بدوي دوگانه‌های x, y انجام گرفت. در مورد تاریخ خوش‌دهی، نتایج بدست آمده در حالت تصحیح و عدم تصحیح میانگین‌ها یکسان بوده ولی در مورد وزن هزار دانه نتایج متفاوت بود که برای این کار از میانگین‌های تصحیح شده استفاده شد.

برای برآورد تعداد ژنهای موثر در تاریخ خوش‌دهی، از F_2 حاصل از تلاقی بین شاین و ویچیتا استفاده گردید. تعداد ۱۳۹ بوته F_2 همراه با ۱۷ بوته F_1 و از والدهای ویچیتا و شاین هر یک به ترتیب ۷ و ۸ بوته در مزرعه روی خطوطی با فاصله ۲۵ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر کشت شدند. زمانی که خوش ساقه اصلی از غلاف خارج شد، به عنوان تاریخ خوش‌دهی برای هر بوته ثبت گردید. برای برآورد تعداد ژنهای موثر در تاریخ خوش‌دهی، واریانس‌های داخل والدین و F_1 و F_1 و P_2 و P_1 و نرمال بودن توزیع فنتوپی داخل جمعیتها آزمون شد و با استفاده از فرمول‌های زیر تعداد ژنهای تخمین زده شد (۱۲).

$$nE = (\mu p_1 - \mu p_2)^2 / 8\sigma_s^2 \leq n$$

$$\sigma_s^2 = \sigma_{F2}^2 - [\frac{1}{2}\sigma_{F1}^2 + \frac{1}{4}\sigma_{p1}^2 + \frac{1}{4}\sigma_{p2}^2]$$

در یک صفت کمی بین دو واریته، نسبت به استفاده از P_2 ، P_1 و F_2 بدبست می‌دهد.

کروموزوم‌های موثر در وزن هزار دانه

ژنوتیپ‌ها از نظر این صفت تفاوتی معنی‌دار دارند (جدول ۱ و ۲). بطور متوسط قدس دارای بیشترین وزن هزار دانه (۴۴/۵) گرم و شاین دارای کمترین وزن هزار دانه (۲۷/۲۳) گرم و ویچیتا با وزن هزار دانه (۳۵/۱۷۵) گرم، دارای تفاوت معنی‌داری با شاین است، یعنی ویچیتا دارای ژنهایی است که باعث افزایش در وزن هزار دانه می‌شوند، و شاین دارای ژنهایی است که باعث کاهش در وزن هزار دانه می‌شوند. جایگزینی کروموزوم‌های $3A$ و $3D$ از $3B$ و $3C$ در شاین و همچنین متقابلاً جایگزینی همین کروموزوم‌ها از شاین در ویچیتا در هر دو گروه y, x باعث تفاوت معنی‌دار نسبت به والد دریافت کننده از نظر وزن هزار دانه شده‌اند (جدوال ۱۰ و ۱۲). جایگزینی متقابلاً $6A$ بین شاین و ویچیتا یعنی $WI(Cnn6A)$ و $WI(Cnn6B)$ و $Cnn(WI6A)$ و $Cnn(WI6B)$ و $Cnn(WI2A)$ فقط در یکی از دو گانه‌های y, x تفاوت معنی‌دار با والد دریافت کننده نشان داده، ولی دو گانه‌های y, x با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند (زمینه ژنتیکی یکنواخت است)، (جدول ۱۱). در این حالت گفته می‌شود که کروموزوم جایگزین شده دارای ژن و یا ژنهای با اثر کوچک روی این صفت می‌باشد (۱۵). پس ویچیتا روی کروموزوم‌های $3A$ ، $3D$ دارای ژنهای با اثر زیاد برای افزایش وزن هزار دانه است و ژنهایی با اثر کمتر روی کروموزوم‌های $6A$ و $2A$ دارد و شاین روی کروموزوم‌های $3A$ و $3D$ دارای ژنهای با اثر بزرگ در جهت کاهش وزن هزار دانه و ژنهایی با اثر کوچکتر روی کروموزوم‌های $6A$ و $7B$ است. کروموزوم‌های $3A$ ، $6A$ ، $7B$ ، $2A$ در واریته‌های دیگر نیز مرتبط به این صفت گزارش شده‌اند (۸).

با توجه به مشترک بودن دو صفت وزن هزار دانه و تاریخ ظهور خوش در چند کروموزوم، و از طرفی مشاهده ارتباط معکوس این دو صفت، یعنی ویچیتا زودرس‌تر و وزن هزار دانه بیشتر و شاین دیررس‌تر وزن هزار دانه کمتر و همینطور کروموزوم‌هایی که باعث زودرسی شده‌اند وزن هزار دانه بیشتری تولید کرده‌اند، بنظر می‌رسد که یا ژنهای این دو صفت پیوستگی^۱ شدیدی داشته و عکس یکدیگر عمل می‌کنند و یا اینکه ژنهای تاریخ ظهور خوش چند اثری^۲ بوده و ظهور خوش

گروه y تفاوت معنی‌دار با والد دریافت کننده دارند. ولی x برای این رگه‌ها تفاوت معنی‌دار ندارند (جدول ۵). بنابراین که زمینه ژنتیکی در آنها یکنواخت است و چنین نتیجه‌گیری می‌شود ویچیتا روی $1D$ و شاین روی کروموزوم‌های $4D$ و $1D$ دارای ژنهایی است که اثر کوچکی دارند. گروه دیگر شامل $WI(Cnn2A)$ می‌باشد که باز هم فقط در گروه y تفاوت معنی‌داری با والد دریافت کننده نشان داده، ولی x برای این رگه تفاوت معنی‌دار دارند. یعنی زمینه ژنتیکی یکنواخت نیست و در اینجا مشکل است اظهار نظر کرد که این رگه‌ها اثر کروموزوم جایگزین شده زا نشان می‌دهند. بنابراین گفته می‌شود که از نظر این صفت تعداد تلاقی برگشتی با والد دریافت کننده کافی نبوده است. این نتایج با نتایج زمینه ۱۹۸۶ مشابه است. کروموزوم $1B$ در این آزمایش موثر شناخته نشد که با نتایج آزمایش قبل، دشتی و همکاران (۱۳۷۷) در این مورد مطابقت ندارد (۱). بطور کلی با توجه به نتایج بدست آمده از این آزمایش در شرایط مزرعه و آزمایش قبل در شرایط گلستان خارج از گلخانه می‌توان با قاطعیت گفت که ویچیتا روی کروموزوم‌ها $3A$ و $3D$ دارای ژنهای موثر و قوی در ظهور خوش بوده و باعث زودرسی می‌شوند. و شاین روی کروموزوم‌های $3A$ و $6A$ دارای ژنهای موثر و قوی است که باعث دیررسی می‌شوند.

علاوه بر این شاین روی کروموزوم‌های $1D$ و $4D$ دارای ژنهای با اثر کوچک می‌باشد. اگر حداقل روی هر کروموزوم یک ژن در رابطه با این صفت وجود داشته باشد می‌توان گفت که این دو واریته حداقل در ۳ مکان ژنی با اثر زیاد متفاوتند و سایر ژنهای اثرات کوچکی دارند.

مراحل برآورد تعداد ژنهای متفاوت و موثر در تاریخ ظهور خوش بین ویچیتا و شاین با استفاده از جمعیت‌های P_1 ، P_2 ، F_1 و F_2 در جداول ۶، ۷، ۸ و ۹ آورده شده است. جدول ۸ نشان می‌دهد که والدین تفاوت بسیار معنی‌داری دارند ولی میانگین F_1 با میانگین دو والد تفاوت معنی‌دار ندارد. بنابراین عمل ژنهای افزایشی است. بر اساس فرمول‌های ارائه شده در مواد و روشها حداقل تعداد ژنهای موثر ($n.E=2/38$) با انحراف معیار استاندارد ($S.nE=0.91$) پرآورد گردید (جدول ۹). چون این فرمول برآورد نقصانی دارد می‌توان گفت که تعداد ژنهای موثر تقریباً برابر ۳ می‌باشد که کم و بیش با نتایج بدست آمده از آزمایش‌های کروموزومی مطابقت می‌کند، و نتیجه اینکه استفاده از رگه‌های جایگزین اطلاع دقیقتری از حداقل تعداد ژنهای موثر

1. Linkage

2. Peliotropic

اظهار نظر کرد. گام بعدی که می‌تواند جوابگوی سوال فوق نیز باشد، تلاقي رگه‌های جایگزین متقابل کروموزومهای موثر در این دو صفت با والد دریافت کننده می‌باشد.

زودتر باعث طولانی‌تر شدن دوره پر شدن دانه شده باشد. ولی برای روشن شدن باید زمان رسیدگی دانه را نیز مطالعه کرد و ژنتیپ‌ها را از نظر مدت زمان پر شدن دانه مقایسه نمود و بعد

جدول ۱- خلاصه تجزیه واریانس آزمایش‌های y و تجزیه مرکب (والدین + شاهدها) برای صفت تاریخ خوشده‌ی و وزن هزار دانه

آزمایش:		میانگین مربعات ژنتیپ		میانگین مربعات مرکب:		صفت
آزمایش	ژنتیپ	آزمایش	ژنتیپ	y	x	
۶/۲۲۹ ^{ns}	۳۶۳/۲۹۹**	۰/۰۶۲ ^{ns}		۹۴/۰۶۳**	۷۷/۳**	تاریخ خوشده‌ی
۱۳/۷ ^{ns}	۱۹۳/۲۴۴**	۱/۱۰۲ ^{ns}		۳۶/۱۰۶**	۳۰/۲۱۱**	وزن هزار دانه

* معنی‌دار در سطح ۰/۰۵

جدول ۲- میانگین والدین رگه‌های جایگزین و شاهدها در آزمایش‌های y و x و تجزیه مرکب برای صفت تاریخ خوشده‌ی و وزن هزار دانه

میانگین	وزن هزار دانه (گرم)		میانگین	تاریخ خوشده‌ی (روز)		ژنتیپ
	y	x		y	x	
۲۷/۷۲۳d	۲۷/۴c	۲۸/۰۵d	۴۶a	۴۵/۵۵a	۴۶/۵a	شاین
۳۵/۱۷۵c	۳۶/۲b	۳۴/۱۵c	۳۳/۲۵b	۳۴b	۳۲/۵c	ویچیتا
۴۴/۵a	۴۳/۹a	۴۵/۴a	۲۲/۲۵c	۲۳/۵c	۲۱D	قدس
۴۰/۰۰ b	۳۹/۲ b	۴۰/۸b	۳۵/۲۵ b	۳۴b	۳۶/۵b	سبلان
۳۶/۸۴۵	۳۶/۶	۳۷/۱	۳۴/۱۸۷۵	۳۴/۲۵	۳۴/۱۲۵	میانگین کل
۳/۳۸۸	۳/۹۲۸	۳/۹۸۱	۲/۹۵۴	۱/۸۵۷	۳/۵۷۰	LSD/۵
۴/۶۴	۵/۸۶	۵/۸۷	۵	۲/۳۷	۴/۵۵	CV%

جدول ۳- تفاوت در تاریخ خوش رفتن (روز) بین رگه‌های جایگزین کروموزومی گروه x و والد دریافت کننده

کروموزوم	دریافت کننده		کروموزوم	دریافت کننده		کروموزوم	دریافت کننده	
	WI	Cnn		WI	Cnn		WI	Cnn
۱A	.	۲	۱B	۱	-۳	۱D	۳/۵	-۲
۲A	-۱	-۳	۲B	۲/۵	-۱/۵	۲D	۰/۵	-۲/۵
۳A	۵**	-۱۲**	۳B	۱	-۳/۵	۳D	۱۱/۵**	-۶/۵**
۴A	۳	-۰/۵	۴B	.	-۰/۵	۴D	۲	-۰/۵
۵A	۳	-۲/۵	۵B	-۲	-۲	۵D	۲/۵	-۱
۶A	۴*	۳/۵	۶B	۱/۵	-۰/۵	۶D	-۱	-۳
۷A	۱	۱	۷B	۱	-۳	۷D	-۰/۵	-۲
Cnn	۴۶/۵							
WI	۳۲/۵							
Cnn-WI	۱۴**							
LSD $5/0.5$	۳/۵۵							
LSD $0/0.1$	۴/۷۵							

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱

جدول ۴- تفاوت در تاریخ خوش رفتن (روز) بین رگه‌های جایگزین گروه y و والد دریافت کننده

کروموزم	دریافت کننده		کروموزم		دریافت کننده		کروموزم		دریافت کننده	
	WI	Cnn	WI	Cnn	WI	Cnn	WI	Cnn	WI	Cnn
۱A	.	۱/۵	۱B	-۱	.	.	۱D	۲/۵	-۵	
۲A	۳/۵**	-۱	۲B	.	.	.	۲D	-۱	۱/۵	
۳A	۲/۵**	-۸/۵**	۳B	-۱	.	.	۳D	۱۰**	-۹/۵**	
۴A	۱/۵	.	۴B	-۰/۵	۰/۵	.	۴D	۲*	-۰/۵	
۵A	-۱	.	۵B	-۱/۵	۱/۵	.	۵D	۰/۵	.	
۶A	-۲*	-۱	۶B	.	۱/۵	.	۶D	-۱/۵	۱	
۷A	-۱/۵	۰/۵	۷B	.	-۰/۵	.	۷D	-۱/۵	۱/۵	
Cnn	۴۵/۵									
WI	۳۴									
Cnn-WI	۱۱/۵*									
LSD [*] /۰۵	۱/۸۵۱									
LSD [*] /۰۱	۲/۴۷۱									

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱

جدول ۵- مبانگین در گانه‌ای رگه‌های جایگزین و تفاوت آنها برای صفت تاریخ خوش‌دهی

Cnn(WI) [*]	مانگین		تفاوت	مانگین		تفاوت	
	X	Y		X	Y		
۱A	۴۸/۵	۴۷	۱/۵	۱A	۴۲/۵	۴۴	۱/۵
۲A	۴۲/۵	۴۶/۵	-۳	۲A	۳۱/۵	۳۷/۵	-۶**
۳A	۳۴/۵	۳۷	-۲/۵	۳A	۳۷/۵	۳۶/۵	۱
۴A	۴۶	۴۵/۵	۰/۵	۴A	۳۵/۵	۳۳/۵	۲
۵A	۴۲	۴۶/۵	-۲/۵	۵A	۳۵/۵	۳۳	۲/۵۲
۶A	۴۳	۴۴/۵	-۱/۵	۶A	۳۷	۳۵	۰/۰
۷A	۴۷/۵	۴۶	۱/۵	۷A	۳۳/۵	۳۳	۰/۰
۱B	۴۲/۵	۴۵/۵	-۲	۱B	۳۳/۵	۳۳	۱
۲B	۴۵	۴۰/۵	-۰/۵	۲B	۳۵	۳۲	۲/۰
۳B	۴۳	۴۵/۵	-۲/۵	۳B	۳۳/۵	۳۱	.
۴B	۴۶	۴۶	.	۴B	۳۲/۵	۳۲/۵	-۲
۵B	۴۴/۵	۴۷	-۲/۵	۵B	۳۰/۵	۳۲/۵	.
۶B	۴۶	۴۷	-۱	۶B	۳۳	۳۴	-۰/۰
۷B	۴۳/۵	۴۵	-۱/۵	۷B	۳۳/۵	۳۴	-۱/۰
۱D	۴۴/۵	۴۱/۵	۲	۱D	۳۶	۳۶/۵	-۰/۰
۲D	۴۶	۴۷	-۱	۲D	۳۳	۳۳	.
۳D	۴۰/۵	۳۷/۵	۳	۳D	۴۲	۴۴	-۱/۰
۴D	۴۶	۴۶	.	۴D	۳۳/۵	۳۶	-۰/۰
۵D	۴۵/۵	۴۵/۵	.	۵D	۳۵	۳۳/۵	-۰/۰
۶D	۴۳/۵	۴۶/۵	-۳	۶D	۳۱/۵	۳۲	-۱/۰
۷D	۴۴/۵	۴۷	-۲/۵	۷D	۳۲	۳۲/۵	-۰/۰
Cnn	۴۶/۵	۴۰/۵	۱	WI	۳۲/۵	۳۴	-۱/۰
LSD [*] /۰۱		۳/۹۸۰		LSD [*] /۰		۲/۰۵	

** معنی دار در سطح ۰/۰۱

جدول ۶- آزمون نرمال بودن توزیع داخل جمعیتها

$\frac{(Cnn + WI)}{2}$ میانگین والدین	F2	F1	والدین		تعداد
			Cnn(P ₂)	WI(P ₁)	
۴۱/۵۵	۱۳۹	۱۷	۸	۷	
	۴۲/۰۲۸۸	۴۳/۲۹۴۱	۴۹/۲۵	۳۳/۸۵۷۱	میانگین
	۵/۱۵۴۱۴	۴/۶۴۷۱	۲/۸۱۸۵	۲/۲۶۷۱	انحراف معیار
	۰/۲۴۲	۰/۹۶۲	۰/۵۳۳	۰/۹۱۷	سطح معنی دار

جدول ۷- آزمون همگنی واریانس های داخل F₁ و P₂

احتمال	آماره لون'	درجه آزادی بین گروهها	درجه آزادی داخل گروهها	گروه
۰/۱۳۴	۲۹	۲	۲/۱۵۴	۳

جدول ۸- تجزیه واریانس یک طرفه برای P₁، F₁ و P₂

میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منابع تغییر
۴۴۸/۲۹۱**	۸۹۶/۸۵۲	۲	بین گروهها
۱۲/۰۰۶ ^{ns}	۱۲/۰۰۶	۱	F1 در مقابل (P2,P1)
۸۸۴/۵۷۵**	۸۸۴/۵۷۵	۱	P2 در مقابل P1
۱۴/۸۹۳	۴۳۱/۸۸۷	۲۹	داخل گروه ها

جدول ۹- تعداد زنهای برآورد شده

انحراف معیار استاندارد S.nE	حداقل تعداد زن (n.E)
۰/۹۱	۲/۳۸

جدول ۱۰- تفاوت در وزن هزار دانه (گرم) بین رگههای جایگزین کروموزومی گروه X و والد دریافت کننده

کروموزم	دریافت کننده		کروموزم		دریافت کننده		کروموزوم		دریافت کننده	
	WI	Cnn	WI	Cnn	WI	Cnn	WI	Cnn	WI	Cnn
۱A	۱/۰۵	۰/۳۵	۱B	۳/۰۵	۲/۵۵	۱D	۱/۸۵	۱/۷۵		
۲A	۳/۸۵	۰/۳۵	۲B	۰/۱۵	۳/۵۵	۲D	۲/۴۵	۱/۱۵		
۳A	-۴/۱۵*	۴/۳۵*	۳B	۳/۲۵	۲/۵۵	۳D	-۵/۷۵**	۷/۱۵**		
۴A	۰/۹۵	۰/۹۵	۴B	۱/۴۵	۲/۹۵	۴D	۱/۶۵	۲/۵۵		
۵A	-۰/۱۵	۲/۳۵	۵B	-۰/۷۵	۳	۵D	۱/۲۵	-۰/۲۵		
۶A	۱/۸۵	۲/۵۵	۶B	۱/۴۵	۳/۴۵	۶D	۳/۰۵	۱/۹۵		
۷A	-۰/۳۵	۲/۹۵	۷B	۱/۰۵	۴/۰۵	۷D	۱/۰۵	۱/۹۵		
WI-Cnn	۶/۱**									
LSD _{0.05}	۳/۹۰۹									
LSD _{0.1}	۵/۳۰۱									

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱

جدول ۱۲- میانگین های دوگانه های رگهای جایگزین و تفاوت آنها بعد از تصحیح میانگین برای صفت وزن هزار دانه

جدول ۱۲- تفاوت در وزن هزار دانه (گرم) بین رگههای جایگزینی کروموزومی گروه Y و والد دریافت کننده

کروموزم	دریافت کننده		کروموزم	دریافت کننده		کروموزم	دریافت کننده	
	WI	Cnn		WI	Cnn		WI	Cnn
۱A	-1	1	۱B	۱/۶	۲/۲	۱D	.	۲/۴۵
۲A	۱/۴	۴*	۲B	-۱/۴	۱/۷	۲D	-۰/۶	۱/۴
۳A	-۴/۱*	۷/۸**	۳B	۰/۴	.	۳D	-۵/۲**	۷/۲**
۴A	۳/۴	۱/۴	۴B	-۰/۶	-۱/۲	۴D	1	۰/۶
۵A	-۰/۲	۱/۸	۵B	-۱/۲	۲/۲	۵D	-۱/۲	۰/۶
۶A	-۴*	۵/۲*	۶B	۱/۲	-۰/۸	۶D	۰/۶	۲/۴
۷A	۰/۶	۲/۴	۷B	-۴/۴*	۱/۶	۷D	۰/۸	۰/۸
WI-Cnn	۸/۸**							
LSD _{0.05}	۲/۹۱۷							
LSD _{0.01}	۵/۲۳۱							

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱

مراجع مورد استفاده

۱. دشتی ح، ب. یزدی صمدی، ا. صرافی. (۱۳۷۷). تعیین کروموزمهای حامل ژنهای کنترل کننده تاریخ خوشده با استفاده از رگههای جایگزین کروموزومی متقابل در گندم زمستانه. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۲۹، شماره ۳، (۴۷۶-۴۸۲).
۲. یزدی صمدی، ب. ع. رضائی، م. ولی زاده. (۱۳۷۶). طرحهای آماری در پژوهش‌های کشاورزی. انتشارات دانشگاه تهران.
3. Ghaemi, M. A., Sarrafi, A. and R. Morris. 1998. Reciprocal substitution analysis of embryo induction and plant regeneration from anther culture in wheat. *Genome* 38: 158-165.
4. Galiba, G., S. A. Quarrie, J. Sutka, A. Morgovnov, and J. W. Snape. 1995. RFLP mapping of the vernalization (vrnl) and frost resistance (Fr) genes on chromosome 5A of Wheat. *Theor Appl Genet* 90: 1174-1179.
5. Laverne, M. P., and R. P. Pfeifer. 1959. The effect of controlled limited moisture seeding growth of Cheyenne winter wheat selection. *Agronomy J.* 51: 555-557.
6. Law, C. N. 1965. The location of genetic factors affecting a quantitative character in wheat. *Genetics*, 53: 487-498.
7. Law, C. N. 1967. The location of genetic factors controlling a number of quantitative characters in wheat. *Genetics* 55: 445-461.
8. Lupton, F. G. H. 1987. *Wheat Breeding*. Chapman and Hall. London.
9. Masya, F., N. Kawada and Muhammad Tahir. 1992. Relationship between cold resistance, heading traits and ear primordia development of wheat cultivars. *Euphytica* 64: 123-130.
10. Poehlman J. M., and D. A. Sleper 1996 Breeding field crops. Panima Publishing Corporation/ New Delhi/ Bangalore.
11. Quarrie, S. A., M. Guli, C. Calestani, and A. Steed. 1994. Location of a gene regulating drought – induced abscisic acid production on long arm of chromosome 5A of wheat. *Theor Appl Genet* 89: 794-800.
12. Russell, L., 1981. The minimum number of genes contributing quantitative variation between and within populations. *Genetics* 69: 541-553.
13. Snape, J. W., C. N. Law, B. B. Parker and A. J. Worland. 1985. Genetical analysis of chromosome 5A of wheat and influence on important agronomic characters. *Theor Appl Genet*, 71: 518-526.
14. Zemetra, R. S. and R. Morris. 1988. Effects of an intercultivaral chromosome substitution on winter hardiness and vernalization in wheat. *Genetics*. 79: 453-456.
15. Zemetra, R. S., and J. W. Schmidt. 1986. Gene location for heading date using reciprocal chromosome substitutions In winter wheat. *Crop. Sci.* 26: 531-533.

Gene Locations and Number of Genes for Heading Date and Grain Weight in Wheat, Using Reciprocal Chromosome Substitution Lines

H.DASHTI¹, B.YAZDI-SAMADI², M.R.GHANADHA³,
C. ABD-MISHANI⁴ AND A.SARAFI⁵

1-4, Former Ph.D Student , Professor , Assistant Professor and Professor

5- Professor of Tolouz University' France

Accepted, Nov. 1, 2000

SUMMARY

To identify genes in wheat (*T. aestivum* L.), The first step is detecting chromosomes that carry interesting traits. In order to search out chromosomes involved in heading date and grain weight, reciprocal sets of chromosome substitution lines in duplicate between two winter wheat cultivars, Cheyenne and Wichita, were used. Two experiments were sown in adjacent in complete block designs with two replications for each duplicate. Heading dates recorded when 50% of plants in a plot had their spikes emerged. Heading date was considered as the number of days from an arbitrary date to the time of heading. Grain weight was determined by weighing 250 grains for each genotype in two replications. The populations of P1 , P2, F1 and F2 derived from the cross of Wichita ×Cheyenne were sown in field for estimating the minimum number of effective genes contributing heading date. Heading date was recorded for each plant when the main spike had emerged. Results showed that Wichita carries major genes on 3A, 3D that accelerate heading date and Cheyenne had major genes on 3A, 3D and 6A that delay heading date. In addition, Cheyenne carries genes for heading date with minor effects on 1D and 4D. Wichita carries genes with major effects on 3A and 3D and genes with minor effects on 2A and 6A that increase grain weight. However, Cheyenne carries genes with major effects on 3A and 3D and genes with minor effects on 6A and 7A that decrease grain weight. The minimum number of effective genes contributing to heading date in field conditions was estimated (2.38) and standard error of this estimate was (0.91), that almost coincide with results obtained from chromosomal experiments.

Key words: No. of genes, Chromosome, Heading date, Seed weight, Substitution lines, Wheat.