

## Research Paper

# Evaluation of the Effect of the *Ppd-D1* Gene on Drought Stress Tolerance of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Isogenic Lines

Soraya Pourtabrizi<sup>1</sup>, Ali Kazemi Pour<sup>2</sup>, Ghasem Mohamadi-Nejad<sup>3</sup>, Gholamreza Khajoei-Nejad<sup>4</sup> and Roohollah Abdolshahi<sup>5</sup>

1- Ph.D. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran, (Corresponding author: s.poortabrizi@gmail.com)

2- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

3- Professor, Research and Technology Institute of Plant Production (RTIPP), Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

4- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

5- Associate Professor, Research and Technology Institute of Plant Production (RTIPP), Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Received: 15 October, 2023

Revised: 24 February, 2024

Accepted: 2 March, 2024

Available Online: 6 May, 2024

### Extended Abstract

**Background:** One of the main challenges for wheat farmers and breeders worldwide is the limitation of growth, development, and yield in the face of environmental stresses. Dehydration is one of the most important stresses, leading to decreased efficiency and production of this agricultural product. As a classic adaptation mechanism, drought escape allows the plant to complete its life cycle before occurring drought stress. This issue is particularly important in areas where drought occurs at the end of the growing season. In addition to controlling the growth habit of wheat, photoperiod genes play a key role in the flowering time and earliness of wheat and are of interest in drought tolerance research. This research aimed to investigate drought stress tolerance in wheat isogenic lines using quantitative indices of stress tolerance.

**Methods:** In previous research, earliness was transferred from an Australian early-heading variety, Excalibur, to Roshan and Kolhaidari using the backcrossing method to develop the BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> generation. In the present research, the early-heading plants of this generation were crossed with the recurrent parents (Roshan and Kolhaydari) in 2017 to obtain the first generation from the fourth backcross. In this generation, parents and offspring were evaluated for photoperiod-controlling genes. During the first to fourth generations of the fifth backcross, only heterozygous plants (*Ppd-D1a/Ppd-D1b*) were selected using specific markers for the *Ppd-D1* locus. Five generations of backcrossing and four generations of selfing were performed to have different alleles of *Ppd-D1* in the same genetic background. Both homozygous genotypes (*Ppd-D1a/Ppd-D1a* and *Ppd-D1b/Ppd-D1b*) were selected in the fifth generation of the fifth backcross to generate isogenic lines for *Ppd-D1*. In this generation, homozygous lines were selected for final field trials. To investigate the effect of photoperiod genes on drought tolerance, four isogenic lines were created in experiments with a randomized complete block design and four replications in the crop year 2018-2019 in the rainfed conditions of Sepidan and in the well-watered conditions of Kerman in the crop year 2019-2020. The number of days to flowering, number of days to maturity, grain-filling period, number of spikes per square meter, number of seeds per spike, 1000-grain weight, and grain yield were evaluated in this research. The drought tolerance of isogenic lines was evaluated using eight indices, including productivity mean, yield index, stress tolerance index, geometric mean of production, stress sensitivity index, yield stability index, and stress tolerance score.

**Results:** Unlike *Ppd-D1b*, which is a photoperiod-sensitive allele, *Ppd-D1a* as a photoperiod-insensitive allele, effectively improves early flowering under dryland and well-watered conditions. The *Ppd-D1a* allele reduced the number of days to flowering in the Roshan genetic background by 3.75 and 4.00 days, and in the Kolhaydari genetic background by 5.08 and 4.7 days in rainfed conditions of Sepidan and well-watered conditions of Kerman, respectively. These results were also reflected in the number of days to maturity, in which *Ppd-D1a* improved this trait by 7.04 and 8.02 days in the Roshan and Kalhaydari genetic backgrounds, respectively.



*Ppd-D1a* improved earliness in both genetic backgrounds, with better performance in the Kalhaydari genetic background. These findings confirm the interaction between genetic background and the *Ppd-D1* gene. Despite the positive effect of *Ppd-D1a* on earliness in both genetic backgrounds under all environments, there was an interaction between genetic backgrounds and *Ppd-D1a* alleles for earliness, implying that genetic backgrounds determine the extent of the response to selection. Among the studied isogenic lines under drought stress conditions, the *Ppd-D1a* allele significantly improved grain yield in the Roshan and Kalhaydari genetic backgrounds, respectively (96 kg/ha and 99 kg/ha). However, there were no significant differences between isogenic lines in both genetic backgrounds under well-watered conditions. These results highlight the importance of marker-assisted selection and backcrossing for *Ppd-D1a* in breeding programs for dryland conditions. According to yield correlation (0.952) in drought stress and normal environments, selection in both conditions can show high-yielding isogenic lines with good yield stability. In normal conditions, there was a high correlation between the geometric mean of production, stress tolerance index, yield index, stress sensitivity index, and grain yield. This correlation was high and significant for the geometric mean of productivity, stress tolerance index, and yield index under drought stress conditions. The stress tolerance score showed that *Ppd-D1a* isogenic lines in both Roshan and Kalhaydari genetic backgrounds, which had the photoperiod insensitivity allele, had the highest stress tolerance score. Principal component analysis showed that *Ppd-D1a* in the Roshan background was the most drought-tolerant isogenic line.

**Conclusion:** The results showed that *Ppd-D1a* not only improved earliness in the isogenic lines but also improved drought tolerance using the drought escape mechanism.

**Keywords:** Correlation, Earliness, Grain yield, Stress tolerance score

**How to Cite This Article:** Pourtabrizi, S., Kazemi Pour, A., & Mohamadi-Nejad, Gh., Khajoei-Nejad, Gh., Abdolshahi, R. (2024). Evaluation of the Effect of the *Ppd-D1* Gene on Drought Stress Tolerance of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Isogenic Lines. *J Crop Breed*, 16(2), 136-147. DOI: 10.61186/jcb.16.2.136

## مقاله پژوهشی

ارزیابی تأثیر ژن *Ppd-D1* بر تحمل تنش خشکی در لاین‌های ایزوژن گندم نان (*Triticum aestivum* L.)ثریا پورتبریزی<sup>۱</sup>، علی کاظمی پور<sup>۲</sup>، قاسم محمدی نژاد<sup>۳</sup>، غلامرضا خواجهی نژاد<sup>۴</sup> و روح‌اله عبدالشاهی<sup>۵</sup>

- ۱- دانشجوی دکتری، بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران، (نویسنده مسؤل: s.poortabrizi@gmail.com)
- ۲- استادیار، بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
- ۳- استاد، پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی و بخش زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
- ۴- دانشیار، بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
- ۵- دانشیار، پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی و بخش زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۲۳ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۲/۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۲ تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۲/۷/۱۷

صفحه: ۱۳۶ تا ۱۴۷

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** یکی از چالش‌های اصلی کشاورزان و به‌نژادگران گندم در دنیا، محدودیت رشد و نمو و عملکرد آن، در مواجهه با تنش‌های محیطی است. کم‌آبی یکی از مهمترین تنش‌ها است که باعث کاهش در راندمان و تولید این محصول زراعی می‌گردد. فرار از خشکی به‌عنوان یک مکانیسم سازگاری کلاسیک، به گیاه در حال رشد این امکان را می‌دهد تا چرخه زندگی خود را قبل از وقوع تنش خشکی کامل کند. این مساله در مناطقی که خشکسالی در پایان فصل کشت رخ می‌دهد، بسیار قابل اهمیت است. ژن‌های دوره‌ی نوری علاوه بر کنترل عادت رشدی گندم، نقش کلیدی در زمان گلدهی و زودرسی گندم ایفا می‌نمایند و در پژوهش‌های تحمل خشکی مورد توجه هستند. هدف از این تحقیق بررسی تحمل تنش خشکی در لاین‌های ایزوژن گندم با استفاده از شاخص‌های کمی تحمل تنش بود.

**مواد و روش‌ها:** در پژوهش‌های قبلی، زودرسی از یک رقم زودرس استرالیایی به نام اکسکلیر با استفاده از روش تلاقی برگشتی و برای توسعه نسل دوم از تلاقی برگشتی سوم به رقم روشن و کل‌حیدری منتقل شد. در تحقیق حاضر، گیاهان زودرس این نسل با والد تکراری (روشن و کل‌حیدری) در سال ۱۳۹۷ تلاقی داده شد تا نسل اول از تلاقی برگشتی چهارم به‌دست آید. در این نسل، والدین و فرزندان از نظر ژن‌های کنترل‌کننده دوره‌ی نوری مورد ارزیابی قرار گرفتند. در طول نسل‌های اول تا چهارم از تلاقی برگشتی پنجم، تنها گیاهان هتروزیگوت (*Ppd-D1a/Ppd-D1b*) با استفاده از نشانگرهای اختصاصی برای جایگاه *Ppd-D1* انتخاب شدند. پنج نسل تلاقی برگشتی و چهار نسل خودگشتی برای داشتن آلل‌های مختلف *Ppd-D1* در زمینه ژنتیکی یکسان انجام شد. هر دو ژنوتیپ هموزیگوت (*Ppd-D1a/Ppd-D1a*) و (*Ppd-D1b/Ppd-D1b*) در نسل پنجم از تلاقی برگشتی پنجم برای ایجاد لاین‌های ایزوژن برای *Ppd-D1* انتخاب شدند. در این نسل، لاین‌های هموزیگوت برای آزمایش‌های مزرعه‌ای نهایی انتخاب شدند. با هدف بررسی تأثیر ژن‌های دوره‌ی نوری بر تحمل خشکی، چهار لاین ایزوژن ایجاد شده در آزمایش‌هایی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۹ در شرایط دیم شهرستان سپیدان و در شرایط فاریاب کرمان در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۴۰۱ مورد بررسی قرار گرفتند. صفات تعداد روز تا گلدهی، تعداد روز تا رسیدگی، طول دوره پر شدن دانه، تعداد سنبله در مترمربع، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه و عملکرد دانه بررسی شدند. ارزیابی لاین‌های ایزوژن از نظر تحمل خشکی توسط هشت شاخص میانگین تولید، شاخص عملکرد، شاخص تحمل تنش، میانگین هندسی تولید، شاخص حساسیت به تنش، شاخص پایداری عملکرد و نمره تحمل به تنش صورت گرفت.

**یافته‌ها:** برخلاف *Ppd-D1b* که یک آلل حساس به دوره نوری است، *Ppd-D1a* به‌عنوان یک آلل غیرحساس به دوره نوری، به‌طور موثری در شرایط دیم و فاریاب، گلدهی زود هنگام را بهبود می‌بخشد. آلل *Ppd-D1a* تعداد روز تا گلدهی را در زمینه ژنتیکی روشن به‌میزان ۳/۷۵ و ۴/۰۰ روز و در زمینه ژنتیکی کل‌حیدری به‌میزان ۵/۰۸ و ۴/۷ روز به‌ترتیب در شرایط دیم سپیدان و فاریاب کرمان کاهش داد. این نتایج در تعداد روز تا رسیدن نیز پیش‌بینی شد، زمانی که *Ppd-D1a* این صفت را به‌ترتیب در زمینه‌های ژنتیکی روشن و کل‌حیدری ۷/۰۴ و ۸/۰۲ روز بهبود بخشید. *Ppd-D1a* زودرس بودن را در هر دو زمینه ژنتیکی بهبود بخشید، در حالی که عملکرد بهتری در زمینه ژنتیکی کل‌حیدری داشت. این یافته‌ها اثر متقابل زمینه ژنتیکی و ژن *Ppd-D1* را تایید کرد. علی‌رغم تأثیر مثبت *Ppd-D1a* بر زودرس بودن در هر دو زمینه ژنتیکی و تحت همه محیط‌ها، بین پس‌زمینه‌های ژنتیکی و آلل‌های *Ppd-D1a* برای زودرسی برهم‌کنش وجود داشت، به این معنی که زمینه‌های ژنتیکی میزان پاسخ به انتخاب را تعیین می‌کنند. در شرایط تنش رطوبتی از بین لاین‌های ایزوژن مورد مطالعه، در لاین‌های دارای آلل *Ppd-D1a* عملکرد دانه به‌ترتیب ۹۶ و ۹۹ کیلوگرم در هکتار در زمینه ژنتیکی روشن و کل‌حیدری به‌طور قابل‌توجهی (معادل ۱۳ و ۱۴ درصد افزایش) بهبود یافت. با این‌وجود، هیچ تفاوت معنی‌داری بین لاین‌های ایزوژن در هر دو زمینه ژنتیکی تحت شرایط فاریاب وجود نداشت. این نتایج اهمیت انتخاب و تلاقی برگشتی به‌کمک نشانگر را برای *Ppd-D1a* در برنامه‌های به‌نژادی برای شرایط دیم برجسته کرد. با توجه به وضعیت همبستگی عملکرد ( $0.952^*$ ) در محیط تنش خشکی و نرمال، مشخص گردید که به‌طور کلی گزینش در هر دو شرایط می‌تواند لاین ایزوژن پرمحصول و با پایداری عملکرد خوب را نشان دهد. در شرایط نرمال رطوبتی بین شاخص‌ها میانگین هندسی تولید، شاخص تحمل تنش، شاخص عملکرد، شاخص حساسیت به تنش و عملکرد دانه همبستگی بالایی وجود داشت. این همبستگی در شرایط تنش رطوبتی در شاخص‌های میانگین هندسی تولید، شاخص تحمل تنش و شاخص عملکرد بالا و معنی‌دار بود. نمره‌ی تحمل به تنش نشان داد لاین‌های ایزوژن *Ppd-D1a* در هر دو زمینه‌ی ژنتیکی روشن و کل‌حیدری که دارای آلل عدم حساسیت به دوره‌ی نوری بودند دارای بیشترین نمره‌ی تحمل به تنش شدند. تجزیه به مولفه‌های اصلی ایزولاین *Ppd-D1a* در زمینه‌ی ژنتیکی روشن را به‌عنوان متحمل‌ترین ایزولاین معرفی کرد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد آلل *Ppd-D1a* علاوه بر ایجاد زودرسی در لاین‌های ایزوژن، با استفاده از مکانیسم فرار از خشکی باعث بهبود تحمل تنش خشکی نیز می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** زودرسی، عملکرد، نمره تحمل به تنش، همبستگی

## مقدمه

در دامنه‌ی وسیعی از مناطق و نیز شرایط آب و هوایی و حاصلخیزی خاک است (Kulkarni et al., 2017). یکی از چالش‌های اصلی کشاورزان و به‌نژادگران گندم در دنیا،

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) به‌عنوان یکی از گسترده‌ترین محصولات زراعی در جهان، دارای قابلیت کشت

محدودیت رشد و نمو و عملکرد آن، در مواجهه با تنش خشکی است (Nikkhah *et al.*, 2023). تهدیدهای مکرر این تنش که ممکن است در تمام مراحل رشد گیاه و بویژه در پایان فصل رشد، در مناطق دیم رخ دهد، تولید گندم را در دنیا و ایران تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kulkarni *et al.*, 2017). یکی از ویژگی‌های مهم اقلیمی در مناطق دیم در ایران، نوسان بارندگی در سال‌های مختلف و نامنظم بودن پراکنش آن در هر فصل است (Taheripourfard *et al.*, 2018). زمان مناسب گلدهی و رسیدگی یکی از عوامل مهم در سازگاری گندم با شرایط مختلف کشت است (Shavrukov *et al.*, 2017). فرار از خشکی به‌عنوان یک مکانیسم سازگاری کلاسیک، به گیاه در حال رشد این امکان را می‌دهد تا چرخه زندگی خود را قبل از وقوع تنش خشکی کامل کند (Shavrukov *et al.*, 2017). این مسأله در مناطقی که خشکسالی در پایان فصل کشت رخ می‌دهد، بسیار قابل اهمیت است. ارقام زودرس جدید که کمتر در معرض تنش خشکی آخر فصل قرار می‌گیرند، نه تنها در شرایط تنش خشکی، بلکه در شرایط آبیاری نیز، عملکرد دانه بالاتری دارند (Hill and Li 2016; Nitcher *et al.*, 2014; Shavrukov *et al.*, 2017). با این وجود، در گزارش‌هایی هم، اثر منفی زودرسی بر عملکرد دانه نشان داده شده است (Radhika, 2014). پژوهش‌ها نشان داده است به دلیل معنی‌دار بودن اثر متقابل بین ژنوتیپ و محیط، دستیابی به ژنوتیپ‌هایی که در شرایط تنش رطوبتی و بدون تنش، عملکرد مطلوبی داشته باشند، سخت به نظر می‌رسد (Shiri *et al.*, 2010). بنابراین به نظر می‌رسد، برای رسیدن به ژنوتیپ برتر، گزینش بر اساس عملکرد بالقوه‌ی ژنوتیپ‌ها، معیارهای پایداری، تلفیقی از عملکرد و صفات همبسته با آن و در نهایت استفاده از عملکرد حاصل از هر دو شرایط تنش و بدون تنش، روش‌های مناسبی هستند. در بررسی برنامه‌های به‌نژادی به همین منظور، رقم دارای عملکرد بالا و پایدار که سازگاری بالایی با محیط نشان دهد، مطلوب است (Moghaddasi *et al.*, 2010).

شاخص‌های زیادی بر پایه عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش خشکی، برای تمایز ژنوتیپ‌های متحمل خشکی در شرایط مزرعه، پیشنهاد شده است. Maurer و Fischer (1987) شاخص حساسیت به تنش (SSI)، Rosielle و Hamblin (1981) شاخص‌های تحمل (TOI) و میانگین محصول‌دهی (MP)، Fernandez (1992) شاخص‌های تحمل تنش (STI) و میانگین هندسی عملکرد (GMP)، شاخص عملکرد (YI) (Gavuzzi *et al.*, 1997) و نیز Bouslama و Schapaugh (1984) شاخص پایداری عملکرد (YSI) را برای ارزیابی میزان تحمل خشکی ژنوتیپ‌ها معرفی کردند. این شاخص‌ها ممکن است نتایج متفاوتی را در تعیین ژنوتیپ‌های متحمل ارائه دهند (Khanizadeh *et al.*, 2021). به‌عنوان مثال در برخی پژوهش‌ها، گزینش بر اساس شاخص‌های TOL و SSI سبب هدایت برنامه‌ی به‌نژادی در جهت انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد پایین، ولی انتخاب براساس میانگین عملکرد، سبب انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا می‌شود (Shiri *et al.*, 2010). در مطالعه‌ی

شاخص‌های تحمل در ارقام بومی گندم نان، نتایج نشان می‌دهد که GMP، MP و STI شاخص‌های مناسبی برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل می‌باشند (Farshadfar *et al.*, 2013). از سوی دیگر در ارزیابی تحمل گرمای ۱۸ رقم گندم، شاخص‌های GMP، MP و STI را به‌عنوان شاخص‌های برتر در این ارزیابی گزارش کردند (Omidi *et al.*, 2015). ارزیابی میزان تحمل یا حساسیت ژنوتیپ‌های گندم به سطوح مختلف تنش رطوبتی با استفاده از شاخص‌های مختلف تحمل خشکی نشان داده است، شدت تنش خشکی محیط (SI) تحت تیمار تنش‌خشکی پس از گرده‌افشانی، موجب کاهش عملکرد دانه ژنوتیپ‌های گندم به حدود ۳۵ درصد نسبت به شاهد شد و توانایی شاخص تحمل تنش فرناندز (STI) برای دسته‌بندی ژنوتیپ‌های حساس و متحمل بیش از شاخص‌های دیگر بود. هم‌چنین بررسی همبستگی بین شاخص‌های تحمل خشکی و عملکرد دانه در گندم نان در هر دو شرایط تنش و بدون تنش، نشان داده است که شاخص‌های MP و GMP همبستگی بالایی با عملکرد دانه داشته‌اند (Zebarjadi *et al.*, 2013). در نتایج پژوهش دیگری که براساس عملکرد گندم نان و صفات وابسته، در شرایط تنش، انجام شده است، شاخص‌های میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)، میانگین هارمونیک (HM) و میانگین بهره‌وری (MP) در دسته‌بندی ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی مشابه بوده‌اند. علاوه بر همبستگی مثبت عملکرد دانه در شرایط نرمال (Yp) با عملکرد دانه تحت تنش خشکی (Ys)، عملکرد در شرایط بدون تنش همبستگی مثبت و معنی‌داری با شاخص STI، TOL، MP و GMP داشته است. در این پژوهش پیشنهاد شده است که انتخاب برای تحمل خشکی در گندم می‌تواند براساس MP، GMP، و STI انجام شود (Mursalova *et al.*, 2015).

همان‌گونه که مشخص است، کاربرد این روش‌ها و تفسیر نتایج به‌دست آمده از آنها با پیچیدگی‌هایی همراه است. به‌طوری‌که می‌توان از روش‌های آماری چند متغیره مانند تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه به عامل‌ها برای دستیابی به یک نتیجه‌گیری کلی استفاده کرد (Abdolshahi *et al.*, 2013). نمره‌ی تحمل به تنش (STS) نیز به‌عنوان یک شاخص جدید معرفی شده است (Abdolshahi *et al.*, 2013). ارزیابی‌ها نشان داده است که نتایج به‌دست آمده از این نمره، با نتایج حاصل از تجزیه عامل‌ها برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل، یکسان بوده است. بیان شده است که استفاده از معادله‌ی نمره‌ی تحمل تنش یا STS خیلی ساده‌تر از تجزیه عامل‌ها است و به‌عنوان یک معیار برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل پیشنهاد می‌شود (Abdolshahi *et al.*, 2013). اگرچه گزارش‌های اندکی از ارزیابی تحمل تنش خشکی روی جمعیت‌های در حال تکلیک وجود دارد (Golbadi *et al.*, 2006)، این پژوهش به‌منظور ارزیابی شاخص‌های تحمل خشکی در جمعیت‌های حاصل از چهار لاین ایزوژن در گندم نان رقم روشن و رقم کل‌حیدری پرداخته است تا تأثیر دقیق ژن *Ppd-D1* بر تحمل خشکی گندم نان مشخص گردد.

## مواد و روش‌ها مواد گیاهی

از بین ۴۰ ژنوتیپ گندم نان مورد ارزیابی در پژوهش‌های پیشین، ارقام کل‌حیدری و روشن متحمل‌ترین ارقام به خشکی بودند (Abdolshahi *et al.*, 2013). در تحقیقات قبلی، زودرسی از یک رقم زودرس استرالیایی به نام اکسکلیر با استفاده از روش تلاقی برگشتی و برای توسعه نسل دوم از تلاقی برگشتی سوم (BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub>) به رقم روشن و کل‌حیدری منتقل شد (Dorrani-Nejad *et al.*, 2022). در تحقیق حاضر، گیاهان زودرس BC<sub>3</sub>F<sub>2</sub> با والد تکراری (روشن و کل‌حیدری) در سال ۲۰۱۸ تلاقی داده شد تا نسل BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> به‌دست آید. در این نسل، والدین و فرزندان از نظر ژن‌های کنترل‌کننده دوره‌ی نوری مورد ارزیابی قرار گرفتند. در طول نسل‌های BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub>، BC<sub>5</sub>F<sub>2</sub>، BC<sub>5</sub>F<sub>3</sub> و BC<sub>5</sub>F<sub>4</sub>، تنها گیاهان هتروزیگوت (*Ppd-D1a/Ppd-D1b*) با استفاده از نشانگرهای اختصاصی برای جایگاه *Ppd-D1* انتخاب شدند. پنج نسل تلاقی برگشتی و چهار نسل خودگشتی برای داشتن

آل‌های مختلف *Ppd-D1* در زمینه ژنتیکی یکسان انجام شد. هر دو ژنوتیپ هموزیگوت (*Ppd-D1a/Ppd-D1a* و *Ppd-D1b/Ppd-D1b*) در نسل BC<sub>5</sub>F<sub>5</sub> برای ایجاد لاین‌های ایزوژن برای *Ppd-D1* انتخاب شدند. در نسل BC<sub>5</sub>F<sub>5</sub>، لاین‌های هموزیگوت برای آزمایش‌های مزرعه‌ای نهایی انتخاب شدند (جدول ۱). توسعه نسل‌های BC<sub>5</sub>F<sub>1</sub> تا BC<sub>5</sub>F<sub>5</sub> در شرایط گلخانه‌ای با استفاده از تکنیک‌های به‌زادای سریع (Watson *et al.*, 2018) برای داشتن نسل‌های متعدد در سال بود. به‌طور خلاصه، در هر نسل، بلافاصله پس از برداشت، بذرها به‌مدت ۱۲۰ ساعت در آن با دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و سپس با اسید جیبرلین (۰/۵ پی‌پی‌ام) به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تیمار شدند. براساس شجره‌نامه، شباهت زمینه ژنتیکی لاین‌های ایزوژن ۹۹/۹۹ درصد بود. لاین‌های ایزوژن توسعه یافته با شباهت زیاد در زمینه ژنتیکی، ماده ژنتیکی مهمی برای ادامه‌ی مطالعات است.

جدول ۱- توسعه لاین‌های ایزوژن در زمینه ژنتیکی والد تکراری (روشن و کل‌حیدری)

Table 1. Development of Isogenic lines (ILs) in recurrent parents genetic background (Roshan and Kalheydari)

Comments توضیحات	Crosses تلاقی‌ها	Year سال
Selection of the earliest heading genotype and backcross 4	BC <sub>3</sub> F <sub>2</sub> × Recurrent parent	1396
Marker-assisted selection, selection of heterozygous progeny for the studied gene loci and backcross	BC <sub>4</sub> F <sub>1</sub> × Recurrent parent	1396
Marker-assisted selection, selection of heterozygous progeny for studied gene loci and selfing	BC <sub>5</sub> F <sub>1</sub>	
"	BC <sub>5</sub> F <sub>2</sub>	
"	BC <sub>5</sub> F <sub>3</sub>	1397
"	BC <sub>5</sub> F <sub>4</sub>	
Marker-assisted selection, selection of homozygous progeny for the studied as Isogenic lines (ILs)	BC <sub>5</sub> F <sub>5</sub>	

## مطالعات مولکولی

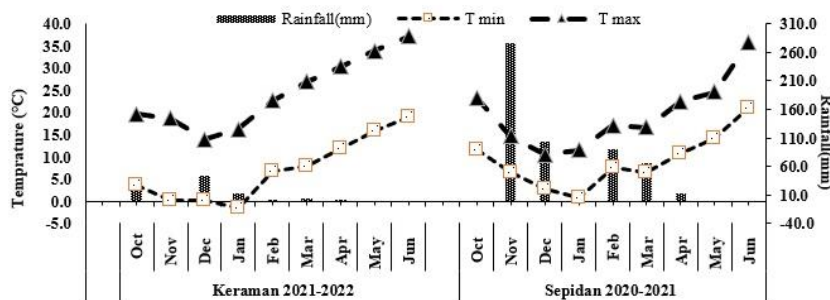
از ژنوتیپ‌های مورد نظر برگ‌های جوان جمع‌آوری، در فریزر منفی هشتاد نگهداری و استخراج دی‌ان‌ای ژنومی انجام شد (Zhang *et al.*, 1998). برای طبقه‌بندی آل‌های حساسیت یا عدم حساسیت به دوره نوری از نشانگرهای اختصاصی استفاده شد. مخلوط واکنش در حجم ۲۰ میکرولیتر حاوی ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم DNA الگوی ژنومی، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر و ۱۰ میکرولیتر 2X Taq PreMix و ۶ میکرولیتر آب بود. برای بررسی ژن *Ppd-D1* از جفت پرایمر ACGCCTCCCACTACTG و GTTGGTTCAAACAGAGAGC برای تکثیر آل *Ppd-D1b* با طول ۴۱۴ جفت باز و جفت پرایمر ACGCCTCCCACTACTG و CACTGGTGGTAGCTGAGATT برای تکثیر آل *Ppd-D1a* با طول ۲۲۸ جفت باز استفاده شد (Beales *et al.*, 2007).

در برنامه واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت دو دقیقه و مراحل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگرها به‌مدت ۱ دقیقه و توسعه زنجیره پلیمرز در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، ۳۶ سیکل در دستگاه Analytik jena (Biometra Tone) انجام شد. توسعه نهایی زنجیره پلیمرز در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. پس از تکثیر، محصولات PCR روی ژل آگارز ۱ درصد با رنگ‌آمیزی ایمن توسط DNA green viewer و در دستگاه الکتروفورز Labnet جدا شدند و زیر نور فرابنفش عکس‌برداری انجام شد.

### آزمایش های مزرعه ای

والدین و چهار لاین ایزوژن *Ppd-D1a* در زمینه ی ژنتیکی روشن، *Ppd-D1a* در کل حیدری، *Ppd-D1b* در زمینه ی ژنتیکی کل حیدری در در شرایط دیم شهرستان سپیدان استان فارس (۳۰.۲۵) درجه عرض شمالی، ۵۱.۸۹ درجه طول شرقی و میانگین بلندمدت بارندگی سالانه ۷۴۵ میلی متر) در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۹ و در شرایط فاریاب استان کرمان در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۴۰۰ (۲۹.۲۳) درجه عرض شمالی، ۵۶.۵۹

درجه طول شرقی و میانگین بلندمدت بارندگی سالانه ۱۱۹ میلی متر) کاشته شدند. فاصله ردیف، اندازه کرت برداشت و تراکم بوته به ترتیب ۰/۲ متر، ۲۰ متر مربع و ۳۰۰ بوته در متر مربع بود. در هر مکان، ژنوتیپ ها در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. بارندگی ماهانه و دما (حداکثر و حداقل) از زمان کاشت (آبان) تا برداشت (خرداد) در شکل ۱ ارائه شده است.



شکل ۱- میزان بارندگی ماهانه و دما (حداکثر و حداقل) از کاشت (اکتبر) تا برداشت (ژوئن) در شرایط دیم سپیدان و فاریاب کرمان  
Figure 1. Monthly rainfall and temperature (maximum and minimum) from sowing (October) till harvesting (June) in experiments under rain-fed conditions of Sepidan and well-watered conditions of Kerman.

### نمونه برداری و اندازه گیری صفات

در پژوهش حاضر صفات مهم زراعی شامل تعداد روز تا گلدهی، تعداد روز تا رسیدن، طول دوره پرشدن دانه، تعداد سنبله در متر مربع، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه و عملکرد دانه، ارزیابی شدند. روز تا گلدهی به عنوان تعداد روزهایی که در آن سنبله ی ۵۰ درصد از کل گیاهان در یک کرت از غلاف برگ بیرون آمده بودند، ثبت شد. تعداد روز تا رسیدگی زمانی ثبت شد که ۷۵ درصد از گیاهان در یک کرت دارای دمگل هایی بودند که از رنگ سبز به طلایی تبدیل شده بودند (Rahman et al., 2021). طول دوره پر شدن دانه از اختلاف تعداد روز تا رسیدن و تعداد روز تا گلدهی به دست آمد.

تعداد دانه در سنبله و وزن ۱۰۰۰ دانه با استفاده از ۲۰۰ سنبله انتخابی تصادفی در هر کرت اندازه گیری شد. رابطه بین عملکرد دانه و اجزای عملکرد به شرح زیر است (Rawson, 1970):  
رابطه (۱):

$$\text{وین تک دانه (گرم)} \times \text{تعداد دانه در سنبله} \times \text{تعداد سنبله در مترمربع} = \text{عملکرد دانه (gr/m}^2\text{)}$$

بر این اساس و بر اساس رابطه ۱، تعداد سنبله ها در متر مربع به صورت زیر محاسبه شد:

$$\text{رابطه (۲):} \quad \frac{\text{عملکرد دانه (گرم در مترمربع)}}{\text{وین تک دانه} \times \text{تعداد دانه در هر سنبله}} = \text{تعداد سنبله در مترمربع}$$

عملکرد دانه پس از حذف حاشیه اندازه گیری شد. با استفاده از عملکرد لاین ها در شرایط بدون تنش رطوبتی ( $Y_p$ )

و تنش ( $Y_s$ )، شاخص های تحمل تنش برای هر دو شرایط کشت به شرح زیر محاسبه گردید:

$$\text{رابطه (۳)} \quad TOL = Y_p - Y_s$$

$$\text{رابطه (۴)} \quad MP = \frac{(Y_p + Y_s)}{2}$$

$$\text{رابطه (۵)} \quad GMP = (Y_p \times Y_s)^{0.5}$$

$$\text{رابطه (۶)} \quad STI = \frac{(Y_p \times Y_s)}{Y_p^2}$$

$$\text{رابطه (۷)} \quad SSI = \frac{1 - \frac{Y_s}{Y_p}}{1 - \frac{Y_s}{Y_p}}$$

$$\text{رابطه (۸)} \quad YI = \frac{Y_s}{Y_p}$$

$$\text{رابطه (۹)} \quad YSI = \frac{Y_s}{Y_p}$$

در این روابط،  $Y_p$  برابر با عملکرد دانه هر ژنوتیپ در شرایط نرمال رطوبتی،  $Y_s$  برابر با عملکرد دانه هر ژنوتیپ در شرایط تنش رطوبتی،  $\bar{Y}_p$  و  $\bar{Y}_s$  هم به ترتیب برابر با میانگین عملکرد دانه ژنوتیپ ها در شرایط نرمال و تنش رطوبتی می باشد. همبستگی بین این شاخص ها و عملکرد دانه در دو محیط، راه مناسبی برای شناسایی بهترین شاخص ها به منظور تعیین ژنوتیپ های متحمل به تنش است. به منظور استفاده همزمان از شاخص های محاسبه شده، با استفاده از این شاخص ها و یک معادله، نمره ی تحمل به تنش (STS) برای هر ژنوتیپ محاسبه گردید.

$$\text{رابطه (۱۰)} \quad STS = MP + GMP + STI + HM + YI + YSI - SSI$$

به منظور افزایش صحت نتایج، مقادیر شاخص‌های مورد نظر قبل از استفاده در این معادله با استفاده از فرمول زیر استاندارد شدند:

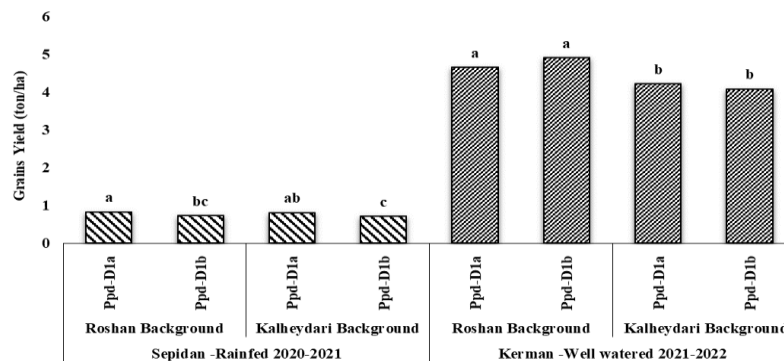
$$Z_{ij} = \frac{X_{ij} - \bar{X}_i}{S_i} \quad \text{رابطه (۱۱)}$$

در این رابطه  $Z_{ij}$  مقدار استاندارد ژنوتیپ زام در شاخص  $\bar{X}_i$  زام، داده خام ژنوتیپ زام و  $S_i$  انحراف استاندارد شاخص زام می‌باشد. به منظور آنالیز داده‌ها، محاسبه شاخص‌ها، تجزیه همبستگی، رسم نمودارها، تجزیه به مولفه‌های اصلی و رسم نمودار بای پلات از نرم افزار Excel 2016، XLSTAT 2016 و SPSS ver. 16 استفاده شد.

## نتایج و بحث

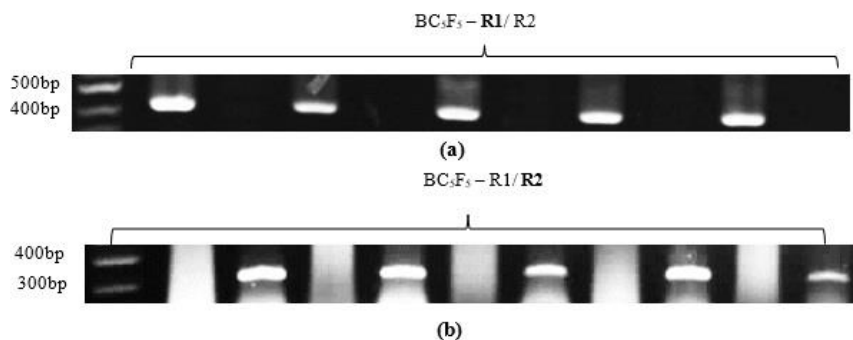
در پژوهش حاضر چهار لاین ایزوژن در دو زمینه‌ی ژنتیکی روشن و کل‌حیدری برای مکان ژنی دوره‌ی نوری *Ppd-D1* ایجاد شد (شکل ۲). تفاوت در این مکان ژنی به دلیل حساسیت یا عدم حساسیت آل‌های این ژن به طول روز است. این ژن زودرسی را کنترل می‌نماید و با کنترل زودرسی باعث سازگاری گندم به شرایط آب و هوایی مختلف می‌شود و در نهایت عملکرد گندم در محیط هدف را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kamran et al., 2014; Langer et al., 2014; Seki et al., 2013; Zikhali et al., 2014). مکان ژنی *Ppd-D1* ۵۸ درصد از تنوع ژنتیکی زمان گلدهی ارقام گندم زمستانه اروپایی را توجیه کرده است و تنها ژن مناسب برای انتخاب و تلاقی برگشتی به کمک نشانگر است. این ژن زودرسی بودن گندم نان را بهبود می‌بخشد. تحقیقات متعددی تأثیر مثبت و معنادار *Ppd-D1a* بر زودرسی بودن در شرایط محیطی مختلف نشان داد (Chen et al., 2018; Fait and Balashova, 2022; Langer et al., 2014; Shcherban et al., 2015). در تحقیق حاضر، لاین‌های ایزوژنیک برای *Ppd-D1* در دو زمینه ژنتیکی برای ارزیابی اثر دقیق این آل بر زودرسی، عملکرد و اجزای عملکرد توسعه یافتند. برخلاف *Ppd-D1b* که یک آل حساس به دوره نوری است، *Ppd-D1a* به عنوان یک آل غیرحساس به دوره نوری، به طور موثری در شرایط دیم و فاریاب، گلدهی زود هنگام را بهبود می‌بخشد. آل *Ppd-D1a* تعداد روز تا گلدهی را در زمینه ژنتیکی روشن به میزان ۳/۷۵ و ۴/۰۰ روز و در زمینه ژنتیکی کل‌حیدری به میزان ۵/۰۸ و ۴/۷ روز به ترتیب در شرایط دیم سپیدان و فاریاب کرمان کاهش داد. این نتایج در تعداد روز تا رسیدن نیز پیش‌بینی شد، زمانی که *Ppd-D1a* این صفت را به ترتیب در زمینه‌های ژنتیکی روشن و کل‌حیدری ۷/۰۴ و ۸/۰۲ روز بهبود بخشید. *Ppd-D1a* زودرسی بودن را در هر دو زمینه ژنتیکی بهبود بخشید، در حالی که عملکرد بهتری در

زمینه ژنتیکی کل‌حیدری داشت. این یافته‌ها اثر متقابل زمینه ژنتیکی و ژن *Ppd-D1* را تأیید کرد. علیرغم تأثیر مثبت *Ppd-D1a* بر زودرسی بودن در هر دو زمینه ژنتیکی و تحت همه محیط‌ها، بین پس‌زمینه‌های ژنتیکی و آل‌های *Ppd-D1a* برای زودرسی برهم‌کنش وجود داشت، به این معنی که زمینه‌های ژنتیکی میزان پاسخ به انتخاب را تعیین می‌کنند. پژوهش‌های دیگری نیز نشان داده است که *Ppd-D1a* بسته به محیط‌ها و زمینه‌های ژنتیکی، زمان گلدهی را از ۱ تا ۷ روز بهبود می‌بخشد (Krupin et al., 2020). لاین ایزوژن *Ppd-D1a* در زمینه‌ی ژنتیکی روشن کمترین تعداد روز تا گلدهی (۱۶۷.۷۵) را در شرایط تنش رطوبتی و لاین ایزوژن *Ppd-D1a* در زمینه‌ی ژنتیکی کل‌حیدری و در شرایط فاریاب، کمترین تعداد روز تا گلدهی (۱۶۴ روز) را داشت (شکل ۳). دوره‌ی گرده‌افشانی و پر شدن دانه، یعنی زمانی که مواد جذب شده از برگ و ساقه به دانه‌ها حرکت می‌کنند، حساس‌ترین مراحل رشد در برابر تنش خشکی هستند (Shavrukov et al., 2017). از این رو، فرار از خشکی، یک مکانیسم سازگاری کلاسیک است که به گندم اجازه می‌دهد تا چرخه زندگی خود را قبل از تنش خشکی آتی تکمیل کند و یک استراتژی مهم برای کاهش اثر منفی تنش آبی پایان فصل است (Hill and Li, 2016; Shavrukov et al., 2017). از طرفی سازگاری ژنوتیپ‌های مختلف با شرایط محیطی، به تناسب زمان گلدهی با محیط رشد مرتبط بوده و گلدهی در زمان مناسب منجر به افزایش عملکرد نسبت به گلدهی زود هنگام و یا گلدهی با تأخیر خواهد شد (Kamran et al., 2014). زمان گلدهی به عنوان یک صفت زراعی مهم در غلاتی مانند جو معیاری برای به حداکثر رساندن عملکرد است (Taheripourfard et al., 2018). نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد در شرایط تنش رطوبتی از بین لاین‌های ایزوژن مورد مطالعه، در لاین‌های دارای آل *Ppd-D1a* عملکرد دانه به ترتیب ۹۶ و ۹۹ کیلوگرم در هکتار در زمینه ژنتیکی روشن و کل‌حیدری به طور قابل توجهی (معادل ۱۳ و ۱۴ درصد افزایش) بهبود یافت (شکل ۴). با این وجود، هیچ تفاوت معنی‌داری بین لاین‌های ایزوژن در هر دو زمینه ژنتیکی تحت شرایط فاریاب وجود نداشت. این نتایج اهمیت انتخاب و تلاقی برگشتی به کمک نشانگر را برای *Ppd-D1a* در برنامه‌های به نژادی برای شرایط دیم برجسته کرد. علی‌رغم تفاوت‌های ناچیز بین لاین‌های ایزوژن در شرایط فاریاب، کوتاه کردن فاز رویشی نیز در شرایطی که منابع آب محدود است، هدف مهمی است.



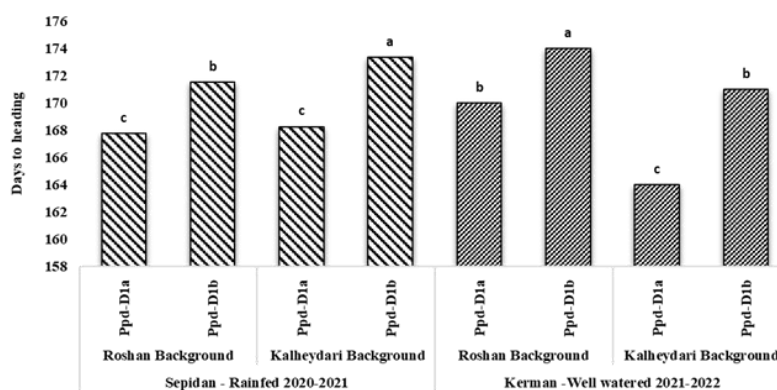
شکل ۲- ژنوتیپ های هموزیگوت شامل *Ppd-D1b/Ppd-D1b* (۴۱۴ جفت باز) و *Ppd-D1a/Ppd-D1a* (۲۸۸ جفت باز) برای لاین های ایزوژن (a و b)

Figure 2. Homozygote genotypes including *Ppd-D1b/Ppd-D1b* and *Ppd-D1a/Ppd-D1a* for isogenic lines (a and b).



شکل ۳- تعداد روز تا گلدهی در لاین های ایزوژن در شرایط دیم سپیدان و فاریاب کرمان

Figure 3. Days to heading of isogenic lines under rain-fed conditions of Sepidan and well-watered conditions of Kerman



شکل ۴- عملکرد دانه در لاین های ایزوژن در شرایط دیم سپیدان و فاریاب کرمان

Figure 4. Grains yield of isogenic lines under rain-fed conditions of Sepidan and well-watered conditions of Kerman

شاخص SSI نیز همین دو لاین ایزوژن را به عنوان متحمل ترین ژنوتیپ معرفی کرد. بالاتر بودن شاخص های *YI*, *STI*, *GMP* در زمینه ی ژنتیکی روشن و *YSI* در زمینه ی ژنتیکی کل حیدری نشان دهنده ی تأثیر زمینه ی ژنتیکی در تعیین میزان تحمل تنش توسط این شاخص ها می باشد. ضریب همبستگی بین شاخص های تحمل تنش و

مقادیر بالای شاخص های *MP*, *GMP*, *STI*, *YI* و *YSI* و مقادیر پایین شاخص *SSI* نشان دهنده ی تحمل تنش می باشد. بر اساس شاخص های *YI*, *STI*, *GMP* و *YSI* لاین های ایزوژن *Ppd-D1a* در هر دو زمینه ی ژنتیکی نسبت به لاین ایزوژن دارای آلل حساسیت به طول روز به عنوان متحمل ترین ژنوتیپ ها شناسایی شدند (جدول ۲).



متحمل‌ترین لاین شناخته شد و لاین‌های ایزوژن *Ppd-D1b* با کمترین مقدار در شاخص نمره تحمل به تنش، حساس‌ترین ژنوتیپ تعیین شدند. سازگاری ژنوتیپ‌های مختلف با شرایط محیطی، به تناسب زمان گلدهی با محیط رشد مرتبط بوده و گلدهی در زمان مناسب منجر به افزایش عملکرد خواهد شد (Kamran et al., 2014). بنابراین گزینش ژنوتیپ‌های سازگار با شرایط محیطی هر منطقه منجر به عملکرد مناسب و استفاده از منابع ژنتیکی در دسترس خواهد بود (Rahimi et al., 2019).

عملکرد دانه در شرایط نرمال و تنش رطوبتی در لاین‌های ایزوژن مورد مطالعه در جدول ۳ آورده شده است. با توجه به وضعیت همبستگی عملکرد در محیط تنش (Ys) و غیر تنش (Yp) ( $0.952^*$ )، مشخص گردید که به‌طور کلی گزینش در هر دو شرایط می‌تواند لاین ایزوژن پرمحصول و با پایداری عملکرد خوب را نشان دهد. مقدار نمره تحمل به تنش (STS) محاسبه شده بر اساس رابطه ۱۰ برای هر لاین ایزوژن در جدول ۲ آمده است. بر اساس این شاخص هم، در هر دو زمینه ژنتیکی لاین ایزوژن *Ppd-D1a* به‌عنوان

جدول ۲- عملکرد دانه در شرایط نرمال، تنش رطوبتی و شاخص‌های تحمل تنش لاین‌های ایزوژن گندم

Table 2. Mean of seed yield in normal (Yp), water stress (Ys) conditions and tolerance indices for the isogenic lines in wheat

STS	YSI	YI	SSI	STI	GMP	MP	Ys (t/ha)	Yp (t/ha)	Isogenic Line
نمره تحمل به تنش	شاخص پایداری عملکرد	شاخص عملکرد	شاخص حساسیت به تنش	شاخص تحمل تنش	میانگین هندسی تولید	میانگین تولید	عملکرد در شرایط تنش رطوبتی (تن/هکتار)	عملکرد در شرایط نرمال رطوبتی (تن/هکتار)	لاین ایزوژن
Roshan Background									
8.826	1.509	1.502	-1.509	1.482	1.450	1.371	0.841	4.747	زمینه ژنتیکی روشن
0.048	-0.402	0.039	0.402	0.176	0.216	0.421	0.727	4.554	<i>Ppd-D1a</i>
Kalheydari Background									
-1.203	0.133	-0.246	-0.133	-0.384	-0.352	-0.487	0.705	4.282	زمینه ژنتیکی کل حیدری
-7.671	-1.241	-1.295	1.241	-1.273	-1.313	-1.305	0.623	4.099	<i>Ppd-D1a</i>
<i>Ppd-D1b</i>									

Yp: عملکرد دانه هر ژنوتیپ در شرایط نرمال رطوبتی (Seed yield in normal condition)  
 Ys: عملکرد دانه هر ژنوتیپ در شرایط تنش رطوبتی (Seed yield in stress condition)  
 STI: شاخص تحمل تنش (Stress tolerance index)  
 SSI: شاخص حساسیت به تنش (Stress susceptibility index)  
 STS: نمره تحمل به تنش (Stress tolerance score)  
 MP: میانگین تولید (Mean productivity)  
 YI: شاخص عملکرد (Yield index)  
 GMP: میانگین هندسی تولید (Geometric mean productivity)  
 YSI: شاخص پایداری عملکرد (Yield stability index)

جدول ۳- ضرایب همبستگی شاخص‌های تحمل تنش و عملکرد دانه در شرایط نرمال و تنش رطوبتی در لاین‌های ایزوژن گندم

Table 3. Simple correlation coefficients between tolerance indices and seed yield in normal (Yp) and water stress (Ys) conditions in the the isogenic lines in wheat

YSI	YI	SSI	STI	GMP	MP	Ys	Yp	لاین ایزوژن
شاخص پایداری عملکرد	شاخص عملکرد	شاخص حساسیت به تنش	شاخص تحمل تنش	میانگین هندسی تولید	میانگین تولید	عملکرد در شرایط تنش رطوبتی	عملکرد در شرایط نرمال رطوبتی	Isogenic Line
							1	Yp
							0.982**	عملکرد در شرایط نرمال رطوبتی
						1		Ys
						0.986**	1.00**	عملکرد در شرایط تنش رطوبتی
					1			MP
					0.998**	0.994**	0.997**	میانگین تولید
				1				GMP
				0.999**	0.999**	0.991**	0.998**	میانگین هندسی تولید
			1					STI
			0.878	0.869	0.896	0.809	0.905*	شاخص تحمل تنش
		1						SSI
		0.809	0.991**	0.994**	0.986**	1.000**	0.982**	شاخص حساسیت به تنش
	1							YI
	-0/809	-1.00**	-0.878	-0.869	-0.896	-0/809	-0.905*	شاخص عملکرد
1								YSI
								شاخص پایداری عملکرد

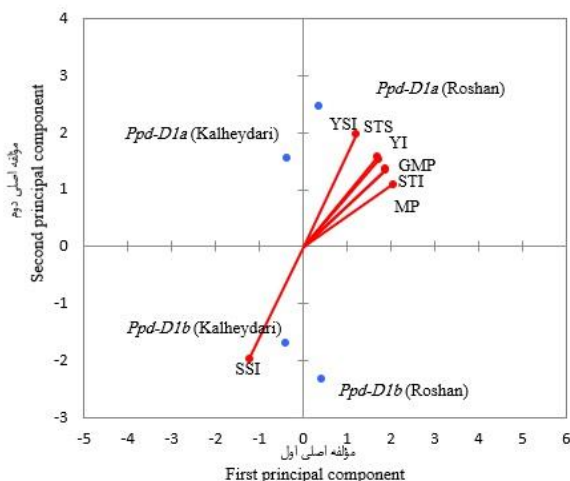
به‌عنوان مولفه‌ی تحمل تنش شناخته شد. بر این اساس و با توجه به نمودار بای‌پلات می‌توان نتیجه گرفت ایزولاین *Ppd-D1a* در زمینه‌ی ژنتیکی روشن را به‌عنوان متحمل‌ترین ایزولاین معرفی کرد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود این نتایج با نتایج حاصل از شاخص‌های تحمل تنش یکسان است و این در حالی است که استفاده از رابطه (۱۰) آسان‌تر از روش‌های چند متغیره نظیر تجزیه به مولفه‌های اصلی می‌باشد.

نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که ۹۹/۹۸ درصد از کل تغییرات شاخص‌ها توسط دو مولفه اصلی اول و دوم توجیه می‌شود (جدول ۴). نمودار بای‌پلات براساس این دو مولفه رسم گردید (شکل ۵). اولین مولفه اصلی ۵۳/۴۶ درصد و مولفه‌ی اصلی دوم ۴۶/۴۳ درصد از تغییرات را توجیه کرد. براساس همبستگی بالا و مثبت مولفه اصلی اول با شاخص‌های MP، GMP، STI، YI و STS می‌توان این مولفه را مولفه‌ی تحمل تنش نامید. مولفه‌ی اصلی دوم نیز بر اساس همین نوع همبستگی با شاخص‌های YI، YS و STS

جدول ۴- نتايج تجزيه به مؤلفه هاي اصلي بر اساس شاخص هاي تحمل تنش در لاین های ایزوژن گندم

Table 4. Principal components analysis based on the tolerance indices in the isogenic lines in wheat

نمره تحمل به تنش STS	شاخص پایداری عملکرد YSI	شاخص عملکرد YI	شاخص حساسیت به تنش SSI	شاخص تحمل تنش STI	میانگین هندسی تولید GMP	میانگین تولید MP	واریانس تجمعی (%) Cumulative variance%	مؤلفه های اصلی Principal components
0.733	0.526	0.749	-0.526	0.809	0.815	0.882	53.546	مؤلفه اصلی اول First principal component
0.681	0.850	0.662	-0.850	0.587	0.580	0.471	99.981	مؤلفه اصلی دوم Second principal component



شکل ۵- نمودار بای پلات شاخص های تحمل تنش در لاین های ایزوژن گندم بر اساس دو مؤلفه اصلی

Figure 5. Biplot analysis graph for tolerance indices in the isogenic lines in wheat based on the first two components

می شود. در مطالعات مربوط به افزایش تحمل خشکی گندم نان می توان با استفاده از گزینش به کمک نشانگر، گزینش را برای ژن *Ppd-D1* انجام داد.

### تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله از پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی به خاطر حمایت مالی این پروژه سپاسگزاری می نمایند.

### نتیجه گیری کلی

لاین ایزوژن *Ppd-D1a* در زمینه ی ژنتیکی روشن بالاترین میزان تحمل خشکی را دارد. این نتایج نشان می دهد که آلل عدم حساسیت به دوره ی نوری با بهبود زودرسی، تحمل خشکی و پتانسیل عملکرد در ارتباط است. این آلل از طریق فعال کردن مکانیسم فرار از خشکی و گرمای آخر فصل، باعث بهبود عملکرد و در نتیجه افزایش تحمل خشکی

### References

- Abdolshahi, R., Safarian, A., Nazari, M., Pourseyedi, S., & Mohamadi-Nejad, G. (2013). Screening drought-tolerant genotypes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) using different multivariate methods. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 59(5), 685–704. <http://doi:10.1080/03650340.2012.667080>
- Beales, J., Turner, A., Griffiths, S., Snape, J.W., Laurie, D.A. (2007). A pseudo-response regulator is mis-expressed in photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum*). *Theor Appl Genet*, 115, 721–733. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0603-4>
- Bousslama, M., Schapaugh, W. T. (1984). Stress tolerance in soybean. Part 1: evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Science*, 24(5), 933-937.
- Chen, L., Du, Y., Lu, Q., Chen, H., Meng, R., Cui, C., Lu, S., Yang, Y., Chai, Y., & Li, J. (2018). The photoperiod-insensitive allele *Ppd-D1a* promotes earlier flowering in *Rht12* dwarf plants of bread wheat. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1312. <http://doi:10.3389/fpls.2018.01312>
- Dorrani-Nejad, M., Kazemipour, A., Maghsoudi-Moud, A. A., & Abdolshahi, R. (2022). Wheat breeding for early heading: Does it improve grain yield under drought stress and well-watered conditions? *Environmental and Experimental Botany*, 200, 104902. <http://doi:10.1016/j.envexpbot.2022.104902>
- Fait, V. I., & Balashova, I. A. (2022). Distribution of Photoperiod-Insensitive Alleles *Ppd-D1a*, *Ppd-B1a*, and *Ppd-B1c* in Winter Common Wheat Cultivars (*Triticum aestivum* L.) of Various Origin. *Cytology and Genetics*, 56(2), 109–117. <http://doi:10.3103/S0095452722020049>
- Farshadfar, E., Poursiahbidi, M. M., & Safavi, S. M. (2013). Assessment of drought tolerance in land races of bread wheat based on resistance/tolerance indices. *International Journal of Advanced*

- Biological and Biomedical Research*, 1(2), 143–158.
- Fernandez, G.C. (1992). Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In Proceeding of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crops in Temperature and Water Stress, Aug. 13-16, Shanhua, Taiwan, 257-270. <https://doi.org/10.22001/wvc.72511>
- Fischer, R.A., Maurer, R. (1978). Drought resistance in spring wheat cultivars. Part 1: grain yield response, 29(5), 897-912. <http://dx.doi.org/10.1071/AR9780897>
- Gavuzzi, P., Rizza, F., Palumbo, M., Campanile, R. G., Ricciardi, G. L., & Borghi, B. (1997). Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. *Canadian Journal of Plant Science*, 77(4), 523–531. <https://doi.org/10.4141/P96-130>
- Golabadi, M., Arzani, A., & Maibody, S. A. M. (2006). Assessment of drought tolerance in segregating populations in durum wheat. *African Journal of Agricultural Research*, 1(5), 162–171.
- Hill, C. B., & Li, C. (2016). Genetic architecture of flowering phenology in cereals and opportunities for crop improvement. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1906. <http://doi:10.3389/fpls.2016.01906>
- Kamran, A., Iqbal, M., & Spaner, D. (2014). Flowering time in wheat (*Triticum aestivum* L.): a key factor for global adaptability. *Euphytica*, 197, 1–26. <http://doi:10.1007/s10681-014-1075-7>
- Khanizadeh, A., Rashidi, V., Eivazi, A. R., Khalilvand Behroziar, E., & Yarnia, M., (2021). Evaluation of Drought Tolerance in Advance Lines and Cultivars of Winter Wheat. *Journal of Crop Breeding*, 13 (38). <http://doi:10.52547/jcb.13.38.193>
- Krupin, P. Y., Karlov, G. I., Bepalova, L. A., Salina, E. A., Chernook, A. G., Watanabe, N., Bazhenov, M. S., Panchenko, V. V., Nazarova, L. A., & Kovtunenkov, V. Y. (2020). Effects of Rht17 in combination with Vrn-B1 and Ppd-D1 alleles on agronomic traits in wheat in black earth and non-black earth regions. *BMC plant biology*, 20(1), 304. <http://doi:10.1186/s12870-020-02514-0>
- Kulkarni, M., Soolanayakanahally, R., Ogawa, S., Uga, Y., Selvaraj, M. G., & Kagale, S. (2017). Drought response in wheat: key genes and regulatory mechanisms controlling root system architecture and transpiration efficiency. *Frontiers in Chemistry*, 5, 106. <http://doi:10.3389/fchem.2017.00106>
- Langer, S. M., Longin, C. F. H., & Würschum, T. (2014). Flowering time control in European winter wheat. *Frontiers in Plant Science*, 5, 537. <http://doi:10.3389/fpls.2014.00537>
- Moghaddasi, L., Rashidi, V., & Rosban-Haghighi, A. (2010). Evaluation of drought tolerance in durum wheat lines using application of drought tolerance indices. *11th Crop Science Congress. Iran, Shahid Beheshti University of Tehran*.
- Mursalova, J., Akparov, Z., Ojaghi, J., Eldarov, M., BELEN, S., GUMMADOV, N., & Morgounov, A. (2015). Evaluation of drought tolerance of winter bread wheat genotypes under drip irrigation and rain-fed conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(5), 817–824. <http://doi:10.3906/tar-1407-152>
- Nikkhah, H. R., Tajali, H., Tabatabaie, S. A., & Taheri, M. (2023). Evaluation of Yield Stability and Drought Tolerance of Barley Genotypes in Temperate Regions of the Iran. *Journal of Crop Breeding*, 14(44). <http://doi:10.52547/jcb.14.44.1>
- Nitcher, R., Pearce, S., Tranquilli, G., Zhang, X., & Dubcovsky, J. (2014). Effect of the hope FT-B1 allele on wheat heading time and yield components. *Journal of Heredity*, 105(5), 666–675. <http://doi:10.1093/jhered/esu042>
- Omidi, M., Siahpoosh, M. R., Mamghani, R., & Modarresi, M. (2015). Heat tolerance evaluating of wheat cultivars using physiological characteristics and stress tolerance indices in Ahvaz climatic conditions. *Plant Productions*, 38(1), 103–113. <https://doi.org/10.22055/ppd.2015.11135>
- Radhika, T. S. K. (2014). Comparative yield responses of wheat genotypes under sowing date mediated heat stress conditions on basis of different stress indices. *Ind. J. Ecol*, 41, 339–343.
- Rahimi, Y., Bihamta, M., Taleei, A., & Ali Pour, H. (2019). Genetic variability assessment of Iranian wheat landraces in term of some agronomic attributes under normal irrigation and rain-fed conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 50(3), 1–16. [10.22059/IJFCS.2018.258294.654471](https://doi.org/10.22059/IJFCS.2018.258294.654471)
- Rahman, M. M., Crain, J., Haghhighattalab, A., Singh, R. P., & Poland, J. (2021). Improving wheat yield prediction using secondary traits and high-density phenotyping under heat-stressed environments. *Frontiers in Plant Science*, 12, 633651. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.633651>
- Rawson, H. M. (1970). Spikelet number, its control and relation to yield per ear in wheat. *Australian Journal of Biological Sciences*, 23(1), 1–16. <https://doi.org/10.1071/B19700001>
- Rosielle, A.A., Hamblin, J. (1981). Theoretical aspects of selection for yield in stress and nonstress environment. *Crop Science*, 21(6), 943-946. doi: 10.2135/cropsci1981.0011183X002100060033x
- Seki, M., Chono, M., Nishimura, T., Sato, M., Yoshimura, Y., Matsunaka, H., Fujita, M., Oda, S., Kubo, K., & Kiribuchi-Otobe, C. (2013). Distribution of photoperiod-insensitive allele Ppd-A1a and its effect on heading time in Japanese wheat cultivars. *Breeding Science*, 63(3), 309–316. <http://doi:10.1270/jsbbs.63.309>
- Shavrukov, Y., Kurishbayev, A., Jatayev, S., Shvidchenko, V., Zotova, L., Koekemoer, F., De Groot, S., Soole, K., & Langridge, P. (2017). Early flowering as a drought escape mechanism in plants: how can it aid wheat production? *Frontiers in Plant Science*, 8, 1950. <http://doi:10.3389/fpls.2017.01950>

- Shcherban, A. B., Börner, A., & Salina, E. A. (2015). Effect of VRN-1 and PPD-D1 genes on heading time in European bread wheat cultivars. *Plant Breeding*, 134(1), 49–55. <http://doi:10.1111/pbr.12223>
- Shiri, M., Valizadeh, M., Magjidi, E., Sanjari, A., & GHARIB, E. A. (2010). *EVALUATION OF WHEAT TOLERANCE INDICES TO MOISTURE STRESS CONDITION*.
- Taheripourfard, Z. S., Izadi-Darbandi, A., Ghazvini, H., Ebrahimi, M., & Mortazavian, S. M. M. (2018). Characterization of specific DNA markers at VRN-H1 and VRN-H2 loci for growth habit of barley genotypes. *Journal of Genetics*, 97, 87–95. <https://doi.org/10.1007/s12041-018-0886-z>
- Watson, A., Ghosh, S., Williams, M. J., Cuddy, W. S., Simmonds, J., Rey, M.-D., Asyraf Md Hatta, M., Hinchliffe, A., Steed, A., & Reynolds, D. (2018). Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. *Nature Plants*, 4(1), 23–29. <http://doi:10.1038/s41477-017-0083-8>
- Zhang, Y.P., Uyemoto, J., Kirkpatrick, B. (1998). A small-scale procedure for extracting nucleic acids from woody plants infected with various phytopathogens for PCR assay. *Journal of Virological Methods*, 71(1), 45-50. [http://doi.org/10.1016/S0166-0934\(97\)00190-0](http://doi.org/10.1016/S0166-0934(97)00190-0)
- Zebarjadi, A. R., Shadpey, T., Etmnan, A. R., & Mohammadi, R. (2013). Evaluation of drought stress tolerance in durum wheat genotypes using drought tolerance indices. *Seed and Plant Improvement Journal*, 29(1).
- Zikhali, M., Leverington-Waite, M., Fish, L., Simmonds, J., Orford, S., Wingen, L. U., Goram, R., Gosman, N., Bentley, A., & Griffiths, S. (2014). Validation of a 1DL earliness per se (eps) flowering QTL in bread wheat (*Triticum aestivum*). *Molecular Breeding*, 34, 1023–1033. <http://doi:10.1007/s11032-014-0094>