دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

ارزیابی مورفولوژیکی و مبتنی بر نشانگر برای سنبله‌دهی در گندم

ساسان گل‌چشمه[۱]، محمدهادی پهلوانی[۲]، محسن اسماعیل‌زاده مقدم[۳] و خلیل زینلی‌نژاد[۴]

۱ و ۴- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: hpahlavani@yahoo.com)
۳- دانشیار موسسه تحقیقات، اصلاح و تهیه نهال بذر، سازمان تحقیقات، آموزشی و ترویج کشاورزی، البرز، ایران
تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۲۳
صفحه: ۱۵۳ تا ۱۶۰

چکیده

پژوهش حاضر به‌منظور مطالعه تنوع مورفولوژیکی و بررسی ارتباط بین نشانگر مولکولی مرتبط با سنبله‌دهی در ژنوتیپ‌های گندم نان، در دو بخش مزرعه و آزمایشگاه صورت پذیرفت. در آزمایش مزرعه‌ای از سه میزان تراکم بذر شامل ۱۵۰، ۳۰۰ و ٤٥٠ دانه در مترمربع به‌عنوان عامل اصلی و از ۱۰ ژنوتیپ گندم نان شامل ارقام آرتا، اینیا، تجن، دریا، شیرودی، گلستان، گنبد، مروارید، مغان۳ و لاین N-87-20 به‌عنوان عامل فرعی به‌صورت کرت‌های خرد شده در سه تکرار استفاده گردید. صفات شامل تعداد سنبله‌های فرعی، وزن سنبله‌های اصلی و فرعی، سهم سنبله‌های اصلی و فرعی، عملکرد دانه در کرت و در بوته، طول سنبله اصلی و ارتفاع بوته بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد عامل ژنوتیپ روی همه صفات تأثیر معنی‌دار داشته، درحالی‌که اثر عامل تراکم برای متغیرهای وزن سنبله‌های اصلی و فرعی، عملکرد دانه در کرت و در بوته و طول سنبله اصلی معنی‌دار بود. هیچ یک از صفات تحت تأثیر اثر متقابل ژنوتیپ × تراکم قرار نگرفتند. با توجه به نتایج، تراکم و ژنوتیپ نقش مهم در عملکرد دانه ژنوتیپ‌های گندم داشتند ولی اثر ژنوتیپ بیش‌تر از تراکم بود. در آزمایش مولکولی از نشانگر SSR با نام Xgwm136 مرتبط با ژن tin (مربوط به تعداد سنبله) در ژنوتیپ‌های گندم استفاده شد. بررسی محصول PCR این نشانگر بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید نشان داد حضور باند با اندازه ۳۰۰ تا ۳۵۰ جفت‌باز که احتمالا با کاهش تعداد سنبله‌های فرعی (پنجه) مرتبط است، در ژنوتیپ‌های تجن، شیرودی، گلستان، دریا و گنبد که قبلا پایین بودن تعداد سنبله‌های فرعی آن‌ها در آزمایش مزرعه‌ای اثبات شده بود، تایید گردید. بنابراین می‌توان گفت کارایی نشانگر tin برای غربال‌گری ژنوتیپ‌های گندم نان برای تعداد سنبله‌های فرعی کم‌تر اثبات گردید.

واژه‌های کلیدی: پنجه، تراکم، سنبله، گندم نان، نشانگر، SSR

مقدمه

گندم به‌عنوان مهم‌ترین و سازگارترین گیاه زراعی، غذای اصلی انسان به‌شمار می‌آید که به‌طور مستقیم و یا محصولات فرآوری شده مورد مصرف قرار می‌گیرد. گندم نان (*Triticum aestivum* L.) گیاهی است تک لپه، خودگشن، علفی و یک‌ساله از تیره غلات که دارای انواع مختلفی است (۱۳،۶). کشت و تولید جهانی گندم از سایر محصولات بیش‌تر است و میزان تولید سالانه آن در جهان ۷۳۷/۸ میلیون تن و مصرف معادل ۷۱۸ میلیون تن است و کشور چین با تولید ۱۳۱ میلیون تن در رتبه نخست و سه کشور قزاقستان، روسیه و اکراین جمعاً با تولید ۱۰۵ میلیون تن در رتبه دوم و کشور هند با تولید ۹۷ میلیون تن در رتبه سوم ایستاده‌اند (۷). در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ میزان تولید گندم ایران حدود ۱۱/۵ میلیون تن گزارش شده که معادل ۱۴/۹۶ درصد از کل تولید محصولات زراعی کشور است (۴). آمار جهانی و داخلی تولید گندم نشان می‌دهد از نظر تولید گندم، ایران در رتبه دوازدهم قرار دارد (۷). از طرفی کوچک شدن زمین‌های کشاورزی و کاهش منابع آبی، صنعت کشاورزی را به سمتی پیش می‌برد که با کم‌ترین منابع، بیش‌ترین عملکرد حاصل آید. لذا محققان با به‌نژادی ژنوتیپ‌ها و یا اجرای طرح‌های تحقیقاتی و بررسی اجزای مختلف و مرتبط با عملکرد، سعی در افزایش تولید گندم دارند. بررسی رابطه بین اجزای گیاه با عملکرد در گیاهان زراعی مانند گندم، یکی از موضوعات مورد مطالعه محققان است. عملکرد دانه گندم ناشی از اثرات تجمعی اجزای متشکله آن شامل تعداد دانه در سنبله، تعداد سنبله در واحد سطح و وزن هزار دانه می‌باشد. از آنجایی‌که ژنوتیپ‌های گندم از لحاظ اندازه صفات مورفولوژیک همانند ارتفاع بوته و طول سنبله با هم تفاوت دارند و عملکرد دانه نیز تحت تأثیر مستقیم و غیرمستقیم این صفات است، لذا معیار قرار دادن صفات گزینشی دیگری غیر از عملکرد دانه که دارای ثبات بیش‌تری نسبت به این صفت هستند می‌تواند به گزینش ژنوتیپ‌های مطلوب کمک نماید (۲۱). تعداد سنبله در واحد سطح اغلب مهم‌ترین جزء عملکرد برای گندم به‌حساب می‌آید (۱۱) و درک ارتباط بین سنبله‌ها با عملکرد دانه می‌تواند در افزایش تولید کمک شایانی نماید. معمولا تعداد پنجه‌ها هم‌ارز با تعداد سنبله می‌باشد که به سنبله اصلی که روی ساقه اصلی و سنبله‌های فرعی که روی پنجه‌ها ظاهر می‌شوند تفکیک می‌گردند. نخستین ساقه‌ای که پس از کاشت بذر از خاک بیرون می‌آید ساقه اصلی نامیده می‌شود و ساقه‌های فرعی که بعد ظاهر می‌شوند را پنجه می‌نامند (۱۹). سنبله‌های فرعی زیاد در گندم زمانی مفید شناخته می‌شوند که عوامل جوی مانند سرمای زمستان و خشکی اوایل بهار تعدادی از ساقه‌ها را از بین برده باشد؛ در این صورت، ساقه‌های بعدی می‌توانند جای ساقه‌های از بین رفته قبلی را پر کنند (۱۶). بنا به گفته ثیری و همکاران (۲۲) بخش اعظم عملکرد دانه گندم از سنبله‌های فرعی تولید می‌شود که در شرایط طبیعی حدود ۷۰ درصد می‌باشد. صفت سنبله‌دهی در غلات یک صفت ژنتیکی است، اما عوامل آب و هوایی، رژیم‌های غذایی، نور و حرارت و روش‌های کاشت نیز بر آن تأثیر می‌گذارند (۲۴). یکی از عوامل مؤثر محیطی در سنبله‌دهی گندم، تراکم بوته در واحد

سطح است، به‌طوری که با افزایش تراکم بوته، از تعداد سنبله‌های بارور کاسته می‌شود، هر چند ژنوتیپی که به‌طور ژنتیکی از قدرت پنجه‌زنی بالایی برخوردار است در تراکم‌های بالا نیز پنجه‌زنی بالایی خواهد داشت، ولی درصد کمی از این پنجه‌ها، بارور شده و به سنبله منتهی می‌شود و در این میان سنبله‌های غیربارور، سبب هدر رفت مقدار زیادی از انرژی گیاه می‌شوند. از این رو قدرت سنبله‌دهی بسته به شرایط مختلف محیطی، متفاوت و بسیار متغیر است. این شرایط باعث می‌شود تا غلات و از جمله گندم، قابلیت انعطاف‌پذیری زیادی از نظر قدرت سنبله‌دهی داشته باشند (۱۴). در آزمایشی عبدالرحمنی نشان داد که تراکم‌های مختلف کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد ژنوتیپ‌های گندم تأثیر به‌سزایی دارد (۱).

تعداد سنبله بارور، یک ویژگی ژنتیکی پیچیده است که تحت اثر چندین ژن قرار دارد (۲۴). مسلما انتخاب ژنوتیپ با میزان سنبله‌دهی خوب با تراکم مناسب می‌تواند در افزایش عملکرد دانه گندم نقش بازی کند. انتخاب منوط به وجود تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌ها می‌باشد که باید اندازه‌گیری شود. بررسی تنوع ژنتیکی و روابط بین عملکرد دانه با صفات زراعی موضوع مطالعات بسیاری از محققان بوده است (۵،۳). از روش‌های مرسوم ارزیابی تنوع ژنتیکی، اندازه‌گیری صفات زراعی و استفاده از نشانگرهای مولکولی می‌باشد (۱۵). انجام طرح‌های تحقیقاتی و کشت ژنوتیپ‌هایی با تنوع کافی و در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات زراعی می‌تواند روشی مناسب برای انتخاب باشد. ولی صفات زراعی اگر تحت تاثیر محیط قرار گیرند، اندازه‌گیری آن‌ها در شرایط مختلف گمراه‌کننده خواهد بود. روش دیگر استفاده از نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات مورفولوژیکی می‌باشد که به‌راحتی می‌توانند تنوع را در بین ژنوتیپ‌های گندم نشان دهند. زیرا نشانگرهای مولکولی در سطح ژنوم عمل کرده و شرایط محیطی نمی‌تواند بر روی آن‌ها تاثیر بگذارد و کوچک‌ترین اختلاف بین دو ژنوتیپ توسط نشانگرهای مولکولی قابل رویت است. در این زمینه نشانگرهای متنوعی وجود دارد. اگر هدف، رهگیری ژن‌های مرتبط با صفاتی مانند سنبله‌دهی باشد، نشانگرهای ریزماهواره می‌توانند گزینه خوبی در این زمینه باشند. به‌عنوان نمونه در پژوهشی که با هدف شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات زراعی شامل بیوماس، وزن سنبله و عملکرد دانه در ۴۰ ژنوتیپ مختلف گندم دوروم با استفاده از ۱۶ آغازگر SSR مورد مطالعه قرار گرفت، نشان داده شد که از لحاظ داده‌های صفات زراعی و نشانگر مولکولی در بین ژنوتیپ‌ها تنوع کافی وجود دارد (۱۷).

هدف از انجام این تحقیق تعیین سهم نسبی سنبله اصلی و سنبله‌های فرعی در عملکرد دانه ژنوتیپ‌های گندم و اثر سطوح مختلف تراکم کشت بر این نسبت بود. همچنین با استفاده از نشانگر مولکولی مرتبط وجود ژن کاهش‌دهنده تعداد سنبله (*tin*)[1] در این ژنوتیپ‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ در دو بخش مزرعه و آزمایشگاه انجام شد. در آزمایش مزرعه‌ای طرح آزمایشی مورد استفاده طرح کرت‌های خرد شده با سه تکرار بود. فاکتورهای مورد بررسی شامل تراکم کاشت با سه سطح ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ دانه در مترمربع به‌عنوان عامل اصلی و ۱۰ ژنوتیپ گندم نان شامل ارقام آرتا، اینیا، تجن، دریا، شیرودی، گلستان، گنبد، مروارید، مغان۳ و به‌همراه لاین N-87-20 به‌عنوان عامل فرعی بودند. این ژنوتیپ‌ها به‌دلیل رواج استفاده در منطقه و تنوع در سنبله‌دهی مورد استفاده قرار گرفتند. ویژگی‌های ژنوتیپ‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر در جدول ۱ شرح داده شده است.

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های گندم مورد بررسی در مطالعه حاضر

Table 1. Characteristics of wheat genotypes investigated in this study

نام ژنوتیپ	منشاء	سال معرفی	ویژگی‌های مهم
آرتا	برنامه ملی ایران- کراس داخلی	۱۳۸۵	بهاره، مناسب اقلیم گرم و مرطوب ساحل خزر
اینیا	سیمیت	-	-
تجن	سیمیت	۱۳۷۴	بهاره، مناسب مناطق جلگه‌ای ساحل خزر
دریا	سیمیت	۱۳۸۵	بهاره، مناسب اقلیم گرم و مرطوب ساحل خزر
شیرودی	سیمیت	۱۳۷۶	بهاره، مناسب سواحل دریای خزر
گلستان	سیمیت	۱۳۶۵	بهاره، دیررس، مناسب مناطق گرم
گنبد	برنامه ملی ایران- کراس داخلی	۱۳۹۲	بهاره، مقاوم به‌بیماری‌های‌قارچی‌و عارضه‌جوانه‌زنی‌قبل‌ازبرداشت
مروارید	سیمیت	۱۳۸۸	بهاره، مقاوم به بیماری‌های قارچی، مناسب مناطق گرم و مرطوب شمال ایران
مغان۳	برنامه ملی ایران- کراس داخلی	۱۳۸۵	بهاره، مناسب اقلیم گرم و مرطوب ساحل خزر
N-87-20	سیمیت	-	بهاره، مقاوم به ورس، زنگ زرد و سفیدک پودری

هر کرت آزمایشی دارای شش ردیف کاشت با طول ۱/۵ متر و فاصله ردیف ۲۰ سانتی‌متر بود که بسته به تراکم موردنظر، بذرها با فاصله‌های مختلف روی خطوط کشت شدند. عملیات کاشت شامل شخم زمین، دیسک، کولتیواتور و در نهایت کشت محصول به‌صورت دیم در زمان‌های مناسبی صورت گرفت. همچنین کوددهی با کود ازته و سم‌پاشی جهت مبارزه با علف هرز نیز انجام شد. صفات مورد ارزیابی در این مطالعه شامل عملکرد دانه در کرت و در بوته بر حسب گرم، وزن سنبله‌های اصلی و فرعی بر حسب گرم، سهم سنبله‌های اصلی و فرعی بر حسب درصد، تعداد سنبله‌های فرعی (تعداد پنجه)، طول سنبله اصلی بر حسب سانتی‌متر و ارتفاع بوته بر حسب سانتی‌متر بود. متغیر سهم سنبله اصلی از نسبت وزن

1- Tiller inhibition

دانه سنبله‌های اصلی هر کرت به عملکرد دانه در کرت و متغیر سهم سنبله‌های فرعی از نسبت وزن دانه سنبله‌های فرعی هر کرت به عملکرد دانه در کرت به‌دست آمده‌اند. متغیرهای ارتفاع بوته، طول سنبله اصلی، تعداد سنبله‌های فرعی با نمونه‌گیری تصادفی ۱۰ بوته از ردیف‌های میانی هر کرت اندازه‌گیری شدند.

در آزمایش مولکولی تعدادی بذر از هر ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه در پتری‌دیش کاشته شد و پس از رسیدن بذرها به مرحله پنج برگی، عمل نمونه‌برداری از برگ‌ها انجام گرفت و سپس DNA آن‌ها به روش دویل و دویل (۱۰) استخراج گردید. یک جفت آغازگر ریزماهواره مرتبط با ژن کاهش دهنده تعداد سنبله‌های فرعی (پنجه) با نام Xgwm136، جهت ارزیابی ژنوتیپ‌های گندم برای سنبله‌دهی و همچنین رهگیری ژن‌های مربوط به سنبله، موسوم به ژن‌های گروه tin به‌کار گرفته شد. نشانگر مولکولی به‌کار گرفته شده از نوع مکان اختصاصی است و انتظار بر این است که در الگوی الکتروفورز محصول PCR، تک باند با اندازه ۳۰۰ تا ۳۵۰ جفت باز مشاهده گردد (۱۸). مشخصات نشانگر مولکولی مورد استفاده در جدول ۲ شرح داده شده است.

جدول ۲- نام، توالی و سایر ویژگی‌های آغازگر SSR، *Xgwm136* مورد استفاده در مطالعه کومار و همکاران (۱۸)

Table 2. Name, sequence and other features of the SSR primer, *Xgwm136* used in study of Kumar et al (18)

نام آغازگر	توالی آغازگر (mer)	مکان کروموزومی	دمای اتصال	محدوده باند مورد انتظار (bp)
GWM136_F	5'-GAC AGC ACC TGG CCC TTT G-3'	1AS	۵۹/۵	۳۰۰-۳۵۰
GWM136_R	5'-CAT CGG CAA CAT GCT CAT C-3'		۵۷/۳	

جهت انجام PCR تیوب‌ها به دستگاه ترموسایکلر در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر منتقل شدند. برنامه مورد استفاده برای انجام PCR در جدول ۳ شرح داده شده است.

جدول ۳- برنامه مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

Table 3. The used program in the polymerase chain reaction (PCR)

نام مرحله	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان
واسرشت سازی اولیه	۹۴	۵ دقیقه
واسرشت سازی	۹۴	۱ دقیقه
اتصال	۵۷	۱ دقیقه
سنتز و بسط	۷۲	۲ دقیقه
چرخه (برای ۴۰ بار)	-	-
بسط نهایی	۷۲	۱۰ دقیقه
نگهداری	۴	۱ ساعت

همچنین از دستگاه الکتروفورز ژل عمودی ساخت شرکت APELEX جهت بارگذاری محصول PCR و مشاهده باندهای ایجاد شده استفاده گردید. از هرنمونه محصول PCR به میزان چهار میکرولیتر به‌همراه دو میکرولیتر محلول دای درون چاهک‌ها بارگذاری شد. رنگ‌آمیزی ژل پلی‌اکریل‌آمید با روش نیترات نقره انجام شد (۹).

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار Excel، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد از نرم‌افزار SAS نسخه 9/0 استفاده شد. در بخش مولکولی، تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های به‌کار برده شده با توجه به حضور و یا عدم حضور باند ژن مرتبط با تعداد پنجه در الگوی باندی به‌دست آمده از واکنش سنجیده شد و با نتایج مورفولوژی مطالعه تطبیق داده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد ژنوتیپ بر روی همه خصوصیات مورد بررسی تأثیر معنی‌دار داشته است که به معنای وجود تفاوت ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی می‌باشد. تنوع بین ژنوتیپ‌ها امکان بهبود صفات را فراهم می‌آورد و به طور محسوس میزان تنوع ژنتیکی در تعیین سودمندی انتخاب مؤثر می‌باشد (۲). اثر تراکم تنها بر متغیرهای عملکرد دانه در کرت و در بوته، وزن سنبله‌های اصلی و فرعی و طول سنبله اصلی معنی‌دار بود (جدول ۴). اثر متقابل عامل اصلی (تراکم کشت) با عامل فرعی (ژنوتیپ‌ها) در مورد هیچ یک از صفات معنی‌دار نبود (جدول ۴).

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس متغیرهای اندازه‌گیری شده در مطالعه ۱۰ ژنوتیپ گندم تحت سه تراکم متفاوت
Table 4. The results of analysis of variance of variables evaluated in the study of 10 wheat genotypes under three different densities

S.O.V	df	عملکرد دانه در کرت (g)	عملکرد دانه در بوته (g)	وزن سنبله اصلی (g)	وزن سنبله‌های فرعی (g)	سهم سنبله اصلی (٪)	سهم سنبله‌های فرعی (٪)	تعداد سنبله‌های فرعی	طول سنبله اصلی (cm)	ارتفاع بوته (cm)
بلوک	۲	۱/۹۳ ns	۱/۹۴ns	۵/۴۷ns	۱/۶۵ns	۱/۵۸ns	۱/۵۸ns	۰/۰۳ ns	۰/۷۵ns	۱/۸۲ns
تراکم	۲	۱۷/۳۸*	۱۷/۳۹ *	۱۰/۶۲*	۱۵/۶۳*	۲/۴۲ns	۲/۴۲ns	۰/۹۰ ns	۱۰/۱۳*	۳/۰۵ ns
خطای۱	۴	۳/۱۳	۳/۱۳	۱/۵۸	۳/۲۱	۲/۲۲	۲/۲۲	۱۳/۶۰	۶/۴۰	۳۱/۰۷
ژنوتیپ	۹	۲۰/۴۷**	۲۰/۴۵**	۲۹/۲۰**	۱۶/۳۸**	۳/۰۵**	۳/۰۵**	۵/۱۲**	۱۸/۴۵**	۵۳/۲۴**
تراکم × ژنوتیپ	۱۸	۱/۵۹ns	۱/۵۹ns	۰/۸۶ns	۱/۵۲ns	۰/۹۶ns	۰/۹۶ns	۱/۰۳ns	۱/۰۰ns	۱/۰۷ns
خطای۲	۵۴	-	–	–	–	–	–	۱/۳۱ns	۰/۹۴ns	۲/۱۹**
ضریب‌تغییرات خطای۱	–	۲۲/۴۱	۲۲/۴۱	۱۶/۸۰	۲۴/۸۳	۲۴/۲۰	۲/۹۳	۱۲۲/۸۶	۳۵/۲۰	۳۶/۰۳
ضریب‌تغییرات خطای۲	–	۱۲/۶۶	۱۲/۶۷	۱۳/۳۹	۱۳/۸۵	۱۶/۲۴	۱/۹۷	۳۸/۱۲	۱۳/۵۰	۹/۵۶
ضریب‌تغییرات خطای‌نمونه‌برداری		-	-	-	-	–	–	۳۳/۲۹	۱۳/۹۲	۶/۴۶

همچنین در جدول ۵ مقادیر مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک برای عامل تراکم و در جدول ۶ مقادیر مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک برای عامل ژنوتیپ نشان داده شده است.

جدول ۵- مقایسه میانگین متغیرهای مورفولوژیک ارزیابی شده ژنوتیپ‌های گندم در تراکم‌های مختلف
Table 5. Average comparison of morphological variables evaluated of wheat genotypes in different densities

متغیرها / تراکم‌ها	عملکرد دانه در کرت (g)	عملکرد دانه در بوته (g)	وزن سنبله اصلی (g)	وزن سنبله‌های فرعی (g)	سهم سنبله اصلی (٪)	سهم سنبله‌های فرعی (٪)	تعداد سنبله‌های فرعی	طول سنبله اصلی (cm)	ارتفاع بوته (cm)
۱۵۰	۱۷۹/۵۹a	۱۷/۹۶a	۱۷/۸۰.a	۱۶۱/۷۹a	۱۰/۰۰ a	۹۰/۰۰ a	۸/۲۶a	۹/۷۰a	۸۲/۵۷a
۳۰۰	۱۳۵/۵۸b	۱۳/۵۵b	۱۵/۴۱b	۱۲۰/۱۷b	۱۱/۴۶a	۸۸/۵۴a	۷/۲۷a	۸/۷۹b	۸۸/۶۵a
۴۵۰	۱۳۴/۹۳b	۱۳/۴۹b	۱۴/۷۶b	۱۲۰/۱۶b	۱۱/۰۱a	۸۸/۹۹a	۸/۱۳a	۸/۶۱b	۸۶/۸۸a

جدول ۶- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورفولوژیک مورد بررسی
Table 6. Average comparison of genotypes in terms of morphological traits

متغیرها / ژنوتیپ‌ها	عملکرد دانه در کرت (g)	عملکرد دانه در بوته (g)	وزن سنبله اصلی (g)	وزن سنبله‌های فرعی (g)	سهم سنبله اصلی (٪)	سهم سنبله‌های فرعی (٪)	تعداد سنبله‌های فرعی	طول سنبله اصلی (cm)	ارتفاع بوته (cm)
آرتا	۱۳۹/۶۴de	۱۳/۹۶de	۱۳/۶۴d	۱۲۶/۰۰de	۹/۸۸b	۹۰/۱۱a	۸/۷۷a	۸/۶۵de	۷۷/۲۹f
اینیا	۱۴۹/۹۲cd	۱۴/۹۹cd	۱۴/۴۷d	۱۳۵/۴۴cd	۹/۸۴b	۹۰/۱۵a	۸/۵۰ab	۸/۹۳cd	۸۸/۸۶c
تجن	۱۳۰/۴۳e	۱۳/۰۴e	۱۴/۲۹d	۱۱۶/۱۴e	۱۱/۴۰b	۸۸/۵۹a	۷/۶۶c	۹/۲۵bc	۷۹/۰۹e
دریا	۱۴۴/۳۸cde	۱۴/۴۳cde	۱۵/۶۰d	۱۲۸/۷۷cde	۱۱/۰۹b	۸۸/۹۰a	۷/۷۶bc	۹/۱۱c	۸۸/۹۴c
شیرودی	۱۳۹/۹۹de	۱۴/۰۰de	۱۳/۷۸d	۱۲۶/۲۰de	۱۰/۰۳b	۸۹/۹۶a	۸/۱۲abc	۸/۴۳e	۷۷/۶۰ef
گلستان	۹۷/۰۱f	۹/۷۰f	۹/۱۵e	۸۷/۸۶f	۹/۷۷b	۹۰/۲۲a	۸/۴۶ab	۹/۱۳c	۸۵/۰۵d
گنبد	۱۵۶/۶۷bcd	۱۵/۶۶bcd	۲۰/۰۳b	۱۳۶/۶۴cd	۱۳/۱۱a	۸۶/۸۸b	۶/۲۱d	۹/۸۱d	۸۵/۲۹d
مروارید	۱۷۳/۶۷b	۱۷/۳۶b	۱۸/۴۸bc	۱۵۵/۱۹b	۱۰/۷۸b	۸۹/۲۱a	۸/۰۳abc	۸/۰۰abc	۹۳/۱۳b
مغان۳	۱۶۱/۹۲bc	۱۶/۱۹bc	۱۴/۶۸c	۱۴۴/۲۲bc	۱۱/۱۲b	۸۸/۸۷a	۷/۴۶c	۹/۵۴c	۹۰/۱۷c
N-87-20	۲۰۶/۶۹a	۲۰/۶۷a	۲۲/۷۸a	۱۸۳/۹۱a	۱۱/۱۴b	۸۸/۸۵a	۷/۹۴bc	۹/۵۲bc	۹۴/۹۶a

عملکرد دانه در کرت و در بوته

هدف اصلاح‌گران گندم از بررسی تراکم‌های مختلف یافتن تراکمی است که در آن حداکثر عملکرد دانه به‌دست می‌آید. در مطالعه حاضر برای عامل تراکم، بیش‌ترین میانگین عملکرد دانه برای هر دو متغیر عملکرد در کرت و در بوته در تراکم ۱۵۰ دانه در مترمربع مشاهده گردید (جدول ۵). این نتایج نشان می‌دهد احتمالا در این تراکم بوته‌ها از نظر متغیرهای یاد شده به‌دلیل رقابت کم‌تر در سطح مناسبی ظاهر شده‌اند. درحالی‌که زرین‌آبادی و احسان‌زاده (۲۳)، افزایش عملکرد دانه در تراکم بالا را گزارش کردند و دلیل آن را وجود رابطه مثبت عملکرد با تعداد سنبله در مترمربع ذکر نمودند. حال آن‌که با افزایش تراکم از تعداد سنبله‌های بارور کاسته می‌شود. همچنین کم‌ترین میانگین‌ها برای دو متغیر نام‌برده در تراکم‌های ۴۵۰ و ۳۰۰ دانه در مترمربع مشاهده شد (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین برای ژنوتیپ‌ها نشان داد برای هر دو متغیر عملکرد دانه در کرت و در بوته، بیش‌ترین میانگین‌ها مربوط به لاین N-87-20 و کم‌ترین میانگین‌ها مربوط به رقم گلستان بوده است (جدول ۶).

وزن سنبله اصلی و وزن سنبله‌های فرعی

هدف اصلاح‌گران گندم افزایش وزن سنبله اصلی به‌خصوص در تراکم‌های بالا و افزایش وزن سنبله‌های فرعی در تراکم‌های پایین می‌باشد. چرا که با افزایش تراکم عملکرد دانه اصولا بر روی سنبله اصلی و با کاهش تراکم عملکرد دانه بر روی سنبله‌های فرعی متمرکز می‌باشد. نتایج موجود در مطالعه قربانی و همکاران (۱۲) برای دو متغیر اخیر مطابق با نتایج این مطالعه می‌باشد. در مطالعه حاضر بیش‌ترین میانگین برای هر دو متغیر در تراکم ۱۵۰ دانه در مترمربع مشاهده شد (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها برای وزن سنبله اصلی و وزن سنبله‌های فرعی نشان می‌دهد لاین N-87-20 دارای بیش‌ترین میانگین‌ها و رقم گلستان دارای کم‌ترین میانگین‌ها از حیث این دو صفت می‌باشند (جدول ۶).

سهم سنبله اصلی و سهم سنبله‌های فرعی

سهم سنبله‌های اصلی و فرعی به‌ترتیب از نسبت وزن سنبله اصلی به عملکرد دانه در کرت و وزن سنبله‌های فرعی به عملکرد دانه در کرت به‌دست آمده است. این مقادیر به‌ترتیب نشان می‌دهند که از کل عملکرد دانه به‌دست آمده در هر ژنوتیپ چند درصد از سنبله اصلی و چند درصد از سنبله‌های فرعی استحصال شده است. زیاد بودن سهم سنبله‌های اصلی و یا فرعی نشان دهنده این است که بخش قابل توجهی از عملکرد در کدام یک از این دو بخش ایجاد می‌گردد. در مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها، برای هر متغیر فقط دو گروه آماری ایجاد شد. برای متغیر سهم سنبله اصلی رقم گنبد (گروه a) دارای بالاترین میانگین بود و سایر ژنوتیپ‌ها در گروه b قرار گرفتند که در بین آن‌ها رقم گلستان کم‌ترین میانگین را از نظر سهم سنبله اصلی دارا بود (جدول ۶). برای متغیر سهم سنبله‌های فرعی دقیقاً عکس حالت قبل مشاهده گردید. به‌نحوی که رقم گلستان با بالاترین میانگین به‌همراه سایر ژنوتیپ‌ها (به جز گنبد) در گروه a قرار گرفتند و رقم گنبد با کم‌ترین میانگین در گروه b قرار گرفت (جدول ۶). رقم گلستان از نظر تعداد سنبله‌های فرعی با رقم آرتا که بالاترین تعداد سنبله‌های فرعی را داشت، هیچ اختلافی از نظر آماری نداشت و جزء ژنوتیپ‌هایی با سنبله زیاد محسوب می‌شود (جدول ۶)، ولی رقم گلستان از نظر سایر متغیرهای وزنی همواره دارای میانگین پایین‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر بود (جدول ۶). بنا بر مطالعات قربانی و همکاران (۱۲)، همیشه زیاد بودن تعداد سنبله‌های فرعی به معنی افزایش سهم سنبله‌های فرعی نیست. در نتایج حاصل از بررسی دو متغیر سهم سنبله‌های اصلی و فرعی می‌توان استنباط نمود که سنبله‌های فرعی نقش مهم و اساسی در عملکرد گندم دارند. زیرا سنبله‌های فرعی در ژنوتیپ‌ها، درصد قابل‌توجهی از عملکرد کل را به خود اختصاص دادند (جدول ۶).

تعداد سنبله‌های فرعی

اگر چه تغییرات ایجاد شده در متغیر اخیر محسوس نبود، با این حال بیش‌ترین تعداد سنبله‌های فرعی، در تراکم ۱۵۰ دانه در مترمربع مشاهده شد. اگر هدف اصلاح‌گران گندم متکی کردن عملکرد دانه بر روی سنبله اصلی باشد، می‌توانند با افزایش تراکم به آن دست یابند. زیرا با افزایش تراکم از تعداد سنبله‌های فرعی کاسته شده و همین امر سبب می‌شود که سنبله اصلی سنگین‌ترین سنبله‌ها را داشته باشد. از سوی دیگر اگر هدف اصلاح‌گران افزایش تعداد سنبله‌های فرعی به‌خصوص در تراکم‌های پایین باشد، در صورت بارور شدن سنبله‌های فرعی افزایش قابل توجهی در عملکرد دانه گندم مشاهده خواهد شد. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های موجود در مطالعه چگنی (۸) مشابه می‌باشد. در بین ژنوتیپ‌ها رقم آرتا دارای بیش‌ترین میانگین و رقم گنبد دارای کم‌ترین میانگین از حیث متغیر اخیر بودند (جدول ۶).

طول سنبله

در مقایسه میانگین تراکم برای طول سنبله اصلی، در تراکم ۱۵۰ دانه در مترمربع بیش‌ترین میانگین مشاهده شد (جدول ۵). هدف اصلاح‌گران گندم در مورد صفت یاد شده افزایش طول و وزن آن می‌باشد. همچنین در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه رقم گنبد و مروارید به‌ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین‌ها از نظر طول سنبله اصلی بودند (جدول ۶). همچنین سالک‌زمانی و توکلی (۲۰) نیز نتایجی مشابه برای متغیر طول سنبله اصلی به‌دست آورده‌اند.

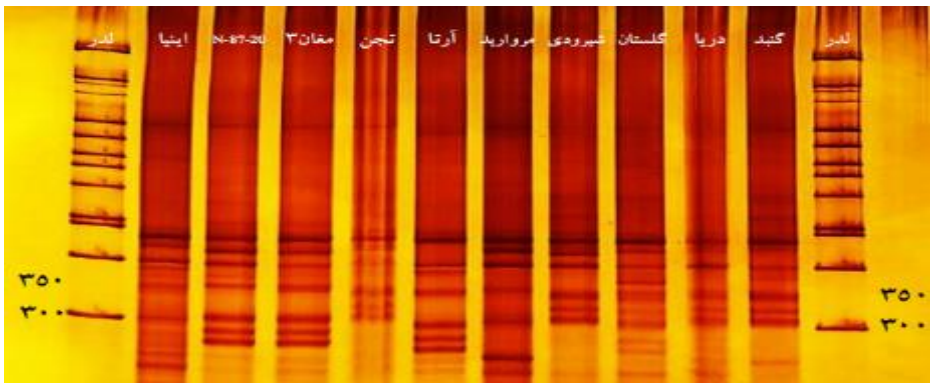
ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد افزایش تراکم تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع بوته ژنوتیپ‌های مورد بررسی نداشته است (جدول ۴)؛ که مطابق با نتایج چگنی (۸) است. هدف اصلاح‌گران گندم برای این صفت کاهش آن می‌باشد؛ زیرا با کاهش ارتفاع بوته به‌خصوص در تراکم‌های پایین، ساقه گندم در برابر ورس مقاومت می‌کند. در مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها لاین N-87-20 دارای بیش‌ترین ارتفاع و رقم آرتا دارای کم‌ترین ارتفاع بوته بودند (جدول ۶).

ارزیابی مبتنی بر نشانگر

با توجه به یافته‌های کومار و همکاران (۱۸)، ژن tin بر روی کروموزوم 1AS گندم قرار دارد. در الگوی الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید محصول PCR در بین محدوده ۳۰۰ تا ۳۵۰

جفت‌باز تنها ژنوتیپ‌های تجن، شیرودی، گلستان، دریا و گنبد تولید باند کردند. انتظار بر این است که پنج ژنوتیپ نام‌برده دارای تعداد سنبله‌های فرعی نسبتا کم‌تری در مقایسه با پنج ژنوتیپ دیگری باشند که در بین محدوده مدنظر باند نداده‌اند. در نتایج صفات مورفولوژیکی مربوط به تعداد سنبله‌های فرعی، در گروه a (ژنوتیپ با بیش‌ترین تعداد سنبله‌های فرعی)، فقط رقم آرتا و در گروه b (ژنوتیپ با کم‌ترین تعداد سنبله‌های فرعی)، فقط رقم گنبد حضور داشت (جدول ۶). از طرفی با توجه به الگوی باندی حاصل از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید، در بین محدوده ۳۰۰ تا ۳۵۰ جفت‌باز رقم آرتا هیچ باندی را ایجاد نکرده است و به معنای وجود تعداد بیش‌تر سنبله‌های فرعی در رقم مذکور است (شکل ۱).



شکل ۱- الگوی باندی الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید ژنوتیپ‌های گندم نان حاصل از آغازگر *Xgwm136*
Figure 1. Pattern of polyacrylamide gel electrophoresis of bread wheat genotypes derived from *Xgwm136* primer.

درحالی‌که رقم گنبد باند مربوطه را ایجاد کرده است و نوید از کم بودن تعداد سنبله‌های فرعی در رقم گنبد نسبت به رقم آرتا را می‌دهد که این منطبق با نتایج صفات مورفولوژیکی مربوط به صفت تعداد سنبله‌های فرعی در مطالعه حاضر می‌باشد (جدول ۶). اما در مورد ژنوتیپ‌های تجن، شیرودی، گلستان و دریا که در بین محدوده ۳۰۰ تا ۳۵۰ جفت باز تولید باند نموده‌اند، باید متذکر شد که این ژنوتیپ‌ها در نتایج مورفولوژی مطالعه حاضر، رفتار بینابینی در تولید سنبله‌های فرعی از خود نشان دادند (جدول ۶)؛ و احتمالا ژنوتیپ‌های مذکور تا حدودی تحت تأثیر محیط قرار گرفته‌اند. لذا باید مطالعات تکمیلی در مورد نحوه سنبله‌دهی در این ژنوتیپ‌ها صورت بپذیرد، و یا ژنوتیپ‌های مذکور با استفاده از نشانگرهای اختصاصی دیگری که مربوط به تعداد سنبله در گندم هستند مورد مطالعه قرار گیرند. به هر حال نشانگر مولکولی مورد استفاده در پژوهش حاضر به‌خوبی توانست بین ژنوتیپ با بیش‌ترین تعداد سنبله‌های فرعی و ژنوتیپ با کم‌ترین تعداد سنبله‌های فرعی تنوع را نشان دهد.

در مطالعه حاضر اثبات شد تراکم و نوع ژنوتیپ نقش تعیین‌کننده در عملکرد دانه ژنوتیپ‌های گندم دارند. با این حال اثر ژنوتیپ بیش‌تر از تراکم بوده است. در مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها برای متغیرهای سهم سنبله اصلی و سهم سنبله‌های فرعی نیز سهم بیش‌تر سنبله‌های فرعی در عملکرد گندم به اثبات رسید. در یک جمع‌بندی کلی، استفاده از لاین N-87-20 در تراکم ۱۵۰ دانه در مترمربع عملکرد بیش‌تری در پی دارد. همچنین نشانگر مولکولی مورد استفاده در مطالعه حاضر رابطه بسیار نزدیکی با صفت سنبله‌دهی داشته و می‌تواند بین ژنوتیپ با بیش‌ترین تعداد سنبله‌های فرعی و ژنوتیپ با کم‌ترین تعداد سنبله‌های فرعی تنوع را نشان دهد. در ضمن نشانگر اختصاصی مذکور می‌تواند ژن کاهش‌دهنده تعداد سنبله‌های فرعی (ژن tin) را در مکان موجود بر روی کروموزوم 1AS گندم شناسایی نموده و در این زمینه مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

1. Abdolrahmani, B. 2016. Determination of appropriate rainfed wheat varieties density in cold region Journal of Applied Research of Plant Ecophysiology, 3(1): 155-174 (In Persian).
2. Abedini, S., G. Mohammadi Nejad and B. Nakhoda. 2016. Evaluation of agronomics traits and yield potential diversity inbreed wheat inbred lines *Triticum aestivum* L. derived from Roshan×Falat cultivar. Journal of Crop Breeding, 8(20): 1-10 (In Persian).
3. Alipour, H., M.R. Bihamta, V. Mohammadi and S.A. Peyghambari. 2017. Evaluation of genetic variability of agronomic traits in Iranian wheat landraces and cultivars. Journal of Crop Breeding, 9(22): 168-177 (In Persian).
4. Agricultural Statistics Crop Years 2014-2015. 2016. First Volume. 158 pp (In Persian).
5. Babaeizarch, M.J., M.H. Fotokian and S. Mahmoodi. 2014. Evaluation of genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for morphological traits using multivarite analysis methods. Journal of Crop Breeding, 6(14): 1-14 (In Persian).
6. Zand, B. and A.A. Lalinia. 2011. Crop cereal. Tehran, Payam Nour University. 277 pp (In Persian).
7. Bond, J. and O. Liefert. 2017. Wheat outlook. United States Department of Agriculture, 30 pp.
8. Chegeni, H. 2014. Effect of plant density on yield and yield components of wheat cultivars Agronomy Journal, 104: 9-12 (In Persian).
9. Creste, S., A. Tulmann Neto and A. Figueria. 2001. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. Plant Molecular Biology Reporter, 19: 299-306.
10. Doyle, J. and J. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.
11. Garcia Del Moral, L.F., Y. Rharrabti, D. Villegas and C. Royo. 2003. Evaluation of grain yield and its components in durum wheat under Mediterranean conditions: an ontogenic approach. Agronomy Journal, 95: 266-274.
12. Ghorbani, M.H., H. Harutyunyan, A. Soltani and B. Kamkar. 2010. Tillers contribution on wheat yield in rainfed and saline soil in different row spacing and plant density. Electronic Journal of Crop Production, 3(4): 125-142 (In Persian)
13. Gupta, P.K., R.R. Mir and J. Kumar. 2008. Wheat genomics: Present status and future prospects (Review Article). International Journal of Genomics, 896451, 36 pp.
14. Hossainpour, T., A. Ahmadi, F. Mohammadi and R. Darikvand. 2014. The effect of seed rate on grain yield and its components of wheat cultivars in rain fed conditions. Agronomy Journal, 104: 101-110 (In Persian).
15. Kakaei, M., H.A. Mazaherilaghab and D. Kahrizi. 2013. Study of morphological and biochemical to determine the genetic diversity of cultivated Oat (*Avena sativa* L.). Journal of Agricultural Biotechnology, 5(2): 119-138 (In Persian).
16. Karimi, H. 1992. The wheat. Tehran, University of Tehran Publishing Center. 599 pp (In Persian).
17. Kouhestani, M., B. Sadeghzadeh, M.A. Ebrahimi and V. Yousefi. 2016. Identification of SSR markers associated whith agronomic traits in Durum Wheat. 2nd International and 14th Iranian Genetics Congress. 5 pp. Tehran, Iran, (In Persian).
18. Kumar, S., S.S. Singh, C.N. Mishra, M. Saroha, V. Gupta, P. Sharma, V. Tiwari and I. Sharma. 2015. Assessment of tiller inhibition (*tin*) gene molecular marker for its application in marker-assisted breeding in wheat. National Academy Science Letters, 38(6): 457-460.
19. Rahnama, A.A., A.M. Bakhshandeh, S.A.H. Hashemidezfouli and GH. Nourmohammadi. 1999. Effect of tiller number per plant on grain yield and yield components of durum wheat at different planting densities. Iranian Journal of Crop Sciences, 1(3): 24-34 (In Persian).
20. Salekzamani, A. and A. Tavakoli. 2004. The effect of seed rate on grain yield and its components of three new varieties and line of rainfed wheat. Iranian Journal of Crop Sciences, 6(3): 214-223 (In Persian).
21. Taleei, A. and B. Bahramnejad. 2003. A study of relationship between yield and its components in landrace populations of wheat from western parts of Iran using multivariate analysis. Iranian Journal of Crop Sciences, 34(4): 949-959 (In Persian).
22. Thiry, D.E., R.G. Sears, J.P. Shroyer and G.M. Paulsen. 2002. Planting date effects on tiller development and productivity of wheat. Agricultural Experimental Station and Cooperative Service Kansas University.
23. Zarrinabadi, I. and P. Ehsanzadeh. 2003. Growth, yield and yield components of three durum wheat genotypes under different planting densities in Isfahan. Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 7(4): 129-140 (In Persian).
24. Zhang, J., J. Wu, W. Liu, X. Lu, X. Yang, A. Gao, X. Li, Y. Lu and L. Li. 2013. Genetic mapping of a fertile tiller inhibition gene, *ftin*, in wheat. Molecular breeding, 31: 441-449.

Morphological Evaluation and Marker Assisted for Tillering of Wheat

Sasan Golcheshmeh[1], Mohammad Hadi Pahlavani[2], Mohsen Esmaeilzadeh Moghaddam[3] and Khalil Zaynali Nezhad[4]

1 and 4- Graduated M.Sc. and Assistant Professor of Plant breeding, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2- Associate Professor Department of Plant Breeding, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (Corresponding author: hpahlavani@yahoo.com)
3- Associate Professor Seed and Plant improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extention Organization
Received: September 26, 2017 Accepted: January 13, 2018

Abstract

The present research was performed for studying morphological variation and investigating the presence of relationship between molecular markers related tillering in some genotypes of bread wheat under the field farm and laboratory conditions. In the field experiment, three seed densities including 150, 300 and 450 seed per square meter as the main plot factor and also 10 genotypes including the cultivars of Arta, Inia, Tajan, Darya, Shirudi, Golestan, Gonbad, Morvarid, Moghan3 and Line N-87-20 as sub plot factor at three replications were applied. Evaluating characteristics were included of the number of secondary spikes, the weight of main and secondary spikes, the contribution of main and secondary spikes, seed yield per plant and plot, length of main spike and the height of plant. The results of analysis of variance showed that genotypes had significant different on all investigating characteristic, while the effect of factor density was significant only for the weight of the spikes, yield per plant and plot and the length of main spike. None of the characteristic was not affected by the interaction of genotype × density. Based on the results, density and genotype had important effect on seed yield of the genotypes, however the effect of genotype was more than density. Mean comparison of the genotypes showed that secondary spikes had more contribution in the grain yield. In molecular experiment, SSR marker namely *Xgwm136* associated to gene *tin* (tiller inhibition gene) was tested. Evaluation of the PCR product of this marker showed that the presence of band with the size of 300 to 350 base per is relating to reduction that tillering was confirmed in cultivar Tajan, Shirudi, Golestan, Darya and Gonbad genotypes that their low number of spikes had already been proven. So the efficiency of *tin* marker was proved for screening wheat for tillering.

Keywords: Bread Wheat, Density, Marker, SSR, Spike, Tiller