

## ارزیابی ژرم پلاسم گندم در مقابل تنش شوری

حسین دشتی<sup>۱\*</sup>، احمد تاج آبادی پور<sup>۲</sup>، حسین شیرانی<sup>۳</sup> و محمدرضا نقوی<sup>۴</sup>  
۱، ۲، ۳، استادیاران، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان  
۴، استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران  
(تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۱۵ - تاریخ تصویب: ۸۸/۱۰/۱۵)

### چکیده

برای اصلاح تحمل شوری گندم از طریق شناسایی و انتقال ژن‌های تحمل شوری به ارقام سازگار، تنوع بین واریته‌ای کافی نیست و غربال‌سازی ژرم پلاسم گندم ضروری است. به منظور ارزیابی ژرم پلاسم گندم، ۳۴ نمونه مختلف از چهار گونه از ژرم پلاسم گندم شامل: نمونه‌های هگزاپلوئید (AABBDD)، تتراپلوئید (AABB)، دیپلوئید (DD) و دیپلوئید با ژنوم (AA) که از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری شده بودند، در دو محیط بدون شوری و با تنش شوری، در یک طرح آشیانه‌ای فاکتوریل (تقاطع) با سه تکرار در گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفات وزن خشک بیولوژیک، نسبت آب بافت گیاهی به وزن خشک (WC)، غلظت  $Na^+$  و تحمل استرس (ST) اندازه‌گیری گردیدند. همبستگی معنی‌داری بین شاخص تحمل و مقدار سدیم بافت گیاهی و WC وجود داشت. برآورد ضریب تغییرات ژنتیکی صفات از طریق امیدهای ریاضی، نشان داد که جمعیت از تنوع ژنتیکی معنی‌داری برخوردار است. تجزیه کلاستر براساس روش WARD، کلیه ژنوتیپ‌ها را در فاصله ۷/۴ در چهار گروه قرار داد و فاصله دورترین افراد ۲۲/۲، و کمترین فاصله بین افراد ۰/۸۹ برآورد شد و مطابقت خوبی بین نتایج حاصل از تجزیه کلاستر و ضریب تغییرات ژنتیکی وجود داشت. در داخل گونه‌های مختلف، نمونه‌هایی با غلظت سدیم زیاد و تحمل بالا و نمونه‌هایی با سدیم کم و تحمل بالا مشاهده شد. به منظور اصلاح گندم نان در مقابل شوری، باید از تنوع موجود در سایر گونه‌های خویشاوند گندم و جمع کردن مکانیزم‌های دفع و تحمل سدیم در داخل یک ژنوتیپ با کمک مارکرهای ملکولی، بهره جست.

**واژه‌های کلیدی:** تنوع ژنتیکی، شوری، گندم، ژرم پلاسم، تجزیه کلاستر.

### مقدمه

اصلاح تحمل شوری، می‌تواند نیاز به آبرسانی و در نتیجه هزینه تولید را کاهش دهد. تنش آبی ناشی از نمک خاک، سرعت رشد را به‌طور سریع کاهش می‌دهد. گندم گیاهی است که مقاومت به شوری متوسطی دارد (Maas & Hoffman, 1977). آستانه تحمل شوری برای گندم و برنج به ترتیب ۶ تا ۸ و ۳ دسی‌زیمنس بر متر می‌باشد و

شوری خاک یکی از محدودیت‌های اساسی در تولید کشاورزی در مناطق نیمه‌خشک محسوب می‌شود (Munns et al., 2002; Munns et al., 2003). افزایش تحمل شوری گیاهان زراعی برای تولید غذای پایدار در مناطق مختلف جهان، ضروری است. در کشاورزی آبی،

باید بیشتر  $\text{Na}^+$  و  $\text{Cl}^-$  موجود در محلول خاک را دفع کنند، زیرا در غیر این صورت، به تدریج با گذشت زمان، نمک در اندام‌های هوایی به مقدار زیادی تجمع پیدا کرده و باعث از بین رفتن برگ‌ها می‌شود (Munns et al., 2006). برای جلوگیری از تجمع نمک در اندام‌های هوایی، ریشه‌ها بایستی ۹۸٪ از نمک موجود در محلول خاک را دفع نمایند و فقط ۲٪ از نمک خاک اجازه ورود به اندام هوایی را داشته باشد، زیرا گیاهان حدود ۲٪ آبی را که جذب می‌کنند، در بافت نگهداری نموده و بقیه از طریق تعرق خارج می‌شود (Munns et al., 2006). به‌رغم اهمیتی که محققین نسبت به دفع سدیم<sup>۲</sup> به عنوان معیاری برای تحمل شوری<sup>۳</sup> در گندم قائل‌اند (Munns et al., 2002; Munns et al., 2006)، در بعضی پژوهش‌ها هیچ رابطه‌ای بین میزان دفع سدیم در بافت با صفت تحمل شوری (ST) دیده نشده است (Genc et al., 2007). نتایج بعضی آزمایش‌ها نشان داده که اثر دفع سدیم به‌وسیله عکس‌العمل‌های فیزیولوژیکی دیگر همچون تحمل بافتی<sup>۴</sup> پوشیده می‌شود. به‌عنوان مثال، در آزمایشی مشاهده شد که غلظت سدیم در گندم Pitic62 سه برابر Yitpi است، اما ST در آن ۱۴٪ بیشتر از Yitpi بود که این مسئله را به مکانیزم دوم، یعنی تحمل بافت نسبت می‌دهند. این دو مکانیزم مستقل از هم بوده و به‌صورت تجمعی میزان ST را تعیین می‌کنند که در خصوص برنج نیز گزارش شده است (Genc et al., 2007). بنابراین رابطه ثابت و اختصاصی بین دفع سدیم و ST در داخل یک توده متنوع از نظر ژنتیکی، وجود ندارد و زمانی که ژنوتیپ‌ها دارای تحمل بافتی یکسان می‌باشند، غلظت پایین سدیم بافت، می‌تواند تحمل به شوری را بهبود بخشد. در صورتی که دفع ضعیف سدیم می‌تواند به‌وسیله تحمل بافتی بالا جبران شود (Genc et al., 2007). تجمع کمتر سدیم در بافت گیاهی و در نتیجه افزایش  $\text{K}^+$  بافت، موجب افزایش نسبت  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  در گیاه شده و باعث افزایش تحمل گیاه به نمک می‌شود (Gorham, 1990). تشخیص وضعیت آب گیاه به‌دلیل این که هر لحظه تغییر می‌کند، مشکل است.

از این نظر تنوع زیادی در بین گونه‌ها وجود دارد (Munns et al., 2000). خویشاوندان وحشی گندم، پتانسیل بالایی برای اصلاح تحمل شوری در گندم دارند (Colmer et al., 2006). تنها راه مناسب برای بهبود و پایداری عملکرد گندم در محیط‌های شور، اصلاح آن به منظور تحمل شوری است (Genc et al., 2007). برای اصلاح تحمل شوری گندم از طریق معرفی ژن‌های مقاومت به شوری در ارقام سازگار، تنوع بین واریته‌ای کافی نیست، بلکه غربال‌سازی ژرم‌پلاسم ضروری است تا منابع ژنتیکی تحمل، شناسائی شوند و ژن‌های تحمل به ارقام زراعی انتقال یابند (Munns et al., 2000). با انجام تحقیقی، ۵۰۰۰ نمونه گندم نان غربال شد که ۲۹ نمونه از آن‌ها در ۵۰٪ آب دریا تولید بذر نمودند (Colmer et al., 2005). در یک آزمایش تعداد ۳۰ رقم گندم نان ایرانی و خارجی در مقابل تنش شوری مورد ارزیابی قرار گرفتند که تنوع ژنتیکی زیادی از نظر صفات ماده خشک و شاخص حساسیت به تنش<sup>۱</sup> (SSI) وجود داشت (Poustini & Siosewardah, 2004). در مطالعه‌ای دیگر، تعداد ۴۰۰ گندم ایرانی در کالیفرنیا در مزرعه غربال شد و چندین نمونه که عملکرد دانه بالا و ثابتی در تیمارهای شوری بالا و پائین داشتند، مشخص گردیدند، اما رقم متحمل جدیدی از این غربال‌سازی به دست نیامد (Jafari-Shabestari et al., 1995). صفت عملکرد در گیاهی مثل گندم، به‌عنوان شاخص تحمل شوری، همیشه مورد استفاده واقع شده است، ولی سودمندی استفاده از این صفت که خود صفت پیچیده‌ای می‌باشد، برای تشخیص تحمل به شوری و خشکی کم است (Flowers & Yeo, 1995). هم‌چنین، بعضی از محققین استفاده از صفات بیوشیمیایی را مناسب نمی‌دانند (Shannon, 1984)، ولی اعتقاد کلی بر این است که در خصوص انتخاب و اصلاح برای تحمل شوری، استفاده مستقیم از مکانیزم‌های فیزیولوژیک مربوطه، موفقیت‌آمیزتر است (Noble & Rogers, 1992). در گندم، انتقال کم  $\text{Na}^+$  از خاک به قسمت‌های هوایی (دفع سدیم) با تحمل شوری همبستگی دارد (Gorham et al., 1987; Munns et al., 2006).

2.  $\text{Na}^+$  exclusion  
3. Salt tolerance (ST)  
4. Tissue tolerance

1. Stress Susceptibility Index (SSI)

مختلف ایران جمع‌آوری شده‌اند (جدول ۱) و شامل گندم هگزاپلوئید، گندم‌های تتراپلوئید و اجداد دیپلوئید وحشی گندم بودند. این تحقیق به صورت طرح آماری آشیانه‌ای<sup>۲</sup> فاکتوریل یا تقاطعی (Montgomery, 1991) با دو سطح شوری (قابلیت هدایت الکتریکی صفر و ۱۳ دسی‌زیمنس بر متر) و چهار گونه (گونه هگزاپلوئید شامل نه ژنوتیپ، گونه تتراپلوئید شامل ۱۰ ژنوتیپ، گونه دیپلوئید DD شامل ۱۰ ژنوتیپ و گونه دیپلوئید AA شامل پنج ژنوتیپ) مجموعاً ۳۴ ژنوتیپ در سه تکرار (۲۰۴ گلدان) در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر<sup>(عج)</sup> رفسنجان اجرا گردید.

در ۱۵ آبان ۱۳۸۷ در هر گلدان چهار بوته کشت شد و بعد از ورنالیزاسیون، گیاهان به گلخانه انتقال یافتند. برای اعمال تیمارهای شوری با استفاده از فرمول  $EC \times 640 \times SP/100 = mg \text{ Nail} / Kg \text{ soil}$  (۲۲)، نمک طعام بر اساس وزن خاک گلدان محاسبه و در طی سه

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب گیاه<sup>۱</sup> (RWC) ساده و آسان است و معمولاً برای تشخیص وضعیت آب گیاه اندازه‌گیری می‌شود، اما به دلیل وقوع تنظیم اسمزی، یک شاخص معتبر و مفید برای نشان دادن وضعیت آب و تورژسانس گیاهان تحت استرس شوری نیست (Lafitte, 2002). اهداف این پژوهش عبارت بودند از: ۱- بررسی رابطه بین مقدار آب بافت گیاهی و غلظت  $Na^+$  در بافت، به‌عنوان معیاری از دفع سدیم (Genc et al., 2007) و میزان تحمل تنش شوری (ST) ۲- بررسی تنوع ژنتیکی بین گونه‌های و درون گونه‌های موجود در نمونه‌هایی از ژرم پلاسما گندم نان، شامل نمونه‌هایی از گندم هگزاپلوئید و خویشاوندان وحشی آن، از نظر صفات وزن خشک بیولوژیکی و آب بافت و عکس‌العمل آن‌ها نسبت به شوری.

## مواد و روش‌ها

۳۴ نمونه مختلف از ژرم پلاسما گندم از کلکسیون دانشکده کشاورزی کرج دریافت شد که از مناطق

### 1. Relative water content

جدول ۱- گونه‌ها و نمونه گندم‌های نان *T. aestivum* (ABBDD)، دوروم *T. turgidum* (*durum*. AABB)، اجیلوپس تاووشی *T. boeoticum* (AA) مورد مطالعه و *Ae. tauschii* (DD) و تریتیکم بوتتیکم

گونه	محل جمع‌آوری	گونه <sup>۱</sup>	محل جمع‌آوری
<i>T. aestivum</i> (7654-1)	کاشان	<i>durum</i> (106)	ایران
<i>T. aestivum</i> (6546-3)	محللات	<i>durum</i> (23)	ایران
<i>T. aestivum</i> (2780-3)	قزوین	<i>Ae. tauschii</i> (64)	ترکمستان
<i>T. aestivum</i> (6851-2.2)	ساوه	<i>Ae. tauschii</i> (24)	ایران
<i>T. aestivum</i> (500-5.2)	تهران	<i>Ae. tauschii</i> (15)	ترکیه
<i>T. aestivum</i> (6835-1.1)	فومن	<i>Ae. tauschii</i> (19)	آذربایجان
<i>T. aestivum</i> (6548-4.1)	اراک	<i>Ae. tauschii</i> (35)	ایران
<i>T. aestivum</i> (7141-4.1)	گرگان	<i>Ae. tauschii</i> (4)	ایران
<i>T. aestivum</i> (6979-5.1)	شاهرود	<i>Ae. tauschii</i> (1)	ایران
<i>durum</i> (51)	ایران	<i>Ae. tauschii</i> (54)	آذربایجان
<i>durum</i> (18)	ایران	<i>Ae. tauschii</i> (17)	تاجیکستان
<i>durum</i> (27)	ایران	<i>Ae. tauschii</i> (44)	تاجیکستان
<i>durum</i> (31)	ایران	<i>T. boeoticum</i> (3)	تحرك
<i>durum</i> (34)	ایران	<i>T. boeoticum</i> (5)	فیروزآباد
<i>durum</i> (40)	ایران	<i>T. boeoticum</i> (48)	آذربایجان (سقز)
<i>durum</i> (47)	ایران	<i>T. boeoticum</i> (14)	الشر
<i>durum</i> (59)	ایران	<i>T. boeoticum</i> (2)	کامیاران

۱. شماره داخل پرانتز، کد نمونه در کلکسیون است.

روش فلیمفتمتری) اندازه‌گیری و شاخص تحمل به صورت زیر محاسبه شد (Genc et al., 2007; Munns, & James, 2003):

$$ST = \frac{\text{وزن خشک بیولوژیکی در تیمار شوری}}{\text{وزن خشک بیولوژیکی در تیمار بدون تنش شوری}}$$

بررسی نرمال بودن صفات و تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار MINITAB انجام گردید. برای بررسی رابطه بین صفات، از همبستگی ساده بین صفات استفاده شد و در هر گونه، رگرسیون ST بر روی غلظت سدیم بافت رسم گردید. تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت مورد مطالعه، با استفاده از امید ریاضی میانگین مربعات در تجزیه واریانس، مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲).

نوبت همراه با آب آبیاری به گلدان‌های مورد نظر اضافه شد تا EC خاک به ۱۳ دسی‌زیمنس بر متر افزایش یابد و سپس آبیاری با آب مقطر با توجه به وزن هر گلدان در رطوبت ظرفیت زراعی (FC) طوری انجام گردید که آبشویی صورت نگیرد (زه‌آب به‌وجود نیاید).

لازم به‌ذکر است که ابتدا وزن هر گلدان در رطوبت FC تعیین گردید و مقدار آب آبیاری بر اساس آن به هر گلدان هر دو روز یک‌بار اضافه شد و گلدان‌ها فاقد زه‌کش بودند. در زمان به ساقه رفتن گیاهان، صفات وزن تر بیولوژیکی، وزن خشک بیولوژیکی، نسبت آب بافت (وزن خشک / (وزن تر - وزن خشک))، مقدار سدیم در کل بافت قسمت‌های هوایی<sup>۱</sup> گیاه (به

#### 1. Shoot

جدول ۲- نحوه محاسبه F در تجزیه واریانس بر اساس مدل طرح آماری و امید ریاضی میانگین مربعات مربوطه برای صفات وزن خشک، نسبت آب بافت و غلظت سدیم، در حالت شوری و گونه به‌عنوان فاکتورهای ثابت و ژنوتیپ به‌صورت تصادفی\*

	F	E(MS)	درجه آزادی	منابع تغییر
(۱)	MS <sub>۱</sub> /MS <sub>۵</sub>	$\sigma^2_e + r\sigma^2_{SG(p)} + rg_{hp} V_s$	s-1	شوری (S)
(۲)	MS <sub>۲</sub> /MS <sub>۳</sub>	$\sigma^2_e + r\sigma^2_{SG(p)} + r\sigma^2_{G(p)} + rsg_{hp} V_p$	p-1	گونه (P)
(۳)	MS <sub>۳</sub> /MS <sub>۵</sub>	$\sigma^2_e + r\sigma^2_{SG(p)} + r\sigma^2_{G(p)}$	p(g-1)	(گونه) ژنوتیپ (G)
(۴)	MS <sub>۴</sub> /MS <sub>۵</sub>	$\sigma^2_e + r\sigma^2_{SG(p)} + rg_{hp} \sigma^2_{SP}$	(s-1)(p-1)	گونه × شوری
(۵)	MS <sub>۵</sub> /MS <sub>۶</sub>	$\sigma^2_e + r\sigma^2_{SG(p)}$	(s-1)(g-1)(P)	(گونه) ژنوتیپ × شوری
(۶)		$\sigma^2_e$	s gp(r-1)	خطای آزمایشی

r تکرار، p تعداد گونه، g میانگین هارمونیک تعداد ژنوتیپ در داخل گونه، s تعداد سطوح شوری.

\* با توجه به امید ریاضی میانگین مربعات، واریانس ژنتیکی درون گونه‌ها و بین گونه‌ها به‌صورت زیر برآورد می‌شود:

$$\sigma^2_{G(p)} = (MS_3 - MS_5) / rs$$

$$V_p = (MS_2 - MS_3) / rsg_{hp}$$

بود و نشان داد که از نظر تحمل شوری بین گونه‌های مختلف گندم نان و خویشاوندان وحشی آن و هم‌چنین در داخل گونه‌ها، بین ژنوتیپ‌ها تفاوت ژنتیکی وجود داشت. اثر متقابل بین گونه و شوری، فقط برای سدیم بافت معنی‌دار بود که بیانگر، عکس‌العمل متفاوت گونه‌های مختلف در مقابل تغییر EC خاک است. اثر متقابل بین شوری و ژنوتیپ در داخل گونه نیز برای صفات Na<sup>+</sup> و نسبت آب (WC) معنی‌دار بود که پاسخ متفاوت ژنوتیپ‌ها را در مقابل شوری نشان داد (جدول ۳).

شوری باعث کاهش وزن خشک بیولوژیکی و افزایش مقدار غلظت سدیم بافت شد (جدول ۴) که با نتایج دیگر

به‌منظور گروه‌بندی و مطالعه تفاوت بین ژنوتیپ‌ها و گونه‌ها، از تجزیه کلاستر به‌روش WARD با استفاده از فاصله اقلیدسی همراه با استاندارد کردن متغیرها استفاده شد. در روش WARD اثر زنجیره‌ای که اغلب در روش UPGMA مشاهده می‌شود و تفسیر گروه‌بندی‌ها را مشکل می‌سازد، کمتر دیده می‌شود (Mohammadi & Prasanna, 2003).

### نتایج و بحث

تجزیه واریانس نشان داد که صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر شوری قرار گرفته‌اند (جدول ۳). در کلیه صفات اثر شوری، گونه و ژنوتیپ در داخل گونه معنی‌دار

جدول ۳- تجزیه واریانس و درصد تغییرات ژنتیکی برای صفات تحت مطالعه (DW: وزن خشک بر حسب گرم، Na<sup>+</sup>: مقدار سدیم بافت گیاهی، WC: نسبت آب به وزن خشک، ST: شاخص تحمل شوری)

صفت	میانگین مربعات						درصد تغییرات ژنتیکی (%CVg)**	
	خطا	گونه	شوری	(گونه) ژنوتیپ	شوری × گونه	(گونه) شوری × ژنوتیپ	درون گونه‌ها	بین گونه‌ها
DW	۰/۵۷۲۳	۳۴/۴۴**	۲۴/۰۷**	۵/۴۳**	۰/۶۵۸۲ <sup>ns</sup>	۰/۳۲۴۶ <sup>ns</sup>	۲۴/۱۹	۲۹/۸۶
Na <sup>+</sup>	۰/۰۲۵۷	۱/۱۹**	۱۸/۸۸**	۰/۰۸۹۳*	۰/۲۴۷۷**	۰/۰۴۷۸۹**	۷/۸	۱۴/۵
WC	۰/۵۵۵۲	۲۷/۰۰**	۲۰/۶۵**	۲/۲۵۵*	۱/۵۲۳ <sup>ns</sup>	۱/۰۱۰۸*	۶/۲۷	۲۱/۱۹
ST	۱/۰۳۴۳۷	۰/۲۳۰۱*	--	۰/۰۸۳۵**	--	--	۶	۹/۶

۱. این صفت تبدیل شده است [log(x+1)]

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، ns عدم اختلاف معنی دار.

هم چنین، مقدار ST در شرایط تنش شوری، همبستگی منفی و معنی دار با مقدار سدیم در بافت و نسبت آب بافت داشت. افزایش سدیم بافت، موجب کاهش تحمل شوری گردید که با نتایج سایر پژوهشگران (Dehdari et al., 2005; Munns et al., 2006) مطابقت دارد. افزایش WC در شرایط تنش شوری، موجب کاهش در تحمل شوری گردید، زیرا همبستگی منفی و معنی دار بین WC و وزن خشک بیولوژیکی ( $r = -0/5$ ) وجود داشت (جدول ۵). بنابراین، همان طور که ذکر شد، افزایش WC ممکن است در اثر کاهش وزن خشک در تنش شوری باشد که موجب کاهش ST می شود.

ضریب تغییرات ژنتیکی نشان داد که تنوع ژنتیکی از نظر تحمل شوری و صفات مرتبط با تحمل شوری، هم در بین گونه‌های مورد مطالعه و هم درون گونه‌ها وجود دارد (جدول ۳). در تمام صفات، تنوع بین گونه‌ای از تنوع درون گونه‌ای بیشتر بود و بیشترین تنوع بین گونه‌ها، مربوط به صفت وزن خشک (۰/۲۹) و کمترین تنوع بین گونه‌ای، مربوط به ST (۰/۹۶) بود. تفاوت‌های بین گونه‌ها، از طریق مقایسه میانگین گونه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۶). گندم دوروم از نظر وزن خشک در شرایط تنش، میانگین بیشتری را نسبت به سایر گونه‌ها داشت و دارای کمترین میانگین WC و از نظر مقدار سدیم در بافت و تحمل به شوری، در گروه بیشترین‌ها (۰/۸۸) قرار گرفت. گونه اچیلوپس تاوشی (DD)، کمترین وزن خشک را در شرایط بدون تنش و با تنش شوری داشت، از نظر WC در گروه بیشترین‌ها بود و از لحاظ غلظت سدیم در شرایط تنش، با گونه دوروم، تفاوت معنی داری نداشت، اما در مقایسه با گونه دوروم، میزان تحمل به شوری کمتری داشت (۰/۶۳). گونه

محققان مطابقت دارد (Dehdari et al., 2005). در شرایط تنش، نسبت آب به وزن خشک گیاه نیز افزایش یافته است. علل فیزیولوژیکی مختلفی می‌توانند موجب افزایش WC در گیاه شوند: ۱- افزایش Na<sup>+</sup> و Cl<sup>-</sup> در برگ و یا افزایش مواد آلی محلول در سلول که در محیط شوری افزایش می‌یابند، باعث افزایش جذب آب شده و WC افزایش می‌یابد (Maas & Hoffman, 1977). ۲- در شرایط تنش شوری و یا خشکی، میزان اسید آبسسیک (ABA) افزایش یافته (Genc et al., 2007) و باعث بسته شدن روزنه توسط گیاه می‌گردد. بنابراین، تعرق کاهش یافته (به علت کاهش مصرف آب) و فتوسنتز نیز کاهش می‌یابد و در نتیجه وزن خشک کاهش یافته و WC افزایش می‌یابد. ۳- افزایش WC ممکن است به علت کاهش ماده‌ی خشک در اثر سمیت (Tester & Davenport, 2003) ایجاد شده توسط افزایش زیاد سدیم (۰/۸۲) در شرایط تنش و در نتیجه کاهش فتوسنتز باشد، نه افزایش جذب آب (جدول ۴).

جدول ۴- میانگین صفات وزن خشک گرم (DW) مقدار سدیم (Na<sup>+</sup>) گیاه و نسبت آب به وزن خشک گیاه (WC) در شرایط مختلف بدون تنش و تنش شوری

تنش	DW	Na <sup>+</sup>	WC
بدون تنش	۳/۵۰۴	۰/۷۴۵۷	۲/۹۵۵
تنش شوری	۲/۷۸۰	۱/۳۶۲۷	۳/۶۵۴
تفاوت	-۰/۷۲۴**	۰/۶۱۷۰**	۰/۶۹۹**
% تغییر	۲۰	۸۲	۲۳

\*\* معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.

همبستگی بین صفات نشان داد که شاخص تحمل (ST) همبستگی مثبت و معنی دار با وزن خشک در محیط تنش شوری و محیط بدون تنش دارد (جدول ۵).

نشان ندادند که احتمالاً این دوروم‌ها دارای تحمل بافتی بالایی می‌باشند. دلیل دیگر ممکن است این باشد که گندم‌های دوروم، رشد اولیه سریع‌تری از بقیه داشته‌اند و کمتر تحت تأثیر اثر اسمزی شوری (تنش خشکی فیزیولوژیکی) قرار گرفته‌اند.

تنوع ژنتیکی بین گونه‌ها و درون هر گونه از طریق رگرسیون ST بر میزان غلظت سدیم بافت، نیز بررسی شد (شکل ۱). شیب رگرسیون در داخل هر گونه می‌تواند نشان‌دهنده میزان حساسیت گونه نسبت به افزایش غلظت سدیم بافت باشد که این شیب در گونه دیپلوئید (AA) کمتر از بقیه و معنی‌دار نبود (۰/۲۴۵-). شیب خط برای گندم دوروم در سطح احتمال ۰/۰۵ و برای گندم نان و اجیلوپس تاووشی در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. بنابراین گونه دوروم حساسیت کمتری را در مقابل افزایش غلظت سدیم بافت، در مقایسه با گندم نان و گونه اجیلوپس تاووشی (DD) نشان داده است. در گونه بوئیتیکم (AA) که حساسیت معنی‌داری را نشان نداده است، احتمالاً به علت تعداد کم ژنوتیپ و هم‌چنین وجود مکانیزم تحمل بافتی می‌باشد (Genc et al., 2007). دامنه تغییرات ST در داخل هر گونه، بیان دیگری از تنوع درون گونه‌ای است. اگرچه روند کلی رگرسیون رسم شده، افزایش سدیم و کاهش تحمل را نشان می‌دهد، ولی در داخل هر گونه، ژنوتیپ‌هایی وجود دارند که از نظر غلظت سدیم بافت متفاوت بوده، ولی دارای تحمل یکسان می‌باشند. در گندم نان، ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از اراک و ساوه، بیشترین تحمل را داشتند و نمونه محلات دارای کمترین تحمل بود. نمونه‌های گندم جمع‌آوری شده از کاشان و فومن

هگزاپلوئید (AABBDD)، از نظر وزن خشک در شرایط تنش شوری، تفاوت معنی‌داری با گونه دیپلوئید (AA) نداشت، ولی از لحاظ غلظت سدیم، تفاوتی معنی‌دار داشت و گونه بوئیتیکم (AA) کمترین غلظت سدیم را دارا بود، در حالی که از نظر تحمل به شوری، سه گونه گندم نان، بوئیتیکم و تاووشی تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۶).

جدول ۵- همبستگی بین صفات تحت مطالعه در شرایط

	تنش شوری و بدون تنش					
	ST	DWn	Na <sup>+</sup> n	Na <sup>+</sup> s	DWs	WCs
DWn	۰/۴۳۰*					
Na <sup>+</sup> n	۰/۰۲۸	۰/۳۰۷				
Na <sup>+</sup> s	-۰/۴۴۲**	-۰/۰۶	۰/۶۲۷**			
DWs	۰/۷۷۱**	۰/۶۱۵**	۰/۱	-۰/۳۳۱		
WCs	-۰/۴۲۴**	-۰/۲۹۷	۰/۲۲۷	-۰/۰۹۶	-۰/۴۹۲**	
WCn	-۰/۶۰۹**	-۰/۱۲۱	-۰/۱۵۳	۰/۱۰۸	-۰/۶۴۵**	۰/۶۶۲**

\* \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

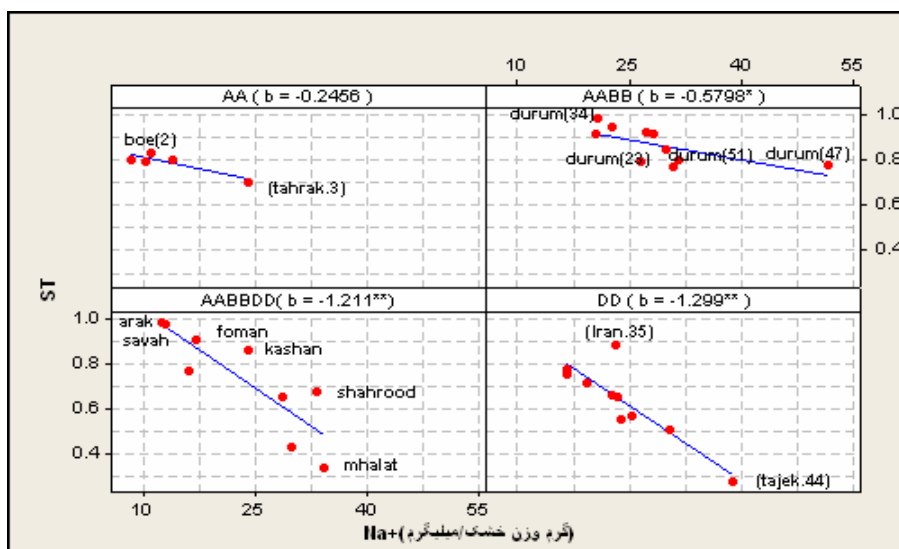
شاخص تحمل شوری (ST)، وزن خشک کل گیاه بر حسب گرم (DW) غلظت سدیم گیاه (Na<sup>+</sup>), نسبت آب به وزن خشک گیاه (WC), حروف n و s به ترتیب بیانگر صفت در شرایط بدون تنش و تنش شوری است.

در منابع گزارش شده است که گندم‌های دوروم زراعی معمولاً حساس‌تر از گندم‌های نان هستند (Munns et al., 2006)، اما تعدادی از مطالعات انجام شده بر روی تنوع ژنتیکی تحمل شوری در گندم‌های دوروم و نان، نشان داده که تیپ‌های دوروم متحمل‌تر از گندم‌های نان وجود داشته و ژنوتیپ‌هایی تشخیص داده شده‌اند که دارای تجمع زیاد سدیم و خسارت برگی پایینی بوده‌اند (Munns & James, 2003). نمونه‌های دوروم مطالعه شده در این آزمایش، با وجود غلظت سدیم بالا، تفاوت معنی‌داری از نظر تحمل، با گندم نان

جدول ۶- مقایسه میانگین گونه‌های مختلف برای صفات مختلف در شرایط بدون تنش و با تنش شوری به‌روش دانکن در سطح ۵ درصد

گونه	صفت									
	DWn	DWs	تغییر/٪	WCn	WCs	تغییر/٪	Na <sup>+</sup> n	Na <sup>+</sup> s	تغییر/٪	ST
AABBDD	۳/۵۴۱a	۲/۸۴۴b	-۱۹/۶	۳/۴۱۷a	۴/۲۴۶a	۲۴/۲	۰/۶۴۶۱b	۱/۳۵۷۲a	۱۱۰	۰/۷۴ab
AABB	۴/۳۲۴a	۳/۸۱۴a	-۱۱/۸	۲/۲۲۶b	۲/۵۹۶c	۱۶/۶	۱/۰۲۵۱a	۱/۴۶۰۱a	۴۲	۰/۸۸a
DD	۲/۵۱۳b	۱/۵۹۶c	-۳۶	۳/۲۹۷a	۴/۲۹۵a	۳۰/۲	۰/۷۰۵۳b	۱/۳۸۲۱a	۹۶	۰/۶۳b
AA	۳/۷۷۹a	۲/۹۹۶b	-۲۰/۷	۲/۸۹۵a	۳/۴۲۰b	۱۸/۱	۰/۴۴۶۸c	۱/۱۳۸۹b	۱۵۴	۰/۷۸ab

ST: شاخص تحمل شوری، Na<sup>+</sup>n و Na<sup>+</sup>s به ترتیب غلظت سدیم در بافت گیاه کامل در شرایط تنش شوری و بدون تنش، WCs و WCn به ترتیب نسبت آب به وزن خشک گیاه در شرایط تنش شوری و بدون تنش، DWn و DWs به ترتیب وزن خشک گیاه بر حسب گرم در شرایط تنش شوری و بدون تنش.



شکل ۱- رگرسیون شاخص تحمل شوری (ST) روی غلظت سدیم (گرم وزن خشک / میلی گرم) در بافت گیاهی در داخل گونه‌های مختلف: ترتیکم بوئتیکم (AA)، گندم دوروم (AABB)، گندم نان (AABBDD) و اجیلوپس تاووشی (DD). مقادیر b نشان‌دهنده شیب رگرسیون در هر گونه است. \*\*، \* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

آن‌ها بالا بود و علت آن را مکانیزم تحمل بافتی ذکر نمودند. در گونه بوئتیکم (AA)، تابعیت ST از غلظت سدیم مشاهده نشد و به‌طور کلی مقدار سدیم در داخل بافت آن‌ها، کمتر از بقیه گونه‌ها بود و تحمل بالایی را هم نشان دادند. ژنوتیپ‌های اجیلوپس تاووشی (DD) مورد مطالعه در این پژوهش، تحمل کمتری را نسبت به گندم‌های دوروم نشان دادند، اما درون گونه دارای تنوع و محدوده مقدار سدیم در آن‌ها، مشابه گندم‌های نان بود. نمونه‌های تاجیک ۴۴ و ایران ۳۵ به‌ترتیب دارای کمترین و بیشترین تحمل بودند. در منابع، ژنوم D مسئول افزایش دفع سدیم گزارش شده (Shah et al., 1987) و کروموزم D۴ در گندم نان حامل ژن دفع سدیم و ترجیح<sup>۱</sup> یون K<sup>+</sup> نسبت به Na<sup>+</sup> و افزایش نسبت K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> می‌باشد که یکی از شاخص‌های تحمل شوری است (Gorham et al., 1987). اما دلیل بر این نخواهد بود که تمام ژنوتیپ‌های DD حامل چنین ژنی باشند، چنان‌که تمام گندم‌های نان، حامل مکانیزم دفع سدیم نیستند (Genc et al., 2007). هم‌چنین در تحقیقی کلکسیون بزرگی از آجیلوپس تاووشی بررسی شد که در آن نمونه‌هایی با سدیم بسیار بالا و نمونه‌هایی با سدیم

دارای تحمل یکسان، ولی مقدار سدیم بافت در گندم کاشان بیشتر از فومن بود. نمونه‌های شاهرود و محلات، هر دو حدود ۳۴ میلی‌گرم سدیم بر گرم وزن خشک داشتند، اما شاهرود دارای تحمل ۰/۷ و محلات دارای تحمل ۰/۳۳ بود. در تحقیقی که بر روی ۳۸ ژنوتیپ گندم انجام شد، نتایج مشابهی در خصوص ارقام Pitic62، Baart و Yitipi به‌دست آمد و داشتن سدیم زیاد در بافت همراه با تحمل بالا را در بعضی از نمونه‌ها، به مکانیزم تحمل بافتی نسبت دادند (Genc et al., 2007). در این پژوهش، وضعیتی مشابه در سایر گونه‌های خویشاوند گندم نیز مشاهده گردید. در گندم دوروم، دوروم ۳۴ دارای بیشترین و دوروم ۴۷ دارای کمترین تحمل بودند. دوروم ۴۷ و دوروم ۲۳ هر دو دارای ST یکسان (۰/۷۷)، اما غلظت سدیم بافت در دوروم ۴۷ دو برابر دوروم ۲۳ بود. بنابراین مکانیزم تحمل در این دو ژنوتیپ متفاوت است که نتایج به‌دست آمده با نتایج برخی پژوهشگران که در یک گروه از دوروم‌ها، رگرسیون با شیب منفی و معنی‌دار بین تحمل و میزان سدیم بافت به‌دست آوردند، مطابقت دارد (مکانیزم تحمل در آن‌ها از طریق دفع سدیم است) (Munns & James, 2003). در گروه دیگری از تتراپلوئیدها، تحمل هیچ رابطه‌ای با غلظت سدیم در بافت نشان نداد، اما غلظت سدیم در

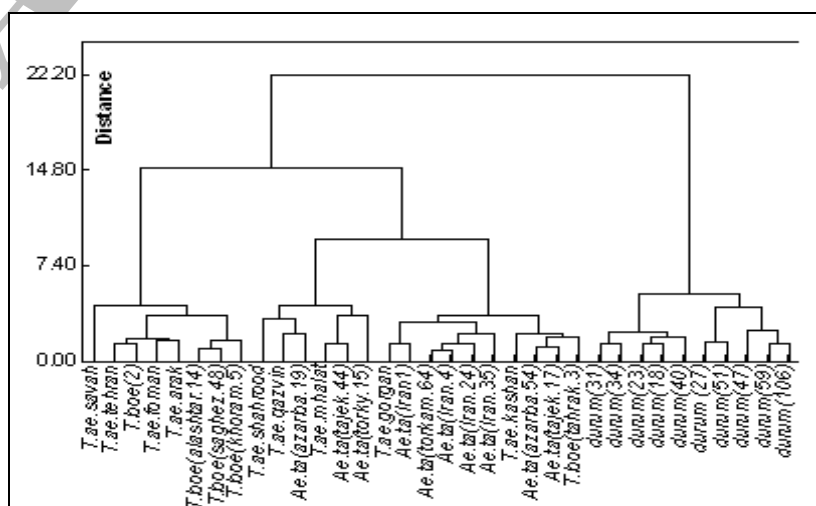
1. K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> - discrimination

اراک در یک گروه قرار گرفتند که نمونه‌های اراک و ساوه تحمل به شوری بالایی داشتند. بوئیتیکم‌ها نیز دارای ST بالا بودند، بنابراین قرار گرفتن آن‌ها در یک گروه از نظر تحمل به شوری، منطقی به نظر می‌رسد. می‌توان گفت گروه‌بندی حاصل از تجزیه کلاستر، به‌طور کلی با نتایج به‌دست آمده از ضریب تغییرات ژنتیکی حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۳)، مقایسه میانگین گونه‌ها از نظر صفات تحت مطالعه (جدول ۶) و رگرسیون ST بر غلظت سدیم در داخل هر گونه مطابقت دارد. قرار گرفتن ژنوتیپ‌های یک گونه در یک گروه در فواصل کم، به‌طور مثال گندم‌های دوروم در یک گروه، اگیلوپس‌ها تقریباً در یک گروه و بوئیتیکم‌ها و گندم‌های نان در دو گروه دیگر، و از طرفی قرار گرفتن کلیه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در یک گروه در فاصله ۲۲/۲ (شکل ۲)، نشان داد که از نظر تحمل شوری، تنوع بین گونه‌ای از تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای بیشتر است. همان‌طور که ضریب تغییرات ژنتیکی بین گونه‌ای، برای تمام صفات تحت مطالعه از درون گونه‌ای بیشتر است (جدول ۳).

تفاوت‌های معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها در درون گونه‌ها از نظر میزان سدیم بافت و ST (مقایسه میانگین‌های ۳۴ ژنوتیپ آورده نشد)، از دیدگاه اصلاحی قابل توجه است. پژوهشگران دیگر نیز در خصوص تنوع در داخل گندم نان و گونه‌های خویشاوند آن، تغییرات ژنتیکی معنی‌داری را گزارش کرده‌اند (Genc et al., 2007; Munns & James, 2003).

پایین در برگ مشاهده گردید و با تلاقی آن‌ها و تولید جمعیت F2 ثابت شد که یک سیستم چندژنی در دفع سدیم دخالت دارد، اگرچه وجود ژن‌های با اثر بزرگ هم مشاهده شد (Schachtman et al., 1991).

بنابراین تمام نمونه‌های دیپلوئید (DD) حاوی ژن و یا ژن‌های دفع سدیم نخواهند بود. در نتیجه، نمونه‌های اگیلوپس مطالعه شده در این پژوهش، دارای میانگین تحمل (ST) کمتری از سایر گونه‌ها بودند (تفاوتی معنی‌دار با میانگین گندم نان و گونه بوئیتیکم ندارد)، اما نمونه‌هایی هم مثل ایران ۳۵ دیده شد که دارای تحمل بالا و شبیه گندم‌های نان دارای تحمل بالا می‌باشد (شکل ۱). در تجزیه کلاستر بر اساس میانگین صفات در شرایط تنش شوری و بدون تنش، کل ژنوتیپ‌ها در فاصله ۷/۴ در چهار گروه قرار گرفتند (شکل ۲)، به طوری که تمام گندم‌های دوروم در یک گروه و هفت عدد از نمونه‌های گونه اگیلوپس و گندم‌های نان جمع‌آوری شده از گرگان و کاشان و بوئیتیکم (تحرك) در یک گروه قرار گرفتند که با توجه به تعداد زیاد اگیلوپس‌ها در گروه، این گروه را می‌توان گروه اگیلوپس‌ها نامید. گندم‌های نان جمع‌آوری شده از شاهرود، قزوین و محلات همراه با اگیلوپس‌های تاجیک ۴۴، آذربایجان ۱۹ و ترکیه ۱۵ در یک گروه قرار گرفتند که محلات در گروه هگزاپلوئیدها و تاجیک ۴۴ در گروه اگیلوپس‌ها، کمترین تحمل به شوری را از خود نشان دادند. چهار عدد از بوئیتیکم‌ها همراه با چهار عدد از گندم‌های نان، شامل نمونه‌های ساوه، تهران، فومن و



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به روش WARD



## نتیجه‌گیری کلی

احتمالاً تلاش برای افزایش تحمل بیشتر آنها از طریق دفع بیشتر سدیم امکان‌پذیر نباشد. لذا باید ژن‌های مولد مکانیزم تحمل بافتی (تقسیم و فرستادن سدیم از سیتوپلاسم به درون واکوئل‌ها) را از سایر ژنوتیپ‌ها و یا گونه‌های حامل این مکانیزم تهیه و به آنها انتقال داد. هم‌چنین انتقال ژن‌های مکانیزم دفع سدیم، به ژنوتیپ‌های دارای تحمل بافتی انجام گیرد. البته انجام روش‌های فوق، مستلزم شناسایی و یافتن ژن‌ها و مارکرهای ملکولی مربوطه است، چرا که جمع کردن خصوصیات دفع سدیم و تحمل سدیم در داخل لاین‌های اصلاحی با استفاده از مارکرهای ملکولی، سبب تسریع در پروسه‌های اصلاحی می‌شود (Genc et al., 2007).

## سپاسگزاری

هزینه انجام این پژوهش از پژوهانه‌ی سال ۱۳۸۹ تأمین شده است که بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه ولی عصر<sup>(عج)</sup> تشکر می‌کنیم.

وجود تنوع و تغییرات ژنتیکی، یکی از ابتدایی‌ترین پیش‌نیازها جهت اصلاح برای تحمل به شوری در هر گیاهی است. با توجه به پیچیدگی‌های فیزیولوژیکی و ژنتیکی ST، برای اصلاح این صفت، به‌جای انتخاب فنوتیپی مثل عملکرد و اجزای آن، معیار انتخاب باید بر اساس خود صفت باشد (Flowers & Yeo, 1995; Shanno & Noble, 1990; Yeo et al., 1990). در این پژوهش در هر یک از گونه‌های مورد مطالعه، انواع مختلف تحمل شوری، مثل دفع سدیم و تحمل بافتی، یعنی نمونه‌هایی با سدیم پایین و تحمل بالا (دارای مکانیزم دفع) و نمونه‌هایی با سدیم بالا و تحمل بالا (دارای مکانیزم تحمل بافتی) دیده شدند. بنابراین مقدار غلظت سدیم در بافت گیاهی به‌تنهایی قادر به توجیه تغییرات ST در بین ژنوتیپ‌ها نیست. برای بهبود ST در گندم نان، لازم است از هر دو نوع مکانیزم در یک وارثه بهره‌جست. ژنوتیپ‌هایی که دارای سدیم پائین هستند و تحمل بالائی دارند (دارای مکانیزم دفع می‌باشند)،

## REFERENCES

- Colmer, T. D., Flowers, T. J. & Munns, R. (2005). Improving salt tolerance of wheat and barley: future prospects. *Aus J Exp Agric*, 45, 1425-1443.
- Colmer, T. D., Flowers, T. J. & Munns, R. (2006). Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *J Exp Botany*, 57, 1059-1078.
- Dehdari, A., Rezaei, A. & Maibodi, S. A. (2005). Salt tolerance of seedling and adult bread wheat plants based on ion contents and agronomic traits. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 36, 2239-2253.
- Flowers, T. J. & Yeo, A. R. (1995). Breeding for salt tolerance in crop plants: Where next? *Aust J Plant Physiol*, 22, 875-884.
- Genc, Y., McDonald, G. K. & Tester, M. (2007). Reassessment of tissue Na<sup>+</sup> concentration as a criterion for salinity tolerance in bread wheat. *Plant Cell and Environment*, 30, 1486-1498.
- Ghanem, M. E., Albacete, A., Martinez-Andujar, C., Acosta, M., Romero-randa, R., Dodd, L. C., Lutts, S. & Perez-Alfocea, F. (2008). Hormonal changes during salinity-induced leaf senescence in tomato. *J Experimental Botany*, 59, 3039-3050.
- Gorham, C., Hardy, J., WynJones, R. G., Jopa, L. R. & Law, C. N. (1987). Chromosomal location of a K/Na discrimination character in the D genome of wheat. *Planta*, 180, 590-597.
- Gorham, J. (1990). Salt tolerance in the *Triticeae*: K/Na discrimination in synthetic hexaploid wheat. *J Exp Botany*, 41, 623-627.
- Jafari-Shabestari, J., Corke, H. & Qualset, C. O. (1995). Field evaluation of tolerance to salinity stress in Iranian hexaploid wheat landrace accession. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 42, 147-156.
- Lafitte, R. (2002). Relationship between leaf relative water content during reproductive stage water deficit and grain formation in rice. *Field Crops Res*, 76, 165-174.
- Maas, E. V. & Hoffman, P. A. (1977). Crop salt tolerance-current assessment. *Journal of the Irrigation and Drainage*. 103, 115-134.
- Mohammadi, S. A. & Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Sci*, 43, 1235-1248.
- Montgomery, D. C. (1991). *Design and analysis of experiments*. Third Edition, John Wiley & Sons.
- Munns, R., Hare, R. A., James, R. A. & Rebetzke, G. J. (2000). Genetic variation for improving the salt

- tolerance of durum wheat. *Aust J Agric Res*, 51, 69-74.
15. Munns, R., Husain, S., Rivelli, A. R., James, R. A., Condon, A. G., Lindsay, M. P., Lagudah, E. S., Schachtman, D. P. & Hare, R. A. (2002). Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. *Plant and Soil*, 247, 93-105.
  16. Munns, R. & James, R. A. (2003). Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil*, 253, 201-218.
  17. Munns, R., James, R. A. & Lauchli, A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J Exp Botany*, 57, 1025-1043.
  18. Noble, C. L. & Rogers, M. E. (1992). Arguments for the use of physiological criteria for improving the salt tolerance in crops. *Plant Physiol*, 146, 99-107.
  19. Poustini, K. & Siosemdah, A. (2004). Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. *Field Crops Res*, 85, 125-133.
  20. Rashid, A., Querishi, R. H., Hollington, P. A. & Wyn Jones, R. G. (1999). Comparative responses of wheat cultivars to salinity at the seedling stage. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 182, 199-207.
  21. Richard, L. A. (1954). *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*. V.S.D.A, Handbook No.60, Washington, D.C.U.S.A.
  22. Schachtman, D. P., Munns, R. & Whitecross, M. I. (1991). Variation of sodium exclusion and salt tolerance in *Triticum tauschii*. *Crop Sci*, 31, 992-997.
  23. Shannon, M. C. (1984). Breeding, selection, and the genetic of salt tolerance. In: Staples, R.C., Toenniessen, G.H. (Eds.), *Salinity tolerance in Plants*. Wiley, New York, pp. 231-255.
  24. Shah, S. H., Gorham, J., Forster, B. P. & Wyn Jones, R. G. (1987). Salt tolerance in the Triticeae: the contribution of the D genome to cation selectivity in hexaploid wheat. *J Exp Bot*, 38, 254-269.
  25. Shannon, M. C. & Noble, C. L. (1990). Genetic approaches for developing economic salt tolerance crops. In *Agricultural Salinity Assessment and management* (ed. K.K.Tanji), ASCE, New York, NY, USA. pp. 165-185.
  26. Tester, M. & Davenport, R. (2003). Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Annals of Botany*, 91, 503-527.
  27. Yeo, A. R., Yeo, M. E., Flowers, S. A. & Flowers, T. J. (1990). Screening of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for physiological characters contributing to salinity resistance and their relationship to overall performance. *Thor Appl Gen*, 79, 377-384.

Archive.org