Archive of SID

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد نهم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۵
۲۶۷-۲۷۷

بررسی تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های سورگم دانه‌ای (*Sorghum bicolor* L.) در مرحله گیاهچه‌ای و ارتباط آن با نشانگرهای ریزماهواره

صغری خرمی‌پور[۱]، مسعود دهداری[۲*]
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج.
۲. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج.

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۴/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۸/۲۵

چکیده

تنش شوری پس از خشکی، دومین عامل محدودکننده عملکرد گیاهان زراعی در دنیا است. جهت بررسی تحمل به شوری ۱۰ ژنوتیپ سورگم دانه‌ای و ارتباط آن با نشانگرهای ریز ماهواره، دو آزمایش جداگانه در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج اجرا شد. در آزمایش اول تحمل به شوری ۱۰ ژنوتیپ سورگم دانه‌ای در چهار سطح شوری شامل هدایت‌های الکتریکی ۱/۹۲(شاهد)، ۵، ۱۰ و ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر (با افزودن کلرید سدیم به محلول هوگلند) در مرحله گیاهچه‌ای موردبررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که هر سه اثر ژنوتیپ، شوری و برهمکنش آن‌ها برای تمامی صفات در سطح یک درصد معنی‌دار گردید. در بین صفات فیزیولوژیک، پرولین بیشترین ضریب تنوع ژنوتیپی را در شرایط تنش (۵۲/۱ درصد) و عدم تنش (۴۱/۶ درصد) به خود اختصاص داد. بالاترین وراثت‌پذیری عمومی مربوط به سطح برگ (۹۵/۲۴ درصد) و کمترین آن مربوط به میزان منیزیم (۲۱/۱۵ درصد) بود. نتایج حاصل از شدت تنش نشان داد که صفت نسبت سدیم به پتاسیم با مقدار ۰/۹۶ بیشترین تأثیر را از تنش شوری پذیرفت. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس نمودار سه‌بعدی Yp، Ys و STI ژنوتیپ‌های Sor834، Sor1011، Sor1006 و Sor857 را برای کشت در شرایط شور و غیرشور معرفی نمود که با در نظر گرفتن سایر ویژگی‌ها درمجموع می‌توان ژنوتیپ‌های Sor834 و MTS را به ترتیب به‌عنوان متحمل و حساس به شوری در مرحله گیاهچه‌ای معرفی نمود. در آزمایش دوم از ۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره جهت بررسی ارتباط بین نشانگرها و مهم‌ترین ویژگی‌های سورگم و با به‌کارگیری مدل لجستیک دوتایی استفاده شد. نتایج حاکی از پیوستگی احتمالی بین چهار نشانگر ریزماهواره با شاخص تحمل به تنش شوری بود که می‌توان از آن‌ها برای غربال ژنوتیپ‌های متحمل به شوری بهره جست.

واژه‌های کلیدی: پرولین، شاخص تحمل به تنش، شدت تنش، محتوی مواد معدنی.

مقدمه

تنش شوری عاملی است که به‌طورجدی تولید محصولات زراعی را در مناطق مختلف ازجمله مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود می‌کند (Clark et al., 1999). سورگم بر اساس تقسیم‌بندی گیاهان ازنظر تحمل به تنش شوری، در کلاس نیمه متحمل قرار می‌گیرد و آستانه تحمل به شوری آن ۴/۹ تا ۶/۸ دسی‌زیمنس بر متر است (Mirmohammady Maibody and Ghareyazie, 2002)؛ اما در بین ارقام یک گونه زراعی، تحمل به تنش شوری می‌تواند بسیار متفاوت باشد. آثار شوری بر گیاه سورگم در مراحل مختلف متفاوت است. سورگم در مرحله رویشی و مراحل اولیه زایشی، بسیار حساس بوده درحالی‌که در دوره گلدهی و مرحله پر شدن دانه به ترتیب کمترین حساسیت را به تنش شوری دارد. در بررسی اثر شوری بر گیاهچه‌های سورگم در شرایط گلخانه‌ای ملاحظه شد که شوری شدید موجب کاهش و توقف رشد شده و در شوری درازمدت سرعت رشد نسبی کاهش می‌یابد (Netonda et

* نگارنده پاسخگو: مسعود دهداری. پست الکترونیک: adehdari2000@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

al., 2004). سدیم موجب کاهش جذب پتاسیم و کاهش رشد و عملکرد در گیاهان می‌گردد (Reddy et al., 2010). بررسی‌ها نشان داده است با افزودن کلسیم به محیط شور می‌توان به طرق مختلف ازجمله حفظ ساختار و تمامیت غشای سلولی و افزایش تقسیم سلولی، کاهش جذب و انتقال سدیم به اندام‌های هوایی، افزایش جذب پتاسیم و درنتیجه افزایش نسبت پتاسم به سدیم در گیاه، بهبود متابولیسم نیتروژن و فعالیت فتوسنتزی گیاه، تأثیر مخرب شوری بر رشد گیاه را کاهش داد (Reddy et al., 2010). نسبت پتاسیم به سدیم بالا می‌تواند به‌عنوان یک معیار انتخاب تحمل به شوری در بسیاری از گونه‌های گیاهی باشد (Marschner, 1995).

امروزه از نشانگرهای مولکولی به‌عنوان ابزاری مناسب و مکمل روش‌های کلاسیک در اصلاح نباتات استفاده می‌شود. شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده صفات کلیدی یک هدف اصلاحی مهم در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر است. نشانگر مولکولی ریز ماهواره یا توالی‌های تکراری ساده (SSR) شامل توالی ساده تکراری کوتاهی (۶-۲ جفت باز) از DNA هستند (Mcharo et al., 2005). نشانگرهای ریزماهواره به علت چندشکلی بالا، ماهیت هم‌بارز، ارزیابی آسان و تکرارپذیری بالا به‌عنوان نشانگرهای متداول برای مکان‌یابی ژن‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرند (Wang et al., 2012).

با توجه به اهمیت خسارت شوری در سورگم، این آزمایش با هدف شناسایی ارقام متحمل به شوری و یافتن نشانگر مولکولی SSR مرتبط با ویژگی‌های تحمل به شوری در مرحله‌ی گیاهچه‌ای طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۲ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج اجرا شد. فاکتور اول شامل تنش شوری در چهار سطح ۱/۹۲ (شاهد)، ۵، ۱۰ و ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر و فاکتور دوم شامل ۱۰ ژنوتیپ سورگم (Sor834، Sor1003، Sor1009، Sor1011، Sor857، Sor808، Sor1006، MTS، LTS و HTS) بودند. از هر رقم سورگم، ۱۲ عدد بذر سالم پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت یک دقیقه، در گلدان‌های پرشده از شسته شده ماسه کشت شدند. سپس تا رسیدن به مرحله دوبرگی تمام گلدان‌ها با یک‌چهارم محلول هوگلند (Hoagland and Arnon, 1950) آبیاری شدند. پس از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله دوبرگی تنش شوری با استفاده از کلرید سدیم بر اساس تیمارهای فوق‌الذکر به مدت ۲۰ روز اعمال گردید. پس از اعمال تنش صفاتی نظیر وزن خشک برگ، وزن خشک‌ریشه، ارتفاع ساقه، سطح برگ و میزان مواد معدنی برگ مثل سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری میزان مواد معدنی سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم پهنک‌های جوان‌ترین برگ‌های بازشده بوته‌ها در هرکدام از گلدان‌ها، انتخاب و بعد از خشک شدن در آون با دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت توزین شدند. سپس در کوره با دمای ۵۰۰ درجه سلسیوس به مدت چهار ساعت خاکستر شدند و در ادامه عصاره گیری به‌وسیله اسیدکلریدریک صورت گرفت. غلظت سدیم و پتاسیم به‌وسیله دستگاه فلیم‌فتومتر و کلسیم و منیزیم به‌وسیله دستگاه جذب اتمی (مدل Hitachi Z-2300) برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ اندازه‌گیری شدند. اعداد قرائت‌شده به‌وسیله مقایسه با نمودار حاصل از نمونه‌های استاندارد تعدیل شدند و درنهایت نسبت سدیم به پتاسیم محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری قندهای محلول از روش ایریگوئن و همکاران (Irigoyen et al., 1992) استفاده شد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از استاندارد-هایی از گلوکز با غلظت‌های ۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون رسم و میزان قندهای محلول نمونه‌ها بر اساس میلی‌گرم در هر گرم وزن تر برگ محاسبه گردیدند. برای اندازه‌گیری پرولین نیز از روش پاکوئین و لچاژر (Paquine and Lechasseur, 1979) استفاده شد. میزان جذب نور نمونه‌ها برای قندهای محلول و پرولین به ترتیب در طول‌موج‌های ۶۲۵ و ۵۱۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل SHIMADZO 54A) قرائت گردید.

بعد از اندازه‌گیری صفات ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنتیکی با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند (Sharma, 1998):

ضریب تنوع فنوتیپی (CV_p):

$$CV_p = S_p/\mu \times 100 \quad [۱]$$

ضریب تنوع ژنتیکی (CV_g):

$$CV_g = S_g/\mu \times 100 \quad [۲]$$

www.SID.ir

Archive of SID

در روابط فوق S_p و S_g به ترتیب نشان‌دهنده انحراف معیار فنوتیپی و ژنتیکی و μ نشان‌دهنده میانگین صفت می‌باشد.

به کمک امید ریاضی میانگین مربعات، اجزاء واریانس محیطی، ژنتیکی و فنوتیپی در شرایط شاهد و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به‌عنوان تنش شوری محاسبه شد و تفسیر لازم صورت پذیرفت. وراثت‌پذیری عمومی صفات با استفاده از امید ریاضی میانگین مربعات در جدول تجزیه واریانس فاکتوریل برآورد گردید. شدت تنش (SI) برای کلیه صفات اندازه‌گیری شده، با استفاده از فرمول زیر حساب شد:

$$SI=1-(\overline{Ys}/\overline{Yp}) \qquad [۳]$$

که در آن $\overline{Yp}$، میانگین وزن خشک اندام هوایی کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون تنش، و $\overline{Ys}$ میانگین وزن خشک اندام هوایی کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش می‌باشند.

شاخص تحمل به تنش نیز با فرمول زیر به دست آمد (Fernandez, 1992):

$$STI = (Y_P)\times(Y_S)/\overline{Yp}^{\,2} \qquad [۴]$$

که در آن Y_P وزن خشک اندام هوایی هر ژنوتیپ در شرایط بدون تنش و Y_S وزن خشک اندام هوایی هر ژنوتیپ در شرایط تنش هستند.

با رسم نمودار سه‌بعدی STI، Y_P و Y_S ژنوتیپ‌های مناسب جهت کشت در شرایط شاهد (بدون شوری) و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر شناسایی شدند.

استخراج DNA با استفاده از روش CTAB تغییریافته انجام گرفت (Saghai Maroof et al., 1984). بعد از آزمون کیفیت DNA برنامه تکثیر با آغازگرهای SSR (جدول ۱) که با توجه به مطالعات قبلی (Shehzad et al., 2009) انتخاب شده بودند مطابق جدول ۲ صورت پذیرفت. محصول حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز (۱/۵ درصد) Top vision آشکارسازی شد. رنگ‌آمیزی ژل‌ها با اتیدیوم بروماید (µg/ml) صورت گرفت. مرحله آخر عکس‌برداری از ژل با اشعه UV و توسط دستگاه ژل‌داک (Gel Logic QUANTUM ST4, Germany) صورت گرفت.

در مرحله بعد ارتباط بین ویژگی‌های اندازه‌گیری شده و نوارهای حاصل از نشانگرهای ریز ماهواره (SSR) (جدول ۱) که به‌صورت صفر (عدم نوار) و یک (وجود نوار) امتیازبندی شده بودند به‌وسیله رگرسیون لجستیک دوتایی[1] در دو شرایط تنش شوری ($EC=10\ dS.m^{-1}$) و عدم تنش شوری ($EC=1.92\ dS.m^{-1}$) بررسی شد. در این تجزیه امتیاز نوارها به‌عنوان متغیر تابع و ویژگی‌های مهم اندازه‌گیری شده به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند. ضریب تأثیر مثبت و بالا بیانگر وجود ارتباط احتمالی بین نشانگر (وجود نوار) و صفت می‌باشد.

تجزیه‌وتحلیل مشاهدات با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 (SAS Institute Inc., 2002) و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت. مقایسه میانگین برهمکنش فاکتورها به روش LSmeans انجام شد.

نتایج و بحث

همان‌گونه که در جدول ۳ ملاحظه می‌گردد میانگین وزن خشک برگ در حالت عدم تنش نسبت به حالت تنش (۱۰ دسی‌زیمنس بر متر)، کاهش نشان داد. به‌طورکلی با افزایش تنش شوری صفات مورفولوژیکی روند نزولی را نشان دادند، درحالی‌که تنش شوری میزان پرولین و قندهای محلول را افزایش داد. بطوریکه میانگین پرولین در شرایط عدم تنش (شاهد) ۲/۳۴ میکرومول بر گرم وزن تر برگ و در حالت تنش ۸/۳۰ میکرومول بر گرم وزن تر برگ بود (افزایش ۷۱ درصدی نسبت به حالت عدم تنش). با افزایش تنش شوری عناصر معدنی به‌جز پتاسیم برگ روند صعودی را نشان دادند. به‌طوری‌که میانگین منیزیم، کلسیم، سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم برگ در حالت تنش به ترتیب افزایش ۶۶، ۴۵، ۸۶ و ۹۴ درصدی را نسبت به حالت عدم تنش نشان دادند. تفاوت دامنه تغییرات برای صفات سطح برگ، وزن خشک برگ، طول ساقه و میزان پتاسیم در حالت عدم تنش نسبت به تنش به ترتیب ۵/۸۲، ۱۷/، ۷/ و ۳۷/۸۹ بود.

دامنه تغییرات برای اکثر صفات زیاد بود که بیانگر وجود تنوع کافی بین جوامع موردبررسی می‌باشد. بیشترین واریانس ژنتیکی در حالت تنش به ترتیب مربوط به پتاسیم (۲۲۰/۳۴)، قندهای محلول (۱۲۱/۰۸) و سدیم (۱۰۲/۷۶) و کمترین واریانس ژنتیکی مربوط به وزن خشک برگ و وزن خشک ریشه بود. بر طبق نظر روزلی و هامبلین (Rosiel and Hamblin, 1981) اگر واریانس ژنتیکی در محیط تنش بزرگ‌تر از شرایط بدون تنش باشد، انتخاب در محیط تنش از بازدهی ژنتیکی بالاتری نسبت به انتخاب در شرایط بدون تنش و انتخاب در دو محیط برخوردار خواهد بود. برای مواد معدنی اندازه‌گیری شده به‌جز میزان پتاسیم این

[1]. Binary logistic regression

www.SID.ir

Archive of SID

وضعیت وجود داشت؛ بنابراین برای اصلاح آن‌ها انتخاب در شرایط شوری مؤثرتر خواهد بود. بیشترین ضریب تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی در بین صفات مورفولوژیکی مربوط به وزن خشک ریشه در حالت عدم تنش و وزن خشک برگ در حالت تنش و کمترین ضریب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی در بین صفات مورفولوژیکی در حالت تنش و عدم تنش مربوط به طول ساقه بود. در بین صفات فیزیولوژیک پرولین بیشترین ضریب تنوع ژنوتیپی را در شرایط تنش (۵۲/۱) و عدم تنش (۴۱/۸) به خود اختصاص داد. در بین عناصر معدنی، میزان منیزیم بیشترین و پتاسیم کمترین تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی را در شرایط تنش و عدم تنش داشتند. ضریب تغییرات ژنتیکی صفات نشان داد که در بعضی صفات تنوع زیاد و در بعضی صفات تنوع کمی وجود دارد. مسلماً هر چه تنوع موجود در صفات بیشتر باشد انتخاب در آن‌ها از دقت بالاتری برخوردار خواهد بود.

جدول ۱. مشخصات ۱۰ آغازگر ریزماهواره استفاده‌شده.

Table 1. Description of the 10 studied SSR markers.

شماره No.	آغازگر Primer	توالی رفت Forward sequences	توالی برگشت Backward sequences	Size range
1	Xtxp270	AGCAAGAAGAAGGCAAGAAGAAGG	GCGAAATTATTTTGAAATGGAGTTGA	280-320
2	Xtxp335	TATTTCCTCTTGAAAGAATCAGGG	TATTCATCGAGCAAAAGGCA	160-245
3	Xtxp274	GAAATTACAATGCTACCCCTAAAAGT	ACTCTACTCCTTCCGTCCACAT	247-320
4	Xtxp20	TCT CAA GGT TTG ATG GTT GG	ACC CAT TAT TGA CCG TTG AG	180-240
5	Xtxp354	TGGGCAGGGTATCTAACTGA	GCCTTTTTCTGAGCCTTGA	130-154
6	Xtxp312	CAGGAAAATACGATCCGTGCCAAGT	GTGAACTATTCGGAAGAAGTTTGGAGGAAA	90-185
7	Xtxp331	AACGGTTATTAGAGAGGGAGA	AGTATAATAACATTTTGACACCCA	170-280
8	Xtxp287	GCAAGCGAGCTGACTTATGTAACGAGA	AGTATAATAACATTTTGACACCCA	330-360
9	Xtxp258	CACCAAGTGTCGCGAACTGAA	GCTTAGTGTGAGCGCTGACCAG	180-225
10	Xtxp285	ATTTGATTCTTCTTGCTTTGCCTTGT	TTGTCATTTCCCCCTTCTTTCTTTT	205-260

جدول ۲. تعداد و مشخصات چرخه‌های PCR.

Table 2. Number and description of PCR cycles.

سیکل‌ها Cycle step	دما (°C) Temperature	زمان Time	تعداد سیکل Number of Cycles
شروع واسرشت سازیDNA Initial DNA Denaturation	94	5'	
تک‌رشته‌ای شدنDNA Denaturation	94	30"	1
اتصال آغازگرها Annealing	54-66	60"	35
گسترش رشته‌ها Extension	72	45"	1
تکمیل گسترش رشته‌ها Final Extension	72	7'	1

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات در جدول ۳ ارائه شده است. برهمکنش رقم و شوری برای تمامی صفات موردمطالعه در سطح یک درصد معنی‌دار بودند که بیانگر این است که ژنوتیپ‌ها در سطوح متفاوت شوری واکنش‌های

www.SID.ir

Archive of SID

متفاوتی داشته‌اند. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش‌ها (مشاهدات به دلیل تعدد جداول و جلوگیری از تکرار نتایج نشان داده نشدند) نشان داد که رقم Sor834 در بالاترین سطح شوری (۲۰ دسی زیمنس بر متر) بیشترین میزان سطح برگ، طول ساقه، وزن خشک برگ و وزن خشک ریشه را به خود اختصاص داد و رقم MTS نیز در بالاترین سطح شوری بیشترین میزان منیزیم، سدیم، کلسیم و نسبت سدیم به پتاسیم برگ را دارا بود. با افزایش شوری غلظت سدیم برگ‌ها به‌طور معنی‌داری در تمامی ارقام افزایش یافت. این نتیجه با نتایج سایر پژوهشگران در سورگم (Clark et al., 1999) و در گندم (Rajabi et al., 2005) هم‌خوانی دارد. همچنین پژوهشگران اخیر دلایل فزونی سدیم و کلر را به‌عنوان یون‌های سمّیت‌زا را حلالیت شدید آن‌ها در آب، جذب سریع و انتقال آن‌ها با جریان تعرق دانسته و اظهار داشتند هزینه‌ای که گیاه در قبال تنظیم یونی متقبل می‌شود در قالب ممانعت از رشد، فتوسنتز و سایر فرآیندهای متابولیکی نمود پیدا می‌کند (Rajabi et al., 2005). با توجه به مقادیر شدت تنش (جدول ۴) در بین صفات مورفولوژیکی، وزن خشک برگ و وزن خشک ریشه و در بین مواد معدنی میزان سدیم، نسبت سدیم به پتاسیم و منیزیم بیشترین تأثیر را از شوری گرفتند؛ بنابراین می‌توان از این صفات به‌عنوان شاخص‌های تحمل به شوری در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد. بالاترین میزان شدت تنش به نسبت سدیم به پتاسیم اختصاص یافت که نشان می‌دهد این صفت بیشتر از دیگر صفات تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد و احتمالاً بتوان به‌عنوان یک معیار از آن در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به شوری استفاده نمود.

جدول ۳. برآورد برخی پارامترهای آماری برای صفات موردمطالعه در شرایط تنش و بدون تنش.

Table 3. The estimated values of some statistical parameters for the recorded under salt stress and non-stress conditions.

صفات موردبررسی Traits	میانگین Means		دامنه تغییرات Variation range		واریانس ژنتیکی Genetical variance		ضریب تنوع ژنوتیپی Genetical CV (%)		ضریب تنوع فنوتیپی Phenotypical CV (%)	
	Salinity	Non-stress	Salinity	Non-stress	Salinity	Non-stress	Salinity	Non-stress	Salinity	Non-stress
وزن خشک برگ (گرم) **Leaf dry weight** (gr)	0.129	0.395	0.21	0.38	0.0033	0.017	44.5	35.7	44.9	33.5
وزن خشک ریشه (گرم) **Root dry weight** (gr)	0.097	0.629	0.17	1.66	0.0014	0.519	38.6	114.5	41.2	114.6
طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) **Shoot length** (cm)	3.35	4.40	2.2	2.90	0.089	0.423	8.8	14.7	9.61	19.4
سطح برگ (سانتی‌متر مربع) **Leaf area** (cm^{-2})	8.60	10.60	4.37	10.19	1.83	6.08	15.7	23.2	16.1	23.77
قندهای محلول (میکروگرم بر گرم وزن تر) **Soluble sugar** (µ gr/g fresh)	30.55	15.46	36.4	17.11	121.0	19.56	36.0	28.6	36.2	29.3
پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر) **Proline content** (µmol/g fresh)	8.30	2.34	11.7	2.88	18.68	0.954	52.1	41.6	52.2	42.1
پتاسیم **Potassium content** (mg/g dry)	11.04	34.49	14.0	51.89	17.61	420	37.0	43.0	37.4	43.17
سدیم **Sodium content** (mg/g dry)	122.0	16.11	28.1	39.63	3557.1	102.76	48.8	62.89	50.9	64.99
منیزیم **Magnesium content** (mg/g dry)	1.36	0.46	5.33	1.55	1.95	0.1412	114.0	80.43	103.6	83.4
کلسیم **Calcium content** (mg/g dry)	87.5	4.64	15.6	13.10	16.39	8.55	47.0	62.93	48.8	62.2
نسبت سدیم به پتاسیم **Na^+/K^+ ratio**	14.93	0.057	55.7	1.90	189.4	0.196	92.1	77.87	93.63	79.64

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴. میانگین مربعات منابع تغییر، ضریب تغییرات، شدت تنش (SI) و وراثت‌پذیری عمومی برای صفات اندازه‌گیری‌شده در ارقام سورگم.

Table 3. Mean squares, coefficient of variation, stress intensity and broad-sense heritability of the measured traits of sorghum cultivars.

منابع تغییر	درجه آزادی	طول ساقه	سطح برگ	وزن خشک برگ	وزن خشک ریشه	پرولین برگ	قندهای محلول
Source of variation	d.f	Stem length	Leaf area	leaf dry weight	Root dry weight	Leaf proline content	Soluble sugar
(salinity) شوری	3	10.50**	40.35**	0.514**	2.12**	189537**	3256.56**
(cultivar) رقم	9	1.96**	32.98**	0.05**	0.44**	140.15**	837.71**
(cultivar×salinity) رقم × شوری	27	0.26**	1.57**	0.01**	0.11**	90.91**	158.07**
(error) خطا	80	0.07	0.667	0.001	0.001	1.22	3.67
coefficient of variation ضریب تغییرات (درصد)		14.02	8.95	14.82	6.91	12.42	6.89
stress intensity SI (شدت تنش)		0.67	0.18	0.84	0.23	0.72	0.95
broad -sense heritability وراثت‌پذیری عمومی (درصد)		86.57	95.24	72.20	76.90	81.13	35.13

Table 4. Continued

جدول ۴. ادامه

منابع تغییر	درجه آزادی	پتاسیم برگ	کلسیم	منیزیم	سدیم برگ	نسبت سدیم به پتاسیم
Source of variation	d.f	Potassium content	Calcium content	Magnesium content	Sodium content	Na^+/K^+
(salinity) شوری	3	3837.1**	1088.5**	33.1**	106837**	2292.8**
(cultivar) رقم	9	347.27**	277.67**	9.36**	18918**	972.67**
(cultivar×salinity) رقم × شوری	27	171.39**	210.10**	7.38**	7999**	213.43**
(error) خطا	80	4.23	3.32	0.20	288.12	8.55
coefficient of variation ضریب تغییرات (درصد)		11.60	16.10	25.4	18.56	27.6
stress intensity SI (شدت تنش)		0.67	0.95	0.66	0.87	0.96
broad -sense heritability وراثت‌پذیری عمومی (درصد)		50.65	24.33	21.15	57.71	78.06

** معنی‌دار در سطح احتمال یک در صد

** Significant at 1% probability level

در بین صفات، بیشترین وراثت‌پذیری مربوط به سطح برگ (۹۵/۲۴ درصد) و کمترین آن مربوط به میزان منیزیم (۲۱/۱۵ درصد) بود (جدول ۴). وراثت‌پذیری اکثر صفات نسبتاً بالا بود که این نتیجه نشان‌دهنده این است که اکثر صفات موردمطالعه قابل‌انتقال می‌باشند؛ بنابراین، استنباط می‌شود که در برآورد این پارامترها، اثر محیط در بیشتر

www.SID.ir

Archive of SID

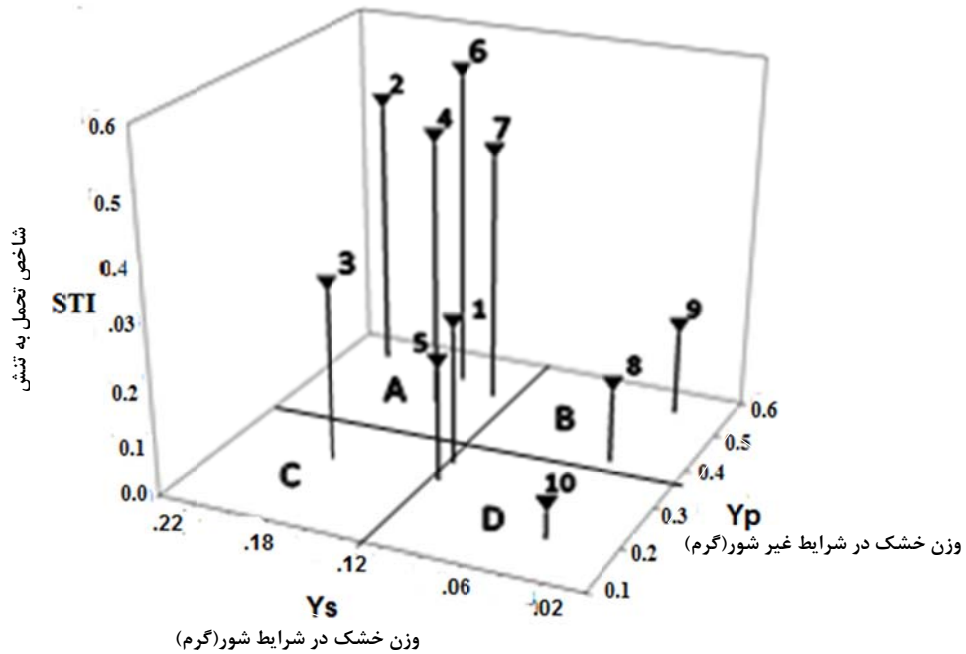
موارد اندک بود. وراثت‌پذیری عمومی صفت تعداد برگ در گیاه سورگم ۳۶/۸ درصد برآورد شده است (Houshmand and Rezai, 1997). در مطالعه دیگر وراثت‌پذیری عمومی برای طول ریشه در هشت لاین سورگم ۸۱ درصد بیان شده است (Azhar and McNeilly, 1989).

نتایج حاصل از گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش و بدون تنش با استفاده از نمودار سه‌بعدی شاخص STI، Y_s و Y_p (شکل ۱) نشان داد که ژنوتیپ‌های (Sor834، Sor1011، Sor1006 و Sor857) در ناحیه A قرار گرفتند که نشان‌دهنده تحمل بالا به تنش شوری و دارای وزن خشک اندام هوایی بیشتر در شرایط عدم تنش و تنش نسبت به سایر ژنوتیپ‌های دیگر بودند. ژنوتیپ‌های MTS و LTS در ناحیه B قرار گرفتند که حاکی از آن است این ژنوتیپ‌ها در شرایط عدم تنش شوری وزن خشک اندام هوایی بالایی دارند ولی در شرایط تنش وزن خشک نسبتاً پایینی دارند، بنابراین حساس به شوری می‌باشند. ژنوتیپ Sor808 تنها ژنوتیپی است که در ناحیه C قرار گرفته است، این بدین معنی است که ژنوتیپ مزبور در شرایط تنش نسبت به شرایط عدم تنش وزن خشک اندام هوایی بالاتری داشته است. ماده خشک ژنوتیپ‌های واقع در منطقه D شامل Sor1003، Sor1009 و HTS در شرایط تنش و بدون تنش ناچیز بود. لذا این ارقام در هیچ‌کدام از شرایط توصیه نمی‌شوند. به‌طورکلی با توجه به اینکه رقم SOR834 میزان بالایی از وزن خشک برگ و وزن خشک ریشه و میزان کمی از سدیم، نسبت سدیم به پتاسیم را در شرایط شور به خود اختصاص داده و در ناحیه A قرار گرفت را می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی (به‌عنوان یک رقم متحمل) و رقم MTS که در ناحیه B قرار گرفت به دلیل داشتن مقدار کم ماده خشک در شرایط تنش و مقدار بالای نسبت سدیم به پتاسیم (به‌عنوان رقم حساس) برای بهبود تحمل به شوری در سورگم بکار گرفت. آناقلی و همکاران (Anagholi et al., 2010) با ارزیابی تحمل به شوری هفت رقم سورگم علوفه‌ای بر اساس شاخص‌های تحمل و حساسیت به تنش دو رقم داخلی KFS3 و KFS2 را به‌عنوان ارقام متحمل و پایدار معرفی نمودند. رامش و همکاران (Ramesh et al., 2005) ۴۲ ژنوتیپ سورگم دانه‌ای را در شوری معادل هشت دسی‌زیمنس بر متر در ICRISAT مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها تنوع وسیعی را ازلحاظ روز تا پنجاه‌درصد گلدهی، ارتفاع بوته و عملکرد دانه مشاهده نمودند و اشاره کردند که ژنوتیپ‌هایی که دارای بنیه بالایی هستند و در شرایط بدون تنش عملکرد مناسبی دارند به شوری متحمل‌تر هستند. در پژوهش حاضر نیز این مورد مشاهده شد یعنی رقم SOR834 که در شرایط بدون شوری عملکرد مطلوبی داشت در شرایط شور نیز وضعیت مناسب‌تری در مقایسه با سایر ارقام داشت. ردی و همکاران (Reddy et al., 2010) در دو آزمایش جداگانه هیبریدهای سورگم دانه‌ای و ارقام را ازنظر تحمل به شوری ارزیابی نمودند آن‌ها در میان ۲۷ هیبرید موردمطالعه توانستند نه هیبرید و از میان ۲۶ رقم دو رقم که عملکرد آن‌ها از شاهد-های متحمل خیلی بالاتر بود معرفی و برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی توصیه نمودند. در مطالعه دیگر با بررسی تحمل به شوری هفت رقم سورگم بومی عربستان در مرحله جوانه‌زنی تفاوت زیادی بخصوص در ویژگی‌های ریشه آن‌ها مشاهده‌شده و در مرحله جوانه‌زنی ارقام C_3 و C_4 به ترتیب به‌عنوان متحمل و حساس به شوری معرفی گردید (Bafeel, 2014).

بر اساس نتایج تجزیه مولکولی از ۱۰ جفت آغازگر SSR، دو جفت از آغازگرها (Xtxp274 و Xtxp331) هیچ‌گونه نواری تولید نکردند و یا اینکه محصولات تکثیرشده آن‌ها وضوح و قابلیت تکرارپذیری کافی نداشتند. درحالی‌که ۸ جفت آغازگر SSR دیگر مورداستفاده، الگوی نواری چندشکلی را در ژنوتیپ‌های موردبررسی تکثیر کردند و درمجموع ۱۶ نوار تولید کردند که درنهایت ۸۰ درصد نوارها چندشکلی نشان دادند. نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون لجستیک بر اساس ضریب تأثیر B نشان داد که در شرایط تنش شوری آغازگر Xtxp20 با صفت شاخص تحمل به تنش و وزن خشک برگ، آغازگر Xtxp312 با صفات وزن خشک ریشه و شاخص تحمل به تنش، آغازگر Xtxp331 با صفت شاخص تحمل به تنش، آغازگر Xtxp287 با صفات وزن خشک برگ و ریشه، آغازگر Xtxp258 با صفت شاخص تحمل به تنش و بالاخره آغازگر ریز ماهواره‌ای Xtxp285 تنها با صفت وزن خشک ریشه مرتبط بودند (جدول ۵).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های سورگم با استفاده از نمودار سه‌بعدی STI، Yp و Ys. Yp= وزن خشک اندام هوایی هر ژنوتیپ در شرایط بدون تنش (گرم). Ys= وزن خشک اندام هوایی هر ژنوتیپ در شرایط تنش (گرم).

Fig. 1. Genotype grouping using the 3-D plot among STI, Y_p and Y_s. Y_p=shoot dry weight under salinity stress condition (gr). Y_s=shoot dry weight under non- stress condition (gr).

شماره‌ها نشان‌دهنده ژنوتیپ‌ها به‌صورت زیر هستند: Numbers show genotypes as bellow:

SOR 1011=7, SOR 1009=6, SOR 1006=5, SOR 1003=4, SOR 857=3, SOR 834=2, SOR 808=1, LTS=10, HTS=9, MTS=8

تاکنون از مدل‌های مختلفی برای شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مختلف در گیاهان مختلف استفاده شده است. به‌عنوان‌مثال از رگرسیون چندگانه خطی برای بررسی ارتباط بین نشانگر رپید و صفات مختلف لوبیاچیتی استفاده شده و ارتباط وسیعی بین آن‌ها گزارش گردیده است (Ahmadian et al., 2005). همچنین از طریق رگرسیون چندگانه توانسته‌اند چند نشانگر رپید و ISSR مرتبط با طول و وزن پوسته و وزن مغز در فندق را گزارش کنند (Mohammadzedeh et al., 2014). از سایر مدل‌ها نیز استفاده شده است مثلاً مکارو و همکاران (Mcharo et al., 2005) از تجزیه توابع تشخیص و لجستیک برای شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با تحمل به ویروس در ژنوتیپ-های سیب‌زمینی شیرین استفاده کردند و توانستند چندین نشانگر رپید و AFLP مرتبط با مقاومت به ویروس را در این گیاه گزارش کنند. این‌گونه مطالعات در سورگم بر روی مطالعاتی غیر از شوری نیز انجام شده است. مثلاً ارتباط میان دو نشانگر SNP (SSIIa و SSIIb) و دمای ژلاتینه شدن نشاسته گزارش شده است (Hill et al., 2012). وانگ و همکاران (Wang et al., 2012) چهار نشانگر SSR مرتبط با ارتفاع بوته در سورگم علوفه‌ای را معرفی کردند که توسط گودن و همکاران (Guden et al., 2014) برای غربال ژنوتیپ‌های مطلوب بکار گرفته شدند. هاری و همکاران (Hari et al., 2013) توانستند هشت مکان SNP مرتبط با مقاومت به آنتراکنوز در سورگم را معرفی کنند. به همین صورت چند QTL مربوط به مقاومت به مگس ساقه خوار در سورگم (Satish et al. 2009) و چهار نشانگر SSR مرتبط با ویژگی‌های میزان قند در سورگم (Peng et al. 2013) شناسایی و معرفی شده است. ملاحظه می‌گردد روند معرفی نشانگرهای مرتبط با صفات مهم در گیاهان مختلف به‌سرعت ادامه دارد. در این مطالعه نیز خوشبختانه

www.SID.ir

Archive of SID

ارتباط بین شاخص تحمل به تنش شوری و نشانگرها مشاهده شد. نظر به اینکه این شاخص مهم‌ترین ویژگی در بین صفات اندازه‌گیری شده بود می‌توان بعد از تأیید نهایی به کمک سایر روش‌ها (مثل روش تجزیه تفکیک توده‌ای) در برنامه‌های به‌نژادی برای بهبود تحمل به شوری از آن‌ها استفاده نمود.

جدول ۵. ضرایب تأثیر B در تجزیه لجستیک دوتایی بین صفات گیاه سورگم و امتیازهای نشانگرهای SSR.

Table 5. Coefficient of B in binary logistic analysis between means value of sorghum traits and SSR marker scores.

صفات Traits	آغازگر Primer						
	Xtxp274	Xtxp20	Xtxp354	Xtxp331	Xtxp287	Xtxp258	Xtxp285
وزن خشک برگ Leaf dry weight	0	836.52**	-139.29	-0.393	1620.03**	-238.91	45.90
سطح برگ Leaf area	0	3.08	8.09	-12.52	-73.14	-4.9	24.24
وزن خشک ریشه Roor dry weight	0	-56.13	8179.80**	44.52	1354.56**	-269.34	232.10*
قندهای محلول Soluble sugar	-6.81	1.98	3.17	-4.16	-26.96	-3.01	4.05
پرولین Leaf proline content	9.52	6.39	-10.41	-11.70	8.85	-0.14	8.68
پتاسیم Potassium content	0	5.87	9.15	-6.28	-32.78	-0.45	0.40
سدیم Sodium content	1.78	0.45	-0.51	0.475	4.33	0.86	0.96
طول ساقه Stem length	0	-11.09	-61.34	-54.82	-255.60	-27.44	-12.74
منیزیم Magnesium content	-66.50	-22.77	11.08	9.34	-110.19	21.38	-64.09
کلسیم Calcium content	0	-5.72	1.57	4.02	33.32	-0.321	-13.49
شاخص تحمل Stress tolerance index	0	282.21*	295.04*	118.08*	-688.76	154.76*	-------

*و** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک در صد

** ,*Significant at 5 and 1% probability levels, respectively

درمجموع نتایج حاکی از تنوع وسیع میان ژنوتیپ‌های سورگم موردمطالعه ازنظر تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای بود که نویدبخش امکان اصلاح برای بهبود تحمل به شوری در این گیاه است. وجود برهمکنش شوری و ژنوتیپ برای صفات مورد ارزیابی نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌ها در شرایط مختلف شوری، عکس‌العمل متفاوتی از خود نشان می‌دهند هرچند که دو ژنوتیپ SOR834 و MTS که به ترتیب به‌عنوان متحمل و حساس معرفی شدند در تمام سطوح شوری این روند را حفظ نمودند. در میان صفات به نظر می‌رسد نسبت سدیم به پتاسیم (و یا برعکس) در سورگم مثل بسیاری از نباتات بتواند شاخص خوبی برای بررسی تحمل به شوری باشد؛ اما در رابطه با میزان پرولین و قندهای محلول روند شفافی مشاهده نشد. همچنین نتایج حاصل از رگرسیون لجستیک دوتایی وجود ارتباط میان چهار نشانگر SSR و شاخص تحمل به شوری را گوشزد نمود. درصورتی‌که این ارتباط به‌وسیله روش‌های تکمیلی تأیید شود، می‌توان از آن‌ها در امر انتخاب به کمک نشانگرها برای بهبود تحمل به شوری استفاده کرد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

Ahmadian, S., khodambashi, M., Shiran, B., Barat Shooshtary, M., Rabiei, K., 2005. The study of relationships between RAPD markers and morphological, physiological and biochemical characteristic in hydroponics culture in pinto bean. The 1st Iranaian Pulses Symposium. Mashhad, Iran. [In Persian with English Summary].

Anagholi, A., Tabatabaee, S.A., Foman, A., 2010. Evaluation of salinity tolerance of forage sorghum varieties with stress tolerance and susceptibility indices. Electronical Journal of Crop Prouduction. 3, 89-102. [In Persian with English Summary].

Azhar, F.M., McNeilly, T., 1989. Heritability estimates of variation for NaCl tolerance in *Sorghum bicolor* L. Moench seedlings. Euphytica. 43, 69-72.

Bafeel, S.O., 2014. Physiological parameters of salt tolerance during germination and seedling growth of *sorghum bicolor* cultivars of the same subtropical origin. Saudi Journal of Biological Sciences. 21, 300-304.

Clark, D.R., C.J. Green, V.G. Allen, Brown, C.P., 1999. Influence of salinity in irrigation water on forage sorghum and soil chemical properties. Journal of Plant Nutrition, 22 (12), 1905-1920.

Fernandez, G.C.J., 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Kuo, (Ed.), Proceeding of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crops to Temperature and Water Stress. 257-270.

Guden, B., Erdurmus, C., Yol, E., Ustun, R., Ikten, C., Akar, T., Uzun, B., 2014. Evaluation of a sorghum germplasm for plant height characteristic by using molecular markers. Journal of Biotechnology. 185, 30.

Hari, D.U., Wang, Y. Sharma, R., Sharma, S., 2013. Identification of genetic markers linked to anthracnose resistance in sorghum using association analysis. Theoretical and Applied Genetics. 126, 1649–1657.

Hill, H., Lee, L.S., Henry, R.J., 2012. Variation in sorghum starch synthesis genes associated with differences in starch phenotype. Food Chemistry. 131, 175-183.

Hoagland, D.R., Arnon, D.I., 1950. The Water-culture method for growing plants without soil. Circular and California Agricultural Experiment Station. 347, 32.

Houshmand, S., Rezai, A. 1997. Type of gene action and heritability estimates for some agronomic traits in seventeen crosses of grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L.). Moench). Iranian Journal of Agricultural Science. 28, 69-80. [In Persian with English Summary].

Irigoyen, J. J., Emerich, D.W., Sanchez-Diaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum. 84, 55- 60.

Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London.

Mcharo, M., LaBonte, D.R., Clark, C., Hoy, M., Orad, J., 2005. Molecular marker variability for southern root-knot nematode resistance in sweet potato. Euphytica. 144, 125-132.

Mirmohammady Maibody, S.A.M., Ghareyazie, B., 2002. Physiological Aspects and Breeding for Salinity Stress in Plants. Isfahan University of Technology Publication. 274p. [in Persian].

Mohammadzedeh, M., Fattahi Moghadam, R., Zamani, Z., Khadivi-Khub, A., 2014. Study of association between molecular markers and fruit characters in hazelnut using multiple regression analysis. Journal of Cell and Tissue. 5(3), 289-299. [In Persian with English Summary].

Netonda G.W., Onyango, J.C., Beck, E., 2004. Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. Crop Science. 44, 806- 811.

Paquine, R., Lechasseur, P., 1979. Observations surune method dosage la libre dans les de plants. Canadian Journal of Botany. 57, 1851- 1854.

Peng, Lv., Guisu, Ji., Yucui, H., Shenglin, H., Suying, Li., Xue, Ma., Ruiheng, Du., Guoqing L., 2013. Association analysis of sugar yield-related traits in sorghum [*Sorghum bicolor* L.]. Euphytica.193, 419–431.

Rajabi, R., Poustini, K., Jahanipour, P., Ahmadi, A., 2005. Effects of salinity on yield and some of physiological characteristics in 30 wheat (*Triticum aestium* L.) cultivars. Journal of Science and Technology of

www.SID.ir

Archive of SID

Agriculture and Natural Resources. 12, 153-163. [In persian with English Summary].

Ramesh, S., Reddy, B.V.S., Reddy, P.S., Hebbar, M., Ibrahim, M., 2005. Response of selected sorghum lines to soil salinity-stress under field conditions. International Sorghum and Millets Newsletter. 46, 14-17.

Reddy, B.V.S., Kumar, A.A., Reddy, P.S., Ibrahim, M., Ramaiah, B., Dakheel, A.J., Ramesh, S., Krishnamurthy, L., 2010. Cultivar options for salinity tolerance in sorghum. Journal of SAT Agricultural Research. 8, 1-5.

Rosiel, A. A., Hamblin, J., 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. Crop Science. 21, 943-946.

Saghai Maroof, M.A., Soliman, K.M., Jorgensen, R.A., Allard, R.W., 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dymnamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, 81, 8014-8018.

SAS Institute Inc. 2002. SAS 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Satish, K., Srinivas, G., Madhusudhana, R., Padmaja, P., Reddy, R.N., Mohan, S.M., Seetharama, N., 2009. Identification of quantitative trait loci for resistance to shoot fly in sorghum [*Sorghum bicolor* L. Moench]. Theoretical and Applied Genetics. 119,1425–1439.

Sharma J.R., 1998. Statistical and Biometrical Techniques in Plant Breeding, New Age International, New Delhi, 440 p.

Shehzad, T., Okuizumi, H., Kawase, M.M., Okuno, K., 2009. Development of SSR-based sorghum *Sorghum bicolor* (L.) Moench diversity research set of germplasm and its evaluation by morphological traits. Genetic Resources and Crop Evoluation, 56, 809–827.

Wang, Y.H., Bible, P., Loganantharaj, R., Upadhyaya, H.D., 2012. Identification of SSR markers associated with height using pool-based genome-wide association mapping in sorghum. Molecular Breeding. 30, 281-292.

www.SID.ir