

القای جفت کروموزوم‌های خویشاوند در تلاقی‌های بین گونه‌ای گندم
با استفاده از ژن Ph^1 *
Inducing Homoeologous Chromosome Pairing in Interspecific
Hybridization in Wheat Using the Ph^1 Gene

مصطفی آقائی سربرزه و اچ. اس. دالی وال

دانشگاه کشاورزی پنجاب، هندوستان

تاریخ دریافت: ۱۳۸۰/۱۰/۱

چکیده

آقائی سربرزه، م. و دالی وال، اچ. اس. ۱۳۸۲. القای جفت کروموزوم‌های خویشاوند در تلاقی‌های بین گونه‌ای گندم با استفاده از ژن Ph^1 . نهال و بذر ۱۹: ۲۹۵-۳۰۹.

یکی از موانع موجود در تلاقی‌های بین گونه‌ای و بین جنسی، محدودیت جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند و در نتیجه عدم نوترکیبی بین آن‌ها است. در این حالت انتقال ژن‌های مفید از این گونه‌ها به گونه‌های زراعی میسر نیست. در بررسی حاضر، کارائی ژن Ph^1 که از گونه *Aegilops Speltoides* به گندم هگزاپلوئید منتقل شده است در القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند (Homoeologous) مورد مطالعه قرار گرفت. گندم هگزاپلوئید رقم Chinese Spring (CS) و لاین ایزوژن آن که حامل ژن Ph^1 بود [Ph^1] (CS | با سه نمونه *Ae. Kotschyii* (UUSS)، یک نمونه چاودار (*Secale cereale*, RR)، سه آمفی پلوئید شامل دو نمونه *T. durum*-*Ae. Umbellulata* (AABB UU) و یک نمونه *Triticum durum*-*Ae. Caudata* (AABB CC) تلاقی داده شدند. میزان جفت شدن کروموزوم‌ها و فراوانی کراسما در مرحله متافاز I تقسیم میوز در این تلاقی‌ها مورد مقایسه قرار گرفتند. مقایسه آماری نتایج با استفاده از آزمون t- استیودنت و آزمون مربع کای، کاهش معنی داری در تعداد یونی و وانت‌ها و افزایش جفت شدن کروموزوم‌ها به صورت بی‌والنت و یا مولتی والنت در تلاقی‌های شامل لاین ایزوژن Ph^1 (CS) در مقایسه با تلاقی‌های شامل رقم CS نشان داد. گونه‌های وحشی از نظر میزان القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند با هم اختلاف کمی داشتند. نتایج این بررسی کارائی ژن Ph^1 را در القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند نشان داد، و بدین ترتیب می‌تواند در برنامه‌های انتقال ژن‌های مطلوب از گونه‌های وحشی به گونه‌های زراعی گندم مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: گندم، گونه‌های خویشاوند، کروموزوم‌های خویشاوند، جفت شدن کروموزوم‌ها، ژن Ph^1 .

* قسمتی از پایان‌نامه دکتری نگارنده اول.

مقدمه

عمده باید جهت انتخاب بوته‌هایی که حداقل مواد ژنتیکی وحشی را دارند صورت پذیرد. گندم گیاهی هگزاپلوئید است که دارای سه ژنوم خویشاوند A، B و D می‌باشد. منشاء ژنوم A و D گندم به ترتیب از گونه‌های وحشی *Triticum urartu* (Dvorak et al., Chapman et al., 1976) و *Aegilops squarrassa* (1988, 1993) می‌باشد (Mcfadden and Kihara, 1944). گونه دهنده ژنوم B هنوز مشخص نیست، اما اظهار شده است که گونه *Ae. speltoides* و یا گونه مشابه آن که قرابت نزدیکی به ژنوم B گونه *Ae. speltoides* داشته است دهنده این ژنوم به گندم می‌باشد (Sarkar and Stebbins, 1956)؛ (Daud and Gustafson, 1996)؛ (Maestra and Naranjo, 1998). کروموزوم‌های متعلق به این سه ژنوم قرابت ژنتیکی بسیار زیادی با هم دارند و دارای ساختار و اطلاعات ژنتیکی مشابهی هستند. وجود اطلاعات ژنتیکی بسیار مشابه سبب شده است که کروموزوم‌های متعلق به این ژنوم‌ها را کروموزوم‌های همیولوگ یا خویشاوند (Homoeologous chromosome) بنامند. نکته قابل توجهی که در خصوص گونه‌های گیاهی متعلق به قبیله Triticeae وجود دارد این است که قرابت ژنتیکی بین ژنوم‌های گندم و

گونه‌های وحشی و خویشاوند گندم منابع ژنتیکی مهمی برای ژن‌های مفید می‌باشند که می‌توانند در برنامه‌های اصلاح گندم مورد بهره‌برداری قرار گیرند. استفاده از این گونه‌ها در برنامه‌های دورگ‌گیری بین گونه‌ای و بین جنسی به منظور انتقال ژن‌های مفید می‌تواند سهم بسزائی در افزایش تنوع ژنتیکی و غنی‌سازی مخزن ژنی (Gene pool) گندم داشته باشد. تا کنون صفات مهم زیادی از گونه‌های خویشاوند به گندم منتقل شده‌اند (Knott and Dvorak, 1976)؛ (Sharma and Gill, 1983)؛ (Gale and Miller, 1987)؛ (Friebe et al., 1996)؛ (Jiang et al., 1994). با این وجود تعداد بسیار کمی از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی مورد بهره‌برداری قرار گرفته‌اند. انتقال توأم ژن‌های نامطلوب (Linkage drag) از یک سو و جایگزینی کروماتین بیگانه با تجانس کم به جای بخشی از کروماتین گندم و در نتیجه ناتوانی کروماتین بیگانه در جبران اثر کروماتین از دست رفته گندم (Non-compensating effect) از سوی دیگر، می‌توانند دلایل قابل ذکری در این خصوص باشند (Gill, 1993)؛ (Jiang et al., 1994). بنابراین در برنامه‌های دورگ‌گیری بین گونه‌ای (Interspecific hybridization) گندم تلاش

قربت ژنتیکی را می‌توان القا نمود. القای جفت شدن کروموزوم‌ها سبب می‌شود که قطعات کروموزومی که تشابه دارند با هم جفت شوند و تبادل کروماتین فقط بین این قطعات مشابه صورت گیرد. این امر در کاهش انتقال توأم ژن‌های نامطلوب و افزایش احتمال جایگزینی قطعات کروموزومی مشابه با اثر جبران‌کنندگی (Compensating effect) اهمیت به سزائی دارد (Dundas and Shepherd, 1996; Friebe *et al.*, 1996). از جمله این روش‌ها می‌توان به مواردی از قبیل استفاده از لاین‌های گندم فاقد کروموزوم 5B و یا لاین‌های دارای ژن جهش یافته Ph^1 (مانند Ph^{1b}) اشاره نمود (Koebner and Shepherd, 1985; Sears, 1981).

هرچند که روش‌های فوق الذکر کارایی زیادی در القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند دارند، اما به دلایلی از قبیل عقیمی بسیار زیاد لاین‌های فاقد کروموزوم 5B، نیاز به تولید پایه‌های سیتوژنتیکی زیاد برای روش Ph^{1b} ، و نیز پیچیده و وقت‌گیر بودن این روش‌ها (Mukai, 1996; Sears, 1973) کاربرد محدودی دارند.

استفاده از ژن‌های با اثر اپیستاتیک (Epistatic) روی ژن Ph^1 که اثر آن‌ها ملایم‌تر می‌باشد به عنوان شیوه‌های جایگزین پیشنهاد شده است. وجود چنین ژن‌هایی در برخی از گونه‌های وحشی مانند *Ae. motica* و *Ae. speltooides* اثبات شده‌اند

ژنوم سایر گونه‌های وحشی و خویشاوند نیز وجود دارد.

به دلیل ساختار ژنتیکی تقریباً مشابه، کروموزوم‌های خویشاوند، قابلیت جفت شدن در مرحله متافاز I- تقسیم میوز و تبادل مواد ژنتیکی را دارند، به شرطی که موانع ژنتیکی وجود نداشته باشد. یکی از مهم‌ترین موانع ژنتیکی، فعالیت ژنی به نام Ph^1 (Pairing homoeologous) بر روی بازوی بلند کروموزوم 5B است (Okamoto, 1957; Sears and Okamoto, 1958; Riley and Chapman, 1958).

فعالیت این ژن مانع از جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند می‌شود بنابراین از یک سو رفتار دیپلوئیدی گونه هگزاپلوئید گندم را تضمین می‌نماید و از سوی دیگر مانع از انتقال ژن از سایر گونه‌های خویشاوند که ممکن است از طریق گرده‌افشانی تصادفی در طبیعت به وقوع بپیوندد می‌شود. هرچند که فعالیت این ژن از نظر تکاملی و حفاظت از هویت گونه گندم نقش تعیین کننده دارد، اما این موضوع یک عامل محدودکننده در برنامه‌های دورگ‌گیری بین گونه‌ای گندم می‌باشد. از این نظر که امکان جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند و در نتیجه تبادل مواد ژنتیکی را از بین می‌برد.

روش‌های متعددی برای ختشی کردن موقت اثر ژن Ph^1 ابداع شده است که با استفاده از آن‌ها جفت شدن کروموزوم‌های با

توأم مواد ژنتیکی *Ae. speltoides* نیز وجود دارد.

اخیراً ژن Ph^1 از *Ae. speltoides* به گندم هگزاپلوئید رقم Chinese Spring منتقل شده است (Chen et al., 1994). با تلاقی مستقیم این پایه با گونه‌های وحشی از اثر بازدارندگی ژن Ph^1 می‌توان بهره‌مند شد و امکان القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند (کروموزوم‌های گونه وحشی حامل ژن‌های مطلوب و کروموزوم‌های گندم) و در نهایت تبادل مواد ژنتیکی بین گونه‌ای را فراهم آورد. از مهم‌ترین مزایای این روش عدم استفاده از پایه‌های سیتوژنتیکی متعدد و نیز باروری این پایه‌ها است که در برنامه‌های انتقال ژن‌های بیگانه از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد.

هدف اصلی این تحقیق بررسی و مطالعه تأثیر ژن Ph^1 منتقل شده به گندم Chinese Spring در القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند بود.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مزرعه دپارتمان بیوتکنولوژی دانشگاه کشاورزی پنجاب هندوستان در سال‌های زراعی ۹۷-۱۹۹۶ و ۹۸-۱۹۹۷ انجام شد. در این بررسی سه نمونه از گونه وحشی (*UUSS*) *Ae. kotschyii*، یک نمونه چاودار (*RR*) *(S. cereale)*، یک نمونه آمفی پلوئید *Ae. umbellulata*-*T. durum* و دو آمفی پلوئید *Ae. caudata*-*T. durum*

(Feldman and Mello-Sampayo, 1967; Riley et al., 1968; Dover and Riley, 1972). در گونه *Ae. speltoides* ژنوتیپ‌هایی با اثر بازدارندگی زیاد، متوسط و کم مشاهده شده‌اند (Dvorak, 1972; Kimber and Athwal, 1972). چن و همکاران (Chen et al., 1984) اظهار داشته‌اند که احتمالاً دو سیستم ژنی این اثر را کنترل می‌نمایند. در یک سیستم دو ژن مستقل با اثر دوگانه (Duplicate effect) و در سیستم دیگر ژن‌های متعددی با اثر جزئی که اثر ژن‌های عمده را تغییر می‌دهند، وجود دارند.

در این گونه‌های گیاهی، ژن‌هایی که اثر بازدارندگی بر روی ژن Ph^1 دارند را ژن‌های بازدارنده جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند (Pairing homoeologous inhibitor: PhI) می‌نامند. گونه‌های حامل این ژن (ها) در انتقال مواد ژنتیکی از گونه‌های وحشی به گونه‌های زراعی گندم مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Knott and Dvorak, 1981). ریلی و همکاران (Riley et al., 1968) با تلاقی ژنوتیپ‌های حامل ژن Ph^1 با لاین مونوزوم مضاعف *Ae. comosa* در گندم هگزاپلوئید موفق به انتقال ژن $Yr8$ از این گونه به گندم هگزاپلوئید شدند. در این حالت *Ae. speltoides* فقط به عنوان ژنوتیپ واسط مورد استفاده قرار می‌گیرد. این امر یکی از معایب روش مذکور است چون امکان انتقال

حلقه‌ای و تری‌والنت‌های رشته‌ای (چون دو عدد کیاسما در این نوع بی‌والنت‌ها وجود دارد) و سه برابر کوادری‌والنت‌ها که عمدتاً رشته‌ای بودند جمع شدند. مقدار به دست آمده به عنوان فراوانی کیاسما در تلاقی مورد مطالعه در نظر گرفته شد. از آزمون t - استیودنت جهت مقایسه هر دسته از گروه‌های کروموزومی (یونی‌والنت=I، بی‌والنت=II، تری‌والنت=III و کوادری‌والنت=IV) در تلاقی هر نمونه با CS و $CS(Ph^1)$ استفاده شد. از سوی دیگر جهت مقایسه کلی بین دو تلاقی هر نمونه از لحاظ جفت شدن کروموزوم‌ها از آزمون مربع کای (χ^2) استفاده شد. در این حالت میزان جفت شدن کروموزوم‌ها در تلاقی با CS به عنوان آمار مورد انتظار و میزان جفت شدن کروموزوم‌ها در تلاقی با $CS(Ph^1)$ به عنوان آمار مشاهده شده در نظر گرفته شدند.

نتایج

نتایج به دست آمده از مطالعات کروموزومی و میزان جفت شدن آن‌ها در مرحله متافاز اول تقسیم میوز سلول‌های مادری دانه گسره (PMC) در F_1 های حاصل از تلاقی‌های *Ae. kotschyii*، *S. cereale*، *T. durum-Ae. umbellulata* آمفی‌پلوئید و دو آمفی‌پلوئید *T. durum-Ae. caudata* با CS و $CS(Ph^1)$ در جدول ۲ درج شده است. در شکل ۱ نیز تصاویر تعدادی از این سلول‌ها جهت مقایسه نشان داده شده‌اند.

(جدول ۱) به عنوان والد نر همزمان با رقم CS و لاین ایزوژن آن $CS(Ph^1)$ (رقم CS حامل ژن Ph^1) تلاقی داده شدند. نمونه‌هایی از سنبله گیاهان هیبرید F_1 حاصل از این تلاقی‌ها در اوایل مرحله تورم سنبله (Booting) از مزرعه جمع‌آوری شده و پس از اتیکت‌گذاری بلافاصله در محلول تثبیت‌کننده (شامل ۶ قسمت الکل ۹۵٪: ۳ قسمت کلروفرم: ۱ قسمت اسید استیک خالص) قرار داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای یخچال در این محلول نگهداری شدند. نمونه‌ها به الکل ۷۰٪ منتقل شده و تا زمان مطالعه در یخچال نگهداری شدند. از سنبله‌های مورد نظر سنبله‌هایی که در مرحله مناسب (سنبله‌ها به اندازه یک دانه عدس) قرار داشتند انتخاب گردیدند و پرچم‌های آن‌ها را به کمک یک سوزن بیرون آورده و در روی لام قرار داده شدند. به پرچم‌ها یک قطره محلول ۲٪ استوکارمن اضافه شد و به کمک انتهای پنس کوبیده شدند تا دانه‌های گرده از بساک خارج شوند. پس از حذف مواد اضافی و حرارت جزئی، نحوه جفت‌شدن کروموزوم‌ها در مرحله متافاز اول در سلول‌های مادر گرده (Pollen Mother Cell: PMC) به تعداد ۶۵۵-۱۵۳ (عدد) با استفاده از میکروسکوپ نوری نیکون ۱۰۴ و بزرگنمایی ۱۵۰۰ مطالعه شدند. برای محاسبه فراوانی کیاسما بدین صورت عمل شد که فراوانی تعداد بی‌والنت‌های میله‌ای را با دو برابر بی‌والنت‌های

(تقریباً ۱۰ برابر) از جفت شدن و تشکیلات کروموزومی را نشان داد (5.18II+0.53III+0.16IV) با فراوانی کیاسمای معادل ۷/۴۷ در هر PMC). علاوه بر این فراوانی یونی والنتها (I) در تلاقی اخیر معادل ۱۵/۶۲ بود که در مقایسه با حالت قبل معادل (۲۶/۸۴) به طور بسیار معنی داری کمتر بود (جدول ۲ و شکل های 1a و 1b).

مطالعه ۴۹۰ سلول دانه گرده در F₁ های حاصل از تلاقی *S. cereale* × CS سطح بسیار کمی از جفت شدن کروموزومها را نشان داد (0.49 II+0.05III+0.011IV) با فراوانی کیاسمای ۰/۶۱ در هر PMC). در صورتی که، داده های حاصل از ۲۸۰ سلول دانه گرده متعلق به F₁ های حاصل از تلاقی *CS(Ph¹)* × *S. cereale*

جدول ۱- گونه های وحشی، واریته ها و آمفی پلوئیدهای مورد استفاده در این مطالعه

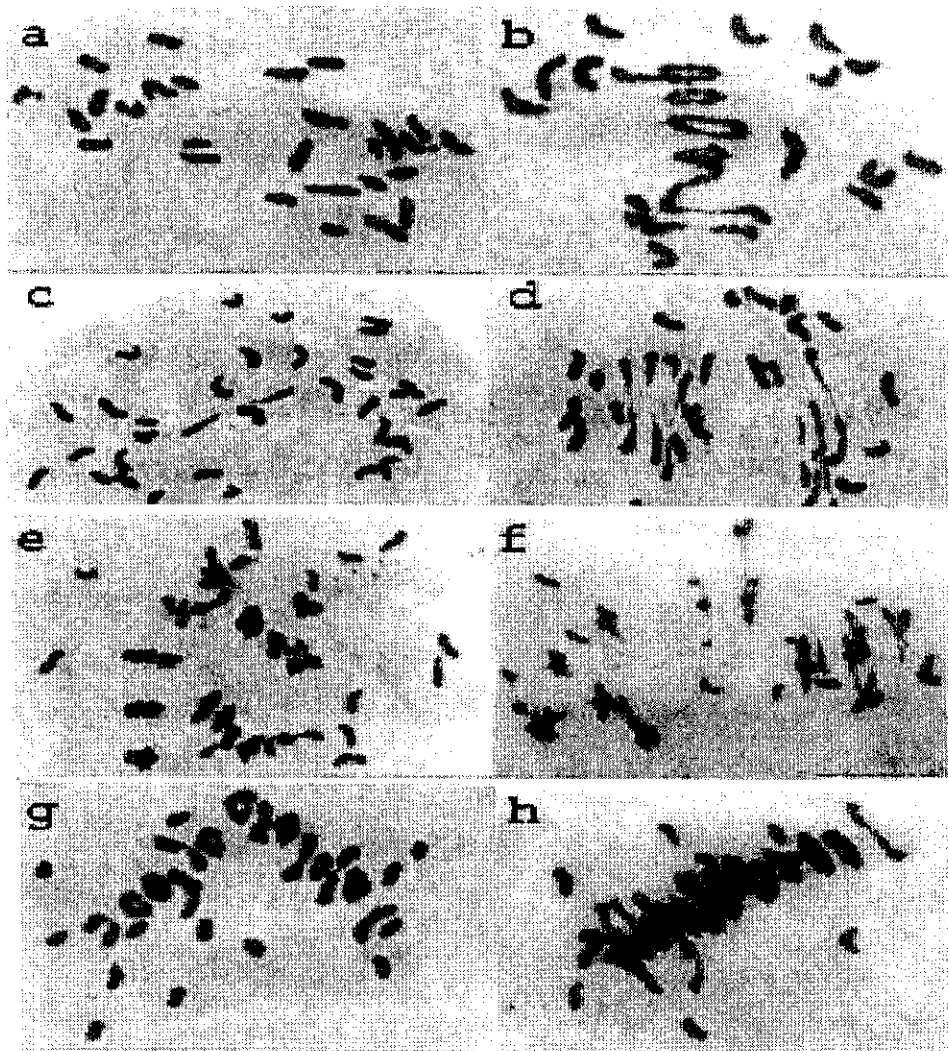
Table 1. Wild species, varieties and amphiploids used in various crosses in this study

Sr. No.	Species/ Amphiploid	2n	Genomic Formula
1	<i>Triticum aestivum</i> cv. Chinese Spring (CS)	42	AABBDD
2	<i>Triticum aestivum</i> cv. Chinese Spring carrying <i>Ph¹</i> gene [CS(<i>Ph¹</i>)]	42	AABBDD
3	<i>Secale cereale</i>	14	RR
4	<i>Aegilops kotschyii</i> Acc. 3502	28	UUSS
5	<i>Aegilops kotschyii</i> Acc. 3573	28	UUSS
6	<i>Aegilops kotschyii</i> Acc.3790	28	UUSS
7	(<i>T.durum</i> cv. WH868 - <i>Ae. caudata</i> Acc.3556) amphiploid	42	AABBCC
8	(<i>Triticum durum</i> cv. A206 - <i>Ae. caudata</i> Acc.3556) amphiploid	42	AABBCC
9	(<i>Triticum durum</i> cv. WH890 - <i>Ae. umbellulata</i> Acc.3732) amphiploid	42	AABB UU

میزان جفت شدن کروموزومها را در F₁ های حاصل از *CS(Ph¹)* × *Ae. kotschyii* در مقایسه با *CS* × *Ae. kotschyii* نشان می دهد (جدول ۲).

تعداد کروموزومهای منفرد (یونی والنت) در تلاقی بین نمونه شماره ۳۷۹۰ از گونه

مقایسه نتایج F₁ های حاصل از تلاقی سه نمونه *Ae. Kotschyii* با *CS* و *CS(Ph¹)* در جدول ۲ درج شده و تصاویر برخی از سلول های PMC در این دو نوع دورگ در شکل های 1c و 1d نشان داده شده اند. این نتایج نیز سطح بسیار بالاتری از



شکل ۱- جفت و جور شدن کروموزوم‌های متافازی در F_1 حاصل از تلاقی‌های مختلف

Fig. 1. Chromosome pairing at Methaphase I in different crosses

- a. *T. aestivum* cv. Chinese Spring (CS) × *S. cereale* (28 I);
- b. *T. aestivum* cv. Chinese Spring carrying Ph^1 gene [$CS(Ph^1)$] × *S. cereale* (12I+5II+2III) ;
- c. CS × *Ae. kotschyii* Acc. 3790 (33I+1III) ;
- d. $CS(Ph^1)$ × *Ae. kotschyii* Acc. 3790 (19I+5II+2III) ;
- e. CS × (*T. durum* cv. WH868 - *Ae. caudata* Acc.3556) amphiploid (14I+14II);
- f. $CS(Ph^1)$ × (*T. durum* cv. WH868 - *Ae. caudata* Acc. 3556) amphiploid (9I+9II+5III);
- g. CS × (*T. durum* cv. WH890 - *Ae. umbellulata* Acc. 3732) amphiploid (14I+14II) ;
- h. $CS(Ph^1)$ × (*T. durum* cv. WH890 - *Ae. umbellulata* Acc. 3732) amphiploid(7I+16II+1III).

بیانگر تأثیر ژن Ph^1 در القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند می‌باشد (جدول ۲ و شکل ۱ e-h).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که ژن (های) Ph^1 که از گونه وحشی *Ae. speltooides* به گندم هگزاپلوئید رقم Chinese Spring منتقل شده است (Chen et al., 1994) به طور مؤثری می‌تواند در القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند در تلاقی‌های گندم و گونه‌های وحشی خویشاوند آن استفاده شود.

کاهش معنی‌داری در فراوانی یونی والنت و افزایش قابل توجهی در میزان جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند در F_1 ‌های حاصل از تلاقی‌های *Ae. kotschyii*، *S. cereale*، آمفی‌پلوئیدهای *T. durum*-*Ae. caudata* و *T. durum*-*Ae. umbellulata* با $CS (Ph^1)$ در مقایسه با تلاقی این مواد با CS مشاهده گردید.

میزان جفت شدن کروموزوم‌ها در F_1 ‌های حاصل از تلاقی چاودار و CS بسیار کم بود که با نتایج مطالعات قبلی توسط دیگر محققین (Schlegel and Weryezco, 1979؛ Romero and Lacadena, 1982؛ Miller and Riley, 1972) مطابقت دارد (جدول ۳). ژن Ph^1 در القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند در بوته‌های F_1 حاصل از تلاقی $CS(Ph^1) \times S. cereale$ مؤثر بود. میزان القای

Ae. kotschyii و $CS (Ph^1)$ کاهش بسیار زیادی داشت ولی در مقابل، افزایش چشمگیری در میزان جفت شدن کروموزوم‌ها ($25.21 I + 4.52 II + 0.22 III + 0.01 IV$) با فراوانی کیاسمای معادل ۵/۰۷ در هر PMC) در مقایسه با F_1 ‌های حاصل از تلاقی همین نمونه با CS نشان داد (جدول ۲ و شکل 1d).

بر اساس آزمون مربع کای (χ^2) میزان جفت شدن کروموزوم‌ها در F_1 ‌های حاصل از تلاقی‌های $CS (Ph^1)$ و آمفی‌پلوئیدهای *Ae. umbellulata* و *T. durum* - *Ae. caudata* و *T. durum* اختلاف معنی‌داری نسبت به تلاقی‌های همین آمفی‌پلوئیدها با CS داشتند (جدول ۲). در حضور ژن Ph^1 ، فراوانی یونی والنت در هر سلول مادری دانه‌گرده تقریباً به نصف کاهش یافته بود که به طور معنی‌داری با آنچه که در تلاقی با CS مشاهده گردید تفاوت داشت.

در هر دسته از ترکیبات کروموزومی (بی‌والنت، تری‌والنت و کوادری‌والنت) افزایش معنی‌داری در F_1 ‌های حاصل از تلاقی‌های شامل $CS (Ph^1)$ در مقایسه با تلاقی‌های CS مشاهده شد. هر چند که اختلاف مشاهده شده در برخی از حالات به طور جداگانه معنی‌دار نبود، اما وقتی که این طبقات با هم در نظر گرفته شدند ($II+III+IV$) اختلاف معنی‌دار بین تلاقی‌های حاوی و فاقد Ph^1 مشاهده گردید (مقدار t از ۵/۷۱ تا ۱۴/۲۳ و در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار) که به وضوح

جدول ۲- میانگین، انحراف معیار، دامنه تغییرات میزان ترکیبات کروموزومی در مرحله متافاز-I تقسیم میوز و فراوانی کیاسما در هیبرید نسل اول تلاقی‌های CS و CS(Ph¹) با *S. cereale*، *Ae. kotschyii* و آمفی‌پلوئیدها

Table 2. Mean, standard error and range of meiotic metaphase I chromosome pairing and chiasma frequency in F₁ intergeneric crosses of CS and CS(Ph¹) with *S. cereale*, *Ae. kotschyii* and amphiploids

Sr No	Cross	2n	P M C	Chromosome Pairing						Chiasma Frequency	X ²
				I	II Rod	II Ring	II Total	III	IV		
1	CS × <i>S. cereale</i>	28	490	26.84 ±0.094 (18-28)*	0.47 ±0.039 (0-5)	0.02 ±0.008 (0-2)	0.49	0.05 ±0.011 (0-2)	0.01 ±0.04 (0-1)	0.61	
2	CS(Ph ¹) × <i>S. cereale</i>	28	280	15.62 ±0.193 (4-22)	4.37 ±0.107 (0-9)	0.81 ±0.069 (0-5)	5.18	0.53 ±0.048 (0-4)	0.16 ±0.026 (0-3)	7.47	** 69.07
mean X1-mean X2				11.22**	3.90**	0.79*	-	0.48*	0.15	-	
3	CS × <i>Ae. kotschyii</i> Acc	35	309	34.30 ±0.085 (28-35)	0.32 ±0.052 (0-3)	-	0.32	0.004 ±0.003 (0-1)	-	0.33	
4	CS(Ph ¹) × <i>Ae. kotschyii</i> Acc 3502	35	217	29.67 ±0.227 (21-35)	2.53 ±0.110 (0-7)	0.05 ±0.009 (0-1)	2.58	0.04 ±0.014 (0-1)	-	2.71	** 16.91
mean X3-mean X4				4.63**	2.21*	0.05	-	0.036	-	-	
5	CS × <i>Ae. kotschyii</i> Acc 3573	35	374	33.72 ±0.10 (23-35)	0.62 ±0.054 (0-5)	0.01 ±0.005 (0-1)	0.63	0.004 ±0.004 (0-1)	0.002 ±0.005 (0-1)	0.66	
6	CS(Ph ¹) × <i>Ae. kotschyii</i> Acc 3573	35	153	28.43 ±0.364 (11-35)	3.01 ±0.173 (0-2)	0.01 ±0.006 (0-1)	3.02	0.18 ±0.038 (0-2)	-	3.39	** 14.94
mean X5- mean X6				5.29**	0.39**	0.00	-	0.18*	0.002	-	
7	CS × <i>Ae. kotschyii</i> Acc 3790	35	213	34.08 ±0.115 (25-35)	0.49 ±0.061 (0-5)	-	0.49	-	-	0.49	
8	CS(Ph ¹) × <i>Ae. kotschyii</i> Acc 3790	35	209	25.21 ±0.297 (17-35)	4.45 ±0.148 (0-9)	0.07 ±0.018 (0-1)	4.52	0.22 ±0.033 (0-2)	0.01 ±0.006 (0-1)	5.07	** 28.21
mean X7-mean X8				8.89**	3.96**	0.07	-	0.22	0.01	-	
9	CS × Amph. [<i>T.durum</i> WH1868- <i>Ae. Caudata</i>]	42	346	14.69 ±0.168 (9-28)	8.00 ±0.167 (0-15)	5.11 ±0.139 (0-12)	13.11	0.34 ±0.032 (0-3)	-	18.90	
10	CS(Ph ¹) × Amph. [<i>T.durum</i> WH1868- <i>Ae. Caudata</i>]	42	638	7.87 ±0.074 (3-14)	9.52 ±0.109 (4-15)	5.71 ±0.103 (0-12)	15.23	1.13 ±0.40 (0-5)	0.01 ±0.004 (0-1)	23.23	* 5.39
mean X9-mean X10				6.82**	1.52	0.60	-	0.79**	0.01	-	
11	CS × Amph. [<i>T.durum</i> A206- <i>Ae. Caudata</i>]	42	283	19.11 ±0.297 (10-32)	5.34 ±0.103 (0-16)	5.42 ±0.141 (0-1)	10.76	0.48 ±0.042 (0-4)	-	17.14	
12	CS(Ph ¹) × Amph. [<i>T.durum</i> A206- <i>Ae. Caudata</i>]	42	655	8.41 ±0.074 (4-13)	10.01 ±0.105 (2-17)	5.60 ±0.90 (0-13)	15.61	0.77 ±0.035 (0-5)	0.01 ±0.05 (0-2)	22.78	** 8.36
mean X11-mean X12				10.70**	4.67**	0.18	-	0.47	0.01	-	
13	CS × Amph. [<i>T.durum</i> WH890- <i>Ae. umbellulata</i>]	42	324	14.41 ±0.087 (12-20)	9.01 ±0.131 (4-15)	4.65 ±0.12 (0-11)	13.66	0.04 ±0.110 (0-1)	-	18.39	
14	CS(Ph ¹) × Amph. [<i>T.durum</i> WH890- <i>Ae. umbellulata</i>]	42	324	8.16 ±0.086 (4-14)	9.67 ±0.105 (3-15)	5.64 ±0.90 (0-11)	15.31	0.97 ±0.039 (0-4)	0.01 ±0.003 (0-1)	22.92	** 25.00
mean X13- mean X14				6.25**	0.66	0.99*	-	0.93**	0.01	-	

اعداد داخل پرانتز بیانگر دامنه می باشند. +، * و **، به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال 10٪، 5٪ و 1٪.

Figures in parentheses indicate the range; +, *, ** significant at 0.1, 0.05 and 0.01 levels of probability, respectively.

سیستمی مشابه سیستم Ph^1 باشد (که سبب رفتار دیپلوئیدی در این گونه تتراپلوئید می‌شود) و با سیستم Ph^1 و Ph تداخل می‌نماید. در تلاقی های آمفی پلوئیدها با ساختار ژنومی AABBCC و AABBUU حاوی ژن Ph^1 ، افزایش معنی داری در فراوانی کیاسما و جفت شدن کروموزوم‌ها به صورت بی‌والنت، تری والنت و کوادری والنت و نیز کاهش قابل ملاحظه در میزان یونی والان‌ها بیانگر جفت شدن کروموزوم‌های متعلق به ژنوم‌های C و D، D، U، D، U، C، D، A و B می‌باشد. به هر حال، کروموزوم‌های درگیر در جفت شدن را با استفاده از تکنیک‌هایی مانند گیش (GISH, Genomic *in situ* hybridization) و یافیش (FISH, Fluorescens *in situ* hybridization) می‌توان دقیقاً شناسائی نمود (Le *et al.*, 1989; Mukai and Gill, 1991). نتایج این تحقیق به وضوح نشان داد که سیستم ژنی Ph^1 متعلق به گونه وحشی *Ae. speltoides* شرایط لازم را برای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند از طریق خنثی‌سازی اثر ژن Ph^1 گندم مهیا می‌سازد. اگرچه القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند و انتقال ژن‌های مفید از گونه‌های خویشاوند به گندم هگزاپلوئید از طریق استفاده از ژن جهش یافته ph^{1b} ، لاین نولی زوم 5B و برخی از ژنوتیپ‌های گونه وحشی *Ae. speltoides* انجام شده است، اما این سیستم‌ها نیاز به پایه‌های سیتوژنتیکی ویژه و

جفت شدن کروموزوم‌ها در F_1 ‌های حاصل از این تلاقی نیز با آنچه که در F_1 ‌های حاصل از تلاقی های *T. aestivum* Nullisomic 5B \times *S. cereale* و نیز *T. Aestivum* ph^{1b} \times *S. cereale* گزارش شده‌اند قابل مقایسه است (Dhaliwal *et al.*, 1977; Shneider and Prilinn, 1984; Riley, 1960). به هر حال این نتایج به روشنی تاثیر ژن Ph^1 را بر افزایش سطح جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند نشان می‌دهد (شکل 1b).

در تلاقی نمونه‌های *Ae. kotschyii* و $CS (Ph^1)$ سطح بالائی از جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند در F_1 ‌های به دست آمده مشاهده گردید که با نتایج مطالعات سیرز (Sears, 1977) در F_1 ‌های حاصل از تلاقی *T. aestivum* Nulli-5B \times *Ae. kotschyii* مطابقت دارد.

میزان القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند توسط ژن Ph^1 در تلاقی گندم و چاودار تاحدی از آنچه که در F_1 ‌های حاصل از تلاقی گندم و نمونه‌های آزیلوپس مشاهده شد بیشتر بود (جدول ۲). این خصوصیت را می‌توان به میزان تشابه ژنوم گونه‌هایی که با هم تلاقی داده شده‌اند نسبت داد. به عبارت دیگر چون *Ae. kotschyii* یک گونه تتراپلوئید است خود نیز ممکن است دارای

جدول ۳- جفت شدن کروموزوم‌ها در مرحله متافاز I تقسیم میوز در هیبریدهای نسل اول *Triticea* با استفاده از دست‌ورزی سیستم ژنتیکی کنترل‌کننده جفت شدن کروموزوم‌ها

Table 3. Meiotic chromosome pairing in F_1 hybrids of *Triticeae* with manipulation of genetic systems that control meiotic pairing

Sr. No	Cross	2n	Chromosome pairing				Reference
			I	II	III	IV-V	
1	<i>T. aestivum</i> × <i>Ae. Kotschyii</i>	35	32.8	1.03	0.05	-	Sears (1977)
2	<i>T. aestivum</i> (Nulli-5B) × <i>Ae. Kotschyii</i>	35	12.0	7.80	1.96	0.12	Sears (1977)
3	<i>T. aestivum</i> × <i>S. cereale</i>	28	27.8	0.10	-	-	Miller and Riley (1972)
			27.1	0.40	-	-	Romero and Lacadena (1982)
			26.9	0.52	-	-	Schlegel and Weryezco (1979)
4	<i>T. aestivum</i> (Nulli-5B) × <i>S. cereale</i>	27	17.3	3.36	0.88	0.08	Riley (1960)
5	<i>T. aestivum</i> (ph^1) × <i>S. cereale</i>	28	12.4	4.90	1.80	0.08	Dhaliwal et al. (1977)
6	<i>T. aestivum</i> (ph^1) × <i>S. cereale</i>	28	13.2	5.70	0.58	0.37	Shneider and Prilinn (1984)

Ae. speltooides را فقط به عنوان گونه واسط جهت القای جفت شدن کروموزوم‌های خویشاوند مورد استفاده قرار دادند. واضح است که علاوه بر ژن‌های خنثی‌کننده Ph^1 در گونه *Ae. speltooides* ژن‌های نامطلوب بسیار زیادی نیز از این گونه توأم منتقل می‌شوند که با تلاقی‌های برگشتی متعدد باید آن‌ها را حذف نمود. این موضوع علاوه بر کاهش کارآئی برنامه انتقال ژن مدت زمان لازم را نیز بسیار افزایش می‌دهد.

با استفاده از سیستم ژنی Ph^1 در زمینه گندم هگزاپلوئید از انتقال ژن‌های ناخواسته از گونه *Ae. speltooides* به گندم جلوگیری به عمل می‌آید. مزیت دیگر استفاده

برنامه‌های دورگ‌گیری پیچیده طولانی دارند تا ژن مورد نظر به گونه زراعی منتقل گردد (Riley et al., 1968 ; Sears , 1973).

رایلی و همکاران (Riley et al., 1968) توانستند با استفاده از قطعه کروماتین حامل ژن *Yr8* این ژن را به گندم منتقل نمایند. آن‌ها ابتدا لاین مضاعف گندم هگزاپلوئید (کروموزوم اضافه شده کروموزوم 2M گونه *Ae. comosa* حامل ژن مقاومت به زنگ زرد بود) را ابتدا با *Ae. speltooides* تلاقی داده و سپس از بین نتایج حاصل از تلاقی برگشتی با گندم هگزاپلوئید اشکال نو ترکیب را انتخاب نمودند. در این برنامه انتقال ژن گونه

از آنجائی که عقیده بر این است که دستوری ژنوم D در برنامه های انتقال ژن کمتر باعث ناپایداری ژنتیکی در گندم می شود، سیستم فوق الذکر می تواند بیشتر مورد توجه قرار گیرد. علاوه بر موارد فوق، بازیافت لاین های بارور دارای ژن بیگانه مورد نظر در تلاقی آمفی پلوئیدها با لاین های گندم مانند $CS(Ph^1)$ نسبتاً آسان تر و سریع تر از تلاقی مستقیم این گونه های غیر والد با گندم می باشد.

سپاسگزاری

نویسنده اول از سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی که امکان ادامه تحصیل در مقطع دکتری را فراهم آورده است کمال سپاسگزاری و تشکر را دارد.

از این پایه سیتوژنتیکی نسبت به استفاده از پایه های دارای ژن جهش یافته ph^{1b} این است که نیازی به استفاده از پایه های آنیوپلوئید (Aneuploid) مختلف مانند پایه نولی زوم 5B نیست. از این رو، این پایه سیتولوژیکی می تواند به طور مؤثری برای انتقال تنوع ژنتیکی از گونه های وحشی به خزانه ژنی گندم با حداقل ماده ژنتیکی ناخواسته مورد استفاده قرار گیرد.

تلاقی آمفی پلوئیدهای گندم دوروم و گونه های خویشاوند غیر والد گندم (Non-proginitor) مانند *Ae. caudata* و *Ae. umbellulata* با گندم هگزاپلوئید دارای ژن Ph^1 ، انتقال ژن های مفید را به طور کنترل شده به کروموزوم های ژنوم D میسر می سازد.

References

- Chapman, V., Miller, T. E., and Reiley, R. 1976. Equivalence of the A genome of bread wheat and that of *Triticum urartu*. *Genetics. Research* 27: 69-76.
- Chen, P. D., Tsujimoto, H., and Gill, B. S. 1994. Transfer of Ph^1 gene promoting homoeologous pairing from *Triticum speltoides* into common wheat and their utilization in alien genetic introgression. *Theoretical and Applied Genetics* 88: 97-101.
- Daud, H. M., and Gustafson, J. P. 1996. Molecular evidence for *Triticum speltoides* as a B-genome progenitor of wheat (*Triticum aestivum*). *Genome* 39: 543-548.
- Dhaliwal, H. S., Gill, B. S., and Waines, J. G. 1977. Analysis of induced homoeologous pairing in *Ph* mutant × rye hybrid. *Journal of Heredity* 68:206-209.
- Dover, G.A., and Riley, R. 1972. Prevention of pairing of homoeologous meiotic chromosomes of wheat by an activity of supernumerary chromosomes of *Aegilops*. *Nature* 240:159-161.

- Dvorak, J. 1972.** Genetic variability in *Aegilops speltoides* affecting homoeologous pairing in wheat. Canadian Journal of Genetics and Cytology 14: 371-380.
- Dvorak, J., McGuire, P. E., and Cassidy, B. 1988.** Apparent sources of the A genomes of wheats inferred from polymorphism in abundance and restriction fragment length of repeated nucleotide sequences. Genome 30: 680-689.
- Dvorak, J., di Telizzi, P., Zhang, H. B., and Resta, P. 1993.** The evolution of polyploid wheats: Identification of the A genome donor species. Genome 36:21-31.
- Dvorak, J., Luo, M. C., Yang, Z. L., and Zhang, H. B. 1998.** The structure of the *Aegilopes tauschii* gene pool and the evolution of hexaploid wheat. Theoretical and Applied Genetics 97: 657-670.
- Dundas, I. S., and Shepherd, K. W. 1996.** Yield improvement of wheat with stem rust resistance gene *Sr26* by cytogenetical methods using molecular-based marker selection. In: Abst. 2nd International Crop Science Congress, 17-24 November 1996, New Dehli, India.
- Feldman, M., and Mello-Sampayo, T. 1967.** Suppression of homoeologous pairing in hybrid of polyploid wheat \times *Triticum speltoides*. Canadian Journal of Genetics and Cytology 9: 307-313.
- Friebe, B., Jiang, J., Raupp, W.J., McIntosh, R.A., and Gill, B.S. 1996.** Characterization of wheat-alien translocations conferring resistance to disease and pest: Current status. Euphytica 91: 59-87.
- Gale, M. D., and Miller, T. E. 1987.** The introduction of alien genetic variation into wheat. pp. 173-210. In: Lupton, F. G. H.,(ed.) Wheat Breeding: Its Scientific Basis. Chapman and Hall UK.
- Gill, B. S. 1993.** Molecular cytogenetic analysis in wheat. Crop Science 33: 902-908.
- Jiang, J., Friebe, B., and Gill, B. S. 1994.** Recent advances in alien gene transfer in wheat. Euphytica 73: 199-212.
- Kihara, H. 1944.** Discovery of the DD-analyzer, one of the ancestors of *Triticum vulgare*. Agriculture Horticulture 19: 13-14.
- Kimber, G., and Athwal, B. S. 1972.** A reassessment of the course of evolution of *Triticum vulgare*. Agriculture Horticulture 19: 13-14.
- Knott, D. R., and Dvorak, J. 1976.** Alien germplasm as a source of resistance to disease. Annual Review of Phytopathology 14: 211-235.

- Knott, D. R., and Dvorak, J. 1981.** Agronomic and quality characteristics of wheat lines of leaf rust resistant derived from *Triticum speltoides*. Canadian Journal of Genetics and Cytology 23: 475-80.
- Koebner, R. M. D., and Shepherd, K. W. 1985.** Induction of recombination between rye chromosome 1RL and wheat chromosome. Theoretical and Applied Genetics 71: 208-215.
- Le, H. T., Armstrong, K. C., and Mili, B. 1989.** Detection of rye DNA in wheat-rye hybrids and wheat translocation stocks using total genomic DNA as a probe. Plant Molecular Biology Rep. 7: 150-158.
- Maestra, B., and Naranjo, T. 1998.** Homoeologous relationships of *Aegilops speltoides* chromosomes to bread wheat. Theoretical and Applied Genetics 97: 181-186.
- McFadden, E. G., and Sears, E. R. 1946.** The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives. Journal of Heredity 37: 81-89.
- Miller, T. E., and Riley, R. 1972.** Meiotic chromosome pairing in wheat - rye combinations. Genet. Iber. 24: 241-250.
- Mukai, Y. 1996.** Multicolor fluorescence *in situ* hybridization: A new tool for genome analysis. pp. 181-192. In: Jauhar P. P., (ed.). Methods of Genome Analysis in Plants Boca Raton, New York, London, Tokyo, CRC Press.
- Mukai, Y., and Gill, B. S. 1991.** Detection of barley chromatin added to wheat by genomic *in situ* hybridization. Genome 34: 448-452.
- Okamoto, M. 1957.** Asynaptic effect of chromosome V. Wheat Information Service. 5: 6.
- Riley, R. 1960.** The diploidization of polyploid wheat. Hereditas 15: 407-429.
- Riley, R., and Chapman, V. 1958.** Genetic control of the cytogenetically diploid behaviour of hexaploid wheat. Nature 182: 713-715.
- Riley, R., Chapman, V., and Johnson, R. 1968.** Introduction of yellow rust resistance of *Aegilops comosa* into wheat by genetically introduced homoeologous recombination. Nature 217: 383-384.
- Romero, C., and Lacadena, J. R. 1982.** Effect of rye B-chromosome on pairing in *Triticum aestivum* × *Secale cereale* hybrids. Zeitschrift für Pflanzenzucht 89: 39-46.

- Sarkar, P., and Stebbins, G. L. 1956.** Morphological evidence concerning the origin of the B genome in wheat. *American Journal of Botany* 43: 297-304.
- Schlegel, R., and Weryezco, E. 1979.** Intergeneric chromosome pairing in different wheat-rye hybrids revealed by Giemsa banding technique and some implications on karyotype in the genus *Secale cereale*. *Biol. Zentralbl.* 98: 399-407.
- Sears, E. R. 1973.** *Agropyron*-wheat transfer induced by homoeologous pairing. pp. 191-199. In: Sears, E. R. and Sears, L. M. S., (eds.). 6-7 Aug. Missouri, Colombia. Proceedings of the 4th International Wheat Genetics Symposium, 6-7 Aug.
- Sears, E. R. 1977.** An induced mutant with homoeologous pairing in common wheat. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 19: 585-593.
- Sears, E. R. 1981.** Transfer of alien genetic material to wheat. pp. 75-89. In: Evans, L.T., and Peacoak, W. J., (eds.). *Wheat Science- Today and Tomorrow*. Cambridge University Press. U. K.
- Sears, E. R., and Okamoto, M. 1958.** Intergenomic chromosome relationships in hexaploid wheat. In: Proceedings of the 10th International Congress of Genetics. 20-27 August. Montreal, Toronto, University. of Toronto Press. 2: 258-259.
- Sharma, H. C., and Gill, B. S. 1983.** Current status of wide hybridization in wheat. *Euphytica* 32: 17-31.
- Shneider, T. M., and Prilinn, O. J. 1984.** The use of *Ph* mutant increasing homoeologous pairing in wheat × rye hybrids. *Wheat Information Service* 59: 6-8.

آدرس نگارندگان:

مصطفی آقائی سربرزه- معاونت مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم، سرارود، کرمانشاه.
 اچ. اس. دالی وال- دیارتمان بیوتکنولوژی، دانشگاه کشاورزی پنجاب، لودھیانا، هندوستان.