فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۱۵، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۱۱۲-۹۵ (۱۳۸٦)

بررسی همولوژی کروموزومی بین سه گونه آژیلوپس (*Aegilops* sp) ایرانی حامل ژنوم D و گندم نان (*Triticum aestivum*)

محمدجعفر آقایی[۱]، محمدرضا نقوی[۱]، علیرضا طالعی[۱]، منصور امیدی[۱] و جواد مظفری[۲]

۱- دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج: E-mail:jaffaraghaei@gmail.com

۲- مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.

چکیده

ژنوم D یکی از سه ژنوم اصلی در گندم نان *Triticum aestivum* نقش مهمی در بسیاری از صفات زراعی گندم نان بعهده دارد. این ژنوم از گونه *Aegilops tauschii* به گندم نان به‌ارث رسیده است. علاوه بر آن گونه‌های *A. cylindrica* و *A. crassa* نیز ژنوم D را حمل می‌کنند و در ایران گسترش دارند. به منظور مطالعه همولوژی بین ژنوم D در میان این سه گونه با ژنوم D گندم نان و بررسی امکان انتقال ژن از این گونه‌ها به گندم زراعی از هر گونه ۱۳ نمونه و در مجموع ۵۲ نمونه از نواحی مختلف انتخاب گردید. در مزرعه هیبریدهای بین‌گونه‌ای بین نمونه‌های آژیلوپس و گندم نان هر دسته تهیه گردید. سپس وضعیت جفت شدن کروموزومهای میوزی در خوشه‌های جوان هیبریدهای بین‌گونه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که امکان تهیه هیبریدهای بین این گونه‌ها حداقل با استفاده از روشهای نجات جنین وجود دارد. ژنوم گونه *A. tauschii* شباهت زیادی با ژنوم D گندم نان نشان داد، به طوری که کروموزومهای دوگونه قادر بودند با یکدیگر جفت شده و به طور متوسط ۱۱/۹ کیاسما در هر سلول تشکیل دهند، اما میزان جفت شدن کروموزومهای گونه *A. cylindrica* با گندم نان کمتر بوده و به‌طور متوسط ۷/۳۷ کیاسما در هر سلول مشاهده گردید. شباهت کروموزومهای فرم تتراپلوئید گونه *A. crassa* با گندم نان نیز بسیار ناچیز بوده و کروموزومهای این گونه به طور متوسط تنها ۳/٤۲ کیاسما با کروموزومهای گندم نان تشکیل می‌دادند. با این حال، حتی تشکیل تعداد کمی کیاسما در هیبریدهای بین‌گونه‌ای امکان انتقال ژن از این گونه‌ها را به گندم نان فراهم می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: *Aegilops*، گندم، تلاقی بین‌گونه‌ای، ژنوم D و همولوژی کروموزومی.

مقدمه

ژنوم D، یکی از سه ژنوم اصلی در گندم نان، نقشی کلیدی در بسیاری از مهمترین خصوصیات زراعی آن از جمله مقاومت به بیماریها (Assefa & Fehrmann, 2004; Malik *et al.*, 2003)، تحمل به تنش‌های محیطی (Schachtman *et al.*, 1992)، کیفیت نانوایی (Payne *et al.*, 1981; Lagudah *et al.*, 1988; Gupta & MacRitchie, 1994) و حتی عملکرد (del Blanco *et al.*, 2000) دارد. اما

این ژنوم نه تنها در گندم نان بلکه در چندین گونه تتراپلوئید و هگزاپلوئید دیگر از جنس آژیلوپس نیز یافت می‌شود، که همگی این ژنوم خود را از یک گونه آژیلوپس دیپلوئید به نام *Aegilops tauschii* Coss. (2n=2x=14, DD) به ارث برده‌اند. این گونه دارای دامنه پراکنش جغرافیایی وسیعی از شرق اروپا تا چین بوده و دارای دو زیرگونه ssp. *tauschii* و ssp. *Strangulate* (Eig) Tzvelev است. اگرچه زیرگونه *tauschii* دارای دامنه پراکنش وسیعتری است، اما از تنوع کمتری برخوردار است. در عوض، زیرگونه *strangulata* دارای دامنه پراکنش محدودی در ناحیه قفقاز و جنوب دریای خزر بوده، اما به نسبت از تنوع بالاتری در مقایسه با زیرگونه اول برخوردار است. در عین‌حال، بالاترین تنوع در میان جمعیت‌های زیرگونه *strangulata* جمع‌آوری شده از ایران گزارش شده است (Devorak *et al.*, 1998, Kihara *et al.*, 1965). گندم هگزاپلوئید *Triticum aestivum* L. (BBAAD^{t}D^t 2n=6x=42,) از تلاقی *T. turgidum* subsp. *durum* (2n=4x=28, BBAA) و *A. tauschii* در جنوب غرب دریای خزر ایجاد گردیده و از هلال حاصلخیز (ناحیه‌ای هلالی شکل در خاورمیانه شامل فلسطین، اردن، جنوب ترکیه، شمال عراق تا غرب ایران) به سراسر جهان گسترش یافته است. این گونه دارای بیشترین دامنه سازگاری در میان گیاهان زراعی است (Rajaram, 2000). از دیگر گونه‌های حامل ژنوم D گونه‌های تتراپلوئید *A. cylindrica* و *A. crassa* در ایران پراکنده هستند.

A. Cylindrical Host از بخش *Cylindropyrum* با ژنوم (2n=4x=28, $C^cC^cD^cD^c$) از هیبریداسیون بین *A. caudate* و *A. tauschii* بدست آمده است (Kimber & Zhao, 1983; Kimber, 1984). با استفاده از تجزیه DNA سیتوپلاسمی مشخص شده است که بخشنده سیتوپلاسم این گونه است *A. tauschii* (Tsunewaki, 1993; Linc *et al.*, 1999). این گونه دارای دامنه پراکنش بسیار وسیعی از غرب اروپا تا شرق آسیا و حتی آمریکای شمالی است. مرکز تنوع آن در هلال حاصلخیز و آسیای مرکزی بوده و در بیشتر نواحی ایران یافت می‌گردد (Van Slageren, 1994). *A. tauschii* و *A. cylindrica* منابع مهمی از ژنهای مقاومت به زنگ زرد گندم هستند. هشت ژن مقاومت به زنگ زرد شامل *Lr21* (1Ds), *Lr22a* (2Ds), *Lr32* (3D), *Lr39* (2Ds), *Lr40* (1Ds), *Lr41* (1D), *Lr42* (1D), *Lr43* (7Ds) بطور پایدار از *A. tauschii* به ژرم‌پلاسم گندم نان منتقل گردیده است (Singh *et al.*, 2004).

A. crassa Bioss از بخش *Vertebrata* دارای دو سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید با ژنوم (2n=4x=28, $M^{cr}M^{cr}D^{cr1}D^{cr1}$) و (2n=6x=42, $M^{cr}M^{cr}D^{cr1}D^{cr1}D^{cr2}D^{cr2}$) است (Kimber & Feldman, 1987). فرم تتراپلوئید این گونه از ایران گزارش شده است (Kihara *et al.*, 1957). تجزیه جفت شدن کروموزومهای میوزی در هیبریدهای بین سیتوتیپ‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید *A. crassa* بیانگر آن است که فرم هگزاپلوئید از هیبریداسیون بین فرم تتراپلوئید *A. crassa* و *A. tauschii* بدست آمده است (Zhao & Kimber, 1984; Kimber & Zhao, 1983; Dubkovsky & Dvorak, 1995). اما در حال حاضر منشأ سیتوتیپ تتراپلوئید *A. crassa* را نمی‌توان با دقت تعیین کرد. بنظر می‌رسد ژنوم D^{cr1} گونه *A. crassa* از ژنوم *A. tauschii* مشتق گردیده و سپس در طی گونه‌زایی مشمول تغییرات

اساسی گردیده است، به‌طوری که بیش از ژنوم D گونه *A. tauschii* به ژنوم D^v گونه *A. ventricosa* و *A. vavilovi* شبیه است (Badaeva *et al.*, 2002). منشأ ژنوم M گونه *A. crassa* هنوز مورد مناقشه است. در گذشته تصور می‌شد که این ژنوم از گونه *A. comosa* یا یک گونه مرتبط با آن منشأ گرفته است. اما بررسی‌های مولکولی جدید نشان داده است که این ژنوم از یک والد منقرض شده از بخش *Sitopsis* و احتمالا *A. speltoides* منشأ گرفته است. این ژنوم در طی تکامل خود دچار تغییرات کروموزومی شدیدی شده و در حال حاضر متفاوت از ژنوم همه گونه‌های دیپلوئید آژیلوپس است (Dubkovsky & Dvorak, 1995; Devorak *et al.*, 1998). هر دو سیتوتایپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید *A. crassa* دارای سیتوپلاسم مشابه D2 هستند که از سیتوپلاسم همه گونه‌های دیپلوئید متفاوت است. اگرچه، تجزیه DNA کلروپلاست و میتوکندریایی آن نشان داد که سیتوپلاسم D2 نیز از سیتوپلاسم *A. tauschii* مشتق گردیده‌است (Ogihqara & Tsunewaki, 1984, Tsunewaki, 1993; Tsunewaki, 1996). گونه *A. crassa* بوسیله تنوع مورفولوژیکی زیاد و دامنه پراکنش وسیع شناخته می‌شود. این گونه در ترکیه، اسرائیل، لبنان، سوریه، عراق، ایران، افغانستان، قفقاز و جنوب ترکمنستان یافت می‌شود. این گیاه یک علف هرز عمومی است که در دامنه‌های شنی، استپ‌ها و مراتع تخریب شده و حاشیه جاده‌ها یافت می‌شود (Witcombe, 1983, Kimber & Feldman, 1987, Van Slageren, 1994).

از طرفی با آنکه ژنوم D همه این گونه‌ها از والد مشترک *A. tauschii* مشتق گردیده است اما کروموزومهای آنها در طول زمان دچار تغییرات و نوترکیبی‌هایی گردیده و گاهی دچار تغییرات اساسی شده است. برای بررسی شدت تغییرات انجام شده در یک کروموزوم ناشناخته از نحوه رفتار آن در جفت شدن با کروموزومهای شناخته شده گندم یا هرگونه دیگری در حضور یا عدم حضور سیستم ژن Ph استفاده می‌شود (Gill & Friebe, 2002). اگر در حضور سیستم فعال Ph کروموزومها بتوانند تا حدی با همدیگر جفت شوند به‌عنوان همولوگ و اگر فقط در عدم حضور سیستم Ph کروموزومها امکان جفت شدن با هم را بیابند به‌عنوان همیولوگ شناخته می‌شوند. با استفاده از این روش ژنوم بسیاری از گونه‌های خویشاوند گندم نان با یکدیگر مقایسه گردیده است.

اگرچه در طول سالیان اخیر مجموعه‌های نسبتا بزرگی از این گونه‌ها در بانک ژن ملی گیاهی ایران جمع‌آوری گردیده است، اما بررسی در خصوص همولوژی و قرابت‌های سیتوژنتیکی بین آنها صورت نگرفته است. در خارج از ایران نیز مطالعاتی بر روی چند گونه انجام گردیده اما نمونه‌های بسیار محدودی از ایران در دسترس این محققان قرار داشته است. از جمله در بیشتر بررسیهای انجام شده تنها فرم هگزاپلوئید گونه *A. crass* بکار برده شده است که بیشتر در افغانستان و آسیای میانه پراکنده است. در حالی که ایران در مرکز پراکنش این گونه‌ها قرار داشته و نمونه‌های ایرانی حائز اهمیت بسیار هستند. مطالعه حاضر به منظور بررسی همولوژی بین ژنوم D در جمعیت‌های مختلف چهار گونه حامل این ژنوم که در ایران پراکنش دارند انجام گردیده است.

مواد و روشها

مواد آزمایشی ۵۲ نمونه از چهار گونه *T. aestivum, A. tauschii, A. crassa, A. cylindrica* از کلکسیون بانک ژن ملی گیاهی ایران بودند که در ۱۳ دسته مختلف قرار داده شدند (جدول ۱). معمولا نمونه‌های یک دسته از یک ناحیه جغرافیایی معین و در برخی موارد از یک اقلیم مشابه و در برخی موارد که هیچ‌کدام امکان‌پذیر نبود نمونه‌های یک دسته از مراکز اصلی پراکنش گونه‌ها جمع‌آوری شده‌اند.

جدول ۱- لیست دسته‌ها و محل جمع‌آوری نمونه‌های هر دسته

دسته	*A. crassa*	*A. cylindrica*	*A. tauschii*	*T. aestivum*
۱	ارومیه	ارومیه	ارومیه	ارومیه
۲	تفرش	اراک	دلیجان	اراک
۳	شیراز	گرگان	گرگان	گرگان
٤	ارومیه	ارومیه	ارومیه	ارومیه
٥	بجنورد	بجنورد	بجنورد	بجنورد
٦	شیراز	گرگان	گرگان	گرگان
۷	شیراز	گرگان	گرگان	گرگان
۸	خوی	خوی	ارومیه	خوی
۹	همدان	ملایر	باختران	همدان
۱۰	شیراز	گرگان	گرگان	گرگان
۱۱	شیراز	گرگان	گرگان	گرگان
۱۲	مرند	مرند	تبریز	تبریز
۱۳	مشهد	تربت حیدریه	مشهد	مشهد

هیبریدها

نمونه‌های مورد بررسی در سال زراعی ۸٤-۱۳۸۳ در مزرعه بانک ژن در کرج کشت شدند. نمونه‌های گندم هگزاپلوئید که به‌عنوان والد ماده در تلاقی‌ها بکار رفت در سه تاریخ کاشت در ۱۵ آبان‌ماه، ۱۵ آذرماه و ۱۵ اسفندماه هر کدام بر روی یک خط یک متری و سایرگونه‌ها فقط در یک نوبت در ۱۵ آذرماه بر روی یک خط یک متری کشت گردید و بین هر دو نمونه یک متر فاصله درنظر گرفته شد.

در زمان گلدهی، خوشه‌های گندمهای هگزاپلوئید اخته و ایزوله شدند. خوشه‌های اخته شده دو تا سه روز بعد در صورت رسیدن گرده‌های سایر گونه‌های موجود در دسته گرده‌افشانی شدند. خوشه‌های گرده‌افشانی شده روز بعد بوسیله محلول ۷۵ppm اسیدجیبرلیک (GA3) اسپری شدند. ۱۹-۱۵ روز بعد از گرده‌افشانی، خوشه‌ها برداشت شده و بذرهای هیبرید جمع‌آوری شدند. جنین‌های نارس بر روی محیط کشت B5 در شرایط درون شیشه‌ای کشت شد و بعد

از ۵–٤ هفته گیاهچه‌های بدست آمده به گلدان منتقل گردیدند. پس از استقرار گیاهچه‌ها در گلدان به مدت ۸ هفته در دمای ۸–٤ درجه سانتیگراد ورنالیزه شده و سپس به گلخانه منتقل شدند.

به منظور اطمینان از تهیه بوته‌های هیبرید از همه دسته‌ها، نمونه‌ها در شهریورماه ۱۳۸٤ دوباره در شرایط گلخانه کشت گردیدند. برای این منظور از هر نمونه گندم هگزاپلوئید حدود ۱۵ و هر نمونه آژیلوپس ۱۰–۵ بوته در گلدان کشت و پس از رسیدن به مرحله دوبرگی به مدت ۱۰–٦ هفته در دمای $^{\circ}C$ ۸–٤ ورنالیزه شدند. نمونه‌های گندم هگزاپلوئید در سه نوبت متفاوت در هفته‌های ششم، هشتم و دهم و نمونه‌های آژیلوپس در هفته هشتم از اتاقک رشد خارج و به گلخانه منتقل شدند. سایر مراحل مانند مزرعه تکرار گردید.

میتوز

به منظور اطمینان از هیبرید بودن بوته‌ها از انتهای ریشه‌های جوان بوته‌های منتقل شده به گلدان نمونه‌هایی به طول ۱–۰/۵ سانتیمتر تهیه و به مدت ۳ ساعت در محلول ۰/۰۲٪ کلشی‌سین پیش‌تیمار شدند. سپس نمونه‌ها برای تثبیت و رنگ‌آمیزی به محلول ۰/۲٪ استواورسئین که با استفاده از اسید استیک ٤۵٪ تهیه گردیده بود منتقل شده و به مدت ۷–۵ روز در دمای $^{\circ}C$ ٤ در یخچال قرار داده شدند. سپس ریشه‌ها در محلول اسید استیک ٤۵٪ تا دمای نزدیک به جوش به مدت ۱–۰/۵ دقیقه گرم شدند. با قرار دادن ریشه بر روی یک اسلاید و با استفاده از اسکالپل حدود ۰/۵ mm انتهای ریشه‌ها قطع و سپس با کشیدن یک سوزن نیزه‌ای شکل بر روی انتهای ریشه آماده اسکواش گردید. با افزودن یک قطره اسید استیک بر روی نمونه، اسلاید را بر روی شعله گرم کرده و با قرار دادن آن بین دو لایه کاغذ صافی و فشار مستقیم انگشت شصت بر روی لامل عمل اسکواش انجام شد (Mujeeb-Kazi & Miranda, 1985). سپس نمونه را در زیر میکروسکوپ بررسی و در صورت مناسب بودن وضعیت کروموزومها با استفاده از فتومیکروسکوپ زایس از نمونه عکس تهیه شد.

میوز

در زمان گلدهی نمونه‌های مناسب از خوشه‌های جوان که سلولهای مادر میکروسپور در مراحل متافاز میوز باشند انتخاب گردید. برای این منظور خوشه‌هایی انتخاب شد که گره برگ پرچم تقریبا در نیمه بالایی خوشه قرار داشته باشد. خوشه‌های انتخابی در محلول ۱:۳:٦ (اتانول: کلروفورم: اسیداستیک) برای مدت ۷۲–٤۸ ساعت تثبیت شدند. سپس نمونه‌ها از محلول تثبیت خارج و برای نگهداری در اتانول ۷۰٪ و در دمای $^{\circ}C$ ۲۰– فریزر ذخیره شدند. برای انتخاب بساکهای مناسب، از هر گلچه نصف بساک بر روی یک اسلاید قرار داده و با استفاده از یک قطره استواورسئین ۲٪ رنگ‌آمیزی و بر روی شعله گرم گردیده و با فشار انگشت شصت آماده گردید. نمونه آماده شده در زیر میکروسکوپ بررسی و چنانچه نمونه در مرحله متافاز I میوز قرار داشت ۲/۵ بساک باقی‌مانده از گلچه به یک تیوب حاوی کارمن الکل ٤٪ (٤ گرم کارمن، ۱ml اسیدکلریدریک ۱N، ۱۵ ml آب مقطر، ۸۰ ml الکل اتیلیک ۸۵٪) منتقل و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد. پس از یک هفته بساک‌ها را

از داخل رنگ خارج و بر روی یک اسلاید قرار داده شد. یک قطره اسید استیک ٤٥٪ اضافه و یک لامل روی آن قرار داده و بر روی شعله گرم گردید. سلولها با فشار انگشت شصت بر روی لامل پراکنده شده و در زیر میکروسکوپ بررسی گردید (Mujeeb-Kazi *et al.*, 1987). پس از یافتن سلولهای مناسب با استفاده از فتومیکروسکوپ زایس عکس تهیه شد.

نتایج

در حدود ۳۵۰ تلاقی انجام شده بین سه گونه آژیلوپس مورد بررسی و گندم نان در مجموع بیش از هفت هزار گلچه گرده‌افشانی شدند. بر اثر گرده‌افشانی این گلها تعداد ۸٦۳ عدد بذر تهیه گردید. ۸٤۱ عدد از این بذرها به صورت نارس جمع‌آوری گردیده و از آن میان ٦۹۸ جنین نارس جدا کرده و بر روی محیط کشت، کشت گردیدند. اما ۲۲ عدد از بذرها بیش از حد رسیده بودند و جداکردن جنین مقدور نبود، بنابراین این بذرها به‌طور مستقیم در داخل پتری کشت گردیدند. از جنین‌های کشت شده در محیط کشت درون شیشه‌ای ٤۱۰ گیاهچه بدست آمد. ولی متأسفانه در مرحله انتقال گیاهچه‌ها از شرایط درون شیشه‌ای به گلخانه به‌علت شرایط نامساعد گلخانه تعداد زیادی از گیاهچه‌ها از بین رفتند و تعدادی از بذرهای کشت شده در پتری‌دیش نیز جوانه زده و تولید گیاهچه کردند. در مجموع تعداد ۲۹۱ گیاه بدست آمد (جدول ۲). نسبت تولید نتاج هیبرید در میان تلاقی‌ها بین ۱۵-۲ درصد و به‌طور متوسط در میان سه گونه آژیلوپس بین ۷/۱ – ۵/۱ درصد بود. بالاترین نسبت تولید نتاج هیبرید در تلاقیهای *T. aestivum/A. cylindrica* دیده شد که به‌طور معنی‌داری از دو تلاقی دیگر بیشتر بود. نسبت گیاهچه‌های هیبرید تولید شده از نصف بذرهای تولید شده بیشتر نبود (جدول ۲). برخی از بذرهای تولید شده دارای جنین مناسب نبوده و برخی نیز بر روی محیط کشت رشد نکرده و یا تولید کالوس کردند که مطلوب این برنامه نبود.

جدول ۲- نتایج تلاقیهای انجام شده بین سه گونه آژیلوپس و گندم نان به‌عنوان والد ماده

والدین تلاقی	تعداد هیبرید	تعداد گل تلاقی شده	تعداد بذر هیبرید	تعداد جنین هیبرید استخرج شده	تعداد گیاهچه هیبرید	تعداد بوته هیبرید بدست آمده
T. aestivum/A. crassa	۱۰۲	۲۰۵۹	۲۳۵	۱۹۷	۱۱۰	۸۷
T. aestivum/A. cylindrica	۱۱٦	۲۳۲۵	۳۳۱	۲۵۸	۱٦٤	۱۰۹
T. aestivum/A. tauschii	۱۲۲	۲۵۰۲	۲۹۲	۲۳۸	۱۲۸	۹۱
تعداد کل	۳٤۷	۷۰۳٤	۸٦۳	٦۹۸	٤۱۰	۲۹۱

بین دسته‌هایی که از محل‌های مختلف جمع‌آوری گردیده بود برای نسبت تولید بذر و جنین هیبرید تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما بین دسته‌ها برای تولید گیاهچه هیبرید تفاوت معنی‌دار وجود داشت (جدول ۳). بالاترین

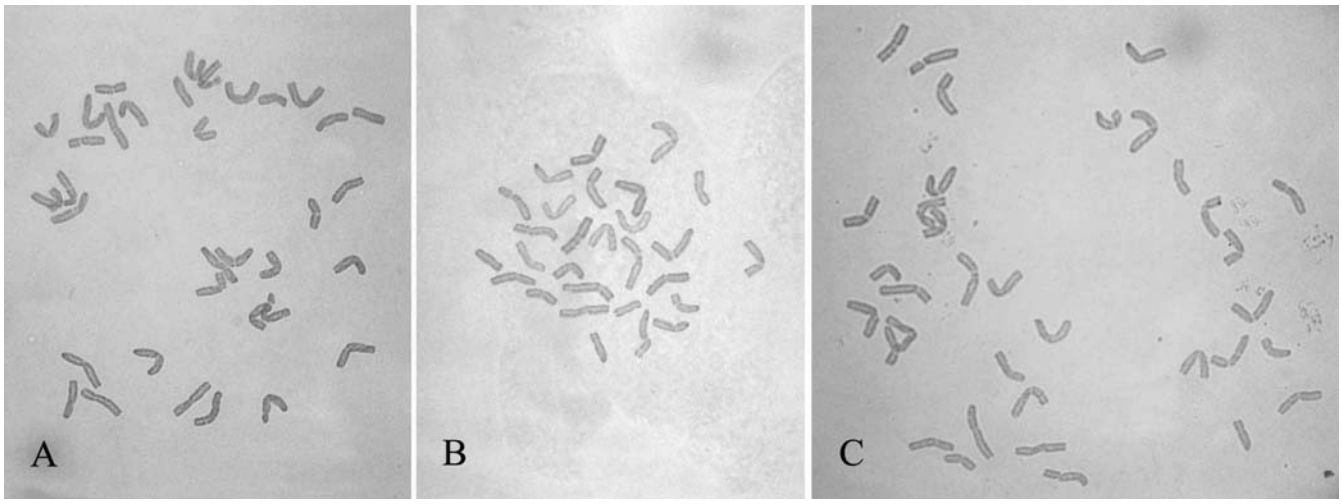
نسبت تولید گیاهچه هیبرید در دسته ۱۲ از تبریز- مرند بدست آمد که البته با واریانس بزرگی نیز همراه بود. این در حالی بود که کمترین نسبت برای این صفات در دسته‌های ۸ و ۱۰ از گرگان- شیراز و خوی - ارومیه بدست آمد. این دو ناحیه از مراکز اصلی تنوع گونه‌های مورد بحث در ایران هستند.

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار فراوانی تولید بذر، جنین و گیاهچه هیبرید در تلاقی سه گونه آژیلوپس دسته‌های مختلف با گندم نان

دسته	نسبت تولید بذر	نسبت تشکیل جنین	نسبت تولید گیاهچه هیبرید
۱	۰/۰۸ ± ۰/۱ a	۰/۰۷ ± ۰/۰۷ a	۰/۰۵ ± ۰/۰۵ ab
۲	۰/۱۳ ± ۰/۱۹ a	۰/۰۸ ± ۰/۱۲ a	۰/۰۷ ± ۰/۱ ab
۳	۰/۰۹ ± ۰/۰۸ a	۰/۰۸ ± ۰/۰۹ a	۰/۰۵ ± ۰/۰٤ ab
٤	۰/۱۱ ± ۰/۱۲ a	۰/۰۹ ± ۰/۱۱ a	۰/۰٦ ± ۰/۰۷ ab
٥	۰/۱۳ ± ۰/۱٦ a	۰/۱ ± ۰/۱۳ a	۰/۰٥ ± ۰/۰٦ ab
٦	۰/۱۱ ± ۰/۱٥ a	۰/۱ ± ۰/۱٤ a	۰/۰٥ ± ۰/۰٦ ab
۷	۰/۱۳ ± ۰/۱۷ a	۰/۰۸ ± ۰/۱۱ a	۰/۰۷ ± ۰/۰۸ ab
۸	۰/۱ ± ۰/۱ a	۰/۰۹ ± ۰/۱ a	۰/۰٤ ± ۰/۰٤ b
۹	۰/۱۳ ± ۰/۱۳ a	۰/۱۳ ± ۰/۱٤ a	۰/۰٦ ± ۰/۰٥ ab
۱۰	۰/۰۹ ± ۰/۱۱ a	۰/۰٦ ± ۰/۰۹ a	۰/۰٤ ± ۰/۰٥ b
۱۱	۰/۱۲ ± ۰/۱۲ a	۰/۱۰ ± ۰/۱۱ a	۰/۰٥ ± ۰/۰۳ ab
۱۲	۰/۱۷ ± ۰/۱۸ a	۰/۱٤ ± ۰/۱۸ a	۰/۰۹ ± ۰/۰۷ a
۱۳	۰/۱۱ ± ۰/۱۳ a	۰/۰۸ ± ۰/۱۲ a	۰/۰٥ ± ۰/۰٦ ab

حروف متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در میان نتاج تلاقیها است.

برای تأیید هیبریدها از شمارش کروموزومهای متافاز میتوزی استفاده گردید. انتظار می‌رفت نتاج هیبرید حاصل از تلاقی *T. aestivum/A. tauschii* تعداد ۲۸ کروموزوم با ژنوم ($2n=4x=28, ABD^tD$) و نتاج هیبرید حاصل از تلاقی *T. aestivum/A. cylindrica* تعداد ۳۵ کروموزوم با ژنوم ($2n=5x=35, ABD^tC^cD^c$) و نتاج هیبرید حاصل از تلاقی *T. aestivum/A. crassa* تعداد ۳۵ کروموزوم با ژنوم ($2n=5x=35, ABD^tMD^{cr1}$) داشته باشند (شکل ۱).



شکل ۱- کروموزومهای میتوزی در هیبریدهای بین گونه‌ای

به ترتیب A- نتاج تلاقی *T. aestivum/A. crassa* با ۳۵ کروموزوم از دسته شماره هفت والد مادری از گرگان و والد پدری از شیراز. B- نتاج تلاقی *T. aestivum/A. tauschii* با ۲۸ کروموزوم از دسته شماره چهار از ارومیه. C- نتاج تلاقی *T. aestivum/A. cylindrica* با ۳۵ کروموزوم از دسته شماره چهار از ارومیه

بنابراین ۲۱٤ گیاه هیبرید که در مزرعه و گلخانه تهیه گردیده بودند مورد شمارش کروموزومی قرار گرفتند. تعداد ۳٦ گیاه دارای ٤۲ کروموزوم میتوزی بودند که به‌عنوان نتاج خودگشنی شناخته شدند. در دو نمونه در برخی از سلولها ۳۵ و در سلولهای دیگری ٤۲ کروموزوم شمارش گردید و در سه نمونه دیگر تعداد کروموزومهای شمارش شده در سلولهای مختلف بین ۳۸ تا ٤۱ کروموزوم بود. از آنجا که در کامل بودن سلولهای شمارش شده تردید وجود داشته و در صورت کامل بودن سلولها نیز عدم تعادل کروموزومی در این سلولها وجود دارد، این نمونه‌ها نیز از آزمایش حذف گردیدند. بنابراین پس از شمارش کروموزوم‌های میتوزی تعداد ۱۷۳ بوته از ۳۹ تلاقی مختلف به‌عنوان نتاج هیبرید شناخته شدند.

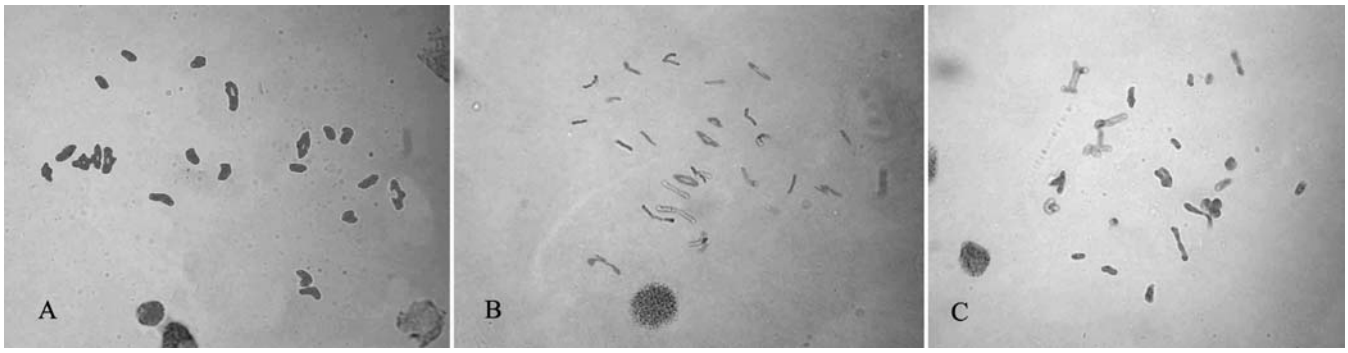
برای بررسی کروموزومهای میوزی در میان خوشه‌های ۱۷۳ بوته هیبرید ٦۰ نمونه مناسب از ۳۹ تلاقی مورد نظر تهیه و مورد بررسی قرار گرفت.

در تلاقی *T. aestivum/A. tauschii* بین ۱٤ تا ۲۰ یونیوالانت دیده شد در حالی‌که با میانگین و انحراف معیار ۲/۱۷±۱۵/۲٤یونیوالانت در سلول بیشتر تمایل به یونیوالانت کمتر و بیوالانت بیشتر وجود داشت (جدول ٤). به همین ترتیب تعداد بیوالانت‌ها نیز بین ٤ تا ۷ جفت متغیر بود. در برخی نمونه‌ها بیوالانت‌ها میله‌ای اما در غالب نمونه‌ها بیوالانت‌ها از نوع حلقوی بودند. به‌طوری که میانگین و انحراف معیار بیوالانت‌های میله‌ای ۱/۵۵ ± ۱/۱۸ و میانگین و انحراف معیار بیوالانت‌های حلقوی ۲/۰٤ ± ۵/۳٦ بود. همچنین تعداد کیاسما در هر سلول بین ٤ تا ۱٤ عدد با میانگین و انحراف معیار ۲/۷۵ ± ۱۱/۹۰ بود (شکل ۲).

جدول ٤– میانگین و انحراف معیار فراوانی یونیوالانت، بیوالانت، تری‌والانت و تعداد کیاسما در سلولهای مادر میکروسپور در مرحله متافاز I میوزی نتاج هیبرید سه نوع تلاقی مورد بررسی

والدین تلاقی	تعداد سلول	یونیوالانت	بیوالانت میله‌ای	بیوالانت حلقوی	تریوالانت	تعداد کیاسما
T. aestivum/A. crassa	۸۹	۲۸/۸۹± ۲/٦ a	۲/۷ ± ۱/۳ b	۰/۳٦ ± ۰/٤۸ c		۳/٤۲ ± ۱/٥٤ c
T. aestivum/A. cylindrica	۹۸	۲۳/٥۳ ± ۲/٥۲ b	٤/۱٦ ± ۱/۸٤ c	۱/٥۷ ± ۲/۰۳ a	۰/۰۳ ± ۰/۱۷	۷/۳۷ ± ۲/۸۳ a
T. aestivum/A. tauschii	۱۰۸	۱٥/۲٤ ± ۲/۱۷ c	۱/۱۸ ± ۱/٥٥ c	٥/۳٦ ± ۲/۰٤ a		۱۱/۹ ± ۲/۷٥ a

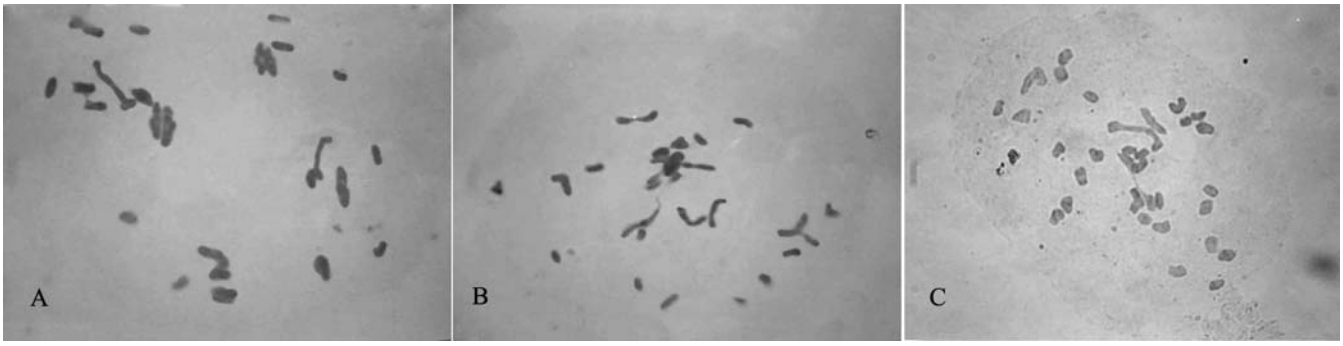
حروف متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در میان نتاج تلاقی‌ها است.



شکل ۲- نحوه جفت شدن کروموزومهای میوزی در نتاج هیبریدهای بین گونه‌ای در تلاقی *T. aestivum/A. tauschii* به ترتیب از A- دسته پنج بجنورد با ١٤ یونیوالانت و ۷ بیوالانت حلقوی B- دسته هفت گرگان با ١٤ یونیوالانت، ۳ بیوالانت میله‌ای و ٤ بیوالانت حلقوی C- دسته ۲ دلیجان با ۲۰ یونیوالانت و ٤ بیوالانت میله‌ای

بالاترین میزان همولوژی در تلاقی *T. aestivum/ A. tauschii* با تشکیل ۷ جفت بیوالانت حلقوی در نمونه‌های *A. tauschii* از دسته‌های متعلق به نواحی ارومیه، گرگان و بجنورد مشاهده گردید. در حالی که کمترین همولوژی این تلاقی با تشکیل ٤ جفت یونیوالانت میله‌ای در نمونه‌های *A. tauschii* دلیجان مشاهده گردید. سایر تلاقی‌ها در بین این دو قرار داشتند در حالیکه تمایل به تشکیل بیوالانت بیشتر وجود داشت.

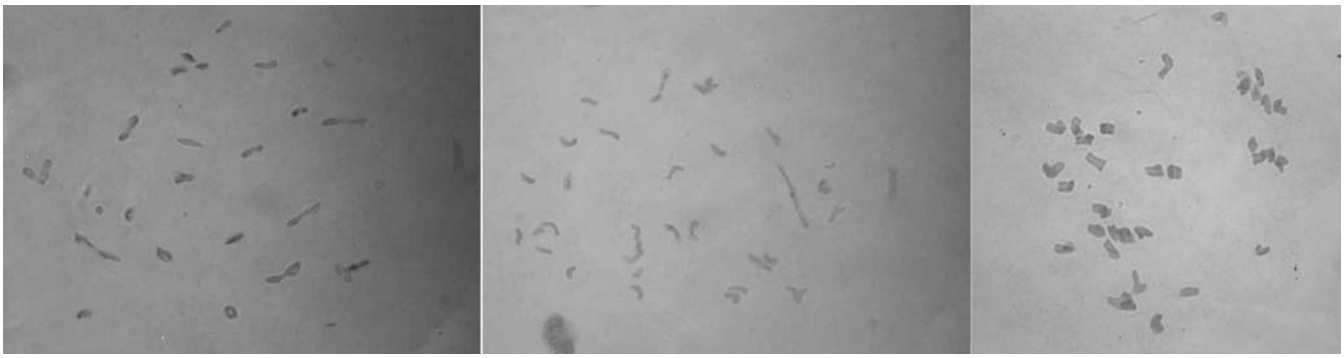
در تلاقی *T. aestivum/A. cylindrica* تعداد یونیوالانت در نمونه‌های مختلف بین ۲۱ تا ۲۹ عدد با میانگین و انحراف معیار ۲/٥۲ ± ۲۳/٥۳ بود (جدول ٤). به این ترتیب تمایل به تعداد کمتر یونیوالانت و بالطبع تعداد بیشتر بیوالانت مشاهده می‌گردد. تعداد بیوالانت‌های میله‌ای بین صفر تا ۷ عدد و تعداد بیوالانت‌های حلقوی نیز بین صفر تا هفت عدد مشاهده گردید ولی با توجه به میانگین و انحراف معیار ١/٨٤ ± ٤/١٦ برای بیوالانت میله‌ای و میانگین و انحراف معیار ۲/۰۳ ± ۱/٥۷ برای بیوالانت حلقوی می‌توان دریافت که بیشتر تمایل به تشکیل بیوالانت‌های میله‌ای وجود دارد و بیوالانت‌های حلقوی با فراوانی کمتری مشاهده می‌گردند (شکل ۳).



شکل ۳- نحوه جفت شدن کروموزومهای میوزی در نتاج هیبریدهای بین گونه‌ای در تلاقی *T. aestivum/A. cylindrica* به ترتیب از A- دسته چهار ارومیه با ۲۱ یونیوالانت، ۱ بیوالانت میله‌ای و ٦ بیوالانت حلقوی B- دسته هشت خوی با ۲۳ یونیوالانت، ٦ بیوالانت میله‌ای C- دسته ۱۰ شیراز با ۲۹ یونیوالانت، ۲ بیوالانت میله‌ای و ۱ بیوالانت حلقوی

همچنین در میان نتاج سه نمونه از این نوع تلاقی تری‌والانت نیز مشاهده گردید. والدین این تلاقی‌ها به دسته‌های ۵، ۸ و ۱۳ به ترتیب از بجنورد، خوی و تربت حیدریه تعلق داشتند. فراوانی وقوع تریوالانت در میان نمونه‌ها بسیار ناچیز و میانگین و انحراف معیار آن در حدود ۰/۱۷ ± ۰/۰۳ بود و فقط در تلاقی‌هایی که گونه *A. cylindrica* به‌عنوان والد نر در آنها بکار رفته بود مشاهده گردید. اگرچه وجود سیستم Ph در ژنوم B گندم نان از جفت شدن کروموزومهای همیولوگ جلوگیری می‌کند اما ممکن است برخی از ژنوم‌ها سبب تضعیف آن گردیده و با جفت شدن کروموزومهای همیولوگ دسته‌های تریوالانت یا بیشتر ایجاد نمایند. دراین بررسی دلیلی در دست نیست که تریوالانت‌های مشاهده شده به علت جفت شدن کروموزومهای همیولوگ از ژنوم‌های متفاوت اتفاق افتاده باشد. در این تلاقی بالاترین میزان همولوژی در میان نمونه‌های دسته چهار از ارومیه و دسته سیزده از تربت حیدریه مشاهده گردید. در تلاقی بین نمونه‌های این دو دسته شش بیوالانت حلقوی و یک بیوالانت میله‌ای مشاهده گردید که بیانگر همولوژی بالای بین ژنوم D^c در گونه‌های *A. cylindrica* و گندم نان در این دو دسته است. در مقابل کمترین همولوژی فقط با تشکیل سه بیوالانت میله‌ای در میان نمونه‌های دسته یازده از گرگان مشاهده گردید.

در میان نتاج تلاقی *T. aestivum/A. crassa* بین ۲۳ تا ۳۵ یونیوالانت مشاهده گردید. در حالی‌که با وجود میانگین و انحراف معیار ۲/٦ ± ۲۸/۸۹ یونیوالانت تمایل به تعداد بیشتر یونیوالانت در هر سلول مشاهده می‌گردد (جدول ٤). همچنین در میان تلاقی‌های بررسی شده تعداد بیوالانت‌ها بین صفر تا شش عدد بود که غالبا بصورت بیوالانت میله‌ای مشاهده می‌گردیدند. میانگین و انحراف معیار تشکیل بیوالانت میله‌ای ۱/۳± ۲/۷ بود. هیچ‌گاه بیش از یک بیوالانت حلقوی در میان نتاج این نوع تلاقی مشاهده نگردید و با میانگین و انحراف معیار ۰/٤۸ ± ۰/۳٦ بیوالانت حلقوی در هر سلول تعداد این نوع بیوالانت اغلب صفر بود (شکل ٤).



شکل ٤- نحوه جفت شدن کروموزومهای میوزی در نتاج هیبریدهای بین گونه‌ای در تلاقی *T. aestivum/A. crassa* به ترتیب از A- دسته ۱۲ مرند با ۲۱ یونیوالانت، ٤ بیوالانت میله‌ای و ۳ بیوالانت حلقوی B- دسته دو تفرش با ۳۱ یونیوالانت، ۲ بیوالانت میله‌ای C- دسته هفت شیراز با ۳۵ یونیوالانت

بالاترین میزان جفت شدن کروموزومها در نمونه‌های دسته‌های نه و سیزده به ترتیب از همدان و مشهد مشاهده گردید. در نتاج این نمونه‌ها پنج بیوالانت میله‌ای و یک بیوالانت حلقوی مشاهده گردید. با توجه به میانگین و واریانس تعداد بیوالانت‌ها در این نوع تلاقی، این تعداد به نوعی داده‌های خارج از حدود تلقی می‌گردند. کمترین میزان جفت شدن کروموزومها در نمونه‌های دسته هفت از شیراز دیده شد. در این تلاقی تنها یک بیوالانت میله‌ای مشاهده گردید. در حالی که در نتایج تلاقی دیگری از همین دسته چهار بیوالانت میله‌ای مشاهده گردید، به‌نظر می‌رسد برای فراوانی جفت شدن کروموزومها در این دسته تنوع وجود دارد. با این حال وجود دو بیوالانت میله‌ای در هر سلول حالت عمومیت بیشتری داشته و در غالب نمونه‌ها مشاهده گردید.

جدول ۵– میانگین و انحراف معیار تعداد یونیوالانت، بیوالانت، تری‌والانت و تعداد کیاسما در مرحله متافاز I میوزی نتاج هیبرید سه نوع تلاقی مورد بررسی در دسته‌های مختلف

دسته	تعداد سلول	یونیوالانت	بیوالانت میله‌ای	بیوالانت حلقوی	تعداد کیاسما
۱	۲۵	۲۵ ± ۳/۶۵ a	۳/۴۴ ± ۱/۶۶ b	۱/۰۴ ± ۱/۱ fgh	۵/۵۲ ± ۱/۸۷ de
۲	۱۵	۲۵/۳۳ ± ۵/۳۷ a	۳/۶ ± ۱/۸ b	۰/۰۷ ± ۰/۲۶ h	۵/۷۳ ± ۱/۶۷ e
۳	۲۷	۲۴/۳۳ ± ۶/۸۶ ab	۲/۱۱ ± ۱/۴ cd	۲/۱۹ ± ۳/۱۳ cdef	۶/۴۸ ± ۴/۸۲ cd
۴	۳۰	۱۹/۳ ± ۵/۹۳ cd	۰/۸ ± ۱/۰۳ e	۵/۳ ± ۲/۴۵ a	۱۱/۴ ± ۳/۹۶ a
۵	۳۰	۲۰/۳۳ ± ۷/۵۹ bcd	۱/۱ ± ۱/۱۲ de	۴/۲ ± ۲/۳ ab	۹/۵۷ ± ۵/۰۵ ab
۶	۲۵	۲۱/۹۶ ± ۵/۰۶ abcd	۳/۰۴ ± ۲/۶۸ bc	۲/۸۴ ± ۳/۳۳ bcde	۸/۷۲ ± ۴/۴۵ bc
۷	۲۲	۲۴/۰۹ ± ۷/۹۳ ab	۲/۷۷ ± ۱/۶۸ bc	۱/۷۳ ± ۱/۸ defg	۶/۲۳ ± ۴/۴۹ cd
۸	۲۲	۲۳/۲۷ ± ۴/۹۴ abc	۳/۶۸ ± ۲/۶۴ b	۱/۳۲ ± ۱/۹۹ efgh	۶/۴۱ ± ۲/۹۱ cd
۹	۱۱	۲۱/۲۷ ± ۳/۴۴ abcd	۵/۷۳ ± ۰/۴۷ a	۰/۲۷ ± ۰/۴۷ gh	۶/۲۷ ± ۰/۷۹ cd
۱۰	۱۷	۲۳/۲۸ ± ۶/۶۸ ab	۲/۵۳ ± ۱/۳۷ bc	۲/۰۶ ± ۲/۴۱ cdef	۶/۶۵ ± ۴/۰ cd
۱۱	۱۵	۲۳/۲۷ ± ۶/۱۱ abc	۲/۹۳ ± ۲/۰۲ bc	۲ ± ۳/۱۴ cdef	۶/۹۳ ± ۴/۵۷ cd
۱۲	۲۴	۲۱/۲۹ ± ۵/۵۸ abcd	۲/۷۹ ± ۱/۶۸ bc	۳/۰۴ ± ۲/۶۸ bcd	۸/۸۸ ± ۳/۹۷ abc
۱۳	۳۲	۱۸/۱۹ ± ۳/۸۱ d	۲/۶۹ ± ۱/۴۷ bc	۳/۵۹ ± ۱/۷۳ bc	۹/۹۴ ± ۲/۱۴ ab

حروف متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در میان نتاج تلاقی‌ها است.

بحث

در تلاقی بین سه گونه آژیلوپس حامل ژنوم D و گندم نان اگرچه فراوانی نتاج هیبرید خیلی بالا نبود، اما امکان تلاقی بسادگی امکان‌پذیر بوده و با استفاده از روش نجات جنین تقریبا در هر تلاقی تعدادی گیاهچه هیبرید بدست آمد. هرچند بدون برنامه نجات جنین نیز در تلاقی این گونه‌ها با گندم نان می‌توان نتاج زنده تهیه کرد.

Chapman و Miller (۱۹۷۸) نتوانستند از تلاقی بین فرم تتراپلوئید *A. crassa* و گندم نان بوته هیبرید تولید نموده و ژنوم D^{cr1} این فرم را با گندم نان و *A. tauschii* مقایسه کنند. همچنین در یک بررسی دیگر و در شرایط گلخانه از تلاقی *T. aestivum/A. cylindrica* و همین‌طور *T. aestivum/A. crassa* بوته هیبرید بدست نیامد (جعفرآقایی و همکاران، ۱۳۸۱). در حالی که در تلاقی حاضر و در شرایط مزرعه بالاترین تلاقی‌پذیری بین گونه *T. aestivum/A. cylindrica* یافت گردید. در حقیقت، این دو گونه حتی در شرایط طبیعی نیز با فراوانی نسبتا زیادی تلاقی می‌یابند (Morrison *et al.*, 2002). یکی از علل تلاقی‌پذیری بالای این گونه در مزرعه ممکن است نسبت بالاتر دگرگشنی آن نسبت به دو گونه دیگر باشد. تولید

هیبرید بین *A. cylindrica/T. aestivum* از گذشته مورد توجه بوده است، هرچند تصور می‌شد که هیبرید حاصل عقیم است (Donald & Ogg, 1991). یکی از دلایل عقیمی هیبریدها ممکن است وجود عوامل کشنده گامتها بر روی کروموزومهای گونه *A. cylindrica* باشد. عوامل کشنده گامتها (Gametocidal Factors) بر روی بازوی بلند کروموزوم C2 این گونه یافت شده است. عوامل کشنده گامتها موجب القای شکستن کروموزوم‌ها در گامتهای فاقد این عوامل می‌شوند. اگر این شکستگی شدید باشد موجب مرگ گامت می‌شود. اما اگر به اندازه کافی شدید نباشد که موجب مرگ گامتها شود، ممکن است گامتها فعال بوده و این شکستگی به نتاج منتقل گردد (Endo, 1990). این نوع شکستگیها در مطالعات سیتوژنتیکی کاربرد زیادی دارند. نشان داده شده است که عوامل GC موجود بر روی ژنوم *A. cylindrica* نسبت به عوامل موجود بر روی کروموزومهای گونه‌های *A. speltoides* و *A. sharonensis* از قدرت کمتری برخوردار بوده و شکستن کروموزومها را در فراوانی بسیار پایین القا می‌کنند (Nasuda *et al.*, 1998). با این حال، مطالعات جدیدتر نشان داده است که هم در مزرعه و هم در گلخانه امکان تولید هیبریدها و حتی تلاقی برگشتی نتاج هیبرید با والد آژیلوپس یا گندم و تولید نتاج BC1 وجود دارد (Zemetra *et al.*, 1998; Snyder *et al.*, 2000). همچنین، نتاج BC1 در تلاقی برگشتی با والدین قبلی به نتاج نسل BC2 ختم می‌شوند که دارای باروری نسبی هستند (Zemetra *et al.*, 1998). بنابراین این هیبریدها بطور بالقوه امکان آن را دارند که به‌عنوان پلی برای انتقال ژن دو گونه عمل نمایند (Wang *et al.* 2002, Guadagnuolo *et al.*, 2001). برای نسبت تلاقی‌پذیری در میان نمونه‌های مختلف هرگونه نیز تنوع وجود دارد، ولی این نسبت از طرح جغرافیایی خاصی پیروی نمی‌کند.

در میان سه گونه آژیلوپس مورد بررسی، ژنوم D در گونه *A. tauschii* بالاترین همولوژی را با ژنوم D^t در گندم نان نشان می‌دهد. در حقیقت گاهی همه کروموزومهای ژنوم D این گونه قادرند با کروموزومهای ژنوم D^t گندم نان جفت شوند که این موضوع انتقال ژنهای مفید از این گونه به گندم زراعی و یا تهیه لاینهای گندم سینتتیک جدید را تسهیل می‌سازد. Gill و Raupp (۱۹۸۷) در نتاج حاصل از تلاقی این دوگونه تعداد ۱٤ یونیوالانت، ۲/٦ بیوالانت میله‌ای، ۱/٤ بیوالانت حلقوی و ۰/۲ تریوالانت مشاهده کردند که اندکی کمتر از نسبت بدست آمده در مطالعه حاضر است. دلایل متعددی وجود دارد که هر دو ژنوم A و B برای میلیونها سال به همراه هم در گندم تتراپلوئید تکامل یافته‌اند و معرفی هر گونه ژنوم خارجی به آنها باعث به هم خوردن تعادل ژنتیکی موجود در میان آنها می‌شود (Gill & Raupp, 1987). اما *A. tauschii* ممکن است مطلوبترین گونه در میان گونه‌های والدی ژنوم‌های مورد استفاده در تلاقی‌های بین‌گونه‌ای باشد و همولوژی کامل بین ژنوم D^t گندم هگزاپلوئید و *A. tauschii* وجود دارد (Riley & Chapman, 1960). نه تنها کل تنوع ژنتیکی موجود در *A. tauschii* بخوبی قابل دسترس است، بلکه اثر متقابل ژنتیکی منفی بسیار ناچیزی بین ژنوم D این گونه و گندم نان وجود دارد و سرانجام مدارکی وجود دارد که *A. tauschii* از بیشترین تنوع ژنتیکی مفید در میان والدین ژنوم‌های گندم نان برخوردار است (Gill *et al.*, 1986). با

توجه به اینکه فعالیت ژن Ph موجود بر روی کروموزوم B5 قادر نیست از جفت شدن کروموزومهای *A. tauschii* با ژنوم D^t گندم نان جلوگیری کند، بنابراین ژنوم D^t گندم نان هنوز بسیار شبیه به ژنوم D گونه *A. tauschii* باقی مانده است.

ژنوم D^c در گونه *A. cylindrica* نیز شباهت زیادی به ژنوم D^t گندم نان نشان می‌دهد. اگرچه این شباهت به اندازه گونه *A. tauschii* نیست و ممکن است برای تولید یک لاین سینتتیک کافی نباشد، اما مسلما امکان جفت شدن کروموزومهای این گونه با کروموزومهای گندم نان امکان انتقال ژنهای مفید زراعی از این گونه به گندم نان را به راحتی میسر می‌سازد. همولوژی شدید ژنوم‌های *A. cylindrica* با ژنوم‌های والدینی آن و پلی‌مورفیسم درون گونه‌ای اندک بیانگر آن است که این یک گونه نسبتا جدید است که تغییرات شدید کروموزومی هنوز در آن حادث نشده است. کروموزومهای ژنوم D^c گونه *A. cylindrica* مشابه یکی از بیوتیپ‌های *A. tauschii* و کروموزومهای ژنوم D^{cr2} سیتوتیپ هگزاپلوئید گونه *A. crassa* است اما در مقایسه با ژنوم D^t گندم نان تفاوتهایی را نشان می‌دهد. این نتایج بیانگر آن است که بخشنده ژنوم D به گونه‌های *A. cylindrica* و گندم نان بیوتیپ‌های متفاوتی از *A. tauschii* بوده‌اند.

تولید بذر هیبرید بارور حاصل از تلاقی *A. cylindrica/T. aestivum* در شرایط طبیعی مزارع گندم بارها گزارش گردیده است (Snyder *et al.*, 2000, Guadagnuolo *et al.*, 2001, Morrison *et al.*, 2002). Morrison و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که هیبریداسیون طبیعی در مزارع گندم بین A. cylindrica/T. aestivum حداقل تا نسل BC1 می‌تواند با مؤفقیت انجام گردد. همچنین در بررسی والدین مادری تلاقی‌ها مشاهده گردید که میان هیبریدهای مورد بررسی گونه *A. cylindrica* بیشتر از گندم نان به‌عنوان والد مادری حضور دارد. تلاقی‌های برگشتی بیشتر با گندم نان انجام می‌گیرد، در حالی‌که تلاقی برگشتی با *A. cylindrica* نیز با فراوانی کمتر یافت می‌گردد که خطر انتقال ژن از گندمهای ترانسژنیک به علفهای هرز مزارع گندم را ناشی می‌شود. از طرف دیگر، کروموزومهای کشنده گامتها که به‌طور ترجیحی انتقال می‌یابند و به‌عنوان القاگر تغییرات کروموزومی شناخته می‌شوند، در ژنوم C گونه *A. caudate* و ژنوم C^c گونه *A. cylindrica* و C^t گونه *A. triuncialis* که از آن مشتق گردیده‌اند شناخته شده است (Endo, 1990; Köszegi *et al.*, 1998). در گونه‌های *A. caudata* و *A. triuncialis* کروموزومهای کشنده گامتها به گروه همیولوگ ۳ تعلق دارند در حالی‌که در گونه *A. cylindrica* این کروموزومها به گروه همیولوگ ۲ تعلق دارند (Endo, 1996) و از قدرت کمتری برخوردارند. نشان داده شده است که در تلاقی *A. cylindrica/T. aestivum* هنگامی که سیتوپلاسم از والد *A. cylindrica* به ارث می‌رسد یکی از کروموزومهای این گونه دارای اثرات متقابل شدید با سیتوپلاسم بوده و عدم حضور آن در هسته موجب مرگ انتخابی گامتها و عقیمی می‌گردد (Endo, 1979).

سرانجام ژنوم D^{cr1} در گونه *A. crassa* در مقایسه با دو گونه اول در فاصله دورتری نسبت به ژنوم D^t گندم نان واقع گردیده است. تغییرات شدیدی که در ژنوم این گونه اتفاق افتاده است مانع از آن است که کروموزومهای این

ژنوم بطور مؤثری با کروموزومهای گندم جفت شوند تا بتوان از آن گندم سینتتیک تهیه نمود. اما با استفاده از برخی دستورزی‌های سیتوژنتیکی امکان استفاده از این منبع ژنتیکی فراهم می‌گردد.

ژنوم تغییر نیافته D در گونه‌های *T. aestivum*, *A. cylindrica* و ژنوم D^{cr2} در فرم هگزاپلوئید *A. crassa* یافت می‌گردد که دارای تغییرات اندکی هستند. ژنوم D^{c} از گونه *A. cylindrica* و ژنوم D^{cr2} از فرم هگزاپلوئید گونه*A. crassa* در واقع شبیه به ژنوم D از زیرگونه*Tauschii* گونه *A. tauschii* هستند در حالیکه ژنوم D^{t} گونه*T. aestivum* شبیه به ژنوم D از زیرگونه *Strangulata* است (Friebe *et al.*, 1992, Badaeva *et al.*, 1996). بنابراین بیوتیپ‌های متفاوت *A. tauschii* بخشنده ژنوم D^{t} گندم نان و سایر گونه‌های پلی‌پلوئید آژیلوپس هستند (Badaeva *et al.*, 2002). اما براساس بررسیهای بندینگ-C و Fish همچنین بررسیهای آیزوزایمی و مولکولی نشان داده است که ژنوم D^{cr1} گونه *A. crassa* از ژنوم *A. tauschii* مشتق گردیده و سپس در طی گونه‌زایی به‌طور اساسی تغییر یافته است (Kimber & Zhao, 1983; Kimber & Feldman, 1987; Rayburn & Gill, 1987; Zhang & Devorak, 1992; Tsunewaki, 1993; Dubkovsky & Dvorak, 1995; Badaeva *et al.*, 1998; Zhao & Kimber, 1984). بررسیهای بندینگ-C و هیبریداسیون *in situ* نشان داده است که ژنوم D^{cr1} بیشتر به ژنوم D^{v} گونه *A. ventricosa* شبیه است و شباهت کمتری به ژنوم D^{c} گونه *A. cylindrica* و ژنوم D گونه *A. tauschii* دارد (Badaeva *et al.*, 2002).

در مجموع با توجه به همولوژی زیاد بین کروموزومهای گونه *A. tauschii* و ژنوم D گندم نان استفاده از توان ژنتیکی بالای این گونه در جهت بهبود سازگاری گندم نان و تولید لاینهای جدیدی از گندم سینتتیک با استفاده از روشهای مرسوم اصلاح نباتات به آسانی مقدور است. اگرچه همولوژی کمتری بین ژنوم D از گونه *A. cylindrica* و ژنوم D گندم نان وجود دارد ولی امکان جایگزینی یک یا چند کروموزوم و انتقال ژنهای مفید از گونه *A. cylindrica* به گندم نان همچنان مقدور است. همین موضوع در مورد گونه *A. crassa* نیز صادق است. با وجود همولوژی کم بین کروموزومهای این گونه و ژنوم D گندم نان بدون نیاز به استفاده از روشهای پیچیده مهندسی ژنتیک و تنها با استفاده از روشهای سیتوژنتیکی و دستکاریهای ژنتیکی انتقال کروموزومهای حامل صفات با ارزش زراعی و سازگاری به گندم نان امکان‌پذیر است.

سپاسگزاری

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۸۵۱۵٤-۰۰۰۰-۲۵-۱۲۰۰۰۰-۰۱۱-۲، سازمان تحقیقات جهاد کشاورزی انجام گردیده است. از مدیریت مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و بانک ژن ملی گیاهی ایران که امکانات اجرایی این مطالعه را فراهم نمودند سپاسگزاری می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- جعفرآقایی، م.، پندینن، گ.، چرنف، و. و بزرگی‌پور، ر.، ۱۳۸۱. تلاقی‌پذیری در میان تعدادی از گونه‌های آژیلوپس و گندم نان. مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۳(۳): ۳۷٤-۳٦۷.
- Assefa, S. and Fehrmann, H., 2004. Evaluation of A. tauschii for resistance to wheat stem rust and inheritance of resistance genes in hexaploid wheat. Genetic Resources and Crop Evaluation. 51:663-669.
- Badaeva, E.D., Amosova, A.V., Muravenko, O.V., Samatadze, T.E., Chikida, N.N., Zelenin, A.V., Friebe, B. and Gill, B.S., 2002. Genome differentiation in Aegilops.3. Evolution of the D genome cluster. Plant Syst. Evol. 231: 163-190.
- Badaeva, E.D., Friebe, B. and Gill, B.S., 1996. Genome differentiation in *Aegilops*. 1. Distribution of highly repetitive DNA sequences on chromosome of diploid species. Genome 39: 293-306.
- Badaeva, E.D., Friebe, B., Zoshchuk, S.A., Zelenin, A.V. and Gill, B.S., 1998. Molecular cytogenetic analysis of tetraploid and hexaploid Aegilops crassa Chromosome Research 6:629-637
- Chapman, V. and Miller. T.E., 1978. The relationship of the D genomes of hexaploid *A. crassa, A. vavilovii* and hexaploid wheat. Wheat inf. Serv. 47: 17-20.
- del Blanco, I.A., Rajaram, S., Kronstad, W.S. and Reynolds, M.P., 2000. Physiological performance of synthetic hexaploid wheat derived populations. Crop Sci. 40:1257-1263.
- Devorak, J., Luo, M.C., Yang, Z.L. and Zhang, H.B., 1998. The structure of the *Aegilops tauschii* genepool and the evolution of hexaploid wheat. Theor. Appl. Genet. 97: 657-670.
- Donald, W.W. and Ogg, A.G., 1991. Biology and control of jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*), a review. Weed Technol. 53: 3-17.
- Dubkovsky, J. and Dvorak, J., 1995. Genome origin of *Triticum cylindricum*, *Triticum triunciale*, and *Triticum ventricosum* (Poaceae) inferred from variation in repeated nucleotide sequences: A methodological study. Amer. J. Bot. 81: 1327-1335.
- Endo, T.R., 1979. Selective gametocidal action of a chromosome of *Aegilops cylindrica* in a cultivar of common wheat. Wheat inf. Serv. 50: 24-28.
- Endo, T.R., 1990. Gametocidal chromosomes and their induction of chromosome mutations in wheat. Jpn. J. Genet. 65: 135–152.
- Friebe, B., Mukai, Y. and Gill, B.S., 1992. C-banding polymorphism in several accessions of *Triticum tauschii* (*Aegilops squarosa*). Genome 35: 192-199.
- Gill, B.S. and Friebe, B., 2002. Cytogenetics, phylogeny and evolution of cultivated wheats. FAO Corporate Document Repository.
- Gill, B.S. and Raupp, W.J., 1987. Direct genetic transfer from *Aegilops squarrosa* to Hexaploid wheat. Crop Sci. 27: 445-450.
- Gill, B.S., Raupp, W.J., Sharma, H.C., Browder, L.E., Hatchett, J.H., Harvey, T.L., Moseman, J.G. and Wains, J.G., 1986. Resistance in *Aegilops squarrosa* to wheat leaf rust, whaet powdery mildew, green bug, and Hessian fly. Plant Dis. 70:553-556.
- Guadagnuolo R., Savova-Bianchi, D. and Felber, F., 2001. Gene flow from wheat (*Triticum aestivum* L.) to jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica Host*.), as revealed by RAPD and microsatellite markers Theor Appl Genet 103:1–8
- Gupta, R.B. and MacRitchie, F., 1994. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1, of common wheats. II. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. J Cereal Sci 19:19–29
- Kihara, H., Yamashita, K.Y. tanaka, M. and Sakamoto, S., 1957. Geographical distribution of 4x and 6x forms of *Aegilops crassa*. Wheat Information Service. 5: 11-12
- Kihara, H., Yamashita, K. and Tanaka, M., 1965. Morphological, physiological, genetical and cytological studies in *Aegilops* and *Triticum* collected from Pakistan, Afghanistan and Iran. In: K. Yamashita (Ed.) Cultivated plants and their relatives. KOEI Printing. Kyoto. Japan.
- Kimber, G. and Feldman, M., 1987. Wild wheat, an introduction. College of Agriculture University of Missouri, Columbia. 142 pp.
- Kimber, G. and Zhao, Y.H., 1983. The D genome of the Triticeae. Can. J. Genet. Cytol. 25:581-589.
- Köszegi, B., Friebe, B. and Sutka, J., 1998. Cytogenetic studies on *Triticum aestivum* × *Aegilops cylindrica* hybrids and derivatives. Acta Agron. Hungarica, 46: 1–7.
- Lagudah, E.S., O'Brien, L. and Halloran, G.M., 1988. Influence of gliadin composition and high-molecular-weight subunits of glutenin on dough properties in an F3 population of a bread wheat cross. J Cereal Sci 7:33–42
- Linc, G., Friebe, B.R., Kynast, R.G., Molnar-Lang, M., Köszegi, B., Sutka, J. and Gill, B.S., 1999. Molecular cytogenetic analysis of *Aegilops cylindrica* Host. Genome 42: 497–503.
- Malik, R., Smith, C.M., Harvey, T.L. and Brown-Guedira, G.L., 2003. Genetic mapping of wheat curl

- Tsunewaki, K., 1993. Genome-plasmon intractions in wheat. Jpn. J. Genet. 68: 1-34.
- Tsunewaki, K., 1996. Plasmon analysis as the counterpart of genome analysis. In: Jauhar PP (ed) Methods in genome analysis of plants: their merits and pitfalls. CRC Press, Boca Raton, pp. 271-299.
- Van Slageren, M.W., 1994. Wild Wheats; a Monograph of *Aegilops* L. and Amblyopyrum (Jaub. & Spach) Eig (Poaceae). Agricultural University Wageningen: the Netherlands; ICARDA: Aleppo, Syria. Pp. 512.
- Wang, Z., Zemetra, R.S., Hansen, J., Hang, A., Mallory-Smith, C.A. and Burton, C., 2002. Determination of paternity of wheat (*Triticum aestivum* L) X Jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host) BC1 plants by using genomic in situ hybridization (GISH) technique. Crop Sci. 42: 939-943
- Witcombe, J.R., 1983. A Guide to the Species of *Aegilops* L. Their Taxonomy, Morphology and Distribution. Rome: IBPGR Secretariat.
- Zemetra, R.S., Hansen, J. and Mallory-Smith, C.A., 1998. Potential for gene transfer between wheat (*Triticum aestivum*) and jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*). Weed Sci. 46: 313-317.
- Zhang, H.B. and Devorak, J., 1992. The genome origin and evaluation of hexaploid *Triticum crassum* and *Triticum syriacum* determined from variation in repeated nucleotide sequences. Genome 35: 509-515.
- Zhao, Y.H. and Kimber, G., 1984. New hybrids with D-genome wheat relatives. Genetics 106:509-515.

mite resistance genes Cmc3 and Cmc4 in common wheat. Crop Sci. 43: 644-650.
- Morrison, L.A., Riera-Lizarazu, O., Cremieux, L. and Mallory-Smith, C.A., 2002. Jointed Goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host) _ Wheat (*Triticum aestivum* L.) Hybrids: Hybridization Dynamics in Oregon Wheat Fields. Crop Sci. 42:1863–1872
- Mujeeb-Kazi, A., Roldan, S., Suh, D.Y., Sitch, L.A. and Farooq, S., 1987. Production and cytogenetic analysis of hybrids between Triticum aestivum and some caespitose Agropyron species. Genome 29: 537-553.
- Mujeeb-Kazi, A. and Miranda, J.L., 1985. Enhanced resolution of somatic chromosome constriction as an aid to identifying intergeneric hybrids among some Triticeae. Cytologia 50: 701-709.
- Nasuda, S., Friebe, B. and Gill, B.S., 1998. Gametocidal Genes Induce Chromosome Breakage in the Interphase Priorto the First Mitotic Cell Division of the Male Gametophyte in Wheat. Genetics 149: 1115–1124
- Ogihqara, Y. and Tsunewaki, K., 1984. The diversity of chloroplast DNA among Triticum and Aegilops. In: Sakamoto S. (ed.) Proc. 6th Int. wheat Genet. Symp., Kyoto, apan, 28 Nov.-3 Dec. 1983. pp. 407-713.
- Payne, P.I., Corfield, K.G., Holt, L.M. and Blackman, J.A., 1981. Correlations between the inheritance of certain high-molecular-weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. J Sci Food Agric 32:51–60
- Rajaram, S., 2000. International wheat breeding: past and present achievements and future directions. Oregon State University, Extension service. Special report 1017.
- Rayburn, A. and Gill, B.S., 1987. Molecular analysis of the D-genome of the Triticeae. Theor. Appl. Genet. 73: 385-388.
- Riley, R. and Chapman, V., 1960. The D genome of Hexaploid wheat. Wheat Info. Serv. 11: 18-19.
- Schachtman, D.P., Lagudah, E.S. and Munns, R., 1992. The expression of salt tolerance from Triticum tauschii in hexaploid wheat. Theor. Appl. Genet. 84:714-719.
- Singh, S., Franks, C.D., Huang, L., Brown-Guedira, G.L., Marshall, D.S., Gill, B.S. and Fritz, A., 2004. Lr41, Lr39, and a leaf rust resistance gene from *Aegilops cylindrica* may be allelic and are located on wheat chromosome 2DS. Theor Appl Genet 108:586–591
- Snyder, J.C., Mallory-Smith, C.A., Balter, S., Hansen, J. and Zemetra, R.S., 2000. Seed production on *Triticum aestivum* by *Aegilops cylindrica* hybrids in the field. Weed Sci. 48: 588-593.

A study of chromosome homology between three Iranian *Aegilops* species with D genome and bread wheat *(T. aestivum)*

M. Jaffar Aghaei[1], M.R. Naghavi[1], A.R. Taleei[1], M. Omidi[1] and J. Mozafari[2]

1- Agricultural college, University of Tehran. E-mail: jaffaraghaei@gmail.com
2- Seed and Plant Improvement Institute, karj.

Abstract

The D genome of *T. aestivum* has an important role in agronomic traits of bread wheat. It has been inherited to bread wheat from *A. tauschii*. Moreover, two Iranian species *A. cylindrica* and *A. crassa* have received D genome from *A. tauschii*. 52 samples with 13 samples from each species were selected from different areas, to study homology between D genome of these species and possibility of transferring alien genes to bread wheat. Interspecific hybrids between *Aegilops* and bread wheat samples of each set were made in farm. The meiotic chromosomal pairing was studied in young spikes of F1 hybrids of *Aegilops* species and bread wheat. Results suggested that hybridization between them is possible however by embryo rescue. The genome of *A. tauschii* is very similar to D genome of bread wheat. Usually, homologues chromosomes of D genome in two species were paired to each other and average of chiasmata was 11.9 per cell. Lower homology was found between genome of *A. cylindrica* and bread wheat. The average of chiasmata was 7.37 per cell in these crosses. Homology between genome of tetraploid *A. crassa* and bread wheat was very low and average of chiasmata in this cross was just 3.42 chiasmata per cell. These species are very important in bread wheat improvement because transferring alien genes to bread wheat is possible even by a few chiasmata formations in hybrids.

Key words: Wheat, *Aegilops*, interspecific hybridization and chromosomal homology.