

## مکان یابی کروموزومی شاخص های زراعی و فیزیولوژیکی مقاومت به خشکی در جو با استفاده از رگه های دارای یک جفت کروموزوم اضافی

### گندم-جو

عزت اله فرشادفر<sup>۱\*</sup>، مجید قیطولی<sup>۲</sup>، رضا حق پرست<sup>۳</sup> و آنینا یاقوتی پور<sup>۴</sup>  
۱، ۲، ۴، استاد، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی، ۳،  
استادیار مرکز تحقیقات دیم سرارود کرمانشاه  
(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۵ - تاریخ تصویب: ۹۱/۳/۳)

### چکیده

برای مکان یابی کروموزومی شاخص های زراعی و فیزیولوژیکی مقاومت به خشکی، آزمایشی با استفاده از رگه های دارای دو کروموزوم اضافی گندم-جو در سال زراعی ۱۳۸۲-۱۳۸۳ در محل معاونت موسسه تحقیقات کشاورزی دیم-ایستگاه سرارود کرمانشاه انجام گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف بسیار معنی داری بین اکثر صفات مورد بررسی وجود دارد. با استفاده از مقایسه ی میانگین ها مشخص گردید که بیشتر ژن های کنترل کننده شاخص های مقاومت به خشکی بر روی کروموزوم های 4H و 5H قرار گرفته اند. بررسی شاخص تحمل به تنش (STI) و شاخص های فیزیولوژیکی انتخاب چند گانه (MSI) نشان داد که اکثر جایگاه های کروموزومی کنترل کننده شاخص های مقاومت به خشکی بر روی کروموزوم های 4H و 5H قرار دارند. نتایج حاصل از نمودار سه بعدی و تجزیه کلاستر یکسان بود. در تجزیه همبستگی مشخص شد که کلروفیل a و b همچنین پرولین را می توان به عنوان شاخص های مقاومت به خشکی به کار برد. اما میزان آب نگهداری شده (ELWR)، محتوای آب نسبی (RWC)، میزان کاهش نسبی آب (RWD) میزان آب نسبی از دست رفته (RWL)، کلروفیل فلورسنس (CHF)، پایداری غشای سلولی (CMS) و محتوای کلروفیل برگ (LCC) بعنوان شاخص های فیزیولوژیکی مقاومت به خشکی شناسایی شدند.

**واژه های کلیدی:** جایگاه ژن، رگه های دارای یک جفت کروموزوم اضافی، شاخص حساسیت به تنش، شاخص های فیزیولوژیکی انتخاب چند گانه

بهبود مقاومت به خشکی یک امر مهم در برنامه های اصلاحی گیاهان برای کشت آبی در این مناطق می باشد  
(Andere et al., 2000; Farshadfar et al., 2003; )

### مقدمه

در بین تنش های محیطی، خشکی از مهمترین عوامل کاهش عملکرد در مناطق نیمه خشک است.

اولین رگه دارای دو کروموزوم اضافی گندم- جو به وسیله ی کروزر در سال ۱۹۷۳ (Kruse, 1973) و سپس توسط ایسلام وهمکاران در سال های ۱۹۷۵ و ۱۹۷۸ (Islam et al., 1975; Islam et al., 1978) مورد استفاده قرار گرفته است. اهداف این بررسی شامل: ۱- شناسایی شاخص تحمل به خشکی ۲- تشخیص کروموزمهای حامل ژنهای کنترل کننده مقاومت به خشکی در جو می باشد.

### مواد و روش ها

در این آزمایش از رگه افزایشی دی سومیک جو/گندم که از مرکز بین المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ایکاردا) توسط آقای دکتر (M.Tahir) تهیه شده بودند، به منظور تعیین محل کروموزومی ژنهای کنترل کننده ی مقاومت به خشکی در جو استفاده شد. سری کامل افزایشی دی سومیک Chs/Barley که از ایکاردا تهیه و با ترکیب کروموزومی  $(2n=42+2)$  و علائم اختصاری 1H، 2H، 3H، 4H، 5H، 6H و 7H (به ترتیب کروموزوم های شماره ی ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷) جو، به همراه والد دهنده که در این پژوهش جو واریته (*Hordeum vulgare L. Betzes*) با ترکیب کروموزومی  $(2n=2x=14)$  بعنوان والد دهنده، گندم بهاره چینی (Chinese spring) با ترکیب کروموزومی  $(2n=6x=42)$  بعنوان والد گیرنده، به همراه واریته ی گندم سرداری (Sardari) و جو سرارود (Saraood-1) به عنوان شاهد جمعاً ۱۱ ژنوتیپ در دو محیط تنش و بدون تنش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار به صورت یک آزمایش مزرعه ای در سال زراعی ۱۳۸۳-۱۳۸۲ در محل معاونت موسسه تحقیقات کشاورزی دیلم- ایستگاه سرارود کرمانشاه مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر لاین در سه ردیف یک متری و فاصله ی ردیف ها ۲۰ سانتی متر، به صورت دستی در اواخر آبان ماه کشت شد. اولین بارندگی موثر در اواخر آبان ماه به عنوان تاریخ کشت هر دو طرح آبی و دیدیم در نظر گرفته شد. در طول دوره رشد، صفات مهم فیزیولوژیکی، متابولیکی و زراعی عملکرد در شرایط مطلوب ( $Y_p$ ) و در شرایط تنش ( $Y_s$ ) به شرح زیر مورد ارزیابی قرار گرفتند:

(Zarei et al., 2007). شاخص های کمی متفاوتی برای انتخاب ژنوتیپ ها بر مبنای عملکردشان در شرایط تنش و بدون تنش مشخص گردیده است (Fernandez, 1992; Kristin et al., 1997).

بر اساس این شاخص ها می توان ژنوتیپ ها را در شرایط آبی و دیدیم با هم مقایسه نمود. با توجه به این روش ها می توان میزان تحمل را اندازه گیری نمود. مقایسه ی میزان عملکرد ژنوتیپ ها در شرایط تنش خشکی و محیط های بسیار مناسب می تواند در تعیین صفات مربوط به تحمل به خشکی و انتخاب ژنوتیپ ها در محیط های خشک به کار گرفته شود (Mohammadi et al., 2003). اصلاح برای تحمل به خشکی بر مبنای عملکرد دانه مشکل است زیرا میزان وراثت پذیری عملکرد تحت شرایط خشکی به علت کوچک بودن واریانس ژنوتیپی یا بزرگ بودن واریانس اثر متقابل ژنوتیپ×محیط، پایین است (Koszegi et al., 1996; Ludlow and Muchow, 1990). تحمل به خشکی را به راحتی نمی توان اندازه گیری نمود، چون یک صفت فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و ملکولی پیچیده است که با صفات محتوی آب نسبی برگ، میزان آب نسبی از دست رفته برگ، کلروفیل فلوروسنس، مقاومت روزنه ای، پایداری غشا ی سلولی، میزان تجمع پرولین وغیره در ارتباط می باشد (Farshadfar et al., 2008; Zarei et al., 2007). تعیین ساختار ژنتیکی تحمل به خشکی مقدمه ای برای بهبود تحمل به خشکی می باشد، اما تا به حال اطلاعات کمی در مورد خصوصیات ژنتیکی مرتبط با تحمل به خشکی وجود دارد (Farshadfar et al., 1996; Koszegi et al., 1995).

پس باید به جنبه ی ژنتیکی آن، تعیین و کنترل ژن های مربوط به سازگاری توجه بیشتری نمود (Ashraf et al., 1994; Farshadfar et al., 2003). با استفاده از لاین های دارای دو کروموزوم اضافی، می توان کروموزوم های حامل ژن های کنترل کننده ی شاخص های تحمل به خشکی را تعیین نمود (Ellis et al., 2000; Mahmood and Quarrie, 1993). رگه های دارای دو کروموزوم اضافی گندم- جو برای ارزیابی بیان ژن و تهیه نقشه ی فیزیکی جو به کار برده می شوند (Cho et al., 2006).

بدست آید، در ادامه برای بدست آوردن وزن خشک نمونه‌ها، در دمای ۳۷ درجه ی سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت در آون قرار گرفتند و میزان کاهش آب بر حسب گرم آب از دست رفته از وزن خشک برگ در ۲ ساعت محاسبه گردید.

میزان آب از دست رفته ( بر حسب  $g \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$  ) از فرمول زیر محاسبه گردید. در این فرمول  $t_1$  و  $t_2$  زمان‌های لازم بر حسب ساعت به ترتیب برای وزن پژمردگی و وزن خشک  $W_1, W_2, W_3$  و به ترتیب وزن‌های تر، پژمرده و خشک می باشد (Yang et al., 1991).

$$RWL = \left( \frac{W_1 - W_2}{W_3} \right) / \left( \frac{t_1 - t_2}{60} \right)$$

**کاهش نسبی آب برگ ( Relative water deficit=RWD)**

به منظور اندازه گیری میزان کاهش نسبی آب برگ، ابتدا میزان آب نسبی برگ را بدست آورده واز فرمول زیر مقدار کاهش نسبی آب برگ اندازه گیری شد (Tourneux et al., 2003).

$$RWD(\%) = 100 - RWC$$

#### کلرو فیل فلورسنس

برای اندازه گیری عملکرد کوانتوم، بعد از خروج سنبله‌ها از غلاف برگ پرچم، از هر کرت در هر تکرار ۵ برگ پرچم به طور تصادفی انتخاب و ماکزیمم عملکرد کوانتوم بعد از سازش با تاریکی ( $F_v/F_m$ ) هر برگ توسط دستگاه تجزیه عملکرد فتوسنتز (MINI-PAM) اندازه گیری شد.

$$Q_y = F_v/F_m$$

که در آن  $F_m$  ماکزیمم عملکرد فلوروسنس و  $F_v$  تغییرات عملکرد فلوروسنس را نشان می دهد ( Genty et al., 1989).

**تعیین محتوای کلروفیل برگ ( Leaf chlorophyll content=LCC)**

به منظور تعیین میزان کلروفیل برگ، با استفاده از دستگاه کلروفیل متر دستی ( Spad-502 ) بدون تخریب بافت‌های گیاهی و عصاره گیری از برگ‌ها، در زمان خورشدهی به طور متوسط ۵ برگ پرچم انتخاب نموده و از ۳ نقطه میانی آن، میزان کلروفیل برگ پرچم تخمین زده شد. (Yavad, 1986).

**آب نگهداری شده در برگ‌های جدا شده (Excised leaf water retention=ELWR)**

برای اندازه گیری این صفت، ۵ برگ از بوته‌های هر کرت، در مرحله ی ساقه رفتن جدا و بلافاصله وزن تر آنها به وسیله ی ترازوی دیجیتالی با دقت ۰.۱/ گرم اندازه گیری گردید سپس برگ‌ها به مدت ۵ ساعت در دمای ۲۰ درجه ی سانتی گراد قرار گرفتند. پس از طی این زمان مجدداً وزن شدند. از طریق رابطه ی زیر درصد آب نگهداری شده در این برگ‌ها محاسبه شد (Haghparsat, 1997):

$$ELWR = \left( 1 - \frac{\text{وزن برگ‌ها بعد از ۵ ساعت - وزن برگ‌های تازه}}{\text{وزن برگ‌های تازه}} \right) \times 100$$

**محتوای آب نسبی برگ ( Relative water content=RWC)**

به منظور اندازه گیری محتوای آب نسبی برگ ۳ قطعه ۲ سانتی متری از برگ پرچم از بوته‌های هر کرت، جدا شده و وزن تر آن (FW) به وسیله ترازوی دیجیتالی با دقت ۰.۱/ گرم اندازه گیری شد. سپس این نمونه‌ها به مدت ۴ ساعت در شدت نور کم در آب مقطر قرار داده شدند، در این حالت وزن آنها در حالت تورژسانس (TW) تعیین، سپس به منظور به دست آوردن وزن خشک (DW)، نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه ی سانتی گراد در آون قرار داده شدند و دوباره وزن آن‌ها اندازه گیری شده با استفاده از فرمول زیر محتوای آب نسبی برگ بر حسب درصد برای دو ژنوتیپ محاسبه گردید (Siddique et al., 2000).

$$RWC(\%) = \left[ \frac{FW - DW}{TW - DW} \right] \times 100$$

**میزان آب نسبی از دست رفته ( Relative water loss=RWL)**

به منظور اندازه گیری میزان آب نسبی از دست رفته از هر کرت در هر تکرار در مرحله ی گلدهی سه برگ به طور تصادفی جدا و بلافاصله وزن شدند. سپس نمونه‌های وزن شده به مدت دو ساعت در دمای ۳۰ درجه ی سانتی گراد قرار داده شدند. تا وزن پژمردگی آن‌ها

**کلروفیل a و b**

در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر به ترتیب برای کلروفیل a و b تعیین گردید. غلظت کلروفیل از طریق روابط زیر بدست آمد. در این روابط V حجم نمونه استخراج شد و W وزن تر نمونه است (Ashraf et al., 1994).

به منظور اندازه گیری میزان غلظت کلروفیل a و b، از هر کرت و در هر تکرار ۵ برگ پرچم انتخاب و از هر برگ ۰/۵ گرم آن را همراه با نمک کلرات منیزیم داخل هاون ریخته و له کرده و سپس با استفاده از روش اشرف وهمکاران (۱۹۹۴) با اسپکتروفتومتر Shimadzu u 7100

$$\text{میلی گرم کلروفیل a در هر گرم وزن تر} = \frac{(\text{جذب در } 645 \text{ نانومتر}) - 2 / 96 (\text{جذب در } 663 \text{ نانومتر}) \times V}{(100 \times W)}$$

$$\text{میلی گرم کلروفیل b در هر گرم وزن تر} = \frac{(\text{جذب در } 663 \text{ نانومتر}) - 4 / 69 (\text{جذب در } 645 \text{ نانومتر}) \times V}{(100 \times W)}$$

محتویات داخل لوله قرائت گردید (Kocheva et al., 2004).

$$\text{CMS}(\%) = \left[ \frac{1 - \frac{t_1}{t_2}}{1 - \frac{c_1}{c_2}} \right] \times 100$$

$c_1$  و  $c_2$  = هدایت الکتریکی ژنوتیپ ها در محیط شاهد به ترتیب در قرائت های اول و دوم و  $t_1$  و  $t_2$  = هدایت الکتریکی ژنوتیپ ها در محیط تنش به ترتیب در قرائت های اول و دوم می باشد.

۹- میزان پرولین برگ ها با استفاده از روشی که Bates et al., (1973) ارائه دادند اندازه گیری شد که در آن ها با استفاده از ۵ برگ پرچم در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان پرولین محلول های استاندارد و سپس نمونه های گیاهی تهیه شده، تعیین و مقایسه می گردیدند، برای تهیه ی منحنی استاندارد پرولین از محلول های ۱۲/۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲، ۷/۸، ۱/۹ میکرومول استفاده می شود.

$$\text{Proline} = \left[ \frac{CDV}{DM \times 115.5 \times 10^6} \right] \times 10^5$$

C = میزان جذب پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر بر اساس غلظت های مشخص پرولین در معادله ی رگرسیون، D = درجه ی دقت، V = حجم تولوئن استفاده

**پایداری غشای سلولی (Cell membrane stability=CMS)**

برای اندازه گیری پایداری غشای سلولی در مرحله ی گلدهی پنج برگ پرچم از هر لاین در هر تکرار جمع آوری و از آنها تعداد ۱۰ دیسک برگی تهیه گردید (هر پنج دیسک برگی برابر ۰/۱ گرم می باشد) و آن ها را داخل لوله ی آزما یش ریخته، یک لوله را به عنوان سطح تنش ( $s_1$ ) و لوله ی دیگر را به عنوان شاهد در نظر گرفتیم، سپس به نمونه های سطح تنش ۱۰ میلی لیتر پلی اتیلن گلیکول (PEG) ۴۰ درصد و به نمونه های شاهد ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در داخل یخچال نگهداری شدند و روز بعد محتویات به وسیله ی آب مقطر شستشو گردید، به طوری که هیچ اثری از PEG باقی نماند. بعد از این مرحله به هر لوله ی آزمایش در سطح تنش و شاهد ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت دیگر در داخل یخچال نگه داری شدند. جهت اندازه گیری پایداری غشای سلولی، ابتدا دستگاه EC متر با محلول های استاندارد کالیبره گردید و سپس EC نمونه ها قرائت شد. بعد از اتمام قرائت، تمام نمونه ها به مدت نیم ساعت در دمای ۱۰۰ درجه ی سانتی گراد در داخل قرار داده شدند تا بافت آنها تخریب شود. بعد از این مرحله لوله ها در آب یخ، سرد شدند، سپس EC

می توان جایگاه های کروموزومی مربوط به ژنهای کنترل کننده شاخص های مربوط به تحمل به خشکی در جو را تعیین نمود. بین ژنوتیپ ها از لحاظ صفات CHLa, CHLb, CHF و پرولین اختلاف معنی داری مشاهده نگردید اما با استفاده از مقایسه میانگین ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن (DMRT)، اختلاف بین رگه ها برای صفات مورد مطالعه مشخص شد (Farshadfar et al., 2003).

رگه های افزایشی دی زومیک رادر مقایسه میانگین با والد گیرنده مقایسه نموده اگر تفاوتی دیده شد این تفاوت به خاطر کروموزوم اضافه شده به والد گیرنده است. چون گیرنده ها زمینه ژنتیکی مشابه دارند اگر تفاوتی بین آنها مشاهده شود به خاطر کروموزوم اضافه شده می باشد. برای تشخیص محل ژن در لاینهای جایگزینی و رگه های دارای کروموزوم اضافی به روش مقایسه میانگین عمل می کنیم.

مقایسه میانگین بین ژنوتیپ ها برای صفت ELWR (جدول ۲) اختلاف معنی داری بین شاهد (-Saraarood) و ۱وسرداری) و همه ی رگه های دارای کروموزوم اضافی به جز رگه افزایشی (donor) 5H را نشان داد. رگه افزایشی 5H دارای بیشترین مقدار ELWR بود که از گیرنده (CS) نیز بیشتر گردید، پس می توان نتیجه گرفت که ژن های کنترل کننده ی صفت ELWR بر روی کروموزوم 5H قرار گرفته اند.

اختلاف معنی داری بین شاهد (-Saraarood) و ۱وسرداری) و لاین های دارای کروموزوم اضافی و نیز بین دهنده و گیرنده برای صفت RWC مشاهده شد. بیشترین مقدار RWC مربوط به رگه افزایشی 4H بود که با گیرنده اختلاف معنی دار بود، بنابراین اکثر جایگاه های کروموزومی مربوط به وراثت RWC بر روی کروموزوم 4H قرار گرفته است (Kocheva et al., 2004; Morgan, 1991). RWC شاخص مناسبی برای اندازه گیری میزان آب در جو می باشد که با کاهش آن در برگ ها، صدمه وارده افزایش می یابد. ارقام مقاوم به خشکی به طور معمول نسبت به ارقام حساس در محتوی آب نسبی بالا و پتانسیل اسمزی پایین می توانند فعالیت فتوسنتزی بالاتری را نسبت به ارقام حساس داشته باشند و از این نکته چنین استنتاج می

شده، DM = وزن خشک نمونه برگ استفاده شده می باشد.

۱۰- شاخص تحمل خشکی STI (Fernandez, 1992)، شاخص انتخاب چند گانه (MSI) و کارای کروموزوم اضافه شده (Efficiency of added chromosome=EAC) مطابق روابط زیر محاسبه گردید (Farshadfar et al., 2004).

$$STI = (Y_s)(Y_p) / (Y_p)^2$$

$$MSI = ELWR_{std} + RWC_{std} + 1 / RWL_{std} + CHF_{std} + LCC_{std} + CMS_{std}$$

$$EAC = \frac{Y_{DAL} - Y_{CS}}{Y_{CS}} \times 100$$

که در آن  $Y_{DAL}$  = عملکرد لاینهای دارای کروموزوم اضافی و  $Y_{CS}$  = عملکرد لاین گیرنده کروموزوم می باشد. شاخص تحمل به تنش (STI) توسط فرناندز (۱۹۹۲) پیشنهاد شده است این شاخص با عملکرد بالای ژنوتیپ در هر دو محیط تنش و بدون تنش ارتباط دارد. مقادیر بالای شاخص تحمل به خشکی نشان دهنده تحمل بالاتر به تنش خشکی و عملکرد بالقوه بیشتر برای یک ژنوتیپ و بهترین شاخص برای گزینش می باشد. شاخص انتخاب چند گانه باید ابتدا دادهها را استاندارد نمود. اعداد حاصل از اندازه گیری صفات، آب نگهداری شده در برگهای جدا شده، محتوای آب نسبی برگ، میزان آب نسبی از دست رفته، کلروفیل فلورسنس، محتوای کلروفیل برگ، پایداری غشای سلولی با استفاده از فرمول Z، استاندارد شدند، آنگاه اعداد حاصل را با یکدیگر جمع کرده، شاخص MSI به دست آمد (Zarei et al., 2007). تجزیه واریانس، مقایسه میانگین ها، تجزیه همبستگی، و تجزیه کلاستر با استفاده از نرم افزارهای MSTAT\_C و SPSS انجام گرفت.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که بین رگه های افزایشی دی سومیک از نظر صفات CMS, LCC, RWL, RWD, ELWR, RWC,  $Y_p$  و  $Y_s$  اختلاف بسیار معنی داری وجود دارد که بیانگر وجود تنوع و اختلاف بین کروموزوم های اضافه شده به والد گیرنده از نظر تاثیر بر صفات مورد مطالعه می باشد. پس

کمتر باشد میزان تحمل به خشکی بالاتر می باشد (Tourneux et al., 2003; Yang et al., 1991) که به کروموزوم های 4H و 5H مربوط می باشد که 5H در RWD با گیرنده اختلاف معنی دار نشان نداد، بنابراین اکثر جایگاه های کروموزومی برای RWD بر روی کروموزوم 5H قرار گرفتند. RWL یک تکنیک جداسازی سریع برای تشخیص ژنوتیپ های متحمل به خشکی می باشد (Zarei et al., 2007).

بیشترین مقدار CMS مربوط به لاین های 4H و 5H بود که با گیرنده اختلاف معنی دار نشان دادند پس می توان نتیجه گیری کرد که ژن های موجود بر روی کروموزوم اضافی رگه های افزایشی 4H و 5H در بروز این صفت تاثیر بیشتری داشته اند.

شود که تنظیم تورژسانسی و حفظ محتوای آب نسبی بالا نقش مهمی را در نگهداری فتوسنتز در طول دوره خشکی ایفا می کند (Huilian and Hi, 1996). طبق مطالعات گذشته کروموزوم 6H حامل ژن های کنترل کننده ی صفت RWC می باشد و این مطلب نتایج این بررسی را نیز تایید می نماید زیرا کروموزوم 6H اختلاف معنی داری با کروموزوم 4H و CS ندارد اما 4H اهمیت بیشتری دارد. کمترین مقدار RWD مربوط به لاین افزایشی 4H بود که با گیرنده اختلاف معنی داری نشان داد و با 5H و 6H اختلاف معنی داری نشان نداد در نتیجه بیشترین کارایی کروموزوم اضافه شده در کنترل RWD را رگه های 4H، 5H و 6H داشتند و کروموزوم 4H بیشترین سهم را دارد. هر چه مقدار RWD و RWL

جدول ۱- تجزیه واریانس و میانگین مربعات صفات مورد بررسی در جو

منابع تغییر	df	ELW R	RWC	RW D	RW L	CMS	LC C	C HF	C HLa	C HLb	Pr olin	Yp	Ys
تکرار	۲	۱۳/۵۷	۷/۲۶*	۷/۲۶*	/۰۰۱	۰/۰۰۱	۳/۴۶	۰۰	۰۰	۰۰۱	**	۳۷*	۱۵۵
					۰			۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۰۸	۱۱۵/	۲۴
ژنوتیپ	۱۰	۱/۳۶**	۱/۰۵**	۱/۰۵**	**	۰۰۷**	۹۴**	ns	ns	ns	ns	**	۹۴**
		۴۲	۶۰	۶۰	۰/۰۰۵	۰/	۱۳۱/	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۳۸۹/۲۰	۱۵۱/
خطای آزمایش	۲۰	۵/۶	۲/۰۳	۲/۰۳	/۰۰۱	۰/۰	۲/۵۵	۰۰	۰۰	۰۰۱	۰/۱	۱/۹۳	۹/۹۲
					۰			۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۳	۲۹	
CV%	-	۲/۷۳	۱/۶۲	۱۱/۹۵	۱/۳۹	۱/۸۵	۳/۶۰	۶۶	۶	۱/۷	۹۷	۱/۱۵	۶/۳۶
					۱۵			۰/	۱۵/۶	۱۶	۲۰/	۶	

ns: عدم اختلاف معنی دار. \*\* به ترتیب در سطوح ۵٪ و ۱٪ معنی دار می باشد، ELWR = آب نگهداری شده در برگ های جدا شده، RWC = محتوای آب نسبی برگ، RWL = میزان آب نسبی از دست رفته، RWD = کاهش نسبی آب برگ، LCC = کلروفیل فلورسنس = تعیین محتوای کلروفیل برگ، CMS = پایداری غشای سلولی

مربوط به کنترل LCC بر روی کروموزوم های 4H و 5H قرار گرفته اند. قیطولی در سال ۲۰۰۶ گزارش داد که LCC را می توان به عنوان شاخص تحمل به خشکی به کار برد (Qaitoli, 2006).

بالاترین مقدار CHF مربوط به لاین های دارای کروموزوم اضافی 4H و 5H بود که با گیرنده (CS) اختلافشان معنی دار شد و این مطالب بیانگر این است که مکان های ژنی کنترل کننده ی صفت

ژنوتیپ های جو با CMS بالا مقدار آب کمتری را در طی تنش از دست می دهند. طبق بررسی های انجام شده توسط زارعی و همکارانش در سال ۲۰۰۷، CMS به عنوان یک معیار تحمل به خشکی شناخته شد (Zarei et al., 2007).

بیشترین مقدار LCC مربوط به لاین افزایشی 4H بود که با 5H اختلاف معنی داری نشان نداد اما با گیرنده اختلاف معنی دار بود بنابراین جایگاه های ژنی

بین رگه های افزایشی و گیرنده از لحاظ صفات CHLa، CHLb، و پرولین اختلاف معنی داری وجود ندارد. فقط در صفت CHLa بین رگه های افزایشی 5H و 6H و 7H با گیرنده اختلاف معنی دار مشاهده گردید.

CHF بر روی کروموزوم های 4H و 5H قرار گرفته اند. جنتی در سال ۱۹۸۹ و فرشاد فر در سال ۲۰۰۴ همبستگی مثبتی بین CHF و تحمل به خشکی مشاهده نمودند (Farshadfar et al., 2004; Genty et al., 1989).

جدول ۲- مقایسه میانگین بین ژنوتیپها برای صفات مورد بررسی در جو

صفات	1H	2H	3H	4H	5H	6H	7H	CS	H(donor)	S.R-1
ELWR	۸۱/۶۳de	۸۴/۱۳ce	۸۴/۱۳ce	۸۶/۹۰bc	۸۷/۸۷a	۸۵/۹۷cd	۸۵/۶۷cd	۸۶/۰۳cd	۹۰/۵۷ab	۹۲/۲۰a
RWC	۸۲/۸۴f	۸۱/۳۹f	۸۱/۳۹f	۹۰/۵۶bc	۷۹/۶۸f	۸۸/۹۷cd	۸۵/۳۶e	۸۷/۲۲de	۹۲/۲۸ab	۹۳/۸۳a
RWD	۱۷/۱۶ab	۱۸/۶۱a	۱۸/۶۱a	۹/۴۴ef	۱۰/۳۲de	۱۱/۰۲de	۱۴/۴۴bc	۱۲/۷۸cd	۷/۷۸g	۶/۱۷g
RWL	۰/۲۰a	۰/۲۰a	۰/۲۰a	۰/۱۱de	۱/۱۰d	۰/۱۶b	۰/۱۷b	۰/۱۴c	۰/۰۹e	۰/۱۱de
CMS	۰/۶۸f	۰/۷۶cd	۰/۷۶cd	۰/۸۱b	۰/۸۱b	۰/۷۸c	۰/۷۶cd	۰/۷۴e	۰/۸۲ab	۰/۸۲a
LCC	۳۹۴۷	۳۷/۷۳e	۳۷/۷۳e	۵۰/۲۲bc	۴۸/۵۱c	۴۳/۱۸d	۳۹/۳۰e	۳۶/۶۹e	۴۷/۴۰c	۵۲/۴۰ab
CHF	۰/۷۹c	۰/۸۰c	۰/۸۰c	۰/۸۲ab	۰/۸۲ab	۰/۸۰c	۰/۸۱ac	۰/۸۰c	۰/۸۲ab	۰/۸۲ab
CHLa	۰/۲۱ac	۰/۱۸bc	۰/۱۸bc	۰/۲۰ac	۰/۱۸cb	۰/۲۲ac	۰/۱۹ac	۰/۲۵a	۰/۲۴ab	۰/۱۹ac
CHLb	۰/۱۰ad	۰/۰۹cd	۰/۰۹cd	۰/۱bd	۰/۰۹d	۰/۱۱ac	۰/۰۹cd	۰/۱۲a	۰/۱۲a	۰/۰۹cd
Prolin	۰/۴۹ac	۰/۶۱ab	۰/۶۱ab	۰/۴۶bc	۰/۴۹ac	۰/۳۸C	۰/۵۸ac	۰/۴۷bc	۰/۶۲ab	۰/۷۱a
Yp	۷۲/۷۴f	۷۹/۴۷df	۷۹/۴۷df	۹۹/۲۰b	۱۰۲/۶ab	۸۳/۶۸de	۸۸/۷۱cd	۹۵/۲۲bc	۸۴/۳۶de	۸۶/۴۵ce
Ys	۳۸/۱۴f	۴۳/۸۴df	۴۳/۸۴df	۵۴/۶۱ab	۵۵/۱۹a	۴۷/۵۶ce	۴۱/۳۵f	۴۹/۰۹cd	۵۱/۲۷bc	۵۷/۲۴a

در هر ردیف تیمارهایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند تفاوت معنی دار با هم ندارند

کروموزومهای 6H می باشد. از نظر شاخص کارایی کروموزوم اضافه شده (جدول ۳)، کروموزوم های اضافی لاین های 4H و 5H بیشترین کارایی را در کنترل صفات ELWR، RWC، RWD، RWL، CMS، LCC، Yp، و Ys داشتند و بقیه رگه های افزایشی دارای کارایی منفی در کنترل این صفات نسبت به والد گیرنده نشان دادند. برای بررسی کلی رگه های دارای کروموزوم اضافی یک شاخص زراعی، تحمل به خشکی (STI) و یک شاخص گزینش چند گانه فیزیولوژیکی (MSI) محاسبه گردید (جدول ۳) که با توجه به آن ها بیشترین مقدار STI و MSI مربوط به محل های کروموزوم های 4H و 5H بود. طبق نتایج این بررسی اکثر مکان های

بنابر این تعیین محل کروموزومی ژن های موثر بر این صفات امکان پذیر نیست و کاهش میزان این صفات در رگه های افزایشی در مقایسه با والد گیرنده به دلیل اثر متقابل منفی ژن های موجود بر روی کروموزوم های اضافی و ژن های والد گیرنده می باشد (Qaitoli, 2006). از لحاظ عملکرد در شرایط تنش (Ys) بین رگه های افزایشی، 4H، 7H و 5H با گیرنده اختلاف معنی داری مشاهده گردید پس مکان های ژنی کنترل کننده ی آن ها بر روی کروموزوم های 4H و 5H می باشد و از لحاظ عملکرد در شرایط بدون تنش (Yp) بین لاین افزایشی 6H با گیرنده اختلاف معنی دار مشاهده گردید پس در این جا مکان های ژنی کنترل کننده بر روی

کروموزومی مربوط به وراثت تحمل به خشکی در جو بر روی کروموزوم های 4H و 5H با کارایی ۲۲/۵٪ در بهبود تحمل به خشکی می باشد.

جدول ۳- مقایسه EAC بین لاینهای افزایشی برای صفات مورد بررسی

صفات	ژنوتیپها								Control
	1H	2H	3H	4H	5H	6H	7H	CS	
ELWR	-۵/۱۱	-۵/۹	-۲/۲	۱	۲/۲	۰/۰	-۰/۳۴	-	-
RWC	-۵/۰۲	-۴/۹۲	-۶/۶۸	۳/۸۳	۲/۸۲	۲/۰۲	-۲/۱۳	-	-
RWD	۳۴/۲۵	۳۳/۵۴	۴۵/۵۹	-۲۹/۱۱	-۱۹/۲۵	-۱۳/۷۷	۱۴/۵۵	-	-
RWL	۴۲/۸۵	۱۴/۲۸	۴۲/۵۸	-۲۱/۴۲	-۲۱/۴۲	۱۴/۲۸	۲۱/۴۲	-	-
CMS	-۸/۵۹	۰/۱۳	۲/۹۴	۹/۶۳	۹/۲۳	۴/۸۱	۲/۲۷	-	-
LCC	۷/۵۷	۲/۴۸	۲/۸۳	۳۶/۸۷	۳۲/۲۱	۱۷/۶۸	۷/۱۱	-	-
CHF	-۰/۸۶	۰/۲۴	-۰/۶۲	۲/۳۵	۲۶۰	-۰/۱۲	۱/۳۶	-	-
CHLa	-۱۶	-۲۲/۸	-۲۵/۶	-۲۰	-۲۸	-۹/۶	-۲۱/۲	-	-
CHLb	-۱۴/۵۱	-۲۱/۷۳	-۲۴/۱۹	۱۸/۵۴	-۲۶/۶۱	-۹/۶۷	-۲۰/۹۶	-	-
Prolin	۱۸/۴۲	۳۸/۹۹	۴۵/۹۳	۱۱/۴۸	۱۸/۴۲	-۷/۱۷	۴۰/۱۹	-	-
Yp	-۲۳/۶	-۱۸/۸	-۱۶/۵	۴/۲	۷/۷	-۱۲/۱۰	-۶/۸	-	-
Ys	-۲۲/۳	-۱۲/۶	-۱۰/۷	۱۷/۴	۱۲/۴	-۳/۱۰	۱۵/۸	-	-
STI	۳۴/۶۱	۳۴/۳۹	۳۵/۶۲	۴۱/۵۹	۴۷/۳۶	۳۶/۱۲	۴۷/۳۶	۴۶/۱۳	۲۹/۲۱
MSI	۴/۶۲	۴/۷۸	۴/۷۲	۵/۴۵	۵/۴۷	۵/۰۱	۴/۸۸	۴/۹۱	۵/۶۲

جدول ۴- ماتریس ضرایب همبستگی بین شاخص های مقاومت به خشکی

	ELWR	RWC	RWD	RWL	CMS	LCC	CHF	CHLa	CHLb	Prolin	Yp	Ys	TI
RWC	۰/۸۲**												
RWD	-۰/۸۲**	-۱**											
RWL	-۰/۷۶**	-۰/۷۸**	-۰/۷۹**										
CMS	۰/۷۵**	۰/۷۹**	-۰/۷۹**	-۰/۷۵									
LCC	۰/۶۸**	۰/۸۲**	-۰/۸۲**	-۰/۶۷	۰/۷۹**								
CHF	۰/۷۳**	۰/۷۶**	-۰/۷۶**	-۰/۷۶**	۰/۸۰**	۰/۷۹**							
CHLa	۰/۳۱	۰/۲۷	-۰/۲۶	-۰/۲۴	۰/۱۱	۰/۰۴	۰/۰۳						
CHLb	۰/۱۹	۰/۲۳	-۰/۲۳	-۰/۱۷	۰/۰۴	۰/۰۳	-۰/۰۵	۰/۹۳**					
Prolin	۰/۳۵*	۰/۱۳	-۰/۱۳	-۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۲۴	۰/۳۵**	-۰/۱۱	-۰/۲۴				
Yp	۰/۵۵*	۰/۵۲**	-۰/۵۲**	-۰/۶۵**	۰/۵۹**	۰/۶۲**	۰/۱۲	۰/۰۵	۰/۵۷**	۰/۰۳			
Ys	۰/۵۹**	۰/۷۵**	-۰/۷۵**	-۰/۷۴**	۰/۷۸**	۰/۸۳**	۰/۷**	۰/۱۰	-۰/۰۷	۰/۱۱	۰/۷۷**		
STI	۰/۶۱**	۰/۶۹**	-۰/۶۹**	-۰/۷۴**	۰/۷۴**	۰/۷۸**	۰/۷۲**	۰/۱۳	-۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۹۱**	۰/۹۳**	
MSI	۰/۸۵**	۰/۹۱**	-۰/۹۱**	-۰/۹۱**	۰/۸۸**	۰/۸۹**	۰/۸۷**	۰/۱۹	۰/۱۴	۰/۲۷	۰/۶۵**	۰/۸۳**	۰/۷۹**

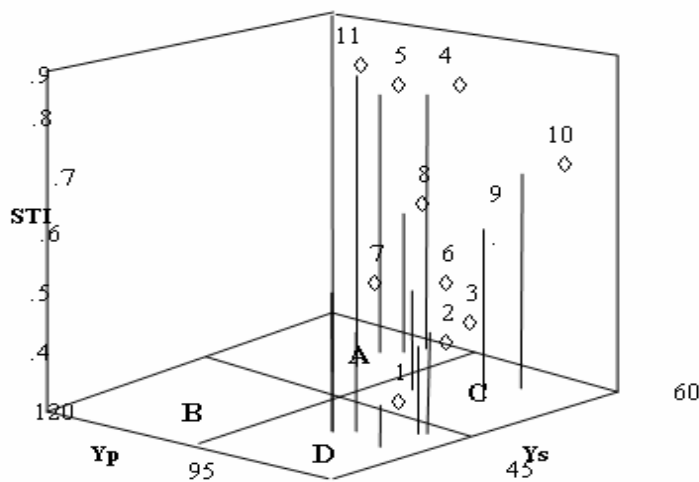
\* و \*\* به ترتیب در سطوح ۵٪ و ۱٪ معنی دار می باشد



استفاده کرد هر چند که پرولین به نوع ژنوتیپ بستگی دارد (Farshadfar et al., 2008). با استفاده از نمودار سه بعدی (شکل ۱)  $Y_p$ ،  $Y_s$  و STI، لاین های افزایشی به روش زیر طبقه بندی شدند: ژنوتیپ هایی که در دو محیط تنش و بدون تنش عملکرد خوبی را نشان دادند در گروه A، ژنوتیپ هایی که فقط در محیط های بدون تنش عملکرد مناسبی داشتند در گروه B، ژنوتیپ هایی که عملکرد ضعیفی در محیط های بدون تنش داشتند در گروه C و گروه D شامل ژنوتیپ هایی بود که در هر محیط عملکرد پایینی نشان دادند قرار گرفتند (Fernandez, 1992). در بررسی نمودار سه بعدی  $Y_p$ ،  $Y_s$  و STI مشاهده می شود که ژنوتیپ های شاهد (سرداری) به همراه رگه های افزایشی 4H و 5H در گروه A قرار گرفته اند (شکل ۱). این ژنوتیپ ها دارای STI بالایی هستند که نشان دهنده ی مطلوب بودن این شاخص در جدا کردن گروه A از سایر گروه ها می باشد. پس جایگاه های ژنی مربوط به کنترل صفات  $Y_p$ ،  $Y_s$  و STI بر روی کروموزوم های 4H و 5H می باشد.

به منظور بررسی ارتباط بین صفات مورد مطالعه با یکدیگر و با عملکرد دانه، شاخص های تحمل خشکی و شاخص های انتخاب مستقیم و غیر مستقیم، همبستگی ساده صفات، مورد بررسی (جدول ۴) قرار گرفت یک صفت را زمانی می توان به عنوان شاخص تحمل به خشکی در نظر گرفت که ارتباط معنی دار و مثبتی با  $STI$ ،  $Y_s$  و MSI داشته باشد (Farshadfar, 2001; Zarei et al., 2007).

ضریب همبستگی بین  $RWD$ ،  $RWC$ ،  $ELWR$ ،  $MSI$ ،  $Y_p$ ،  $Y_s$ ،  $CHF$ ،  $LCC$ ،  $CMS$ ،  $RWL$ ،  $MSI$  و  $STI$ ،  $Y_p$ ،  $Y_s$  با  $CHF$  معنی دار شد، که در مورد همبستگی بین  $CHF$  با  $Y_p$  فقط صدق نمی کند. بنابراین با انتخاب این صفات به طور هم زمان می توان عملکرد دانه و تحمل به خشکی ژنوتیپ های جو را بهبود بخشید و این صفات برای اصلاح تحمل به خشکی پیشنهاد می شوند. بین صفات  $CHLa$ ،  $CHLb$  و پرولین با  $STI$ ،  $Y_p$ ،  $Y_s$  و  $MSI$  به جز  $CHLb$  با  $Y_p$  اختلاف معنی داری مشاهده نگردید پس نمی توان از آن ها به عنوان شاخص تحمل به خشکی



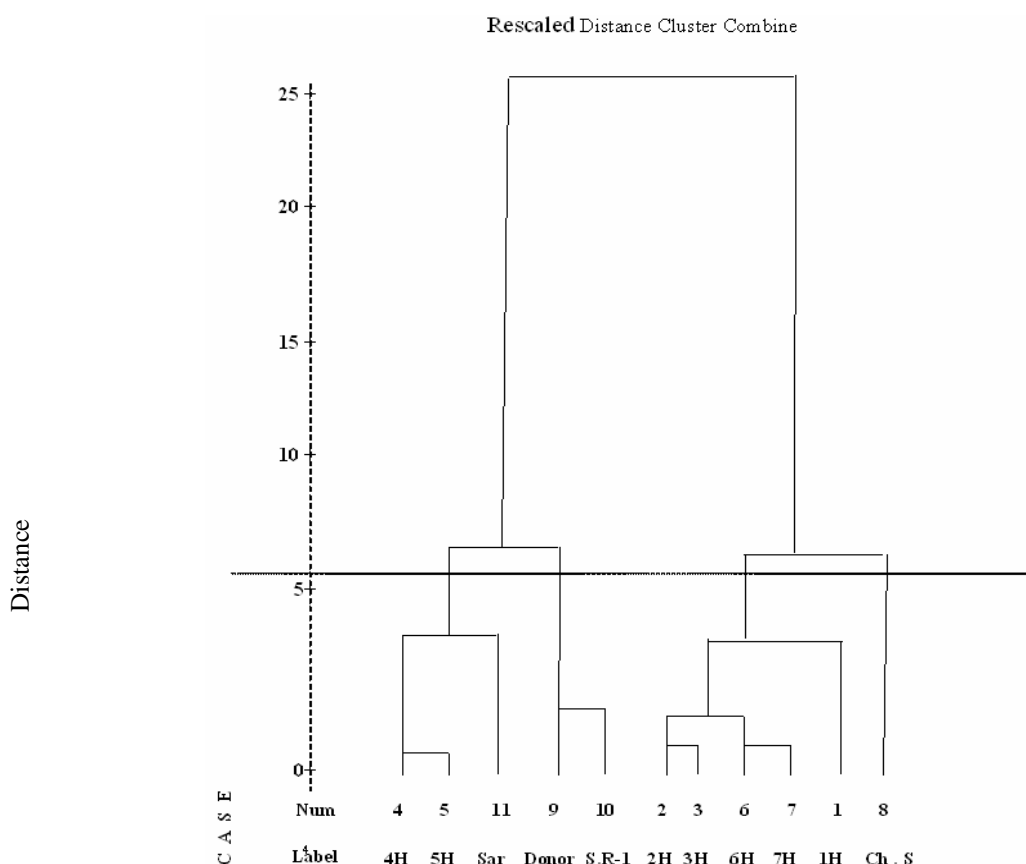
شکل ۱- نمودار سه بعدی بر اساس شاخص های STI در جو

گروه دوم، لاین های 1H، 2H، 3H، 4H و 6H در گروه سوم و والد گیرنده در گروه چهارم قرار گرفتند. که این نتایج مبنی بر اهمیت بالای 4H و 5H می باشد و همچنین تنوع ژنتیکی بالایی را بین والد دهنده و والد گیرنده نشان می دهد. بررسی های فرشاد فر و همکاران

گروه بندی ژنوتیپ ها از لحاظ شاخص های تحمل به خشکی STI و انتخاب چند گانه MSI (شکل ۲) با استفاده از روش UPGMA انجام شد. با استفاده از آن ژنوتیپ ها به ۴ گروه طبقه بندی شدند. رگه های 4H و 5H در گروه اول، والد دهنده و شاهد (سرارود-۱) در

آنها می باشد لذا می توان برای نقشه یابی QTL و یا انتقال با مهندسی کروموزوم و انتقال آنها به گونه های خویشاوند و نیز انتخاب به کمک مارکر از آنها استفاده کرد.

در سال ۲۰۰۸ نشان داد که ژن های کنترل کننده ی تحمل به شوری بر روی کروموزوم های 4H و 5H قرار دارند، با توجه به این مطلب که بین مقاومت به تنش های مختلف همبستگی وجود دارد (Galiba, 1994). اهمیت این کروموزوم ها در وجود ژنهای مفید بر روی



شکل ۲- تجزیه کلاستر ژنوتیپ ها بر اساس شاخص های MSI و STI با استفاده از روش UPGMA در جو

## REFERENCES

- Andere, K. B., Hammer G. L., and Henzell, R. G. (2000). Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry mater production and yield. *Crop Science*, 40, 1037 – 1048.
- Ashraf, M. Y., Azmi, A. R., Khan, A. H., and Ala, S. A. (1994). Effect of water stress and total phenolos, peroxidase activity chlorophyll content in wheat. *Acta Physiology Plantarum*. 16(3), 185-191.
- Bates, I. S., Waldern, R. P., and Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline water stress studies. *Plant and Soil*. 39, 205-207.
- Cho, S., Garvin, D., and Muehlbauer, G. J. (2006). Transcriptome analysis and physical mapping of barley genes in wheat- barley chromosome addition lines. *Genetics*. 172, 1277-1285
- Ellis, R. P., Forster, B. P., Robinson, D., Handley, L. L., Gordon, D. C., Russell, J. R., and Powell, W. (2000). Wild Barley: a source of genes for crop improvement in the 21<sup>st</sup> century. *J. Experimental Botany*, 51(342), 9-17.
- Farshadfar, E. (2001). *Principles and procedures of advanced statistics (experimental design)*. Razi university press, Kermanshah, Iran. (in Farsi)
- Farshadfar, E., Ghasempour, H., and Vaesi, H. (2008). Molecular aspects of drought tolerance in bread wheat. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(1), 118-122.

8. Farshadfar, E., Koszegi, B., Tischner, T., and Sutka, J. (1995). Substitution analysis of drought tolerance in wheat. *Plant Breeding*, 124, 542-544.
9. Farshadfar, E., Mohammadi, R., Aghaee, M., and Sutka, J. (2003). Identification of QTLs involved in physiological and agronomic indicators of drought tolerance in rye using multiple selection index. *Acta Agronomica Hungarica*, 51(4), 419-428.
10. Farshadfar, E., Mohammadi, R., Farshadfar, M., and Sutka, J. (2004). Tolerance in *Agropyron* using multiple selection index. *Cereal Research. Communication*, 32(1), 17-42.
11. Fernandez, G. C. J. (1992). Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: *proceeding of Symposium*. Taiwan. 13-16Aug. chapter 25.pp: 257-270.
12. Galiba, G. (1994). Invitro adaptation for drought and cold hardiness in wheat . *Plant Breeding review* 12, 115-162.
13. Genty, B. E., Brain, T., and Baker, N. R. (1989). The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochemistry Biophysics. Acta*, 990, 87-92.
14. Haghparast, R. (1997). *Selection for drought tolerance in wheat*. MS.c dissertation, University of Tabriz, Iran (in Farsi).
15. Huilian, Xu., and Hi, I. (1996). Wheat cultivar difference in photo synthetic response to low soil water potentials. I. Maintenance of photo synthesis and leaf and leaf water potentials. I. Maintenance of photo synthesis and leaf water potential. *Japans Journal of Crop Science*, 65, 509-517.
16. Islam, A.K.M.R., Shepherd, K. W., and Sparrow, D. H. B. (1975). Addition of individual barley chromosome to wheat. Gaul H. (ed) *Barley genetics III. Proc 3<sup>rd</sup> Inter Barley Genet Sym P*, Garching. PP. 260-270
17. Islam, A.K.M.R., Shepherd, K. W., and Sparrow, D. H. B. (1978). Production and characterization of wheat – barley addition lines. It: Ramanujam S. (ed) *proc 5<sup>th</sup> Inter Wheat Genet Sym p*, New Delhi . PP . 365-371.
18. Kocheva, K., Lambrev, P., Georgiev, G., Goltsev, V., and Karabalieva, M. (2004). Evaluation of chlorophyll fluorescence and membranc injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress. *Bioelectrochemistry*, 63, 121-124.
19. Koszegi, B., Farshadfar, E., Vagujfalvi, A., and Sutka, J. (1996). Drought tolerance studies on wheat/Rye Disomic Chromosome addition lines. *Acta Agronomic Hungarica*, 44(2), 161-126.
20. Kristin, A. S., Brothers, M. E., and Kelly, I. D. (1997). Marker- assisted selection to improve drought resistance bean. *Crop Science*, 37, 51-60.
21. Kruse, A. (1973). *Hordeum \* Triticum* hybrids. *Hereditas*, 73, 152-161.
22. Ludlow, M.M, and Muchow, R. C. (1990). A critical evaluation of traits for improving crop yield in water-limited environments. *Advances in Agronomy*, 43, 107-153.
23. Mamood, A., and Quarrie, S. A. (1993). Effects of salinity on growth , ionic relations and physiological traits of wheat, disomic addition lines from thinopyem bessarabicum and two amphilooids. *Plant Breeding*, 110, 265-276.
24. Mohammadi, R., Fashadfar, E., Aghaee-Sarbazeh, M., and Sutka, J. (2003). *Cereal Research. Commuication*, 31(3-4), 257-264.
25. Morgan, M. (1991). A gene controlling difference in osmoregulation in wheat. *Australian. Journal of Plant Physiology*, 18, 249-257.
26. Qaitioli, M. (2006). *Locating the genes controlling droght tolerance in barley using whea/barley disomic addition lines*. M.Sc thesis. Razi University, Kermanshah, Iran. (in Farsi)
27. Siddique, A., Hamid, A., and Islam, M. S. (2000). Drought stress effects on water relation of wheat. *Botany Bulletin Academy Sin*, 41, 35-36.
28. Tourneux, C., Devaux, A., Camacho, M. R., Mamani, P., and Ledent, J. F. ( 2003). Effect of water shortage on six potato genotypes in the highlands of Bolivia (II): Water relations, physiological parameters. *Agronomi*, 23, 181-190.
29. Yang, R.C., Jana, S., and Clarke, J. M. (1991). Phenotypic diversity and associations of some potentially drought- responsive characters in durum wheat. *Crop Science*, 31, 1484 – 1491.
30. Yavad, U, (1986). A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *Hort Science*, 21(6), 1449-1450.
31. Zarei , L., Farshadfar, E., Haghparast, R., Rajabi, R., and Mohammadi, M.( 2007). Evalvation of some indirect traits and indices to identify drought tolerance in bread wheat. *Asian Journal of Plant Science*, 6(8), 1204-1210.