

شناسایی نواحی کروموزومی مرتبط با مقاومت به یخ زدگی در گندم نان (*Triticum aestivum* L.) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

سعید اهری زاد^{۱*}، سید ابوالقاسم محمدی^۱، امید سفالیان^۲، محمد مقدم^۱ و محمد رضا شکیبا^۱

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۱۳ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱/۲۵

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

* مسئول مکاتبه E-Mail: s_aharizad@tabrizu.ac.ir

چکیده

مقاومت به یخ زدگی یک صفت کمی است که حداقل ده جفت کروموزوم از کل 21 کروموزوم گندم در کنترل آن نقش دارند. بمنظور مکان یابی QTL های مرتبط با مقاومت به یخ زدگی، 280 خانواده F_{2:3} حاصل از تلاقی نورستار، رقم پاییزه مقاوم به سرما و زاگرس، رقم بهاره حساس به سرما، در 11 فقره دمای زیر صفر تحت شرایط کنترل شده بررسی شدند. ارزیابی مقاومت به یخ زدگی توسط معیار LT₅₀ صورت گرفت. چند شکلی والدین با 200 نشانگر ریزماهواره بررسی و افراد F₂ با 41 نشانگر چند شکل غربال شدند. براساس تجزیه QTL، هفت نشانگر Xgwm666، Xgwm148، Xgwm357، Xgwm174 و Xgwm292، Xgwm499 و Xcfa2190 واقع بر کروموزوم های 1A، 2B، 5A، 5B و 5D با تغییرات مقاومت به یخ زدگی (LT₅₀) ارتباط نشان دادند. QTL های پیوسته با این نشانگرها در مجموع 27 درصد از واریانس مقاومت به یخ زدگی را تبیین کردند. قابل ذکر است که QTL شناسایی شده در کروموزوم 1A اولین بار در این مطالعه گزارش گردید.

واژه های کلیدی: گندم نان، مقاومت به یخ زدگی، نشانگرهای ریزماهواره

Identification of Chromosomal Regions Associated with Frost Resistance in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Using Microsatellite Markers

S Aharizad^{1*}, SA Mohammadi¹, O Sofalian², M Moghaddam¹ and MR Shakiba¹

¹Dept. of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

²Dept. of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Mohageg-Ardabili, Ardabil, Iran

*Corresponding author: E-Mail: s_aharizad@tabrizu.ac.ir

Abstract

Freezing resistance is a quantitative trait which is affected by 10 out of 21 wheat chromosomes. In order to identify the microsatellite molecular markers linked to freezing resistance QTLs in bread wheat, a set of 280 F_{2:3} families derived from a cross between cv. Norstar (winter type and frost resistant) and cv. Zagros (spring type and sensitive to low temperatures) was evaluated at 11 temperatures under controlled conditions. The LT₅₀ was used as a frost resistance index. Parental polymorphism was assessed using 200 microsatellite primer pairs and 41 polymorphic markers were used to screen F₂ individuals. QTL analysis revealed association of LT₅₀ with seven microsatellite markers, Xgwm357, Xgwm148, Xgwm666, Xcfa190, Xgwm499, Xgwm292 and Xgwm174 located on chromosomes 1A, 2B, 5A, 5B and 5D. In total, these markers determined 27% of frost resistance variation in the population. QTL detected on chromosome 1A was the first report about the contribution of this chromosome in frost resistance.

Keywords: Bread wheat, Frost resistance, Microsatellite markers

مقدمه

گندم نان به عنوان مهمترین گیاه زراعی در اکثر مناطق دنیا کشت می شود. دامنه اکولوژیکی وسیع آن ناشی از سازگاری اقلیمی، اثر متقابل مکانیسم‌های کنترل کننده زمان گلدهی، بهاره‌سازی، پاسخ به فتوپریود، زودرسی و خوگیری به سرما می باشد (سارما و همکاران 1998، گالیپا و همکاران 2001 و احمد و سورلز 2002). تنش‌های غیرزیستی به ویژه تنش سرما و یخ زدگی یکی از عوامل عمده محدودکننده تولید محصولات گیاهی است و تحت تاثیر این تنش‌ها محصول غلات به حد بیشینه خود نمی رسد. گوستا و همکاران (1997)، استورلی و همکاران (1998)، سوتکا و همکاران (1999) و فولر و لیمین (2004) اهمیت تنش یخ زدگی را در

محدودیت رشد غلات پاییزه خاطر نشان کردند. در ایران هزاران هکتار از اراضی زیر کشت گندم و جو بر اثر خسارت یخ زدگی در مناطق سرد و حتی سرد معتدل از بین می روند که نشان دهنده نقش مهم تنش یخ زدگی در زراعت غلات و سایر گیاهان می باشد (اکبری و نوالقدر 1363).

سوتکا (1981) مقاومت به یخ زدگی را یک صفت با کنترل ژنتیکی پیچیده گزارش کرده است. نتایج بررسی سری های مونوزومی و سری های جایگزینی کروموزومی در گندم نشان داده است که حداقل 10 کروموزوم از 21 جفت کروموزوم گندم در مقاومت به یخ زدگی نقش دارند و نقش کروموزوم های 5A و 5D مهمترین گزارش شده است. سوتکا (1994) نشان داده است

نشانمند کردن و یا مکان یابی ژن (های) کنترل کننده صفات کمی استفاده می شوند. در صورتی که بتوان نشانگرهای پیوسته با عوامل ژنتیکی کنترل کننده صفات کمی را شناسایی کرد، امکان گزینش در نسل های در حال تفکیک فراهم آمده و کارآیی گزینش و پیشرفت ژنتیکی حاصل از گزینش افزایش می یابد. در نتیجه، کارآیی برنامه های اصلاحی از طریق گزینش بر مبنای نشانگر با انتخاب ژنوتیپ های مناسب و یا انتقال ژن های مورد نظر بالا می رود (کنپ 1998 و گوپتا و همکاران 2000).

نشانگرهای ریزماهواره به علت چند شکلی بالا، ماهیت همباز، ارزیابی آسان و تکرار پذیری بالا به عنوان نشانگرهای متداول برای مکان یابی ژن ها مورد استفاده قرار می گیرند (مانیفستو و همکاران 2001، وارشنی و همکاران 2002، آکایا و بویوکونل-بال 2004 و خلسکینا و همکاران 2004). لئونوا و همکاران (2003) در یک جمعیت F_2 گندم نان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره ژن $V_{rn}B_1$ روی کروموزوم 5B را مکان یابی کردند. سارما و همکاران (1998) با استفاده از نشانگرهای RFLP و براساس مکان یابی مقایسه ای نشان دادند که ناحیه $V_{rn}A_1$ واقع در کروموزوم 5A گندم با قسمتی از کروموزوم 3 برنج (کنترل کننده زمان گلدهی) مشابهت دارد.

هدف تحقیق حاضر شناسایی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با مقاومت به یخ زدگی و تعیین سهم هر یک از نشانگرها در تبیین مقاومت به یخ زدگی در گندم نان بود.

مواد و روش ها

مواد گیاهی مورد استفاده شامل 280 خانواده 2:3 F حاصل از تلاقی ارقام نورستار و زاگرس بود. نورستار یک رقم پاییزه و بسیار مقاوم به سرما است که به عنوان رقم استاندارد مقاوم به سرما و یخ زدگی در اکثر تحقیقات استفاده می شود (لیمین و فولر، 1993).

که در گندم Cheyenne ژن های موجود در کروموزوم های 5A، 5B، 5D و 7A نقش عمده ای در مقاومت به یخ زدگی ایفا می کنند به طوری که ژن F_{r1} عامل مقاومت به یخ زدگی و ژن عامل بهاره سازی (V_{rn1}) روی بازوی بلند کروموزوم 5A مکان یابی شده اند. استورلی و همکاران (1998)، واگوجفاولی و همکاران (2000) و گالیا (2002) افزایش مقاومت به یخ زدگی را در گندم با دست ورزی حد فاصل بین ژن های F_{r1} و V_{rn1} در بازوی کروموزوم 5A امکان پذیر دانسته اند.

در ارزیابی های مزرعه ای مقاومت به یخ زدگی، گاهی ممکن است به دلیل تفاوت در شدت تنش در آزمایش های مختلف، تشخیص تفاوت های جزئی و مهم امکان پذیر نباشد. فولر و همکاران (1999) بیان کردند که برگ و ریشه گیاهان پاییزه طی زمستان شدید از بین می روند، اما بافت زنده طوقه می تواند ریشه و برگ جدید ایجاد کند. با توجه به این که طوقه بافت هایی دارد که برای زنده ماندن گیاه ضروری است، بنابراین، دمای مجاور طوقه میزان خوگیری به سرما یا خسارت سرما را تعیین می کند. در یک بررسی مشخص شد که تغییرات دمایی ناحیه طوقه گیاه بیش از 93 درصد از تغییرات LT_{50} (دمایی که در آن نیمی از گیاهان از بین می روند) را تبیین می کند. همچنین اثبات شده است که LT_{50} به عنوان معیار آزمون انجماد کنترل شده در هنگام استفاده از طوقه گندم، بیشترین همبستگی را با شاخص زنده ماندن مزرعه ای دارد (فولر و همکاران 1981).

هرچند که استفاده از گزینش مزرعه ای و یا آزمون انجماد در شرایط کنترل شده در موارد زیادی نتایج قابل قبولی ارائه کرده است ولی زیاد بودن تعداد ژن های کنترل کننده و همچنین اثر متقابل ژنوتیپ با محیط، ضرورت تلفیق این روش ها را با ارزیابی های مولکولی بیان می دارد (سالسکو و بران 2001 و شیندو و همکاران 2003). امروزه نشانگرهای DNA به طور وسیعی برای

استفاده در واکنش زنجیره ای پلی مرز به 25 نانوگرم در میکرولیتر تنظیم گردید.

واکنش زنجیره ای پلی مرز در حجم 10 میکرولیتر انجام شد. چرخه های دمایی بر اساس روش هویزینگتون و همکاران (1994)، شامل واسرشته سازی اولیه در 94°C به مدت چهار دقیقه، 35 چرخه با واسرشته سازی در 94°C به مدت یک دقیقه اتصال آغازگر در دمای 65°C - 52°C بسته به آغازگر به مدت چهار دقیقه و بسط در 72°C به مدت دو دقیقه، و یک چرخه بسط نهایی در 72°C به مدت پنج دقیقه بود.

آغازگرهای مورد استفاده بر اساس نتایج مطالعات قبلی در رابطه با مقاومت به یخ زدگی در گندم انتخاب شدند (برایان و همکاران 1997، استفنسسون و همکاران 1998، رودر و همکاران 1998، گوپتا و همکاران 2002 و سونگ و همکاران 2002). ابتدا چندشکلی والدین با استفاده از آغازگرهای انتخابی بررسی و آغازگرهای چندشکل بین والدین برای غربال جمعیت استفاده شدند.

محصولات تکثیری با استفاده از ژل پلی اکریلامید 6 درصد واسرشته ساز در دستگاه الکتروفورز عمودی ژل توالی یاب شرکت BIORAD تفکیک و رنگ آمیزی با استفاده از روش نیترا نقره انجام شد (هویزینگتون و همکاران، 1994). الگوهای نواری افراد جمعیت به صورت A در صورت مشابهت با والد نورستار، B در صورت مشابه بودن با والد زاگرس و H در حالت هتروزیگوت امتیازدهی شد.

تجزیه QTL براساس روش تجزیه تک نشانگری با استفاده از نرم افزار Map Manager انجام شد.

نتایج و بحث

میزان LT_{50} از $3/30^{\circ}\text{C}$ تا $22/30^{\circ}\text{C}$ متغیر بود. ارقام والدینی زاگرس و نورستار به ترتیب با LT_{50} برابر $3/30$ و $22/30$ - درجه سانتی گراد در دو انتهای توزیع قرار داشتند (شکل 1). نورستار رقمی مقاوم به

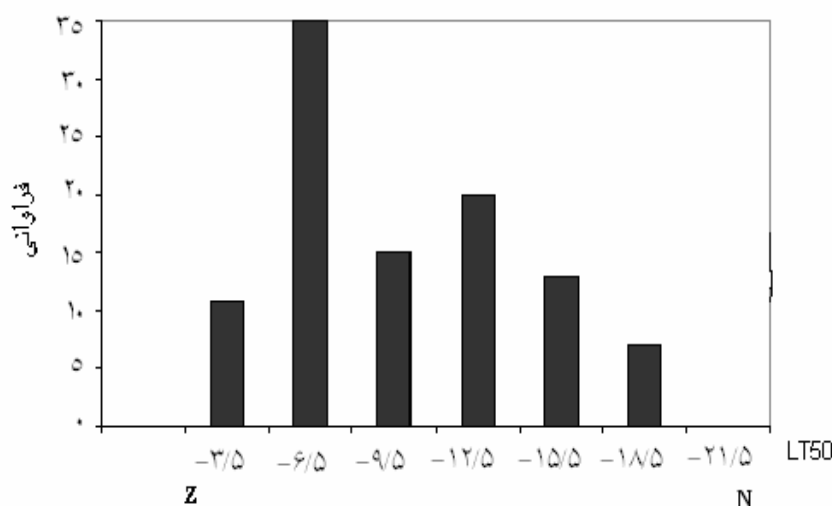
زاگرس رقمی بهاره حساس به سرما با $LT_{50} = -3^{\circ}\text{C}$ و جزو زودرس ترین ارقام است که برگ پرچم آن پس از هفت هفته ظاهر می‌شود.

آزمون انجماد: آزمون انجماد مطابق روش های لیمین و فولر (1993) و محفوظی و همکاران (2001b) انجام شد. بدین ترتیب که بذور پس از جوانه زنی در بستر ماسه‌ای نشاء شدند. بوته‌ها به مدت 20 روز تحت رژیم نوری 14 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی در $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ قرار گرفتند. بوته‌ها پس از رسیدن به مرحله سه یا چهار برگچه‌ای، به اتاقک رشد منتقل و جهت عادت دهی به سرما به مدت پنج هفته در دمای ثابت 2°C قرار گرفتند.

برای آزمون انجماد، بوته های خوگرفته از 2 سانتی متری بالای طوقه و یک سانتی متری پایین آن بریده شدند. برای هر دما، پنج بوته پس از آماده‌سازی و اتیکت گذاری در داخل ظروف آلومینیومی مخصوص در داخل ماسه مرطوب قرار داده شدند (برول بابل و فولر، 1988). نمونه‌های آماده شده بلافاصله به فریزر قابل برنامه ریزی و در دمای ثابت 3°C - منتقل شدند. برای خوگرفتنی کامل، بوته ها به مدت 8-12 ساعت در این دما باقی ماندند. سپس دما با شدت 2°C - در ساعت کاهش داده شد تا به 17°C - رسید و پس از آن دما بصورت 8°C در ساعت تا رسیدن به دمای 30°C - کاهش داده شد. پس از رسیدن دمای فریزر به دمای مورد نظر، نمونه‌های مذکور از فریزر خارج و به انکوباتور با دمای 4°C منتقل گردیدند. روز بعد نمونه‌ها از انکوباتور به گلخانه برای کشت انتقال یافتند. در گلخانه پس از سه هفته تحت رژیم نوری روز بلند و دمای ثابت $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ تعداد بوته های زنده مانده برای محاسبه ی LT_{50} مشخص شد. ارزیابی ژنوتیپی: استخراج DNA بر اساس روش سقای معروف و همکاران (1984) انجام و کمیت و کیفیت نمونه‌ها با روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز ژل آگارز 0/8% تعیین شد. غلظت نمونه های DNA برای

گزارش کردند که LT_{50} خانواده های F_3 به سمت والد پاییزه (مقاوم) انحراف داشت. در حالی که در تلاقی ارقام پاییزه با پاییزه این تمایل بیشتر به سمت متوسط والدین بود. لیمین و فولر (1993) تفاوت غیر معنی داری را بین میانگین خانواده های F_3 حاصل از تلاقی ارقام پاییزه و میانگین والدین آنها گزارش کردند. با توجه به نتایج تحقیقات مختلف (پارودی و همکاران 1983 و سوتکا 2001)، استنباط می شود که بسته به مواد گیاهی و شرایط حاکم بر آزمون انجماد، نتایج متفاوت خواهد بود.

سرما است به طوری که در مطالعات مختلف میزان LT_{50} آن $24/5^{\circ}C$ - (لیمین و فولر 1983)، $21^{\circ}C$ - (فولر و همکاران 1996)، $31^{\circ}C$ - (گوستا و همکاران 1997) و $22^{\circ}C$ - (محفوظی و همکاران 2001a) بسته به شرایط خوگرفتگی گزارش شده است. در خانواده های حاصل تفکیک متجاوز نسبت به والدین مشاهده نشد و میانگین مقاومت به یخ زدگی جمعیت F_3 بیشتر به سمت والد حساس به سرما (زاگرس) متمایل بود (شکل 1). برول - بابل و فولر (1988) در بررسی وراثت مقاومت به یخ زدگی در نسل F_3 حاصل از تلاقی ارقام پاییزه و بهاره



شکل ۱- توزیع LT_{50} در خانواده های F_3 والدین نورستار (N) و زاگرس (Z).

(دو QTL)، 1A (یک QTL) و 2B (یک QTL) قرار داشتند (جدول 1). از QTL های شناسایی شده، چهار QTL پیوسته با نشانگرهای Xgwm 148، Xgwm 666، Xgwm 499 و Xcfa2190 دارای اثرهای افزایشی و غالبیت مثبت بودند. بدین ترتیب که الل های افزایش دهنده مقاومت به یخ زدگی در این جایگاه ها به صورت غالب از والد مقاوم نورستار به نتاج منتقل شدند و هتروزیگوت ها ارزش بالاتری نسبت به میانگین والدین داشتند. برای QTL های پیوسته با نشانگرهای Xgwm 174 و Xgwm 357 اثر افزایشی مثبت و غالبیت منفی نشان دهنده توارث الل های افزایش دهنده

از مجموع 200 آغازگر ریزماهواره مورد بررسی در والدین، 41 نشانگر بین والدین چند شکلی نشان دادند که برای غربال افراد جمعیت F_2 استفاده شدند. با توجه به توزیع غیر نرمال مقادیر LT_{50} در جمعیت، قبل از تجزیه QTL تبدیل داده براساس لگاریتم طبیعی قدر مطلق داده ها انجام شد. بر اساس تجزیه QTL ها، هفت QTL در ارتباط با LT_{50} مکان یابی شد. میزان تبیین تغییرات فنوتیپی LT_{50} این جایگاه ها به ترتیب 5، 2، 3، 4، 7، 3 و 3 درصد بود. QTL های شناسایی شده روی کروموزوم های 5D (دو QTL)، 5B (یک QTL)، 5A

مقاومت به سرما از والد مقاوم نورستار بصورت مغلوب بود. در مورد QTL پيوسته با نشانگر Xgwm292 اثر افزايشي منفی و غالبيت مثبت بيانگر انتقال الل افزاينده مقاومت به سرما از والد حساس (زاگرس) به نتاج بود. سوتكا (1981)، سوتكا و اسنپ (1997) و سوتكا (2001) با استفاده از لاین های جایگزین کروموزومی به نقش کروموزوم های 5A، 2B، 5B و 5D در مقاومت به سرما و یخبندان در دو شرایط آزمایش مزرعه ای و آزمون انجماد کنترل شده اشاره کردند. سوتكا و كواكس (1985)، استورلی و همكاران (1998)، سارما و همكاران (1998) و گالیبا (2002) به نقش کروموزوم 5A در کنترل مقاومت به سرما و یخبندان تأكيد داشتند. سوتكا و همكاران (1999) با کاربرد نشانگرهای RFLP، یک QTL را در ارتباط با مقاومت به سرما روی کروموزوم 5A و در حدفاصل نشانگرهای Xwgm 644 و Xpsr 426 مکان یابی کردند که این QTL بعد ها به Fr_1 مشهور شد. آنها بیان کردند که Fr_1 در نزدیکی جایگاه Vm_1 قرار دارد. اسنپ و همكاران (2001)

با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره یک QTL درگیر در مقاومت به یخ‌زدگی را در فاصله نشانگرهای Xgwm 292 و Xgwm 212 روی کروموزوم 5D مکان یابی کردند. این جایگاه، Fr_2 نامیده شد. لئونوا و همكاران (2003) و توٹ و همكاران (2003) QTL هایی را در کروموزوم 5B و در نزدیک مکان ژنی $Vm-B_1$ شناسایی کردند که در زمان گلدهی و ایجاد مقاومت به سرما و یخبندان نقش داشتند. باگا و همكاران (2006) با بررسی 594 نشانگر ریز ماهوره و 380 نشانگر AFLP در دو جمعیت هاپلوئید مضاعف شده، QTL ای در کروموزوم 5A و در ناحیه نزدیک مکان ژنی $Vm-A_1$ را شناسایی کردند. گالیبا و همكاران (1992) در بررسی مکان های ژنی موثر در تنظیم اسمزی گندم، به این نتیجه رسیدند که گروه 5 هومیولوگ گندم نه تنها در مقاومت به سرما موثر است بلکه در تجمع پرولین و کنترل فشار اسمزی در اغلب تنش های محیطی نیز اهمیت دارد. آنها بیان کردند که احتمالاً ژن های عامل مقاومت به خشکی و سرما در گروه هومیولوگ 5 پيوسته می‌باشند.

جدول ۱- نام و جایگاه ژنومی نشانگرهای پيوسته با QTL های موثر در مقاومت به یخبندان و اثر آنها در جمعیت $F_{2,3}$ حاصل از تلاقی ارقام گندم نورستار و زاگرس

نام نشانگر	کروموزوم	میزان توجیه واریانس فئوتیپی صفت (%)	سطح احتمال معنی داری	اثر افزایشی $^a(H-Z/2)$	اثر غالبیت $^b(F_1-m)$	درجه غالبیت
Xgwm357	1A	۵	۰/۰۰۲	۰/۰۱	-۰/۱۰	-۱۰
Xgwm666	5A	۲	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۲۵
Xcfa2190	5A	۳	۰/۰۲	۰/۰۶	۰/۰۱	۰/۱۶
Xgwm148	2B	۴	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۲۵
Xgwm499	5B	۷	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۱۰	۳/۳۳
Xgwm292	5D	۳	۰/۰۲	-۰/۰۱	۰/۰۱	۱
Xgwm174	5D	۳	۰/۰۱	۰/۰۲	-۰/۰۱	-۰/۵۰

a و b به ترتیب نشان دهنده متوسط انحراف ارزش افراد هتروزیگوت از افراد هوموزیگوت و انحراف نسل F_1 از متوسط والدین است.

در پژوهش حاضر یک QTL روی کروموزوم 1A شناسایی شد. هر چند که در مطالعات قبلی QTL هایی روی کروموزوم 1A در رابطه با مقاومت به یخ‌زدگی گزارش نشده است اما چال و همكاران (1998) در

بررسی ژنتیکی پروتئین های ضدیخ و رابطه آنها با زمستان گذرانی گندم نشان دادند که در گیاهان واجد جابجائی کروموزومی در کروموزوم های 1A، 5A، 5B و 5D فعالیت ضدیخ بیشتری وجود داشته و در

کروموزوم 1A درصد بالایی از تغییرات فنوتیپی LT_{50} را تبیین می‌کند.

در مجموع، بررسی QTL ها در ارتباط با LT_{50} نشان داد که الل های افزایش دهنده مقاومت از هر دو والد به نتاج منتقل شده‌اند. تعداد QTL های با اثر افزایشی مثبت (شش QTL) بیشتر از تعداد QTL های با اثر افزایشی منفی (یک QTL) بود. بنابراین، اغلب QTL های مقاومت به سرما از والد نورستار به نتاج منتقل گردیدند. با وجود این، یک QTL نیز از والد حساس زاگرس به نتاج منتقل شد.

سپاسگزاری

از قطب علمی اصلاح مولکولی غلات بدلیل فراهم کردن امکانات لازم و از بخش غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر برای تامین بذور والدینی قدردانی می شود.

نتیجه این گیاهان از مقاومت بیشتری نسبت به سرما و یخبندان برخوردار بودند. کروموزوم 1A در سنتز پروتئین های ذخیره ای در ارتباط با ارزش نانوائی نیز نقش بسزایی دارد، بنابراین، شاید نقش این پروتئین ها در زمستان گذرانی نیز حائز اهمیت باشد (نتسوتائو و نتسوتائو 2004). گالیپا و همکاران (1992) نیز در مطالعه مکان های ژنی موثر در تنظیم فعالیت های اسمزی و میزان تجمع پرولین در گندم تحت تنش های محیطی (مانند تنش یخ زدگی) که منجر به تنش کم آبی می شوند، به نقش کروموزوم 1A تاکید کردند. نورآیین (1384) ضمن برآورد پارامترهای ژنتیکی مقاومت به سرما در گندم نان و رابطه آنها با چند شکلی والدین برای نشانگرهای ریزماهواره نتیجه گرفت که ژنوم A در کنترل صفت مقاومت به سرما نقش موثری دارد. وی نشان داد که نواحی ژنومی مرتبط با نشانگرهای Xgwm 357 و Xwms 99 روی

منابع مورد استفاده

اکبری ع و ذوالقدر م، 1363. گزارش به سمپوزیوم بین المللی گندم مناطق سردسیر در ترکیه. بخش تحقیقات غلات، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.
نورآیین م، 1384. برآورد پارامترهای ژنتیکی مقاومت به سرما در گندم نان و رابطه آنها با چندشکلی مولکولی والدین. پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.

Ahmad M and Sorrells ME, 2002. Distribution of microsatellite alleles linked to *Rht8* dwarfing gene in wheat. Euphytica 123: 235-240.

Akkaya MS and Buyukunal-Bal EB, 2004. Assessment of genetic variation of bread wheat varieties using microsatellite markers. Euphytica 135: 179-185.

Baga M, Chodaparambil SV, Limin AE, Pecar M, Fowler DB and Chibbar RN, 2006. Identification of quantitative trait loci for low temperature tolerance in cold-hardy winter wheat. Plant and Animal Genome XIV Conference, San Diego, CA, p. 353.

Brule-Babel AL and Fowler DB, 1988. Genetic control of cold hardiness and vernalization requirement in winter wheat. Crop Sci 28: 879-884.

- Bryan GJ, Collins AJ, Stephenson P, Orrey A, Smith JB and Gale MD, 1997. Isolation and characterization of microsatellites from hexaploid bread wheat. *Theor Appl Genet* 94: 557-563.
- Chun JU, Yu MX and Griffith M, 1998. Genetic studies of antifreeze proteins and their correlation with winter survival in wheat. *Euphytica* 102: 219-226.
- Fowler DB, Chauvin LP, Limin AE and Sarhan F, 1996. The regulatory role of vernalization in expression of low-temperature induced genes in wheat and rye. *Theor Appl Genet* 93: 554-559.
- Fowler DB, Gusta LV and Tyler NJ, 1981. Selection of winterhardiness in wheat. III. Screening Methods. *Crop Sci* 21: 896-901.
- Fowler DB, Limin AE and Ritchie JT, 1999. Low-temperature tolerance in cereals: model and genetic interpretation. *Crop Sci* 39: 626-633.
- Fowler DB and Limin AE, 2004. Interactions among factors regulating phenological development and acclimation rate determine low-temperature tolerance in wheat. *Annals of Botany* 94: 717-724.
- Galiba G, 2002. Mapping of gene regulating abiotic stress tolerance in cereals. *Acta Agronomica* 50: 235-247.
- Galiba G, Kerepesi I, Vagujfalvi A, Kocsy G, Cattivelli L, Dubcovsky J, Snape JW and Sutka Y, 2001. Mapping of genes involved in glutathione, carbohydrate and COR14b cold induced protein accumulation during cold hardening in wheat. *Euphytica* 119: 173-177.
- Galiba G, Simon-Sarkadi L, Kocsy G, Salgo A and Sutka J, 1992. Possible chromosomal location of genes determining the osmoregulation of wheat. *Theor Appl Genet* 85: 415-418.
- Gupta PK, Balyan HS, Edwards KJ, Isaac P, Kurzun V, Roder M and Leroy P, 2002. Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theor Appl Genet* 105: 413-422.
- Gupta PK, Varshney RK, Sharma PC and Ramesh B, 2000. Molecular markers and their application in wheat breeding. *Plant Breed* 118: 369-390.
- Gusta LV, Oconnor BJ and Machutcheon MG, 1997. The effect of superior winter-hardy genotypes using a prolonged freeze test. *Can J Plant Sci* 77: 15-21.
- Hoisington D, Khairallah M and Gonzalez-de-Leon D, 1994. Laboratory protocols: CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory. Second Edition, CIMMYT, Mexico DF.
- Khlestkina EK, Roder MS, Efremova TT, Borner A and Shumny VK, 2004. The genetic diversity of old and modern Siberian varieties of common spring wheat as determined by microsatellite markers. *Plant Breed* 123: 122-127.
- Knapp SJ, 1998. Marker-assisted selection as a strategy for increasing the probability of selecting superior genotypes. *Crop Sci* 38: 1164-1174.
- Leonova I, Pestsova E, Saliva E, Efremova T, Roder M and Borner A, 2003. Mapping of the *Vrn-B1* gene in *Triticum aestivum* using microsatellite markers. *Plant Breed* 122: 209-212.

- Limin AE and Fowler DB, 1983. Cold-hardiness response of sequential winter wheat tissue segments to differing temperature regimes. *Crop Sci* 32: 838-843.
- Limin AE and Fowler DB, 1993. Inheritance of cold hardiness in *Triticum aestivum* x synthetic hexaploid wheat crosses. *Plant Breed* 110: 103-108.
- Mahfoozi S, Limin AE and Fowler DB, 2001a. Developmental regulation of low-temperature tolerance in winter wheat. *Ann of Bot* 87:751-757.
- Mahfoozi S, Limin AE and Fowler DB, 2001b. Influence of vernalization and photoperiod responses on cold hardiness in winter cereals. *Crop Sci* 41: 1006-1011.
- Manifesto MM, Schlatter AR, Hopp HE, Suarez EY and Dubcovsky J, 2001. Quantitative evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using molecular markers. *Crop Sci* 41:682-690.
- Netsvetaev VP and Netsvetaeva OV, 2004. Revealing hereditary variation of winter hardiness in cereals. *Russian J of Genetics* 40: 1239-1244.
- Parodi PC, Nyquist WE, Patterson FL and Hodges HF, 1983. Traditional combining ability and Gardner-Eberhart analyses of diallel for cold resistance in winter wheat. *Crop Sci* 23: 314-318.
- Roder M, Korzun V, Vendehake K, Plaschke J, Tixier MH, Leroy P and Ganal M, 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007-2023.
- Saghai-Marooof MA, Soliman K, Jorgensen RA and Allard RW, 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *PNAS* 81: 8014-8018.
- Sarma RM, Gill BS, Sasaki T, Galiba G, Sutka J, Laurie DB and Snape JW, 1998. Comparative mapping of the wheat chromosome 5A *Vrn-A1* region with rice and its relationship to QTL for flowering time. *Theor Appl Genet* 97: 103-109.
- Saulescu NN and Braun HJ, 2001. Cold tolerance. In: Reynold MP et al (Eds). *Application of physiology in wheat breeding*. CIMMYT. Mexico DF.
- Shindo C, Tsujimoto H and Sasakuma T, 2003. Segregation analysis of heading traits in hexaploid wheat utilizing recombinant inbred lines. *Heredity* 90: 56-663.
- Snape JW, Sarma R, Quarrie SA, Fish L, Galiba G and Sutka J, 2001. Mapping genes for flowering time and frost tolerance in cereals using precise genetic stocks. *Euphytica* 120: 309-315.
- Song QJ, Fichus EW and Cregan PB, 2002. Characterization of trinucleotide SSR motifs in wheat. *Theor Appl Genet* 104: 286-293.
- Stephenson P, Bryan G, Kirby J, Collins A, Devos K, Busso C and Gale M, 1998. Fifty new microsatellite loci for the wheat genetic map. *Theor Appl Genet* 97: 946-949.
- Storlie EW, Allan RE and Simmons MK, 1998. Effect of the *Vrn1-Fr1* interval on cold hardiness levels in near-isogenic wheat lines. *Crop Sci* 38: 483-488.

- Sutka J, 1981. Genetic studies of frost resistance in wheat. *Theor Appl Genet* 59: 145-152.
- Sutka J, 1994. Genetic control of frost tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 77: 277-284.
- Sutka J, 2001. Genes for frost resistance in wheat. *Euphytica* 119: 167-172.
- Sutka J, Galiba G, Vagujfalvi A, Gill BS and Snape JW, 1999. Physical mapping of Vrn-A1 and Fr1 genes on chromosom 5A of wheat using deletion line. *Theor Appl Genet* 99: 199-202.
- Sutka Y and Kovacs G, 1985. Reciprocal monosomic analysis of frost resistance on chromosome 5A in wheat. *Euphytica* 34: 367-370.
- Sutka J and Snape JW, 1997. Physical mapping of the Vrn-A1 and Fr1 genes on chromosome 5A of wheat using deletion lines. *Theor Appl Genet* 99: 199-202.
- Toth B, Galiba G, Feher E, Sutka Y and Snape W, 2003. Mapping genes affecting flowerjng time and frost resistance on chromosome 5B of wheat. *Theor Appl Genet* 107: 509-514.
- Vagujfalvi A, Grosatti C, Galiba G, Dubcovsky J and Cattivelli L, 2000. Two loci on wheat chromosome 5A regulate the differential cold-dependent expression of *cor14b* gene in frost tolerance and frost sensitive genotypes. *Mol Gene Genet* 263: 194-200.
- Vareshney RK, Thief T, Stein N, Langridge P and Graner A, 2002. In silico analysis on frequency and distribution of microsatellites in ESTs of some cereal species. *Cellular Mol Biol Letters* 7: 537-546.