



مکان یابی نواحی ژنومی مرتبط با تحمل به تنش اسمزی در مرحله ی رشد گیاهچه گندم (*Triticum aestivum* L.)

فاطمه طاهری*^۱، امیر محمد ناجی^۲، علاءالدین کردنائیج^۲

۱، دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، Taheryfatemeh@yahoo.com

۲، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد

چکیده

به منظور نقشه یابی QTL های مرتبط با تحمل به تنش اسمزی در مرحله ی جوانه زنی گندم، هفت صفت طول ساقه (SL)، طول ریشه (RL)، نسبت ساقه به ریشه (RSR)، وزن تر ساقه (SWW) و وزن تر ریشه (RWW)، وزن خشک ساقه (SDW) و وزن خشک ریشه (RDW) در مرحله ی جوانه زنی با اعمال تنش اسمزی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰، ۱۲٪ مورد ارزیابی قرار گرفتند. جمعیت مورد مطالعه شامل ۱۱۸ لاین اینبرد نوترکیب حاصل تلاقی رقم محلی طوسی متحمل به خشکی و رقم اروپایی تایفون حساس به خشکی بود. تجزیه QTL بر مبنای نقشه پیوستگی نشانگر ریزماهواره (SSR) شامل ۲۱۷ مکان ژنی نشانگرهای پیوسته و طولی معادل ۲۷۹۵ سانتی مورگان به روش نقشه یابی فاصله ای مرکب انجام شد. نتایج نشان داد که بین والدین و لاین های جمعیت نقشه یابی تفاوت معنا داری در تمامی صفات مورد مطالعه وجود دارد. تعداد نوزده QTL برای صفات RDW، RWW و SDW روی کروموزوم های ۳A، ۳B، ۵A، ۵B، ۵D، ۶A، ۶B و ۶D شناسایی شدند. بیشترین مقدار ارزش فنوتیپی برای صفت وزن خشک ساقه ($R^2=65.2$) در کروموزوم ۶A و کمترین آن برای صفت وزن تر ریشه ($R^2=30.7$) بر روی کروموزوم ۶D به دست آمد.

کلمات کلیدی: گندم، تنش اسمزی، جوانه زنی، QTL، SSR

مقدمه

تنش اسمزی یکی از مهم ترین موانع توسعه کشاورزی است که بسیاری از نواحی را از زیر کشت خارج و یا باعث کاهش عملکرد شده است (۲). در واقع تنش اسمزی بر مراحل مختلف رشد و نمو گیاه، تاثیر می گذارد و در مرحله جوانه زنی بذر، نقش تعیین کننده ای را بر میزان تولید گندم در اغلب نقاط جهان ایفا می کند و به طور خاص شاخص قدرت بذر، طول ساقه و طول ریشه به شرایط تنش اسمزی حساس هستند (۵). تحمل به خشکی صفت پیچیده و چند ژنی است که گیاه را در تمام سطوح مانند سلول، بافت و اندام تحت تاثیر قرار می دهد. ظهور و توسعه نشانگرهای مولکولی در ژنتیک کمی و روش مکان یابی ژن های کمی (QTL) تا حد زیادی مطالعه ی توارث صفات را برای محصولات زراعی مانند گندم تسهیل نموده است (۱). آنالیز مولفه های رشد گیاه در محیط شبیه سازی شده، به شناسایی ژن های مرتبط با تحمل به تنش کمک می کند و پلی اتیلن گلیکول به طور گسترده برای شبیه سازی تنش



اسمزی استفاده می شود. پلی اتیلن گلیکول منجر به القاء پاسخ هایی شبیه به خشکی طبیعی مانند جوانه زنی، رشد گیاهچه، رشد ساقه و ریشه می شود(۴).

مواد و روش ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل ۱۱۸ لاین اینبرد نوترکیب (۸: F₂)، حاصل از تلاقی واریتهی محلی ایرانی، طبری^۱ متحمل به خشکی و واریتهی اصلاح شدهی اروپایی، تایفون^۲ حساس به خشکی بود. در این مطالعه از نقشه ی ژنتیکی نشانگرهای SSR که به وسیله ی کورناتیج(۵) تهیه شده استفاده شد.ای نقشه واجد ۲۱۷ نشانگر SSR پیوسته بود. طول کل نقشه معادل ۲۷۹۵ سانتی مورگان و متوسط فاصله ی بین مکان های ژنی نشانگرها معادل ۱۴/۳ سانتی مورگان بود. ۱۱۸ لاین اینبرد نوترکیب به همراه والدین در سه تکرار در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به منظور ارزیابی ویژگی های مرحله جوانه زنی در شرایط تنش اسمزی به شرح زیر کشت شدند. سی عدد بذر هر لاین به وسیله هیپوکلرید سدیم ۰.۵٪ به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی شد و یک دقیقه با آب مقطر دو بار تقطیر شستشو شد. مدت آزمایش نه روز بود که سه روز اول شرایط تاریکی مطلق و شش روز روشنایی به صورت ۱۲ ساعت نور ($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) و ۱۲ ساعت تاریکی در ژرمیناتور و در دمای 20 ± 1 درجه سانتی گراد بود. از محلول پلی اتیلن گلیکول^۳ (PEG) ۶۰۰۰، ۱۲٪ برای اعمال تنش اسمزی در شرایط جوانه زنی استفاده شد. در پایان روز نهم، صفات طول ساقه^۴ (SL)، طول ریشه^۵ (RL)، نسبت ساقه به ریشه^۶ (RSR)، وزن تر ساقه^۷ (SWW) و وزن تر ریشه^۸ (RWW)، وزن خشک ساقه^۹ (SDW) و وزن خشک ریشه^{۱۰} (RDW) اندازه گیری شدند. تجزیه QTL ها به روش نقشه یابی فاصله ی مرکب^{۱۱} (CIM) با استفاده از نرم افزار Windows QTL Cartographer انجام گرفت. آنالیز QTL با فاصله پویش یک سانتی مورگان و حداقل آستانه ی LOD=۳ انجام گرفت.

نتایج و بحث

بررسی توزیع فراوانی میانگین داده های فنوتیپی صفات مورد مطالعه حاکی از وجود توزیع نرمال در همه صفات بود(نتایج نشان داده نشده). نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد، در بین ارقام والدی ولاین های اینبرد نوترکیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد برای کلیه صفات وجود دارد(نتایج آورده نشده است). مکان یابی QTL ها برای صفات مورد مطالعه انجام شد. تعداد ۱۹ QTL به نام های QSDW و QRDW، QRWW، بر روی کروموزوم های ۳A، ۳B، ۵A، ۵B، ۵D، ۶A، ۶B و ۶D برای صفات وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه با LOD بزرگتر از ۳ شناسایی شدند(شکل ۱-۱). بیشترین متوسط LOD برای صفت وزن خشک ساقه (LOD=۳/۳) و کمترین آن برای صفت وزن تر ریشه (LOD=۳/۴) به دست آمد. کروموزوم های گروه ۶

۱-Tabassi

۲-Taifun

۳- Poly Ethylen Glycol (PEG)

۴-Shoot Lenght

۵-Root Lenght

۶-Root/Shoot Ratio

۷-Shoot Wet Weight

۸-Root Wet Weight

۹-Shoot Dry Weight

۱۰-Root Dry Weight

۱۱-Composite interval mapping



بیشترین تعداد QTL ها را به خود اختصاص دادند. تمام QTL ها بزرگ اثر و ضریب تبیین ارزش فنوتیپی بیشتر از ۳۰٪ داشتند. ($R^2 \geq 30$) (جدول ۱-۱).

وزن تر ریشه: در شرایط تنش برای این صفت چهار QTL بزرگ اثر بر روی کروموزوم های ۳A، ۵B، ۶A و ۶D به دست آمد. مقدار LOD مربوط به QTL واقع بر کروموزوم ۶A ($LOD=67$) بوده و این QTL به طور متوسط ۶۷٪ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین نمود. تمامی QTL های این صفت مربوط به والد مقاوم طوسی بود. QTL های مربوط به این صفت بر روی کروموزوم های ۳A، ۵B، ۶A و ۶D به ترتیب با نشانگرهای Xgwm۴۰۲۴، Xgwm۴۹۷c، Xgwm۱۰۰۹a و Xgwm۸۱۵b تفرق مشترک نشان دادند.

وزن خشک ریشه: در شرایط تنش برای این صفت هشت QTL بزرگ اثر بر روی کروموزوم های ۳A، ۳B، ۵A، ۵B، ۵D، ۶A، ۶B و ۶D به دست آمد که به ترتیب با نشانگرهای Xgwm۴۰۲۴، Xgwm۵۳۳a، Xgwm۶۳۹b، Xgwm۴۹۷c، Xgwm۵۰۸، Xgwm۱۰۰۹a، Xgwm۶۳۹a و Xgwm۸۱۵b به طور مشترک تفرق پیدا کردند. بیشترین مقدار LOD مربوط به QTL واقع بر کروموزوم ۶D ($LOD=27/8$) بود این QTL به طور متوسط ۵۹٪ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین نمود. تمامی QTL های این صفت مربوط به والد مقاوم طوسی بود.

وزن خشک ساقه: در شرایط تنش برای این صفت هفت QTL بزرگ اثر بر روی کروموزوم های ۳A، ۳B، ۵A، ۵B، ۶A، ۶B و ۶D به دست آمد. که به ترتیب با نشانگرهای Xgwm۴۰۲۴، Xgwm۵۳۳a، Xgwm۶۳۹b، Xgwm۴۹۷c، Xgwm۱۰۰۹a، Xgwm۵۰۸ و Xgwm۸۱۵b تفرق مشترک نشان دادند. بیشترین مقدار LOD مربوط به QTL واقع بر کروموزوم ۶A ($LOD=34/3$) بود. این QTL به طور متوسط ۶۵٪ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین نمود. تمامی مکان های ژنی مربوط به QTL های این صفت از والد مقاوم طوسی به جمعیت نقشه یابی به توارث رسیده است.



جدول ۱-۲-QTL های شناسایی شده به روش نقشه یابی فاصله ای مرکب در جمعیت لاین های اینبرد حاصل تلاقی

میانگین LOD	میانگین ارزش فنوتیپی	آل والدینی ارزش فنوتیپی (R ²)	اثرازیسی LOD	نزدیکترین نشانگر بیوسنه	مکان کروموزومی	علامت اختصاری	صفت
۵.۴	۴۰.۵	۰.۰۲۲	۵.۸	Xgwm4024	۳A	RWW	وزن تر ریشه(تنش)
			۵.۸	Xgwm497c	۵B		
			۶.۷	Xgwm1009a	۶A		
			۳.۶	Xgwm815b	۶D		
۲۳.۸	۵۱.۰	۰.۰۱۲	۲۳.۶	Xgwm4024	۳A	RDW	وزن خشک ریشه(تنش)
			۲۴.۶	Xgwm533a	۳B		
			۲۳.۷	Xgwm639b	۵A		
			۲۳.۸	Xgwm497c	۵B		
			۲۱.۹	Xgwm639a	۵D		
			۲۴.۲	Xgwm1009a	۶A		
			۲۰.۶	Xgwm508	۶B		
			۲۷.۸	Xgwm815b	۶D		
۳۲.۱	۶۲.۴	۰.۰۱۶	۲۸.۵	Xgwm4024	۳A	SDW	وزن خشک ساقه(تنش)
			۳۲.۸	Xgwm533a	۳B		
			۳۱.۸	Xgwm639b	۵A		
			۳۳.۱	Xgwm497c	۵B		
			۳۴.۳	Xgwm1009a	۶A		
			۳۰.۳	Xgwm508	۶B		
			۳۴.۱	Xgwm815b	۶D		

یف

تا

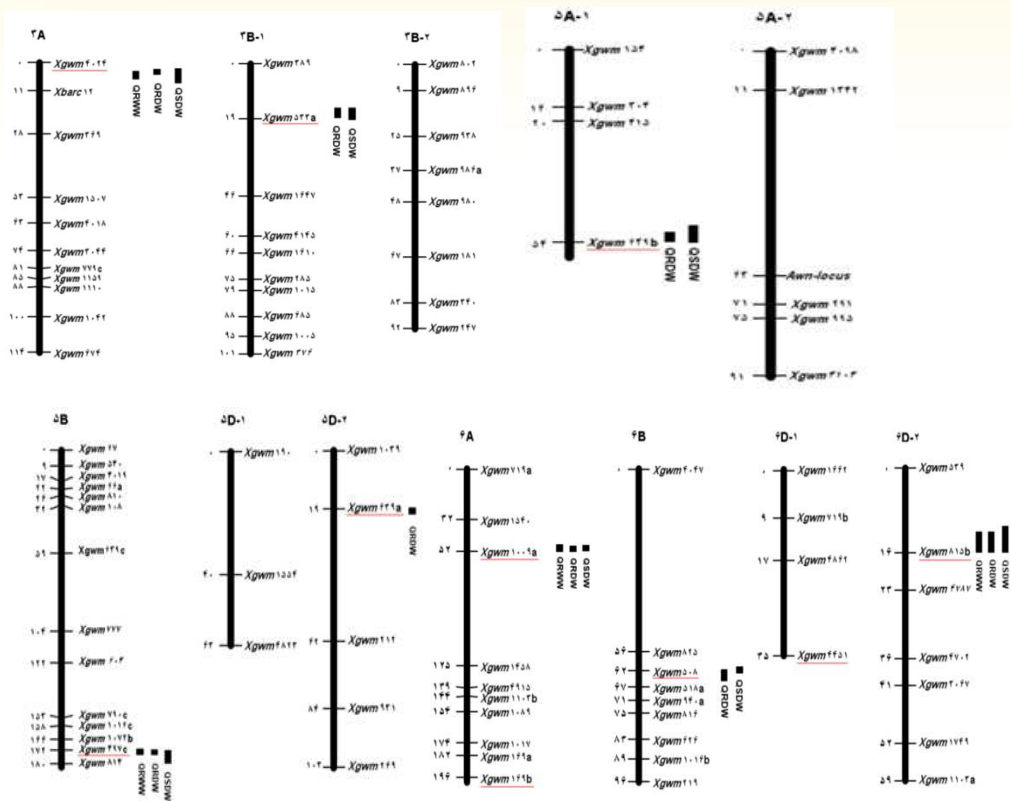
ون و طبعی

مطالعات اندکی در زمینه مکان یابی صفات در مرحله جوانه زنی بذر تحت تنش اسمزی انجام شده است. Landjeva و همکاران (۳)، دو QTL مربوط به صفات ارتفاع ساقه در شرایط تنش اسمزی در مرحله ی جوانه زنی گندم با نام های QRlc.ipk-5B و QS1p.ipk-5B روی بازوی بلند کروموزوم ۵B گزارش نمود. در مطالعه حاضر نیز برای صفات وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه در مرحله جوانه زنی تحت تنش اسمزی QTL هایی بزرگ اثر شناسایی شد که موید اهمیت این ناحیه کروموزومی در شرایط تنش اسمزی است. همچنین Landjeva و همکاران (۳) یک QTL بزرگ اثر مربوط به درصد جوانه زنی نهایی در شرایط تنش اسمزی در محدوده ی نشانگر های Xgwm۳۰۶۳ و Xgwm۲۵۲ روی کروموزوم ۵D و سه QTL مرتبط با صفت طول کلئوپتیل در مرحله جوانه زنی در شرایط تنش با متوسط $LOD \geq 3$ روی کروموزوم ۶BL شناسایی کرد. در مطالعه ی کردنائیج (۴) در همین جمعیت و بر روی کروموزوم ۳A و در مجاورت مکان نشانگر Xgwm۴۰۲۴، QTL هایی مربوط به ارتفاع گیاه و طول خوشه در شرایط تنش اسمزی شناسایی شد. همچنین در ناحیه کروموزومی ۳B و در همین جمعیت نقشه یابی و در مجاورت مکان نشانگر Xgwm۵۳۳a، QTL هایی مربوط به وزن دانه، تعداد دانه در خوشه، وزن هزار دانه و طول خوشه در شرایط تنش خشکی گزارش شده است. در کروموزوم ۶D نیز در مجاورت مکان نشانگر Xgwm۸۱۵b، QTL مربوط به وزن هزار دانه و تعداد دانه در خوشه در شرایط تنش توسط کردنائیج (۴) روی همین جمعیت بدست آمده است که توجهی بر نقش موثر این ناحیه ژنومی در بروز مقاومت به تنش اسمزی در دو مرحله ی مختلف رشد گندم، مرحله ی جوانه زنی و مرحله گیاه کامل می باشد و می توان اذعان نمود که این ناحیه در ایجاد مقاومت در زمان بروز تنش اسمزی به مرحله رشدی گیاه وابسته نیست.

در مطالعه حاضر نیز برای وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه و ریشه در مرحله جوانه زنی QTL های بر روی این دو کروموزوم های شناسایی شد. علاوه بر این QTL های شناسایی شده در کروموزوم های ۶A، ۶B، ۳A و ۵B برای وزن خشک ریشه، وزن



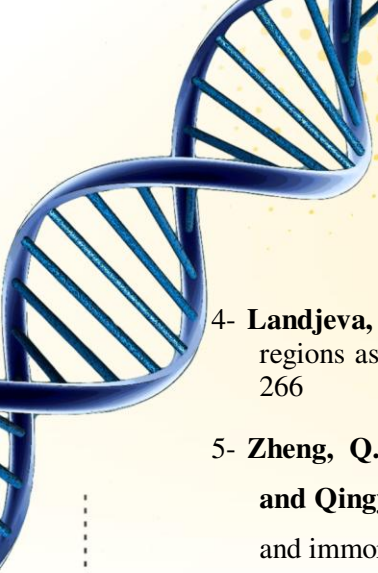
خشک ساقه و وزن تر ریشه در شرایط تنش از رقم ایرانی طبعی نشان دهنده وجود ژنهای متفاوت برای تحمل به تنش اسمزی در این رقم ایرانی است که می توان از آن در برنامه های اصلاحی برای انتقال تحمل به تنش اسمزی به ارقام اصلاح شده با عملکرد بالا استفاده نمود.



شکل ۱-۱- نقشه ی ژنتیک QTL ها و محل قرار گیری آنها روی گروه های ژنومی

منابع

- 1- Abdul Qayyum, Abdul Razzaq, Muhammad Ahmad and Jenks M. A., 2011. Water stress causes differential effects on germination indices, total soluble sugar and proline content. African Journal of Biotechnology. 10:14038-14045.
- 2- Ghanifathi, T., Valizadeh, M., Shahryari, R. and Shahbazi, H., 2011. Effect of drought stress on germination indices and seedling growth of 12 bread wheat genotypes. Advances in Environmental Biology. 5:1034-1039.
- 3- Kordenaeej, A. Nasrollah Nejad, A. A., Shojaeian, A. A. and Lelley, T., 2008. Mapping QTLs for yeild and yeild components under drought stress inbred wheat. Dissertation for a doctorate degree. University of Natural Resources And Applied Life Sciences (BOKU), Vienna, Austria, pp-97.



- 4- Landjeva, S., Neumann, K., Lohwasser and Börner, A., 2008. Molecular mapping of genomic regions associated with wheat seedling growth under osmotic stress. *Biologia Plantarum*. 52: 259-266
- 5- Zheng, Q., Dongmei, Z., Caiqin, Z., Zhengzhi, Z., Shulin, X., Feng, L., Zhongxin, K., Tian, D. and Qingyun, L., 2007. Molecular genetic analysis of Wve spike-related traits in wheat using RIL and immortalized F2 population. *Molecular Genetic Genomics*. 277:31-42.

Molecular mapping of genomic regions associated with wheat seedling growth under drought stress

Fatemeh Taheri*¹, Amir mohammad Naji², Alaaeddin Kordenaeej²

Abstract

In order to map QTLs related to traits at germination stage in bread wheat under drought stress, shoot length (SL), root length (RL), root/shoot length ratio (RSR), shoot wet weight (SWW), root wet weight (RWW), shoot dry weight (SDW) and root dry weight (RDW) were evaluated in a mapping population of 118 F_{2:8} recombinant inbred lines derived from a cross between an Iranian local variety Tabassi and European variety Taifun. Stress condition was provided applying 12% PEG6000. QTL analysis was done based on a linkage map of 217 SSR marker loci with a total length of 2795cM using composite interval mapping (CIM) method. Nineteen QTLs were mapped for RWW, RDW, and SDW on chromosomes 3A, 3B, 5A, 5B, 5D, 6A, 6B, and 6D. The trait SDW showed maximum phenotypic variation ($R^2=65.2$) and the minimum phenotypic variation was calculated for RWW ($R^2=30.7$) on chromosomes 6A and 6D respectively.