



همایش ملی محیط زیست و تولیدات گیاهی



۱۵ و ۱۶ مهر ۱۳۹۱

کاربرد نشانگر ریزماهواره برای ایجاد جمعیت های نقشه یابی مکان های ژنی صفات کمی در گندم

علاءالدین کوردناج^{۱*}، آیت الله رضایی^۲، یاور شرفی^۲

۱- دانشگاه شاهد، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی کشاورزی، تهران، ایران

۲- دانشگاه شاهد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی، تهران، ایران

a_kordenaeej@yahoo.com

چکیده

در پروژه های نقشه یابی مکان های ژنی صفات کمی نظیر تحمل به خشکی، جمعیت های نقشه یابی یکی از مهمترین مولفه ها به شمار می روند. انتخاب ژنوتیپ های والدینی مناسب برای ساختن چنین جمعیتی هایی می تواند به ایجاد و حفظ سطح قابل قبولی از تنوع ژنتیکی و نوترکیبی کمک کند. در پژوهش حاضر تنوع آلی ۵۰۰ نشانگر ریزماهواره در میان پنج وارسته ایرانی متحمل به خشکی شامل روشن، طبسی، سرخ تخم، سرداری و هیرمند همراه با دو رقم اروپایی حساس به خشکی شامل رقم تایفون و کارتنر مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه خوشه ای بر مبنای داده های نشانگر ریزماهواره بیشترین فاصله ژنتیکی را میان وارسته محلی طبسی و رقم اروپایی تایفون آشکار کرد. بر این اساس دو جمعیت نقشه یابی شامل لاین های اینبرد نوترکیب و تلاقی برگشتی پسرته از آمیزش ژنتیکی این دو لاین والدینی با هدف نقشه یابی عملکرد و اجزاء عملکرد در شرایط تنش خشکی ساخته شدند.

کلمات کلیدی: گندم، نشانگر ریزماهواره، جمعیت نقشه یابی

مقدمه

اولین مرحله در مکان یابی QTL، تهیه جمعیت نقشه یابی است که معمولاً از آمیزش ژنتیکی میان دو ژنوتیپ والدینی بنا نهاده می شود. دو والد می توانند در آلل های مؤثر بر تنوعات صفت تحت مطالعه متفاوت باشند. انتخاب درست والدین برای رسیدن به بیشترین حد تنوعات ژنتیکی و بالتبع تنوعات فنوتیپی در جمعیت نقشه یابی پیش از آغاز آمیزش های ژنتیکی از اهمیت زیادی برخوردار می باشد. اندازه فاصله ژنتیکی میان ژنوتیپ های والدینی رami توان با دقت زیاد با استفاده از نشانگرهای مولکولی ارزیابی و سنجش نمود. معیار اساسی در این



همایش ملی محیط زیست و تولیدات گیاهی



۱۵ و ۱۶ مهر ۱۳۹۱

ارزیابی درجه چندشکلی (پلی مورفیسم) است که برای آلل های نشاگرها در ژنوم های والدین جمعیت نقشه یابی مورد انتظار می باشد (Mauricio 2001).

از میان این نشانگرها، نشانگر ریزماهواره یا توالی های تکرار شده ساده (SSR) به دلیل چند شکلی بالا، توانایی زیادی را برای تمایز در بین ژنوتیپ ها داشته و دارای محتوای اطلاعات زیادی بوده و در تجزیه و تحلیل های ژنتیکی و اصلاح نباتات به خوبی مورد استفاده قرار می گیرند (Hart و Jones ۲۰۰۱). همپارز بودن، تکرارپذیری بالا و سهولت انتقال بین گروه های تحقیقاتی یک مزیت دیگر برای استفاده از این نشانگر برای تهیه نقشه پیوستگی و شناسایی مکان های ژنی کنترل کننده ی صفات کمی مورد نظر می باشد (Collard و همکاران ۲۰۰۵). در تحقیق حاضر فواصل ژنتیکی میان پنج وارینه گندم ایرانی با دو رقم گندم اروپایی بر اساس آنالیز مکان های آللی نشانگر ریزماهواره با هدف انتخاب دو ژنوتیپ والدینی برای ایجاد جمعیت های نقشه یابی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

مواد گیاهی در این پژوهش شامل پنج وارینه گندم ایرانی به نام های طبعی، سرداری، سرخ تخم، روشن و هیرمند و دو رقم گندم اروپایی به نام های تایفون (Taifun) و کارتنر (Kartner) بوده اند. به منظور ارزیابی فواصل ژنتیکی میان این ژنوتیپ ها با هدف انتخاب یک وارینه ایرانی و یک رقم اروپایی به عنوان والدین جمعیت نقشه یابی، چند شکلی ۵۰۰ نشانگر SSR در مؤسسه IPK در کشور آلمان بر روی این وارینه ها مورد آنالیز قرار گرفت. برای این منظور، ابتدا DNA ی ژنومی از برگ های جوان خشک شده با استفاده از کیت جداسازی DNA استخراج شد. قطعات نشانگرهای SSR به کمک دستگاه PCR تکثیر و سپس با استفاده از دستگاه A.L.F. (Automated Laser Fluorescence) تفکیک شدند. شناسایی قطعات نشانگر با کمک نرم افزار Fragment Analyzer (شرکت Pharmacia) انجام شد. تجزیه خوشه ای بر مبنای داده های نشانگر SSR انجام شد و فواصل ژنتیکی میان ژنوتیپ ها به روش Li و Nei (۱۹۷۹) برآورد گردید.

نتایج

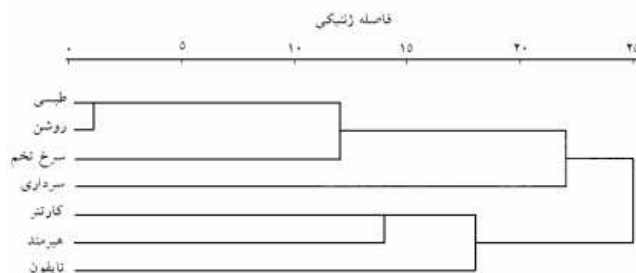
تجزیه خوشه ای براساس فاصله ژنتیکی، ژنوتیپ ها را به یک گروه دوتایی شامل وارینه های طبعی و روشن و ۵ گروه تکلی شامل وارینه های سرخ تخم، سرداری، کارتنر، هیرمند و تایفون تفکیک کرد (شکل ۱). در میان ارقام ایرانی بیشترین فاصله ژنتیکی متعلق به وارینه های هیرمند و روشن (۰.۸۴۹) و کمترین آن مربوط به وارینه های روشن و طبعی (۰.۴۸۲) بوده است. اندازه فاصله ژنتیکی بین دو وارینه اروپایی برابر با ۰.۶۶۱ محاسبه شد. اما بیشترین فاصله ژنتیکی بین وارینه ایرانی طبعی و وارینه اصلاح شده اروپایی تایفون برآورد گردید (۰.۸۶۳).



همایش ملی محیط زیست و تولیدات گیاهی



۱۵ و ۱۶ مهر ۱۳۹۱

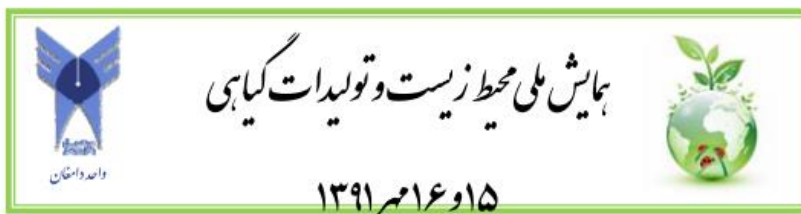


شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه ای وارثه های گندم بر اساس داده های نشانگر SSR

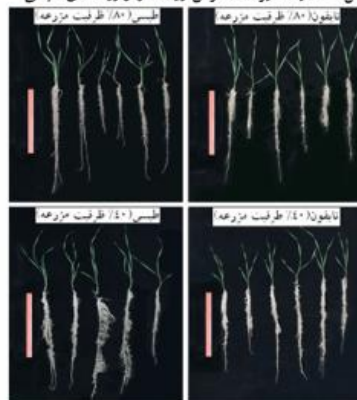
بحث و نتیجه گیری

اگرچه در جمعیت هایی از نوع لاین های اینبرد نوترکیب که معمولاً از طریق چند نسل خودگشتی متوالی نسل F2 دست می آیند، نوترکیبی های ایجاد شده در اثر کراسینگ آور سبب ایجاد تنوع کافی و قابل قبول در مکان های ژنی درون جمعیت می گردند (Meksem و kahl 2004). در جمعیت هایی از نوع لاین های تلاقی برگشتی پیشرفته که در آن ها تنها بخش کوچکی از ژنوم والد دهنده در زمینه ژنوم والد دوره ای الحاق می شود، تنوع حاصل از نوترکیبی چندان چشمگیر نیست. به همین دلیل در روش آنالیز QTL به روش تلاقی برگشتی (AB QTL analysis) فاصله ژنتیکی زیاد بین دو والد بسیار مهم و ضروری می باشد (Tanksley و Nelson 1996). بر این اساس وارثه ایرانی طیبسی و وارثه اصلاح شده تایفون که بیشترین فاصله ژنتیکی را نشان دادند به عنوان والدین اصلی برای ایجاد جمعیت های نقشه یابی در نظر گرفته شدند.

علاوه بر این اختلاف ژنتیکی، طیبسی و تایفون اختلافات آشکاری را در اغلب صفات زراعی مانند وزن دانه در هر خوشه، وزن هزار دانه، ارتفاع بوته، تعداد دانه در هر خوشه، تعداد سنبلیچه در هر خوشه و زمان خوشه رفتن نشان دادند (Kordenaeej و همکاران ۲۰۰۸). علاوه بر آن در یک ارزیابی آزمایشگاهی (کردناهیج، چاپ نشده)، تحت دو وضعیت آب در دسترس (۸۰ درصد و ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه)، گیاهچه های این دو وارثه در مرحله چندبرگی از لحاظ وزن خشک ساقه و ریشه اختلاف معنی داری نشان دادند (شکل ۲). تحت شرایط ۸۰٪ ظرفیت مزرعه، وزن خشک ساقه ۲۰٪ و وزن خشک ریشه ۴۰٪ در وارثه محلی طیبسی به عنوان یک ژنوتیپ متحمل به خشکی بیش تر از رقم تایفون بوده است. تحت شرایط ۴۰٪ ظرفیت مزرعه، این مقادیر به ترتیب ۴۰٪ و ۳۰٪ در طیبسی بیشتر از تایفون بوده است (شکل ۳).

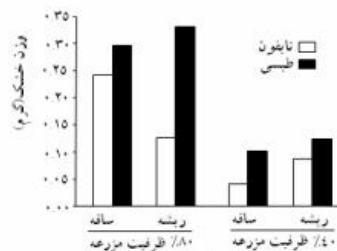


شکل ۲- مقایسه میزان گسترش ریشه در واریته های طبیعی



و تایلون تحت دو رژیم آبی

شکل ۳- مقایسه وزن خشک ریشه و ساقه در واریته های طبیعی

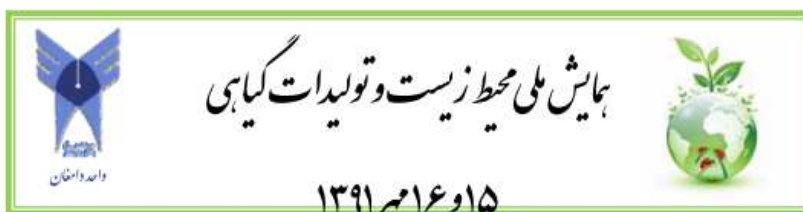


و تایلون تحت دو رژیم آبی

در نهایت از تلاقی این دو واریته، دو جمعیت نقشه یابی شامل ۱۱۸ لاین اینبرد نوترکیب (F2:7) و ۱۳۳ لاین تلاقی برگشتی پیشرفته (BC2F4) حاصل شدند که هرکدام برای نقشه یابی QTL برای صفات زراعی در گندم مورد استفاده قرار گرفتند (Kordenaeej و همکاران ۲۰۰۸). همچنین در لاین های اینبرد نوترکیب تنوعات فوتوبی چشمگیری چه در میان لاین ها و گاها درون بعضی از لاین ها مشاهده شد.

منابع

1. Collard, B.C.Y.; Jahufer, M.Z.Z.; Brouwer, J.B.; Pang, F.C.K. *Euphytica*, 2005, 142, 16.
2. Hartl, D., Jones, E. Jones and Bartlett publisher, 2001, p 451
3. Kordenaeej A.; Shojaeeyan A.A.; Nasrollahnejad A.A.; Lelley T. Sydney University Press. 2008, ISBN: 9781920899141.
4. Mauricio, R. *Nature Genetics*, 2001, 2, 370.
5. Meksem, K.; Kahk, G. *The handbook of plant genome*; WILEY-VCH, 2004, p 380.
6. Nei, M.; Li, W.H.; *Proc Natl Acad Sci*, 1979, 76, 5269.
7. Tanksely, S.D.; Nelson, J.C. *Theor Appl Genet*. 1996, 92, 191.



Microsatellite Marker Utilization for construction of QTL mapping populations in Wheat

Alaeddin Kordenaeej¹, Ayatollah Rezaie², and Yavar Sharafi²

¹Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

²Department of Horticulture, College of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

a_kordenaeej@yahoo.com

Abstract

In projects that aim mapping quantitative trait loci (QTL) like drought tolerance, providing appropriate mapping populations is very crucial. Selection of proper parental genotypes for construction of such populations can basically provide valuable levels of genetic variations and recombination. In present study, allelic variations of 500 simple sequence repeat (SSR) markers was evaluated among five Iranian landraces and local wheat varieties i.e. *Hyrmand*, *Roshan*, *Sardari*, *Sorkh Tokhm* and *Tabassi* supposed to be drought tolerant along with two non-drought tolerant European wheat varieties i.e. *Kärntner Früh* and *Taifun*. A cluster analysis based on the SSR data showed the highest genetic distance between the Iranian landrace *Tabassi* and the European elite variety *Taifun*. Furthermore, two mapping populations of recombinant inbred lines (RILs) and advance backcross lines have been developed base on a cross between *Tabassi* and were successfully used for mapping QTLs under drought stress condition.

Keywords: Mapping population, Microsatellite marker, wheat