

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



عضویت در خبرنامه



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛
شبکه های توجه گرافی
(Graph Attention Networks)



کارگاه آنلاین آموزش استفاده از
وب آو ساینس



کارگاه آنلاین مقاله روزمره انگلیسی

مطالعه تنوع ژنتیکی لاینهای ذرت با واکنش متفاوت به خشکی با استفاده از مارکرهای SSR

امیر حسین بیگی* - ب.م. پراسانا**

*زنجان - دانشگاه زنجان - دانشکده کشاورزی - E-Mail: amirbeiki@yahoo.com

**Division of Genetics; Indian Agricultural Research Institute; New Delhi - 110012; E Mail: prasanna@ndf.vsnl.in

خلاصه

دوازده اینبرد لاین با واکنشهای متفاوت به استرس خشکی شامل ۶ لاین مقاوم و ۶ لاین حساس برای مطالعه پلی مورفیسم با مارکرهای SSR انتخاب گردید. آنالیز ۷۱ مارکر که پلی مورفیسم نشان می دادند در تشخیص مؤثر لاینهای مقاوم و حساس بسیار مناسب می باشند. مطالعه فوق همچنین منجر به تشخیص مارکرهایی نظیر *bnlg1518*, *phi080*, *bnlg1182*, *bnlg1520*, *bnlg121*, *dup21*, *bnlg1064*, *bnlg1556* با PIC بالا در لاینهای انتخابی می باشند. ۹۶ آلل از ۳۳۱ آلل به عنوان آلل بی همتا (unique) شناخته گردیدند. آنالیزهای آماری مختلف مثل *bootstrap analysis* و *Cluster analysis* و *principal component analysis* و سودمندی مارکرهای SSR را در گروه بندی لاینها و آنالیز روابط ژنتیکی آنها نشان می دهد.

مقدمه

خشکی عامل اصلی کاهش محصولات کشاورزی در اکثر گناهان زارعی است و سبب کاهش ۱۷ درصد محصول سالانه در گیاه ذرت می شود (Edmeades et al. 1992 & Edmeades et al. 2000). مارکرهای مولکولی نه تنها بعنوان بهترین ابزار در برنامه های اصلاح نباتات بلکه در بسیاری از مطالعات مثل مطالعات فیلوژنتیک تنوع تکامل نیز بکار می روند. در میان مارکر های فوق SSR بصورت معمول کاربرد زیادی دارند (Powell et al., 1996; Prasanna and Hoisington, 2003). مارکرهای فوق توالی DNA ی هستند که هسته های تکراری آنها بین ۱-۱۰ جفت باز مثل (TG)_n یا (AAT)_n است که در طول ژنوم یوکاریوتها پراکنده شده اند. مارکرهای فوق دارای پلی مورفیسم بسیار بالایی در ژنوم بسیاری از یوکاریوتها منجمله گیاه ذرت هستند (Powell et al., 1996; Goldestein & Pollock, 1997; Gupta et al. 1998). تحقیقات اخیر روی وفور SSR در ذرت منجر به تشخیص لوکوسهای SSR متعددی در طول ژنوم ذرت شده است (Chine et al. 1996; Kassahun and Prasanna 2002).

مواد و روشها

در این پژوهش ۱۲ لاین ذرت با واکنشهای متفاوت به استرس خشکی در مرحله گلدهی انتخاب شدند. لاین های فوق شامل ۴ لاین DTPY (*DTPY108*, *DTPY116*, *DTPY65* و *DTPY194*) و ۴ لاین DTPW (*DTPW183*, *DTPW105* و *DTPW195*) و دو لاین والدینی *Ac7729* و *Ac7643* از موسسه سیمیت و ۲ لاین *CM139* و *CM140* والدین هیبرید Parkash می باشند. لاین های فوق بر اساس واکنش مشخص و ثابت به مقاومت و حساسیت به خشکی بر اساس صفات زارعی و مطالعات انجام شده طی سالهای ۲۰۰۱ تا ۲۰۰۳ انتخاب گردیده اند و در حال حاضر در برنامه های اصلاحی موسسه سیمیت و کشور های عضو AMBIONET استفاده می گردند.

DNA ژنومی ژنوتیپهای مورد نظر بیصورت بالک از ۱۰ تا ۱۵ گیاه وبا استفاده از متد اصلاح شده CTAB استخراج گردید. مارکرهای SSR بر اساس موقعیت bin و پوشش یکسان ژنوم انتخاب گردیدند. علاوه بر این مارکرهای SSR در موقعیتهای خاص با پتانسیل بالایی برای QTL mapping برای صفت مقاومت به خشکی در ذرت تهیه شده بود. فرآیند PCR بر اساس پروسه استاندارد انجام گرفت و محصول PCR با ژل آگارز ۳/۵ درصد و متد پیشنهادی Senior و همکارانش ران شد و باندهای حاصل در ژل بدست آمده توسط دوربین Suny-XC75CE ثبت گردید.

موقعیت باندهای تشکیل شده در مقایسه با وزن مولکولی Ladder تعیین گردید و داده های حاصل برای ۱۲ لاین مختلف برای لوکوسهای SSR که پلی مورفیسم از خود نشان می دادند مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تمام مارکرهایی که پلی مورفیسم نشان می دادند بر اساس متد پیشنهادی توسط Senior و همکارانش (۱۹۹۸) و Kassahun & Prasanna (۲۰۰۳) کمیت PIC محاسبه گردید. PIC اندازه تنوع آلی در یک لوکوس است و برابر است با: $1 - \sum (P_{ij}^2)$ که در آن فراوانی زمین آلل برای i مین لوکوس است. در حقیقت PIC همان تنوع ژنی است که توسط Weir (۱۹۹۶) شرح داده شده است.

شباهت ژنتیکی بر اساس دادههای SSR برای تمام جفت ژنوتیپهای ممکن محاسبه و با استفاده از نرو افزار NTSYS آنالیز گردید.

نتایج و بحث

مجموعاً ۳۳۱ آلل SSR در ۷۱ لوکوس SSR تعیین گردید. بالاترین تعداد آلل ها با ۷ آلل در مارکرهای *phi037* (1.08), *bnlg1064* (2.03), *dup21* (2.05), *bnlg121* (2.06), *bnlg1520* (2.09) and *bnlg1272* (9.00) مشاهده گردید. نه لوکوس ۶ آلل نشان دادند و فقط ۲ آلل در مارکر *bnlg1347* (1.10) یافت گردید.

بر اساس فراوانی اللهای SSR کمیت PIC برای لوکوس های مختلف که پلی مورفیسم نشان می دادند تخمین زده شد. دامنه کمیت PIC با حداقل ۰/۴۴ در لوکوس *phi097* (1.01) و حداکثر ۰/۹۳ در لوکوس *bnlg594* (10.06) بر آورد گردید. قابل ذکر است ۱۰ درصد از ۷۱ لوکوسی که پلی مورفیسم نشان می دادند دارای PIC بیش از ۰/۸۸ و ۴۸ درصد بیش از ۰/۷ و ۸۳ درصد بیش از ۰/۶ و ۹۳ درصد بیش از ۰/۵ می باشند. فقط ۷ درصد از مارکرهای SSR دارای PIC کمتر از ۰/۵ هستند. متوسط PIC در تمام لوکوسهای آنالیز شده برابر است با ۰/۶۸. نه مارکر *bnlg1556*, *bnlg1520*, *bnlg1182*, *phi080*, *bnlg1518* and *bnlg594* از ۰/۸ هستند که برای تمایز ژنتیکی لاینهای ذرت بسیار مناسبند.

سه لاین از ۱۲ لاین شامل DTPY194, DTPW195 و Ac7729 هیچگونه Null از خود نشان ندادند در صورتی که بقیه لاینها حداقل ۱-۲ Null در میان ۷۱ مارکر SSR از خود نشان دادند. وقوع اللهای Null با همان مارکر دوباره امپلی فای گردید.

از ۳۳۱ الل SSR که پلی مورفیک بودند ۹۶ آلل unique بودند یعنی باند فقط در یکی از لاینها تشکیل می گردد. لاین DTPW195 (با ۱۳ آلل) حداکثر و متعاقب آنها لاین CM139 (با ۱۱ آلل) و لاینهای DTPW183 و DTPW183 (با ۱۰ آلل) و لاینهای DTPY194, DTPW105 و CM140 (با ۹ آلل) دارای بیشترین حالت unique بودند. توزیع ۹۶ آلل فوق بیشترین تعداد unique را در مارکرهای *phi037* و *phi015* (با ۴ آلل) و در مارکرهای *bnlg1526*, *bnlg420*, *nc013*, *phi119* (با ۳ آلل) در صورتی که در سایر حالات ۱-۲ آلل unique دیده شد.

شباهت ژنتیکی (GS) داده های حاصل از SSR با استفاده از روش جاکارد محاسبه و تباین ژنتیکی بین لاینها برآورد مطالعه گردید. با تجزیه کلاستر و تهیه دندئوگرام و آنالیز bootstrap و PCA شباهت ژنتیکی لاین ها مورد مطالعه قرار گرفت (شکل ۲ و ۳).

آنالیز داده هاتباین مشخص AC7729 را از سایر ژنوتیپها معلوم می نماید. بین لاینهای DTPW شباهت بارز ژنتیکی مشخص می شود. تمام لاین های DTPY با لاینهای مقاوم به خشکی Ac7643 و CM140 همگروه شده اند. مطالعه فوق می تواند در سلکسیون لاینهای مقاوم و حساس به خشکی برای تهیه نسلی در حال تفرق مفید واقع شود.

منابع

1. Edmeades, G.O., Bolanos, J. and Lafitte H.R. (1992). Progress in breeding of drought tolerance in maize. Proc. 57th Annual Corn and Sorghum Industry Research Conference, pp. 93-111.
2. Edmeades, G.O., Bolanos, L., Elings, A. Ribaut, J.M., Banziger, M. and Westgate, M.E. (2000). The role and regulation of the anthesis-silking interval in maize. In: Westgate, M.E. and Boote, K.J. (eds.) Physiology and Modeling Kernel Set in Maize. CSSA Special Publication No. 29. CSSA, Madison, WI, pp. 43-73.
3. Gupta, P.K., Balyan, H.S., Sharma, P.C. and Ramesh, B. (1996). Micosatellites in plants: a new class of molecular markers. *Curr. Sci.* **70**: 45-54.
4. Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaudoise Sci. Nat.* **44**: 223-270.
5. Kassahun, B. and Prasanna, B.M. (2003). Simple sequence repeat polymorphism in Quality Protein Maize (QPM) lines. *Euphytica* **129**: 337-344.
6. Powell, W.W., Machery, G.C., and Provan, J. (1996). Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trend Gent.* **1**: 215-222.
7. Prasanna, B.M. and Sarkar K.R. (1997). Active transposable elements in Indian maize germplasm and assorted genetic testers. *Curr. Sci.* **73**: 464-469.
8. Ribaut, J.M. and Hoisington, D. (1998). Marker-assisted selection: new tools and strategies. *Trends Plant Sci.* **3**: 236-239.
9. Ribaut, J.M., Banziger, M., Betran, J., Hang, C., Edmeades, G.O., Dreher, K. and Hoisington D. (2002). Use of molecular markers in plant breeding: drought tolerance improvement in tropical maize. In: M.S. Kang (ed.) Quantitative Genetics, Genomics, and Plant Breeding, CABI Publishing, Wallingford, UK.
10. Rohlf, F.J. (1992). NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System). Version 2.02. Exeter Publ., Setauket, NY.

11. Saghai-Marooif, M.A., Soliman, K.M, Jorgenson, R., and Allard, R.W. (1984). Ribosomal DNA space length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal locations and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 8014-8018.
12. Senior, M.L, Murphy, J.P., Goodman, M.M. and Stuber, C.W. (1998). Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Sci.* **38**: 1088-1098.
13. Senior, M.L. and Heun, M. (1993). Mapping maize microsatellites and polymerase chain reaction confirmation of the target repeats using a CT primer. *Genome* **36**: 884-889.
14. Weir, B.S. (1996). Genetic Data Analysis II. 2nd edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland.

جدول ۱: کمیت PIC در لوکوسهای SSR در ۱۲ لاین مورد بررسی

S. No.	Bin location	SSR locus	Repeat type	No. of SSR alleles detected	PIC
1	1.01	<i>phi097</i>	TAG	3	0.40
2	1.02	<i>bnlg147</i>	CA	6	0.70
3	1.04	<i>bnlg1016</i>	AG	4	0.67
4	1.06	<i>bnlg1556</i>	AG	6	0.81
5	1.08	<i>phi037</i>	AG	7	0.79
6	1.09	<i>bnlg400</i>	AG	4	0.74
7	1.10	<i>bnlg1347</i>	AG	2	0.44
8	1.11	<i>bnlg504</i>	CA	6	0.78
9	1.11	<i>umc1331</i>	GGT	6	0.75
10	2.01	<i>bnlg1092</i>	AG	5	0.66
11	2.02	<i>bnlg2042</i>	AG	5	0.72
12	2.02	<i>bnlg1297</i>	AG	4	0.72
13	2.03	<i>bnlg1064</i>	AG	7	0.80
14	2.03	<i>umc1555</i>	TTCA	5	0.69
15	2.03	<i>bnlg381</i>	CA	3	0.51
16	2.04	<i>bnlg1613</i>	AG	5	0.72
17	2.04	<i>bnlg1175</i>	AG	5	0.71
18	2.05	<i>dup21</i>	AG	7	0.84
19	2.05	<i>mage05</i>	AG	5	0.68
20	2.06	<i>bnlg121</i>	CT	7	0.84
21	2.06	<i>bnlg1138</i>	AG	4	0.71
22	2.07	<i>bnlg1045</i>	AG	4	0.48
23	2.08	<i>bnlg198</i>	CT	4	0.60
24	2.09	<i>bnlg1520</i>	AG	7	0.83
25	3.05	<i>bnlg420</i>	CT	5	0.69
26	3.08	<i>phi088</i>	ACT	4	0.65
27	3.09	<i>bnlg1182</i>	AG	6	0.80
28	4.03	<i>bnlg2244</i>	AG	5	0.73
29	4.05	<i>bnlg1729</i>	AG	4	0.65
30	4.06	<i>bnlg252</i>	AG	3	0.65
31	4.11	<i>bnlg589</i>	AG	5	0.70
32	5.02	<i>phi113</i>	GTCT	4	0.67
33	5.04	<i>bnlg2323</i>	AG	3	0.64
34	5.06	<i>phi101</i>	ACT	4	0.65
35	5.09	<i>bnlg389</i>	CT	5	0.70

Contd.

ادامه جدول شماره ۱

S. No.	Bin location	SSR locus	Repeat type	No. of SSR alleles detected	PIC
36	6.00	<i>bnlg1043</i>	AG	5	0.73
37	6.01	<i>phi077</i>	AG	4	0.74
38	6.01	<i>umc1018</i>	CT	5	0.74
39	6.02	<i>umc1006</i>	GA	5	0.74
40	6.03	<i>phi070</i>	AGCTG	5	0.73
41	6.03	<i>umc1572</i>	GA	5	0.74
42	6.04	<i>umc1014</i>	GA	4	0.68
43	6.05	<i>bnlg1154</i>	AG	5	0.57
44	6.05	<i>bnlg1702</i>	AG	3	0.54
45	6.05	<i>mmc0241</i>	TA-N-TG	3	0.69
46	6.05	<i>phi078</i>	AAAG	4	0.61
47	6.05	<i>phi102</i>	AT	3	0.58
48	6.05	<i>nc013</i>	AG	6	0.64
49	6.08	<i>phi089</i>	ATGC	4	0.71
50	7.03	<i>bnlg339</i>	CT	4	0.74
51	7.04	<i>bnlg155</i>	CT	4	0.52
52	7.06	<i>phi116</i>	AGTG-ACG	3	0.54
53	8.02	<i>phi119</i>	AG	3	0.72
54	8.04	<i>phi014</i>	GGC	5	0.45
55	8.05	<i>bnlg162</i>	CA	3	0.68
56	8.06	<i>bnlg240</i>	AG	6	0.42
57	8.06	<i>bnlg1065</i>	AG	4	0.65
58	8.08-8.09	<i>phi015</i>	AAAC	5	0.53
59	8.08-8.09	<i>phi080</i>	AGGAG	5	0.83
60	9.00	<i>bnlg1272</i>	AG	7	0.70
61	9.01	<i>phi033</i>	AAG	5	0.60
62	9.03	<i>bnlg1730</i>	AG	4	0.71
63	9.05	<i>bnlg1209</i>	AG	4	0.68
64	10.00	<i>phi041</i>	AGCC	4	0.70
65	10.02	<i>phi059</i>	ACC	5	0.69
66	10.03	<i>bnlg210</i>	AG	4	0.70
67	10.03	<i>bnlg1655</i>	AG	6	0.69
68	10.04	<i>bnlg1518</i>	AG	6	0.82
69	10.04	<i>bnlg1526</i>	AG	6	0.78
70	10.06	<i>bnlg594</i>	AG	5	0.93
71	10.06	<i>phi035</i>	AC	3	0.65

جدول شماره ۲: فراوانی وضعیت‌های مختلف آللهای SSR در لاین های مورد استفاده

Genotypes	No. of heteroygous SSR loci*	Frequency of heteroygous SSR loci	No. of 'nulls' for SSR markers *	Frequency of 'nulls'	No. of 'rare' SSR alleles*	Frequency of 'rare' SSR alleles
DTPW195	4	0.06	0	0	13	0.18
DTPW51	4	0.06	1	0.01	6	0.08
DTPW105	6	0.08	1	0.01	9	0.13
DTPW183	2	0.03	1	0.01	10	0.14
DTPY65	7	0.10	1	0.01	5	0.07
DTPY116	7	0.10	2	0.03	10	0.14
DTPY108	5	0.07	1	0.01	3	0.04
DTPY194	7	0.10	0	0	9	0.13
CM139	4	0.06	2	0.03	11	0.15
CM140	4	0.06	1	0.01	9	0.13
Ac7729	6	0.08	0	0	4	0.06
Ac7643	2	0.03	5	0.07	7	0.10

*out of 71 polymorphic SSR loci analyzed

جدول شماره ۳: GS میان لاین های ذرت مبنی بر داده های SSR

Inbreds	DTP195 W	DTP51 W	DTP105 W	DTP183 W	DTP65Y	DTP116 Y	DTP108 Y	DTP194 Y	CM139	CM140	Ac7729
DTP51W	0.12	-									
DTP105 W	0.19	0.20	-								
DTP183 W	0.17	0.20	0.22	-							
DTP65Y	0.19	0.17	0.16	0.18	-						
DTP116 Y	0.15	0.13	0.17	0.17	0.18	-					
DTP108 Y	0.12	0.13	0.23	0.14	0.14	0.12	-				
DTP194 Y	0.54	0.15	0.15	0.16	0.13	0.22	0.18	-			
CM139	0.12	0.12	0.15	0.11	0.15	0.13	0.12	0.14	-		
CM140	0.16	0.17	0.14	0.14	0.16	0.19	0.12	0.19	0.20	-	
Ac7729	0.12	0.20	0.13	0.12	0.19	0.14	0.14	0.19	0.21	0.18	-
Ac7643	0.13	0.19	0.15	0.13	0.17	0.18	0.16	0.16	0.14	0.21	0.16

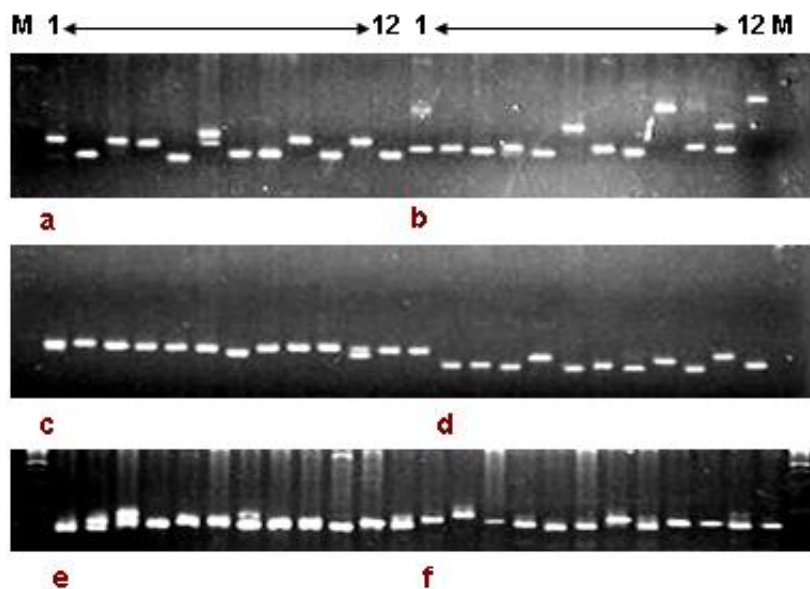
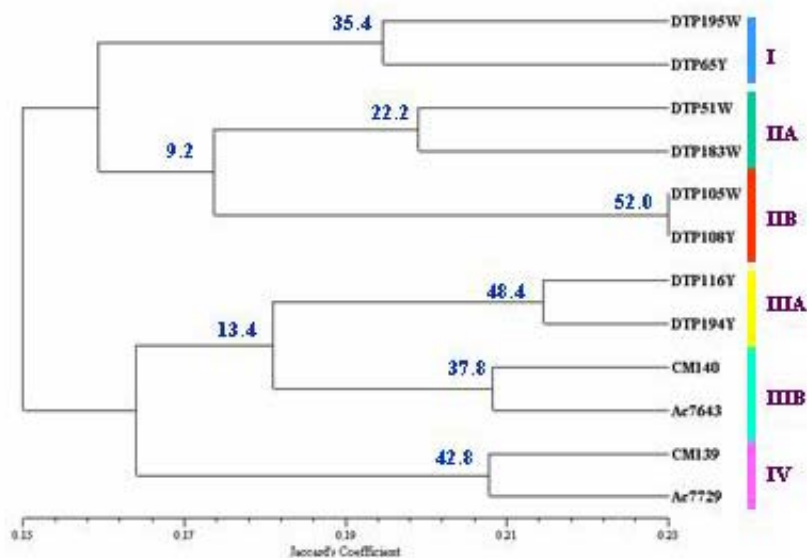
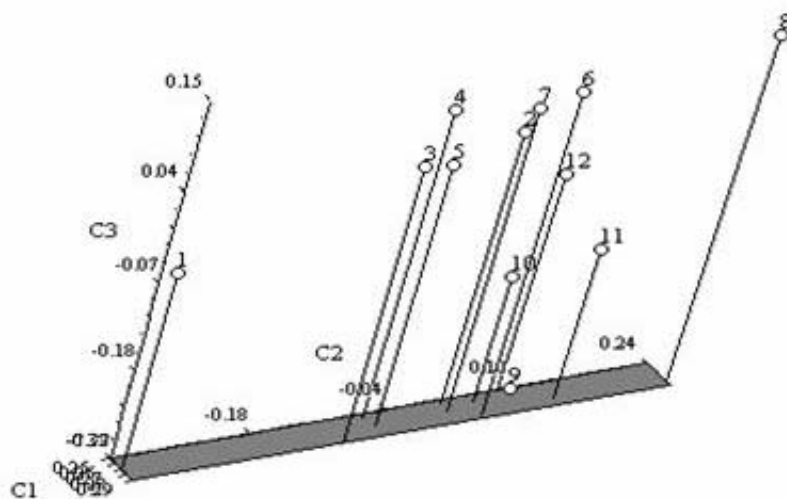


Figure 1: SSR polymorphism exhibited by the selected maize inbred lines.
 a: *bnlg420*; b: *bnlg1182*; c: *phi101*; d: *bnlg389*; e: *bnlg1729*; f: *bnlg2244*
 Lane information:
 1: DTP195W; 2: DTP51W; 3: DTP105W; 4: DTP183W; 5: DTP65W;
 6: DTP116Y; 7: DTP108Y; 8: DTP194Y; 9: CM139; 10: CM140;
 11: Ac7729; 12: Ac7643. M represents the 100-bp molecular size
 standard.



شکل شماره ۱: ارتباط ژنتیکی میان لاین های مورد استفاده



شکل شماره ۳: PCA برای داده های SSR

SID



سرویس های
ویژه



سرویس ترجمه
تخصصی



کارگاه های
آموزشی



بلاگ
مرکز اطلاعات علمی



عضویت در
خبرنامه



فیلم های
آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛
شبکه های توجه گرافی
(Graph Attention Networks)



کارگاه آنلاین آموزش استفاده از
وب آوساینس



کارگاه آنلاین مقاله روزمره انگلیسی