SID

فیلم های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترفند های جستجو

کارگاه آنلاین
پرپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

کارگاه آنلاین
بررسی مقابله ای متون (مقدماتی)

Archive of SID

اولین کنگره بین المللی
و سیزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات
و سومین همایش علوم وتکنولوژی بذر
1st International and
13th Iranian Crop Science Congress
3rd Iranian Seed science and Technology Conference

بررسی تنوع آللی *VRN-A1* در برخی از گندم‌های نان ایرانی

مریم فروغ[1]، خلیل زینلی نژاد[2]، سعید نواب پور[2]، محمد هادی پهلوانی[2]، مسعود سلطانی نجف آبادی[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی در کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
mf_ariana@yahoo.com

۲- عضو هیئت علمی گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج- بخش تحقیقات دانه‌های روغنی

چکیده:

یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تعیین کننده زمان گلدهی، نیاز بهاره سازی است. نیاز بهاره سازی، نیاز به قرار گرفتن به دمای پایین برای تسریع گلدهی در بهار است و در گندم با ژن *VRN1* کنترل می‌شود. بر اساس نیاز بهاره سازی، ژنوتیپ‌های گندم به دو دسته‌ی بهاره (دارای آلل غالب) و زمستانه (دارای آلل مغلوب) تقسیم می‌شوند. در این تحقیق تنوع آللی مکان ژنی *VRN- A1* در ۳۴ ژنوتیپ از گندم‌های نان ایرانی بررسی شد و گندم بهاره چینی به عنوان ژنوتیپ کنترل در نظر گرفته شد. برای اینکار از سه جفت آغازگر آلل اختصاصی که چهار نوع آلل *Vrn- A1a*، *Vrn-A1b*، *Vrn-A1c* و *vrn-A1* را نشان می دهند، استفاده شد. تنوع آللی در سطح *VRN-A1* نشان داد که ۵ ژنوتیپ دارای آلل *Vrn-A1a* و ۵ ژنوتیپ نیز دارای آلل *Vrn-A1b* بودند. ۲۵ ژنوتیپ آلل مغلوب *vrn- A1* نشان دادند. در نهایت در هیچ یک از این ژنوتیپ‌ها آلل *Vrn-A1c* مشاهده نشد. ژنوتیپ‌هایی که آلل مغلوب را نشان دادند با توجه به بهاره بودنشان احتمالا در دیگر مکان‌های ژنی *VRNB1* و *VRND1* دارای آلل‌های غالب باشند.

کلمات کلیدی: گندم نان، بهاره‌سازی، تنوع آللی، *VRN-A1*

مقدمه:

نیاز بهاره‌سازی یا نیاز سرمایی عاملی بر القای گلدهی در بسیاری از غلات نواحی معتدل شامل برخی ارقام گندم، جو، یولاف و چاودار می‌باشد. این گروه از غلات زمانی که بدون پیش تیمار سرمادهی رشد کنند برای مدت طولانی‌تری به حالت رویشی باقی مانده و یا هرگز وارد فاز زایشی نمی‌گردند. لذا در آنها سرما عاملی جهت تسریع عبور به فاز زایشی است (۲). بر اساس نیاز بهاره سازی گندم به دو دسته‌ی زمستانه و بهاره تقسیم می‌شود. در گندم ژن‌های *VRN-A1*، *VRN-B1* و *VRN-D1* که بر روی بازوی بزرگ کروموزوم‌های همولوگ 5A، 5B و 5D قرار دارند، مسول تنظیم ژنتیکی نیاز بهاره‌سازی هستند. بررسی تنوع آللی به دنبال تعیین آلل‌ها بر مبنای ژنوتیپ است که اطلاعات حیاتی محسوب می‌شود.

مواد و روش‌ها:

بذر ۲۷ ژنوتیپ گندم نان بهاره ایرانی به همراه بذر گندم بهاره چینی (جدول ۱) از بانک ژن موسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی (IPK) واقع در کشور آلمان و ۷ ژنوتیپ از ارقام اصلاح شده ایرانی از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج دریافت شد. پس از کاشت این ژنوتیپ‌ها در مزرعه‌ی تحقیقاتی شماره یک دانشگاه علوم کشاورزی گرگان، برگ گیاهان در مرحله‌ی پنجه زنی بمنظور استخراج DNA برداشت شد.

www.agrobreedcongress.ir

August 24-26,2014
Seed and Plant Improvment Institute Karaj, Iran
۴-۶ شهریورماه ۱۳۹۳
موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱: اسامی ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه.

1-ATRI60051	7-ATRI5956	13-ATRI6038	19-ATRI5504	25-ATRI5621	31-کویر
2- ATRI5989	8-ATRI5970	14-ATRI5947	20-ATRI5942	26-ATRI5881	32-پیشتاز
3-ATRI5975	9-ATRI5627	15-ATRI6095	21-ATRI6197	27-چینی بهاره	33-سرخ تخم
4-ATRI6172	10-ATRI5743	16-ATRI5485	22-ATRI5727	28-مروارید	34-بیستون
5-ATRI 6190	11-ATRI6047	17-ATRI5557	23-ATRI6030	29-قدس	35-هیرمند
6-ATRI 5961	12-ATRI5980	18-ATRI5945	24-ATRI6064	30-روشن	

سپس واکنش زنجیره‌ایی پلی‌مراز برای هر یک از آغازگرها با تفاوت در دمای اتصال آغازگرها و زمان بسط انجام شد. محصولات حاصل بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بار گذاری شدند و الکتروفورز بمدت ۱۲۰ دقیقه با ولتاژ ۱۲۰ ولت و با بافر TBE 0/5X انجام شد و آشکار سازی نوار ها به کمک اتیدیوم بروماید و با استفاده از دستگاه ژل داکیومنت انجام شد.

جدول۲: آغازگرهای مورد استفاده و پارامتر های PCR. اطلاعات بر اساس زنگ و همکاران (۲۰۰۸) می باشد.

مکان ژنی	آلل	نام آغازگرها	توالی آغازگرها	اندازه باندها bp	دمای اتصال (درجه سانتی گراد)	زمان بسط
Vrn-A1	*Vrn-A1a*	VRN1AF VRN1-INT1R	GAAAGGAAAAATTCTGCTCG GCAGGAAATCGAAATCGAAG	۹۶۵+ ۸۷۶	۵۰	۱دقیقه
	Vrn-A1b			۷۱۴		
	Vrn-A1c			۷۳۴		
	vrn-A1			۷۳۴		
	Vrn-A1c	Intr1/A/F2 Intr1/A/R3	AGCCTCCACGGTTTGAAAGTAA AAGTAAGACAACACGAATGTGAG A	۱۱۷۰	۵۶	۱دقیقه و ۵ ثانیه
	vrn-A1	Intr1/C/F Intr1/AB/R	GCACTCCTAACCCACTAACC TCATCCATCATCAAGGCAAA	۱۰۶۸	۵۸	۱دقیقه و ۵ ثانیه

جدول (۳) برنامه‌ی واکنش زنجیره‌ایی برای نشانگرهای آلل اختصاصی ***VRN-A1***.

مرحله اول	**واسرشت سازی اولیه**	**۹۴ درجه سانتی‌گراد**	**۱۰ دقیقه**
مرحله دوم	واسرشت سازی	۹۴ درجه سانتی‌گراد	۴۵ ثانیه
مرحله سوم	اتصال	دمای مناسب	۱ دقیقه
مرحله چهارم	سنتز و بسط	۷۲ درجه سانتی‌گراد	مدت زمان مناسب
مرحله پنجم	چرخه	تکرار مراحل ۴-۲ برای ۳۸ چرخه	
مرحله ششم	بسط نهایی	۷۲ درجه سانتی‌گراد	۵ دقیقه
مرحله هفتم	نگه‌داری	۴ درجه سانتی‌گراد	۱ ساعت

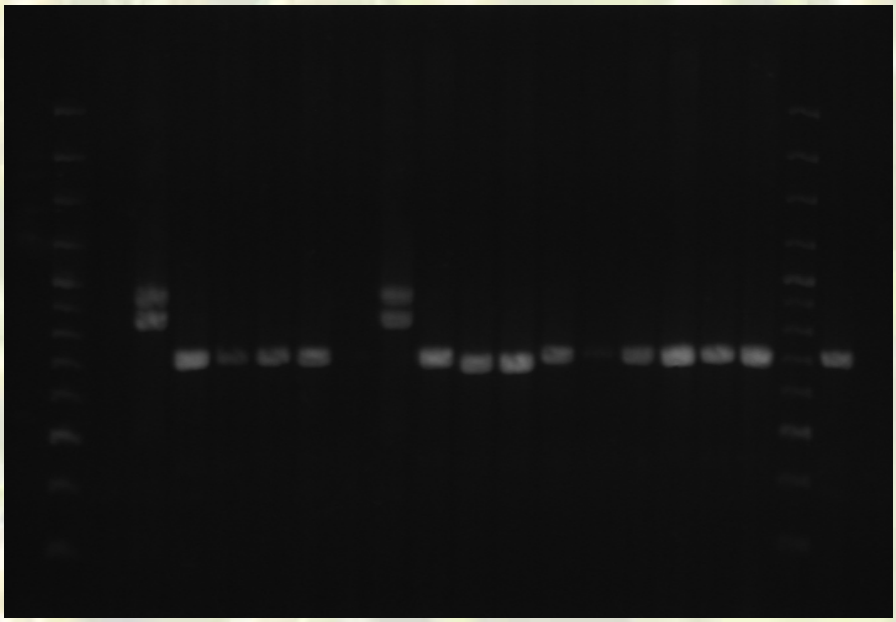
August 24-26,2014
Seed and Plant Improvment Institute Karaj, Iran
۲۴-۲۶ شهریورماه ۱۳۹۳
موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران
www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث:

ابتدا وجود آلل غالب در این مکان ژنی مورد بررسی قرار گرفت. برای این امر از جفت آغازگر VRN1AF و VRN1-INT1R برای ناحیه پروموتوری *VRN-A1* استفاده شد. باندهای مورد انتظار برای این جفت آغازگر در اندازه‌های ۸۷۶+۹۶۵، ۷۳۴ و ۷۱۴ است و نتایج (شکل۱) به شرح زیر می‌باشد:

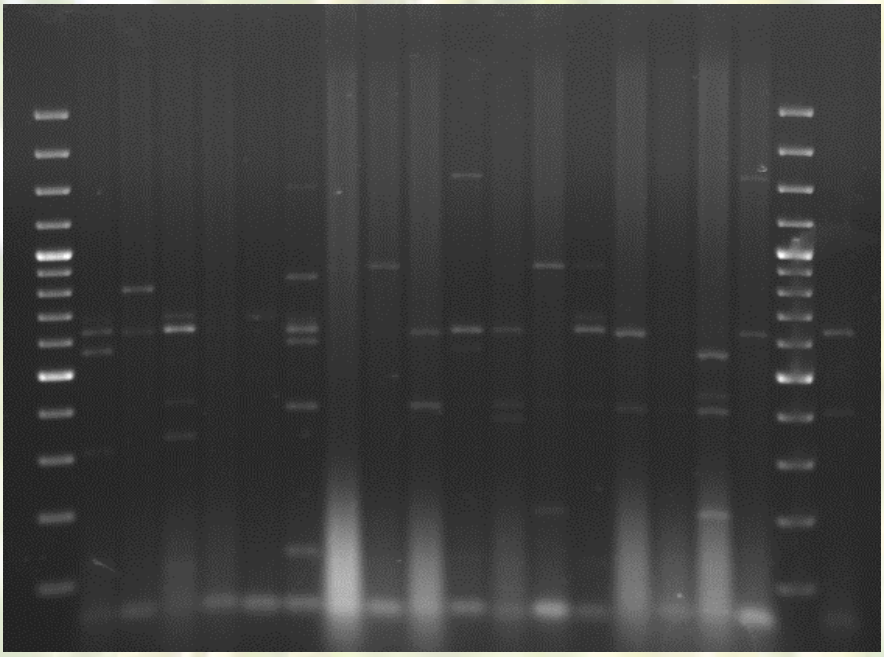
۵ ژنوتیپ به شماره‌های ۳۱، ۱۱، ۲۹، ۲۰ و ۲۶ دو باند با اندازه‌های ۹۶۵+۸۷۶ را نشان دادند که نشان می‌دهد دارای آلل غالب *Vrn-A1a* در این مکان ژنی بودند. ژنوتیپ‌های ۲۱، ۳۵، ۳۴، ۱۳، ۱۵ احتمال داده شد که دارای باند ۷۱۴ باشند و آلل غالب *Vrn-A1b* را دارند. در نتایج زنگ و همکاران (۲۰۰۸) هشت ژنوتیپ از ۲۷۸ ژنوتیپ باند bp ۷۱۴ را داشتند. سه ژنوتیپ با این آغازگر باندی را تکثیر نکردند که نیازمند مطالعات دقیق‌تر می‌باشد. ۲۵ ژنوتیپی که باند ۷۳۴ را نشان دادند برای تفکیک بین دو آلل *Vrn-A1c* و *vrn-A1* از جفت آغازگرهای دوم و سوم استفاده شد. نتایج پی‌سی‌آر با آغاز گر دوم باند مورد نظر ۱۱۷۰ را نشان نداد و بیانگر این بود که هیچ یک از این ۲۵ ژنوتیپ آلل غالب *Vrn-A1c* را ندارند. در تحقیق زنگ و همکاران (۲۰۰۸) هم ژنوتیپ کنترل گندم بهاره چینی هم فاقد باند بود در حالیکه نتایج پی‌سی‌آر با آغازگر سوم (شکل ۲) برای ۲۵ ژنوتیپ باند ۱۰۶۸ را نشان داد و موید این نتیجه بود که آلل مغلوب *vrn-A1* را این ژنوتیپ‌ها دارند اما در نهایت این نتیجه حاصل شد که با توجه به بهاره بودن گندم‌های مورد مطالعه باید در مکان ژنی *VRNB1* و *VRND1* این ژنوتیپ‌ها، آلل غالب وجود داشته باشد.



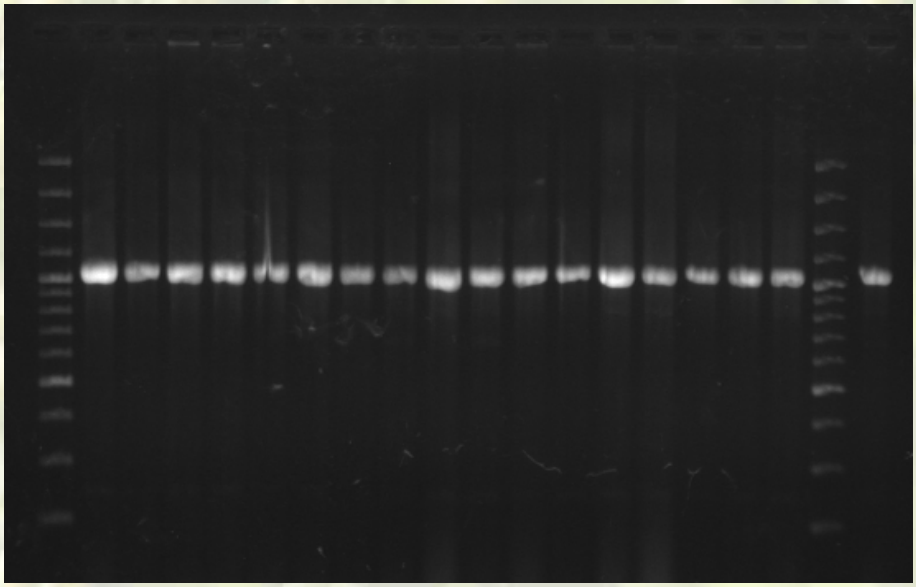
شکل(۱): الگوی نوار بندی حاصل از PCR با استفاده از جفت آغازگر VRN1AF و VRN1- INT1R با اندازه باندهای bp ۸۷۶+۹۶۵، ۷۳۴، ۷۳۴ و ۷۱۴.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل (۲): الگوی نوار بندی حاصل از PCR با استفاده از جفت آغازگر Intr1/A/F2 و Intr1/A/R3 با اندازه باند ۱۱۷۰bp.



شکل (۳): الگوی نوار بندی حاصل از PCR برای جفت آغازگر Intr1/C/F و Intr1/AB/R با اندازه باند ۱۰۶۸bp.

منابع:

1- **Zhang, X. K. Y. G. Xiao, Y. Zhang, X. C. Xia, J. Dubcovsky, and Z. H. He. 2008.** Allelic variation at the vernalization genes *Vrn-A1*,*Vrn-B1*, *Vrn-D1*, and *Vrn-B3* in Chinese wheat cultivars and their association with growth habit, Crop Science. 48,458–470.

2- **Trevaskis, B., Hemming, N.M., Dennis, E.S. and Peacock, W.J. 2007.** The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals, Plant Science 12, 8- 6.

Allelic variation of *VRN- A1* gene in Iranian bread wheats

Maryam Forough, Khalil Zaynali Nezhad, Saeid Navabpour, Mohammad Hadi Pahlavani, Masood Soltani Najafabadi

www.SID.ir

Archive of SID

Abstract:
One of the most important factors determining wheat flowering time is vernalization. Vernalization, the requirement of exposure to low temperature to accelerate flowering in spring, is mainly regulated by vernalization gene *VRN1*. Based on vernalization requirement wheat gynotypes are divided into two groups: winter (recessive allele) and spring (dominant allele) types. The current investigate was conducted to evaluate allelic variation among 34 wheat genotypes from Iranian wheats and Chinese spring as a control genotype. To detect allelic variation at loci *Vrn- A1,* allele specific markers were used. Three allele specific marker were used and four kind of alleles *Vrn-A1a, Vrn- A1b, Vrn- A1c* and *vrn-A1*were detected. Allelic variation at *VRN-A1*showed 5 genotypes had *Vrn-A1a* and 5 genotype had *Vrn- A1b* alleles. 25 genotype had *vrn- A1*.At last none of genotypes had *Vrn- A1c* allele. These 25 genotypes due to spring habit of them, it is possible in other locuses *VRNAB1* and *VRND1* have dominant alleles.
Key words: Bread wheat, Vernalization, Allelic variation, *VRN-A1*

www.SID.ir

SID

فیلم های آموزشی

سامانه ویراستاری STES

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترفند های جستجو

کارگاه آنلاین
پرپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

کارگاه آنلاین
بررسی مقابله ای متون (مقدماتی)