

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین
بررسی مقابله ای متون (مقدماتی)

کارگاه آنلاین
پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

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



مکان‌یابی QTL‌های موثر در کارایی کلسیم در مرحله رسیدگی جو با استفاده از نشانگرهای ISSR و SSR

زهرا پریخانی^۱، بهزاد صادق‌زاده^۲، سید ابوالقاسم محمدی^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه، z.parikhani@yahoo.com

۲. استادیار موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، مراغه، ایران، Behzada4@yahoo.com

۳. استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

چکیده

کمبود کلسیم (Ca) در خاک‌های برخی مناطق دنیا باعث کاهش عملکرد و ارزش غذایی غلات می‌شود. علی‌رغم وجود تنوع ژنتیکی در تحمل به کمبود کلسیم، انتخاب فنوتیپی برای کارایی کلسیم دشوار بوده ولی می‌توان از مارکرهای مولکولی برای این منظور استفاده کرد. به منظور درک بهتر اساس ژنتیکی کارایی کلسیم، یک جمعیت شامل ۱۴۸ دابلدهاپلوئید (DH) برای غلظت و محتوای کلسیم در مرحله رسیدگی در آزمایش گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار مطالعه گردید. جمعیت دابلدهاپلوئید حاصل تلاقی بین Clipper (با کارایی کم تجمع کلسیم) و Sahara3771 (با کارایی بالای تجمع کلسیم) بود. در این تحقیق ۳۰ نشانگر جدید ISSR به ۴۶۶ جایگاه قبلی روی نقشه پیوستگی جمعیت اضافه گردید. نشانگرها در مجموع ۱۴۶۰ سانتی‌مورگان را پوشش داده و متوسط فاصله دو نشانگر مجاور ۳ سانتی‌مورگان بود. تجزیه QTL منجر به شناسایی پنج و دو QTL به ترتیب برای صفات غلظت و محتوای کلسیم بوته شد؛ که این QTL‌ها توانستند به ترتیب ۷۵ و ۲۳ درصد از کل تنوع فنوتیپی را تبیین کنند. QTL واقع بر کروموزوم 2H با ۵۲ درصد بزرگ‌اثر ترین QTL برای غلظت کلسیم بوته بود. شناسایی QTL‌های بزرگ‌اثر در غلظت و محتوای کلسیم بوته، سودمندی استفاده از مارکرهای مولکولی در نقشه‌یابی ژنی برای کارایی کلسیم را نشان می‌دهد که از این پتانسیل می‌توان برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در آینده‌ای نزدیک در برنامه‌های اصلاح برای کارایی کلسیم استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: جو زراعی، کارایی کلسیم، مکان‌های ژنی صفات کمی (QTL)، نشانگرهای SSR و ISSR

مقدمه

گیاهان زراعی جهت داشتن رشد و نمو مطلوب نیاز به عناصر غذایی متعددی داشته، و کمبود این عناصر در خاک باعث کاهش رشد و تولید گیاه می‌گردد. عناصری نظیر کلسیم در مقادیر زیاد مورد نیاز گیاه بوده و کمبود آن در مراحل اولیه رشد گیاه باعث محدودیت رشد و در نهایت کاهش عملکرد دانه گیاهان زراعی از جمله جو می‌گردد کلسیم حدود ۰/۳ درصد از وزن خشک گیاه را تشکیل داده و از اجزای اصلی تشکیل دهنده ساختار دیواره سلولی است. این عنصر در فرایندهای حفظ ساختمان غشاء سلولی، تنظیم انتقال یون ها و کنترل تبادلات یونی نقش داشته و سبب تنظیم بسیاری از فرایندهای متابولیسمی و حالت نیمه تراوایی غشای سلولی، نشت یونی و حرکت میکروتوبول‌ها می‌گردد (White and Broadley, 2003). دسترسی گیاه به کلسیم باعث کاهش سرعت پیری و رسیدگی، ایجاد تحمل به پاتوژن‌ها و کاهش حساسیت به سرمازدگی بوسیله به تاخیر انداختن پیری دیواره سلولی، نگهداری و ثبات غشاء و طولانی کردن ظرفیت غشاء در انتقال سیگنالهای سلولی می‌شود.

کمبود کلسیم موجب از بین رفتن مریستم‌های گیاه گردیده و مانع توسعه برگ، و ساقه‌دهی می‌شود. بعلاوه کمبود آن باعث کاهش



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



ارزش تغذیه‌ای دانه گردیده و در نهایت به بیماری‌های نظیر پوکی استخوان و راشیتیزم در انسان منتهی می‌گردد. کمبود کلسیم اغلب در خاکهای اسیدی و شنی دیده می‌شود، که عمدتاً در خاک‌های اسیدی با ظرفیت تبادل کاتیون کم و نیز به دلیل استفاده بیش از حد کودهای پتاسه رخ می‌دهد (Chapman, 1966). در ایران بیش از ۶۰ درصد اراضی زیر کشت به درجات مختلف آهکی بوده و از نظر کلسیم غنی می‌باشد، البته کمبود این عنصر در خاک‌هایی با pH پایین‌تر از ۵/۵ در نوار شمالی کشور بیشتر قابل مشاهده است (سالاردین، ۱۳۷۰).

در دسترس بودن مقادیر کافی مواد مغذی در رژیم غذایی انسان در درجه اول به ترکیب آنها در محصولات غذایی اساسی مانند دانه غلات بستگی دارد. افزایش کیفیت تغذیه‌ای دانه غلات با استفاده از کودهای معدنی و یا اصلاح نباتات امکان پذیر است. یکی از راه‌های غلبه بر کمبود کلسیم در خاک‌های فقیر استفاده از کودهای کلسیم است. ولی متأسفانه تامین کود همواره هزینه زیادی را به زارع تحمیل کرده و باعث صدماتی نیز به محیط زیست خواهد شد. از اینرو برای توسعه پایدار در این زمینه اصلاح واریته‌هایی با کارایی بالای در جذب و تجمع کلسیم در دانه می‌تواند راه کار مناسبی در افزایش تولید و بهبود کیفیت غلات از جمله جو گردد.

شناسایی ژنوتیپ‌هایی متحمل به کمبود کلسیم در خاک‌های زراعی و نیز ژنوتیپ‌هایی با کارایی تجمع بالای کلسیم در بخش قابل استفاده گیاه مثل دانه از اهداف برنامه‌های اصلاحی در خاک مناطق فقیر از کلسیم می‌باشد. با توجه به وجود تنوع ژنتیکی برای کارایی جذب و تجمع کلسیم در گیاهان زراعی، امکان معرفی ارقامی با میزان جذب بیشتر و بهره‌وری بالای کلسیم در جو با روش‌های بهنژادی امکان‌پذیر می‌باشد. در واقع ژنوتیپ‌های جو با بهره‌وری بالای کلسیم در مقایسه با ژنوتیپ‌های ناکارا، قادرند با حداقل میزان کلسیم در دسترس، عملکرد اقتصادی قابل قبولی را تولید کرده و میزان بیشتری از کلسیم را در دانه انباشته کرده و به افزایش کیفیت دانه کمک نمایند. از اینرو استفاده از روش‌های بهنژادی در زمینه معرفی ارقامی با کارایی بالا در جذب و بهره‌وری کلسیم جهت تهیه و بهبود وضعیت غذایی ۸ میلیارد انسان در سال ۲۰۲۵ بیش از پیش اهمیت می‌یابد.

در طی دو دهه گذشته از نشانگرهای مولکولی متعددی برای مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی مختلف استفاده شده است. ابداع نشانگرها تجزیه ژنتیکی صفات کمی را تسریع کرده و مکان‌یابی ژنومی این قبیل صفات را امکان‌پذیر کرده است. مارتین و همکاران (۲۰۰۸) QTL‌های غلظت عنصر کلسیم را در ساقه گیاه *Brassica oleracea* و لیو و همکاران (۲۰۰۹) QTL‌های مرتبط با این عنصر را در اندام هوایی لاین‌های دابلدهاپلوئید کلزا را مکان‌یابی کردند. علی‌رغم وجود این قبیل مطالعات، ولی تاکنون مطالعه‌ای برای مکان‌یابی QTL‌های موثر در کارایی جذب و تجمع کلسیم در جو صورت نگرفته است. از اینرو شناسایی QTL‌های مرتبط با جذب و تجمع کلسیم می‌تواند به افزایش غلظت و میزان کلسیم در بوته و دانه منتهی شود. بعلاوه تعیین نحوه توارث و محل ژنومی ژن‌های کنترل‌کننده این صفات می‌تواند کمک شایانی به تولید ارقام با کارایی جذب بالای این عنصر حیاتی در جو نماید. از اینرو این تحقیق با هدف مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با نواحی ژنومی کنترل‌کننده تجمع کلسیم برای استفاده در برنامه‌های اصلاح جو برای اولین بار در جو انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده شامل ۱۴۸ لاین دابلدهاپلوئید جو، حاصل از تلاقی ارقام Sahara 3771 و Clipper می‌باشد. رقم Clipper (والد مادری) دارای رقم اصلاحی دو ردیفه با کارایی کم تجمع کلسیم، ولی رقم پدری (Sahara3771) بومی الجزایر و شش ردیفه بوده و از کارایی بالای تجمع کلسیم برخوردار است. برای ارزیابی فنوتیپی، جمعیت دابلدهاپلوئید به همراه والدین در گلدانهایی و در شرایط گلخانه‌ای و در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار مطالعه گردیدند.



چند شکلی والدین با استفاده از نشانگرهای ISSR و SSR انتخاب شده از کروموزوم‌های مختلف جو بررسی و نشانگرهای چند شکل برای غربال افراد جمعیت استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز انجام و محصولات تکثیر با استفاده از الکتروفورز ژل پلی آکرلامید ۴ درصد در دستگاه ژل اسکن ۳۰۰۰ (شرکت Corbett Robotics) تفکیک گردید.

تجزیه داده‌های فنوتیپی و آزمون نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و MSTATC انجام شد. قبل از تجزیه پیوستگی، نشانگرهای چند شکل، پس از بررسی تفرق مندی، آزمون نسبت ۱:۱ برای هر جایگاه با نرم‌افزار MapDisto (Lorieu, 2012) انجام و تهیه نقشه پیوستگی با استفاده از برنامه JoinMap 4 (Van Ooijen, 2006) با فرض حداقل LOD=۳ و حداکثر فاصله ۵۰ سانتی‌مورگان بین دو نشانگر مجاور انجام گردید. داده‌های حاصل به برنامه Windows Cartographer 2.5 (Wang et al, 2012) بر اساس روش مکان‌یابی مرکب منتقل و برای QTL‌های مکان‌یابی شده اثر افزایشی و سهم آن‌ها در تبیین واریانس فنوتیپی صفات تعیین شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس بین افراد جمعیت دابلدهاپلوئید از نظر غلظت و محتوای کلسیم اختلاف معنی‌داری وجود داشت که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی برای این صفات بود (جدول ۱). محدوده غلظت کلسیم، از ۰/۳۷ تا ۱/۲۷ درصد با میانگین ۰/۶۷ در جمعیت متغیر بود. مقادیر این صفت در Sahara 3771، ۰/۸۳ و در Clipper، ۰/۶۲ درصد بود (شکل ۱). محتوای کلسیم، در افراد جمعیت بین ۴/۹۶ تا ۱۴ میکروگرم با میانگین ۸/۴ در جمعیت بود. مقادیر این صفت در Sahara 3771، ۷/۷ و در Clipper، ۹/۱ میکروگرم بود. با توجه به همبستگی مثبت و بسیار زیاد غلظت و محتوای کلسیم در بوته ($r = 0.51^{**}$)، عموماً ژنوتیپ‌هایی با غلظت کلسیم بیشتر، از محتوای کلسیم بالاتری نیز برخوردار بودند. عبارت دیگر با انتخاب ژنوتیپ‌هایی با غلظت و محتوای کلسیم بیشتر در مرحله رویش می‌توان به بذوری با غلظت و محتوای کلسیم بیشتر نایل شد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس غلظت و محتوای کلسیم در مرحله رسیدگی در لاین‌های دابلدهاپلوئید جو حاصل از تلاقی ارقام Clipper و Sahara3771

منابع تغییر	میانگین مربعات		
	درجه آزادی	غلظت Ca	محتوای Ca
ژنوتیپ	۱۴۹	۰/۰۵**	۵/۰۶**
خطا	۳۰۰	۰/۰۰۵	۰/۷۰

**معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۲- میانگین، ضرایب تغییرات، حداقل اختلاف معنی دار صفات مورد مطالعه در لاین‌های جو (والدین و دابلدهاپلوئید)

Trait	Mean				DH lines			
	Clipper	Sahara	LSD ^a	CV%	Mean	range	LSD ^b	CV%
Ca concentration at Maturity	0.62	0.83	0.35	14	0.67	0.37 - 1.27	0.11	10
Ca content at Maturity	7.7	9.1	4	14	8.4	5.0 - 14.4	1.3	10

a : Average least significant difference (P = 0.05) for comparing between parental varieties.

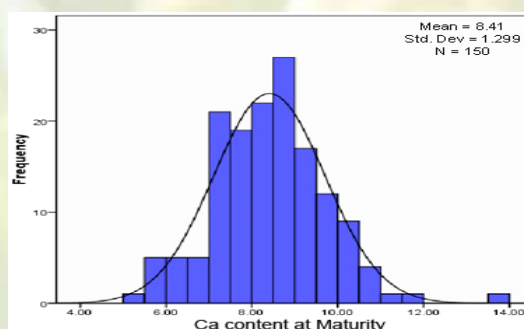
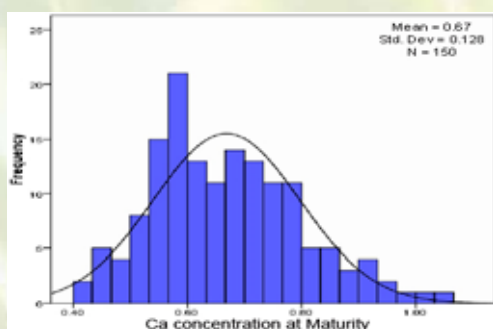
b : Average least significant difference (P = 0.05) for comparing among DH lines.

در صفات مورد بررسی لاین‌های دابلدهاپلوئید در خارج از محدوده دو والد قابل مشاهده هستند که نشانگر وجود تفکیک متجاوز در هر دو جهت است (شکل ۱). وجود تفکیک متجاوز احتمال شناسایی QTL‌ها برای صفات را افزایش داده و نشان می‌دهد که هر دو



والد شامل آل های مطلوب و نامطلوب در صفات مختلف هستند.

بر اساس تجزیه پیوستگی چند شکلی والدین Clipper و Sahara3771 با ۱۴ جفت آغازگر ISSR بررسی و ۳۰ نشانگر چند شکل برای غربال جمعیت به نقشه پیوستگی قبلی جمعیت (صادق زاده، ۲۰۰۸) اضافه شد. در مجموع ۲۹۶ نشانگر مشتمل بر ۲۴۶ نشانگر SSR و EST-SSR، ۲۳۸ نشانگر RFLP، یک نشانگر مورفولوژیک و ۱۱ نشانگر ISSR، ۱۴۶۰ سانتی مورگان از ژنوم جو را با متوسط فاصله دو نشانگر مجاور برابر ۳ سانتی مورگان تحت پوشش قرار دادند.



شکل ۱- توزیع فنوتیپی میانگین صفات غلظت و محتوای کلسیم در جمعیت دابلدهاپلوئید جو حاصل از تلاقی ارقام Sahara3771 و Clipper

برای غلظت کلسیم پنج عدد QTL شناسایی شد که در مجموع ۷۵ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را تبیین کردند. مکان شناسایی شده در کروموزوم 2H با اثر افزایشی 0.093 - بزرگ‌اثرترین QTL بود. این QTL در فاصله بین نشانگرهای Vrs1 و Bmag0125 با ۵۲ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را تبیین کرد.

دو QTL روی کروموزوم‌های 2H و 3H برای محتوای کلسیم بوته شناسایی شد. QTL واقع در کروموزوم‌های 2H، بین نشانگرهای awbma28 و abg312 با ۱۳ درصد تبیین واریانس فنوتیپی، تأثیر گذارترین QTL برای این صفت بود که اثر افزایشی 0.47 - نشان دهنده توارث آل مطلوب در این جایگاه از والد Sahara3771 به نتاج است. بطور خلاصه می‌توان گفت که شناسایی QTL‌های بزرگ اثر در غلظت و محتوای کلسیم بوته، سودمندی استفاده از مارکرهای مولکولی در نقشه‌یابی ژنی برای کارایی کلسیم را نشان می‌دهد که از این پتانسیل می‌توان برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در آینده‌ای نزدیک در برنامه‌های اصلاح برای کارایی کلسیم استفاده کرد.

منابع مورد استفاده:

سالاردینی، ع. (۱۳۷۰). حاصلخیزی خاک، انتشارات دانشگاه تهران.

Chapman, H.D. (1966). Calcium. In: H.D. Chapman (ed.), Diagnostic Criteria for Plants and Soils. Division of Agricultural Sciences, Uni. California: Berkley, USA. p 65-92

Liu, J., Yang, J., Li, R., Shi, L., Zhang, Ch., Long, Y., Xu, F. and Meng, J. (2009). Analysis of genetic factors that control shoot mineral concentration in rapeseed (*Brassica napus*) in different boron environments. *Plant and Soil*. 320: 255-266.

Lorieux, M. (2012). MapDisto: fast and efficiency computation of genetic linkage map *Mol. Breed.* 30: 1231-1235.

Martin, R.B., John, P.H., Graham J.K., Dave, A., Helen, C.B., Mark, C.M., Andrew, M., David, A.C.P., Graham, R.T., Rory, M.H., William, P.S. and Philip, J.W. (2008). Shoot Calcium and Magnesium Concentrations Differ between Subtaxa, Are Highly Heritable, and Associate with Potentially Pleiotropic Loci in *Brassica oleracea*. 146: 1707-1720.

Sadeghzadeh, B. (2008). Mapping of chromosome regions associated with seed Zn accumulation in barley.



PhD Thesis, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, The University of Western Australia, Perth, Australia.

Van Ooijen, J.W. (2006). JoinMap4, Software for the calculation of genetic linkage map in experimental populations. Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands.

Wang, S., Basten, C.J. and Zeng, Z-B. (2012). Windows QTL Cartographer V2.5-011. Raleigh, NC: Department of Statistics, North Carolina State University.

White, P.J. and Broadley, M.R. (2003). Calcium in plants. *Annals of Botany*. 92: 487–511.

Mapping of QTLs for calcium efficiency at the maturity stage in barley using ISSR and SSR markers

Zahra Parikhani¹, Behzad Sadeghzadeh², Seyed Abolghasem Mohammadi³

1: MSc. Student, Dept of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran. z.parikhani@yahoo.com.

2: Asc Professor at Dryland Agricultural Research Institute (DARI), Maragheh, Iran. Behzada4@yahoo.com.

3: Professor at Department of Plant Breeding and Biotechnology Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

Abstract

Calcium (Ca) deficiency in soils is a problem that reduces yield and grain nutritive value in some cereal growing regions of the world. Given that there is considerable genetic variation in tolerance to Ca deficiency, phenotypic selection is difficult and would benefit from the development of molecular markers. With the aim of understanding of genetic basis of Ca efficiency, a doubled-haploid (DH) population derived from a cross between Clipper (low Ca accumulator) and Sahara3771 (high Ca accumulator) was screened for the concentration and content of Ca at the maturity stage, under controlled condition. The experiment was conducted in RCBD with 3 replications. The new 30 ISSR marker loci were added to a backbone of 466 loci on the Clipper x Sahara DH linkage map. The map spanned 1460 centimorgans (cM) and had a mean density of 2 loci per 3 cM. The QTL analysis led to identification of 5 and 2 QTLs for shoot Ca concentration and content, respectively; which explained 75 and 23 percent of the total phenotypic variation, respectively. The QTL on chromosome 2H, with 52 % had a largest effect for concentration of Ca. The identifications of QTLs with large effects on shoot and grain Ca concentration and contents illustrate the usefulness of molecular markers in gene mapping and suggest that marker-assisted selection will be feasible in the near future in Ca efficiency breeding programs.

Keywords: barley (*Hordeum vulgare L.*), Calcium efficiency, quantitative traits loci (QTL), ISSR and SSR markers

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

توجه: بررسی مقاله ای متون (مقدماتی)

کارگاه آنلاین
بررسی مقابله ای متون (مقدماتی)

PROPOSAL
پروپوزال

توجه: پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

کارگاه آنلاین
پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

ISI
Scopus

توجه: آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو

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