L/O/G/O

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی
گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی
رشته اصلاح نباتات (ژنتیک بیومتری)

نقشه یابی نواحی ژنومی کنترل کننده تحمل به تنش آلومینیوم در لاین های خالص نوترکیب گندم نان

Mapping genomic regions controlling Aluminum Tolerance in Bread Wheat Recombinant Inbred Lines

استاید راهنما:

استاید مشاور:

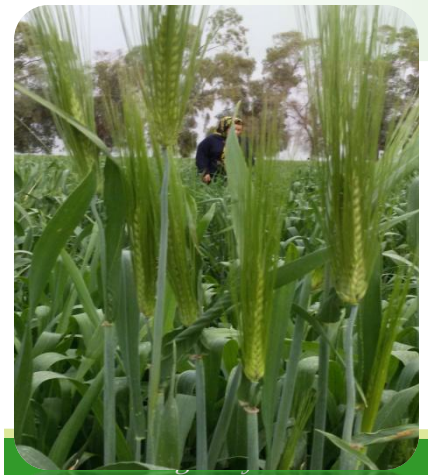
ارائه دهنده:

تعریف مسئله

گندم با سطح زیر کشت حدود **۲۳۲ میلیون هکتار** و میزان تولید حدود **۶۷۶ میلیون تن** (آمار سال ۲۰۱۱) مهم ترین گیاه زراعی دنیا محسوب می شود.

گندم به عنوان عمده ترین محصول زراعی کشور به طور متوسط سطحی معادل **٦/٦٥ میلیون هکتار** از اراضی کشور را به خود اختصاص می دهد.

گندم به عنوان منبع تولید کالری و پروتئین مورد نیاز جمعیت کشور می باشد. تخمین زده می شود که به طور متوسط ۵۰ درصد کالری دریافتی روزانه هر فرد ایرانی از نان تامین می شود.



میانگین مصراف سرانه گندم در ایران ۱۲۸ کیلوگرم در سال تخمین زده شده است

تنش فلزات سنگین

•یکی از مهم ترین فاکتورهای محدود کننده عملکرد گیاهان زراعی در سطح جهان و ایران فلزات سنگین است.

•فلزات سنگین از جمله مهم ترین آلاینده های زیست محیطی محسوب می شوند که کاربردهای زیادی در صنعت دارند. آلودگی محیط زیست با عناصر سنگین، باعث انتقال آن ها به محصولات زراعی خواهد شد که امروزه به عنوان یک مشکل جهانی در حال گسترش است.

•با وجود آلودگی منابع مورد استفاده به فلزات سنگین، ضمن کاهش کمی و کیفی محصولات کشاورزی، تولید پایدار و سلامت انسان ها نیز با خطر مواجه می شود.

تنش آلومینیوم

•آلومینیوم سومین عنصر فراوان پوسته زمین بعد از اکسیژن و سیلیسیم است که تقریبا ۷ درصد از جرم پوسته زمین را در بر می گیرد.

•آلومینیوم عمدتا به شکل کمپلکس های پایدار سیلیکات آلومینیوم وجود دارد که برای گیاهان غیر سمی است.

•آلومینیوم تحت شرایط اسیدی به صورت محلول درآمده و یک هگزا هیدرات هشت وجهی ($Al(H_2O)_6^{3+}$) را تشکیل می دهد که به صورت Al^{3+} شناخته می شود. این شکل آلومینیوم حتی در غلظت های میکرومولار نیز برای گیاهان سمیت دارد.

تنش آلومینیوم

•با کاهش pH خاک، فعالیت آلومینیوم در خاک و در نتیجه سمیت آن برای گیاه افزایش قابل توجهی پیدا می کند.

• اسیدی شدن خاک در سراسر جهان در نتیجه فعالیت انسان ها (افزایش آزادسازی آلاینده های صنعتی و استفاده مداوم از کودهای آمونیاکی یا حاوی آمید) در حال افزایش است.

•تقریباً ۳۰ درصد از کل مساحت زمین در سراسر جهان شامل خاک های اسیدی است و ۵۰ درصد زمین های زراعی دنیا بالقوه اسیدی هستند، در نتیجه سمیت آلومینیوم یکی از مهم ترین محدودیت ها برای تولیدات کشاورزی است.

اثر تنش آلومینیوم روی گندم

•عملکرد دانه حاصلضرب چند جزء می باشد که اجزاء عملکرد نامیده می شود. در گندم صفاتی از قبیل تعداد بوته در واحد سطح، تعداد سنبله در بوته، تعداد سنبلچه در سنبله، تعداد دانه در سنبله و وزن هزار دانه به عنوان اجزاء اصلی عملکرد دانه شناخته می شوند که افزایش آن ها موجب افزایش عملکرد در واحد سطح می شود.

•هر یک از اجزای اصلی عملکرد، در مرحله خاصی از رشد و نمو شکل گرفته و مشخص می شود. بنابراین تنش های محیطی و از جمله تنش آلومینیوم بسته به اینکه در چه مرحله ای از رشد و نمو گندم اتفاق می افتد، اجزای عملکرد را تحت تاثیر قرار می دهند.

•به دلیل این که تعداد سنبله در بوته (تعداد پنجه) در اوایل دوره زندگی گیاه تعیین می شود، لذا با وقوع شرایط نامساعد محیطی اواخر دوره رشد گیاه خسارت چندانی به این جزء از عملکرد وارد نخواهد شد.

اثر تنش آلومینیوم روی گندم

•با افزایش تنش های محیطی، تعداد دانه در سنبله در مقایسه با سایر اجزای عملکرد در گندم کاهش بیشتری نشان می دهد. در شرایط نامساعد تعداد زیادی از سنبلچه ها عقیم و همچنین وزن هزار دانه نیز به شدت کاهش می یابد.

•علایم سمیت آلومینیوم شامل کاهش بیوماس؛ تعداد و طول ریشه است که اغلب همراه با افزایش در میانگین شعاع ریشه می باشد و نیز کاهش در جذب آب و مواد غذایی معدنی که منجر به ضایعات شدید در توسعه ریشه و نهایتاً باروری گیاه می شود.

•اتصال آلومینیوم به اجزای دیواره سلولی، ظرفیت تبادل کاتیونی، ویسکوالاستیسیته و دیگر خصوصیات دیواره سلولی را تغییر می دهد و منجر به تغییراتی شده که رشد را متوقف می نمایند. در فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، نظیر فسفوریلاسیون قندها، تنفس، فتوسنتز، فعالیت ATPaseها و اسید فسفاتازها، سنتز آمینواسیدها، و نفوذپذیری غشای پلاسمایی نیز تغییراتی رخ می دهد.

تعریف مسئله

کاربرد مکان یابی صفات کمی (QTL) در به نژادی برای تحمل به آلومینیوم

- در طی قرن اخیر روش های اصلاحی مرسوم در معرفی ارقام با پتانسیل بالا و متحمل به تنش های غیر زنده نقش اساسی داشته است. اما این روش ها بسیار وقت گیر و هزینه بر هستند. انتقال ژن های مطلوب از یک گیاه به گیاه دیگر از طریق این روش ها معمولا همراه با انتقال ژن های نامطلوب پیوسته با آن ها نیز می باشد.

- یکی از محدودیت های اصلی در بهبود تحمل به تنش آلومینیوم کنترل این صفت توسط تعداد زیادی ژن با اثرات افزایشی است که با ژن های عملکرد نیز اثر متقابل دارند. بنابراین برای بهبود و سازماندهی تحمل به تنش همواره به روش هایی با کارایی بیشتر نیاز است.

تعریف مسئله

کاربرد مکان یابی صفات کمی (QTL) در به نژادی برای تحمل به آلومینیوم

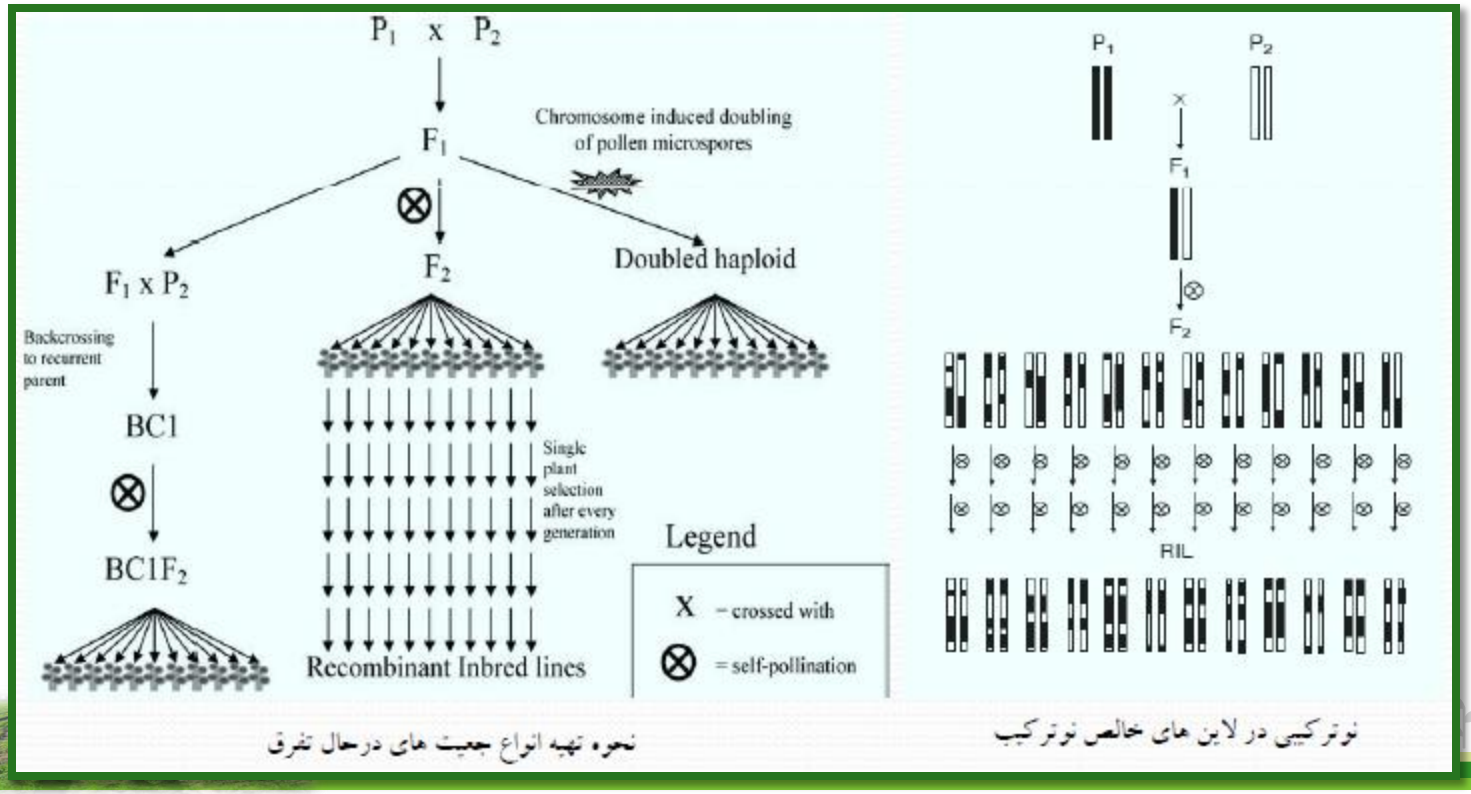
- امروزه با پیشرفت های اخیر در زمینه تهیه نقشه ژنتیکی گیاهان و روش های مولکولی و بیولوژی می توان از راهبردهای جدیدی همانند مکان یابی نواحی کنترل کننده صفات کمی یا QTL برای بهبود تحمل به تنش ها بهره جست. نقشه یابی QTL امکان تعیین موقعیت، تعداد، شدت و نوع عمل ژن های مرتبط با صفات را فراهم می سازد.

- در نقشه یابی QTLها ابتدا ارزیابی فنوتیپی صفات در تعداد زیادی از گیاهان حاصل از جمعیت های در حال تفکیک انجام و سپس نقشه پیوستگی با استفاده از نشانگرهای مولکولی مختلف تهیه و در نهایت تجزیه آماری برای تعیین جایگاه کروموزومی کنترل کننده صفت انجام می شود.

ضروریات و مراحل نقشه یابی QTL

۱- تهیه نقشه ژنتیکی

الف) ایجاد یک جمعیت در حال تفرق



تعریف مسئله

ب- استفاده از نشانگرهای مولکولی در تعیین چندشکلی در والدین

از نشانگرهای DNA نظیر SNP، SSR، AFLP، CAPS، RAPD، RFLP و دیگر نشانگرها در گیاهان مختلف استفاده می شود که هر کدام از این نشانگرها دارای مزایا و معایبی هستند.

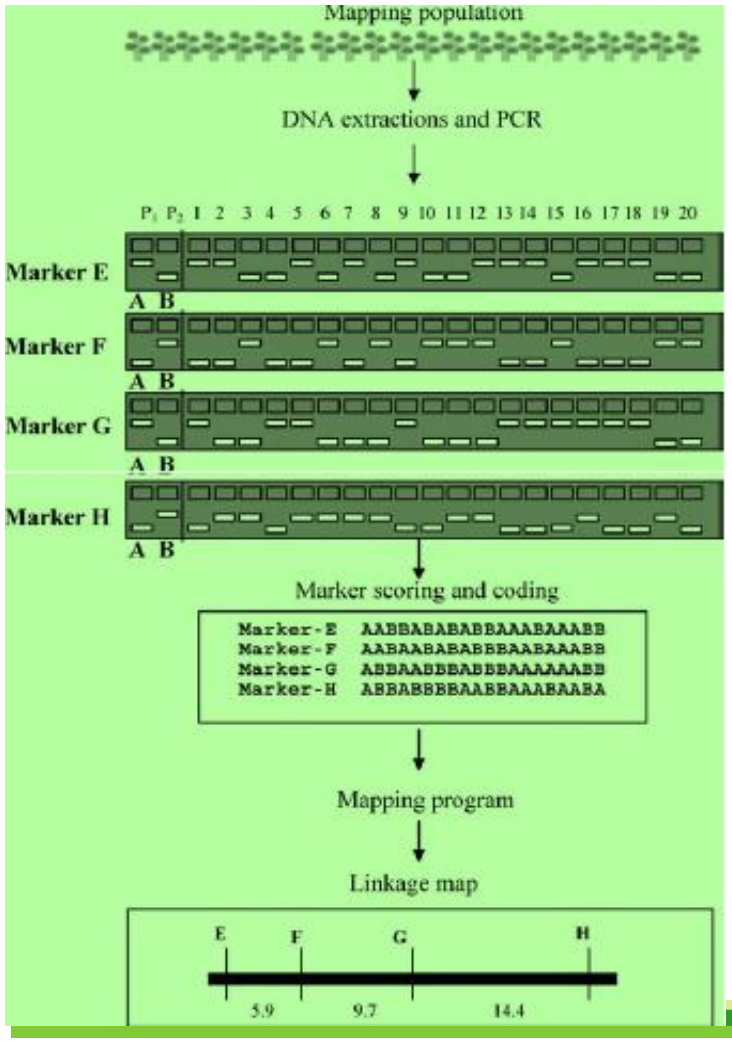
در سال های اخیر از توالی های مشتق شده از EST (Expressed Sequence Tags)، به عنوان نشانگر برای توسعه نقشه های ژنتیکی و مکان یابی QTLها استفاده می شود.

نشانگرهای EST-SSR از جمله نشانگرها می باشند که از نواحی بیان شده ژن ها مشتق می شوند. این توالی ها بسیار حفاظت شده هستند و در نتیجه بین گونه های مختلف قابل انتقال می باشند.

ج- تهیه پیوستگی نشانگرها

•تهیه نقشه ژنتیکی با استفاده از تجزیه و تحلیل نوترکیبی بین نشانگرهای چند شکل در جمعیت مورد مطالعه و با استفاده از نرم افزارهای کامپیوتری انجام می شود. پیوستگی بین نشانگرها با استفاده از نسبت وجود پیوستگی به عدم پیوستگی و به صورت لگاریتم نسبت یا LOD بیان می شود.

•نشانگرهای پیوسته روی یک کروموزوم، یک گروه پیوستگی را تشکیل می دهند که در صورت کم بودن تعداد نمونه ممکن است تعداد گروه های پیوستگی بیشتر از تعداد کروموزوم ها شود.



۲- تبدیل نسبت های نوترکیبی به فواصل فیزیکی (سانتی مورگان)

- به دلیل خطی نبودن نسبت نوترکیبی و فراوانی کراسینگ آور در فواصل بزرگ، با استفاده از توابع Haldane و یا Kosambi نسبت های نوترکیبی به فواصل فیزیکی یعنی سانتی مورگان تبدیل می شوند.

۳- شناسایی QTLها

- روش های مورد استفاده شامل: ۱- روش تک نشانگری، ۲- نقشه یابی فاصله ای ساده، ۳- نقشه یابی فاصله ای مرکب، ۴- نقشه یابی فاصله ای چندگانه

- در این روش ها از تکنیک های آماری مختلفی مانند آزمون t، تجزیه واریانس، تجزیه رگرسیون و روش حداکثر درستنمائی برای تعیین QTLها استفاده می گردد.

نقشه یابی QTL و استفاده عملی آن در اصلاح نباتات

- **Marker- Assisted Selection**

- انتخاب به کمک نشانگر می تواند سبب صرفه جویی در وقت، کاهش اشتباه در ارزیابی فنوتیپی، امکان انتخاب ژنوتیپ در مرحله گیاهچه، ادغام همزمان چندین ژنوتیپ در یک ژنوتیپ خاص، جلوگیری از انتقال ژن های مضر به همراه ژن مورد نظر و در نهایت انتقال صفات با وراثت پذیری کم شود.

- از نشانگرهای با پیوستگی بالا با QTLها می توان به عنوان ابزار شناسایی ژنوتیپ های حامل ژن یا QTLهای مورد نظر برای انتخاب افراد در یک جمعیت با تعداد زیاد ژنوتیپ استفاده نمود که این سبب کارایی بیشتر انتخاب می شود. همچنین در برخی موارد می تواند همراه با انتخاب فنوتیپی به صورت Index selection سبب کارایی بیشتر انتخاب شود.

نقشه یابی QTL و استفاده عملی آن در اصلاح نباتات

- **Marker-assisted Gene Introgression**
  - از نشانگرهای با پیوستگی قوی با QTLها می توان در برنامه های تلاقی برگشتی (Marker Assisted Backcrossing) و یا انتقال ژن از خزانه گونه های اجدادی و وحشی به جوامع زراعی (Introgression) استفاده کرد. در روش تلاقی برگشتی به کمک مارکر با استفاده از نشانگرهای با پیوستگی قوی با QTLها در والد دوره ای می توان به طور همزمان انتقال QTLها و بازیابی ژنوم والد دوره ای به همراه صفت مورد نظر را تسریع کرد که این می تواند سبب صرفه جویی در وقت شود.

- **Marker-assisted Gene Pyramiding**
  - شامل تجمع دادن چندین QTL با اثرات مطلوب در یک ژنوتیپ می باشد که می تواند به کمک روش Marker-based Recurrent Selection (MBRS) انجام بگیرد.

بررسی منابع

•سوزوکی پنتو و همکاران (Suzuky Pinto et al., 2010) مطالعه ای را برای شناسایی QTLهای مربوط به صفات مرفولوژیک، فنولوژیک و زراعی تحت شرایط تنش خشکی و گرما بر روی جمعیت تحت مطالعه گندم (Babax و Seri M82) انجام دادند و موفق شدند ۱۰۴جایگاه واجد QTL برای کلیه صفات شناسایی کنند.

•در آزمایشی که در رابطه با شناسایی QTLهای کنترل کننده تحمل به آلومینیوم در برنج با استفاده از ۱۷۵ نشانگر RFLP و ایزوزایم صورت گرفت، ۲ عدد QTL تعیین مکان گردید که ۶/۲۱ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمودند (Zhou et al., 2007).

•در یک جمعیت برنج شامل لاین های اینبرد نوترکیب تحت شرایط نرمال و تنش آلومینیوم، ۱ و ۳ QTL برای صفت طول ریشه و ۵ QTL برای طول نسبی ریشه شناسایی شد (Nguyen et al., 2003).

بررسی منابع

•در پژوهشی که به منظور مکان یابی QTLهای کنترل کننده تحمل به آلومینیوم در یونجه انجام گرفت، ۳ QTL روی گروه های لینکاژی LG I، LG II و LG III شناسایی شد که به ترتیب ۳۸، ۱۶ و ۲۷ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه کردند (Narasimhamoorthy et al., 2007).

•سیباو و همکاران (Sibov et al., 1999)، دو QTL به نام ALM1 و ALM2، به ترتیب بر روی کروموزوم های ۶ و ۱۰ نقشه یابی کردند که در کنترل ژنتیکی مقاومت به آلومینیوم در ذرت نقش دارند.

•نینامانگو- کاردنس و همکاران (Ninamango-Cárdenas et al., 2003)، پنج QTL متحمل به آلومینیوم بر روی کروموزوم های ۲، ۶ و ۸ ذرت نقشه یابی کردند، که ۶۰ درصد تنوع فنوتیپی این صفت را توضیح می دهد. از این QTLها در دو مطالعه نقشه یابی ژنتیکی ذرت، تنها QTLروی کروموزوم ۶، سازگار بود، که معادل ALM1 بود.

فرضیه ها

۱. والدین و جمعیت گندم نان مورد مطالعه از نظر تحمل به آلومینیوم تفاوت دارند و در یک کلاس قرار نمی گیرند.

۲. مکان های ژنی صفات مورد ارزیابی سهم بالایی از تنوع مشاهده شده را توجیه می نمایند.

۳. برخی QTLهای مربوط به صفات فنوتیپی گندم کمتر تحت تاثیر محیط بوده و در دوسال متوالی پایدار خواهند بود.

۴. امکان یافتن مکان های ژنی برای صفات فنوتیپی با پیوستگی بالا با نشانگرهای مورد مطالعه وجود دارد.

۵. صفات مختلف از نظر میزان اثرات افزایشی متغیر می باشند و پتانسیل مختلفی برای انتخاب دارند.

اهداف

۱- برآورد پارامترهای تنوع ژنتیکی، پیشرفت ژنتیکی و وراثت پذیری صفات مورد بررسی و تعیین بهترین صفات با همبستگی بالا با عملکرد تحت شرایط مختلف محیطی
۲- مطالعه ارتباطات مستقیم و غیر مستقیم بین صفات و شناخت ماهیت این ارتباطات

۳- تعیین جایگاه QTLهای کنترل کننده صفات در هر یک از گروه های پیوستگی یا کروموزوم های گندم و تعیین سهم آن ها در تحمل به تنش آلومینیوم
۴- تعیین آلل های افزایش دهنده صفات در هر یک از والدین
۵- مطالعه اثر پلیوتروپی، اثر متقابل QTLها و نیز اثر محیط × QTL
۶- تعیین نشانگرهای مولکولی پیوسته با QTLهای مهم و مفید جهت انتخاب لاین های برتر از لحاظ تحمل به تنش آلومینیوم
۷- مقایسه QTLهای شناسایی شده تحت تنش آلومینیوم و نرمال و تشخیص QTLهای پایدار جهت استفاده انتخاب به کمک نشانگر

جنبه جدید بودن و نوآوری طرح

این مطالعه به عنوان یک طرح بنیادی و کاربردی در راستای برنامه های به نژادی گندم می باشد و تاکنون تحقیقی درباره نقشه یابی نواحی ژنومی صفات فیزیولوژیک و مرفولوژیک گندم نان مرتبط با تحمل به آلومینیوم در مراحل مختلف رشد گیاه در شرایط واقعی یا مزرعه ای برای این جامعه در جهان انجام نشده است.

موقعیت و شرایط اقلیمی مکان های اجرای پژوهش

لاین های مورد استفاده در این تحقیق

عملیات زراعی و خصوصیات مورد بررسی

تجزیه های آماری

جمعیت مورد بررسی شامل ۱۶۷ لاین خالص نوترکیب گندم نان به همراه والدین آن ها می باشد که نام و شجره آن ها به شرح زیر است:

Seri M82: (KavKaz/Buho//Kalyansona/Bluebird)

Babax : (Bow/NAC//VEE/BJY/3/COC)

این لاین های نوترکیب پس از تلاقی والدین با خودگشنی در نسل های متوالی و انتخاب از تک گیاه تا نسل ۷ در مرکز بین المللی تحقیقات ذرت و گندم (CIMMYT) تهیه شده اند.

خصوصیات ارقام والدینی

Seri M82: یک لاین نیمه پاکوتاه و دارای جابجایی 1BL.1RS (جابجایی بازوی کوتاه کروموزوم 1R چاودار روی بازوی بلند کروموزوم 1B) است. از این جابجایی به دلیل وجود ژن های مقاومت به سفیدک پودری، زنگ زرد، زنگ قهوه ای و زنگ سیاه در ناحیه 1RS به طور وسیعی در برنامه های اصلاحی استفاده می گردد. این لاین دارای پتانسیل عملکرد بالایی بوده و به خشکی حساس است.

Babax: یک لاین با پتانسیل بالای عملکرد و نیمه پاکوتاه است که جابجایی 1BL.1RS روی کروموزوم 1BL را ندارد. این لاین دارای سازگاری وسیع و به تنش خشکی شدید مقاوم است.

۲- آزمایش مزرعه ای

۱۶۷ لاین خالص نوترکیب گندم نان (Seri/Babax) و والدین آن ها (Seri82 و Babax) در قالب طرح آلفا لاتیس با دو تکرار (۱۳ بلوک ناقص و در هر بلوک ناقص ۱۳ لاین) در دو شرایط بدون تنش و تنش آلومینیوم در دو سال زراعی در ایستگاه تحقیقات کشاورزی حسن آباد شهرستان داراب اجرا خواهد شد.

قبل از انجام عملیات آماده سازی و اجرای نقشه آزمایش، به منظور تعیین بافت خاک، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و وضعیت عناصر غذایی، از عمق ۳۰-۰ سانتی متری در ۵ نقطه از خاک مزرعه نمونه برداری صورت می گیرد.

نقشه طرح آزمایشی
سال اول

Rep2 | Rep1

31	3	150	48	99	93	85	88	34	74	84	25	72	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
10	161	149	24	94	160	146	59	136	19	14	62	104	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
140	114	168	16	141	22	101	76	158	152	154	162	128	39	38	37	36	35	34	33	32	31	30	29	28	27
164	71	98	27	131	18	127	169	112	75	120	21	53	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
77	155	144	133	134	37	70	58	138	121	116	2	67	65	64	63	62	61	60	59	58	57	56	55	54	53
91	107	29	81	157	118	166	8	124	26	50	148	106	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78
113	129	65	52	105	97	102	92	110	135	123	13	137	91	90	89	88	87	86	85	84	83	82	81	80	79
115	83	9	73	79	109	89	60	139	126	100	33	4	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104
82	47	95	147	30	66	44	153	51	46	64	41	55	117	116	115	114	113	112	111	110	109	108	107	106	105
61	130	132	111	40	56	108	78	39	86	142	63	38	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130
35	45	151	57	15	167	145	32	163	17	36	80	122	143	142	141	140	139	138	137	136	135	134	133	132	131
119	54	1	7	43	159	11	96	12	20	117	42	5	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156
87	103	23	69	125	165	6	28	90	156	49	68	143	169	168	167	166	165	164	163	162	161	160	159	158	157

Stress trial

123	33	70	101	16	144	146	52	145	71	59	129	25	23	105	79	106	37	87	97	89	6	24	65	123	93
3	62	32	60	40	104	128	168	103	166	76	34	119	10	86	1	131	144	156	125	17	130	136	146	140	115
17	45	164	124	94	167	67	126	89	24	98	106	43	25	165	9	98	57	132	38	61	69	14	164	58	19
96	140	15	142	19	139	51	27	107	22	102	9	63	55	2	76	46	168	141	32	158	43	13	62	3	47
90	64	116	156	79	31	28	57	68	6	77	131	50	108	85	102	82	39	133	50	99	95	149	129	22	27
11	7	150	75	100	149	53	61	165	18	80	161	132	36	72	31	159	28	45	113	151	114	8	64	34	26
120	13	127	74	30	141	121	92	113	114	65	115	73	162	100	4	40	134	152	137	54	70	11	30	63	52
58	12	159	137	152	4	21	5	133	8	163	108	82	148	127	60	118	167	35	77	48	91	147	59	157	126
1	66	153	35	134	97	93	112	95	99	44	78	10	20	163	111	44	68	81	121	120	142	12	153	83	88
38	138	86	122	111	91	14	37	23	136	118	157	69	16	119	112	74	90	33	139	96	49	124	107	92	138
169	54	135	56	55	130	148	42	117	158	160	84	87	109	73	80	154	21	169	51	7	103	117	15	128	135
125	20	147	110	36	162	29	26	41	49	46	155	47	67	42	29	84	56	145	78	94	71	143	41	104	66
105	48	88	81	83	72	39	154	151	109	85	2	143	110	150	75	160	101	161	18	122	166	53	5	155	116

نقشه طرح آزمایشی
سال دوم

Rep2													Rep1												
1	43	80	24	99	31	98	10	42	72	32	54	16	20	114	31	78	14	93	105	79	27	44	104	60	13
57	79	119	56	167	89	165	47	105	164	114	81	150	119	37	112	66	130	45	131	57	113	98	12	80	71
87	134	2	86	67	13	71	127	148	25	64	125	26	21	85	8	143	1	153	26	120	5	144	159	123	50
28	109	166	147	110	82	160	18	62	111	136	12	149	92	59	43	70	84	151	52	154	132	22	39	139	91
133	37	15	70	3	117	40	135	163	73	97	39	66	67	2	152	129	164	25	165	137	51	160	138	61	117
48	118	93	100	141	77	92	124	91	11	143	49	126	145	106	96	4	53	83	121	11	107	115	9	122	28
108	162	9	132	41	155	4	44	63	142	65	55	104	30	47	136	75	146	33	162	147	62	161	87	148	72
23	58	123	22	74	101	106	156	5	102	17	159	29	97	150	36	42	110	169	41	82	35	68	158	48	109
88	140	90	107	154	35	161	51	115	130	33	116	60	38	76	149	135	10	94	163	95	142	166	3	140	88
122	38	53	78	14	131	27	151	83	50	157	46	144	118	7	64	125	63	155	15	133	55	116	40	81	29
68	139	113	153	76	85	169	45	129	75	6	103	7	77	102	156	32	111	54	167	86	157	23	108	73	99
121	146	8	69	145	168	94	19	137	95	128	158	96	17	58	126	101	128	134	6	18	168	100	141	124	56
21	59	120	138	30	36	152	112	34	61	84	52	20	103	127	19	65	46	34	90	74	69	24	89	49	16

Stress trial

72	93	74	84	34	85	25	3	150	99	88	48	31	28	6	80	104	27	45	94	12	105	75	18	127	7
104	160	19	14	136	146	62	161	149	94	59	24	10	96	134	66	151	70	120	58	126	40	135	93	60	117
128	22	152	154	158	101	162	114	168	141	76	16	140	33	169	15	11	159	17	150	91	119	4	155	26	85
53	18	75	120	112	127	21	71	98	131	169	27	164	103	79	139	95	52	100	56	34	72	140	44	149	68
67	37	121	116	138	70	2	155	144	134	58	133	77	29	46	39	71	30	157	61	148	25	113	156	109	9
106	118	26	50	124	166	148	107	29	157	8	81	91	133	82	147	59	160	1	164	98	106	48	83	31	129
137	97	135	123	110	102	13	129	65	105	92	52	113	10	111	14	165	49	121	57	13	163	142	90	154	55
4	109	126	100	139	89	33	83	9	79	60	73	115	116	67	158	86	166	38	110	89	37	167	8	99	118
55	66	46	64	51	44	41	47	95	30	153	147	82	22	138	53	21	101	114	168	20	141	74	128	63	108
38	56	86	142	39	108	63	130	132	40	78	111	61	102	47	132	145	50	16	62	152	64	162	54	143	41
122	167	17	36	163	145	80	45	151	15	32	57	35	36	123	78	35	122	81	161	136	77	19	130	124	76
5	159	20	117	12	11	42	54	1	43	96	7	119	88	3	87	97	73	65	5	42	92	153	84	2	144
143	165	156	49	90	6	68	103	23	125	28	69	87	23	146	51	115	32	131	107	125	24	69	137	112	43

Rep1

۲- آزمایش مزرعه ای

•عملیّات کاشت به صورت خشکه کاری انجام می شود. در اوایل آذرماه بذور ژنوتیپ های مورد آزمایش پس از ضد عفونی با قارچ کش کاربوکسی تیرام به میزان ۴۰۰ بذر در متر مربع در عمق تقریبی ۳ سانتی متر با دستگاه بذرکار کاشته می شوند. هر ژنوتیپ در پلات های سه ردیفی به طول ۲ متر و فاصله بین خطوط ۲۰ سانتی متر کشت می گردند.

•در طول فصل زراعی مراقبت های زراعی لازم شامل مصرف کود سرک، وجین علف های هرز، کنترل آفات و بیماری ها از مزرعه به عمل می آید.

•آبیاری بر اساس نیاز و مرحله رشد گیاه و شرایط آب و هوایی منطقه در طول فصل زراعی انجام می شود.

۲- آزمایش مزرعه ای

در محیط تنش، اعمال کلرید آلومینیوم (ALCL3.6H2O) با غلظت ۸۰۰ میکرو مولار به صورت محلول پاشی از طریق خاک و همراه با آب آبیاری در مراحل مختلف رشدی (سه مرحله پنجه دهی، ساقه دهی و گلدهی) صورت خواهد گرفت.

صفات فنولوژیکی

صفات زراعی و مرفولوژی

صفات فیزیولوژیکی

صفات بیوشیمیایی

صفات فنولوژیکی

روز تا جوانه زنی	روز تا شیری شدن دانه
روز تا پنجه دهی	روز تا خمیری شدن
روز تا ساقه دهی	رسیدگی فیزیولوژیک
روز تا گلدهی	طول دوره رویشی

صفات زراعی و مرفولوژی

۱۰ درصد پوشش سبز (Grand Cover)

GROUND COVER – VISUAL

Visual ground cover ratings;

A) 1 or 10% cover,
B) 3 or 30% cover,
C) 5 or 50% cover,
D) 9 or 90% cover.

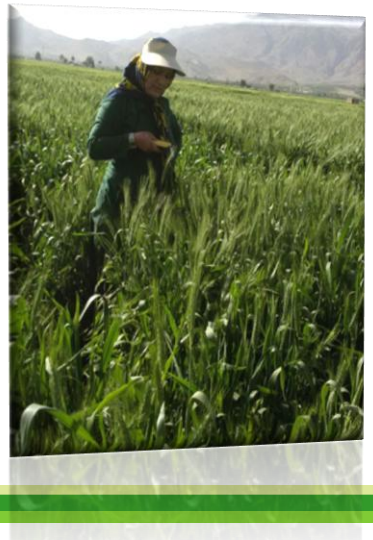
صفات زراعی و مرفولوژی

۱۰ درصد پوشش سبز (Grand Cover)

صفات زراعی و مرفولوژی

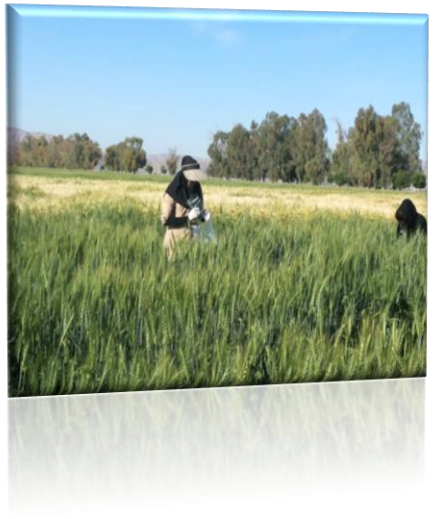
۲. دمای کانوپی (Canopy Temperature)

۳. تنزل دمای کانوپی (CTD)



صفات زراعی و مرفولوژی

۴ میزان نسبی کلروفیل



صفات فیزیولوژیکی

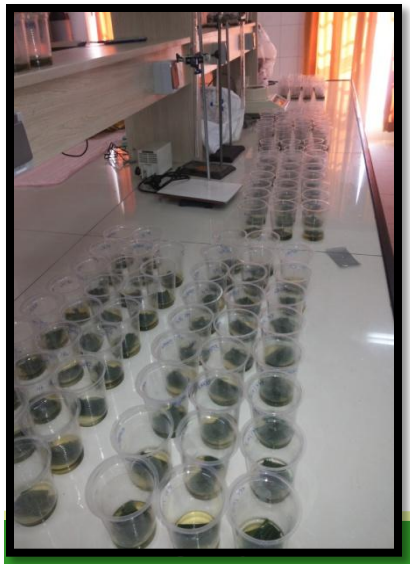
-محتوی کلروفیل برگ

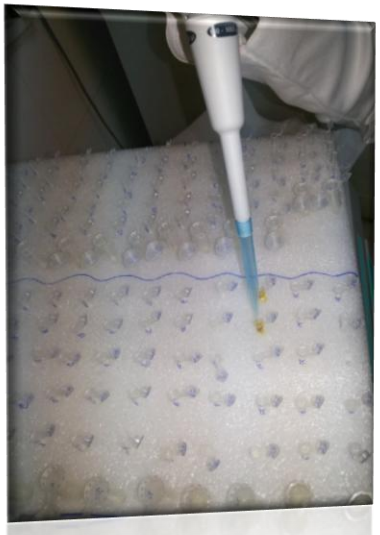
- میزان پرولین برگ

- میزان رطوبت نسبی (RWC)

- میزان کربوهیدرات های محلول (WSC)

- ضریب پایداری غشاء سلولی (CMS)





صفات فیزیولوژیکی

-آنزیم های آنتی اکسیدان نظیر:

- آسکوربات پراکسیداز

- گایاکول پراکسیداز

- آنزیم کاتالاز

صفات بیوشیمیایی

-عناصر سدیم و پتاسیم

- نسبت سدیم به پتاسیم

-آلومینیوم

۴- تجزیه و تحلیل آماری صفات مورد بررسی و ارزیابی فنوتیپی

- مرتب سازی داده ها در هر دو سال آزمایش
- انجام آزمون نرمال بودن داده ها
- تجزیه واریانس ساده برای هر دو محیط نرمال و تنش در هر سال
- آزمون بارتلت
- تجزیه مرکب در هر سال
- و همچنین تجزیه مرکب دو ساله بر اساس طرح آزمایشی مذکور انجام می گیرد.

۴- تجزیه و تحلیل آماری صفات مورد بررسی و ارزیابی فنوتیپی

آنالیزهای تک متغیره و چند متغیره

- تجزیه خوشه ای
  - توارث پذیری عمومی و پیشرفت ژنتیکی
- رگرسیون مرحله ای
  - آماره های توصیفی
- تجزیه ضرایب مسیر
  - ضرایب همبستگی ساده فنوتیپی و ژنوتیپی
- تجزیه به عامل ها
  - تجزیه به مؤلفه های اصلی

۵- ارزیابی ژنوتیپی (نقشه یابی QTL)

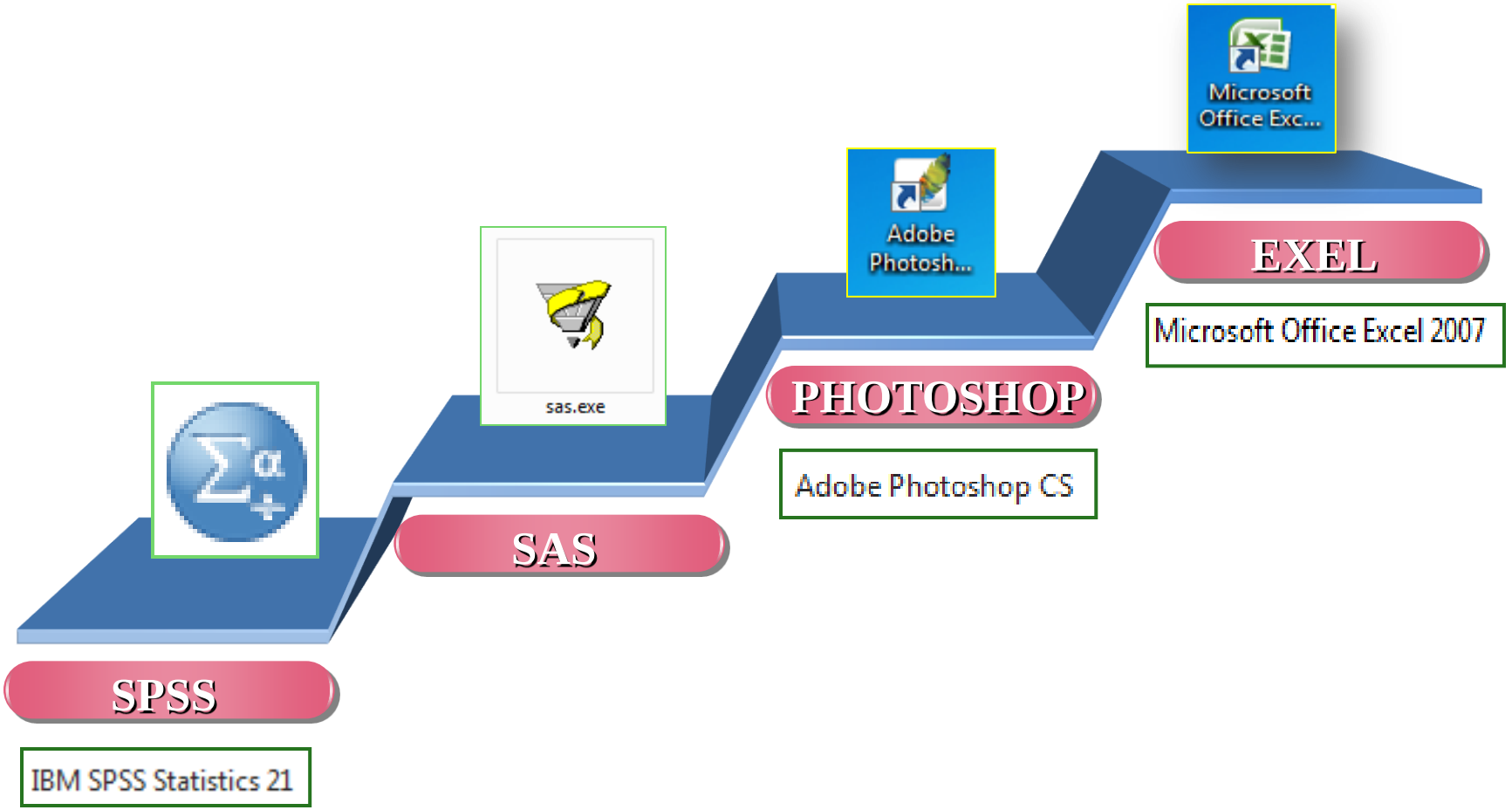
- نقشه پیوستگی نشانگرهای مولکولی برای شناسایی نواحی ژنومی صفات مورد مطالعه شامل ۲۱۱ نشانگر AFLP، ۱۱۴ نشانگر DArT و ۱۲۰ نشانگر SSR می باشد که توسط مک اینتایر و همکاران (۲۰۱۰) تهیه شده است.

۵- ارزیابی ژنوتیپی (نقشه یابی QTL)

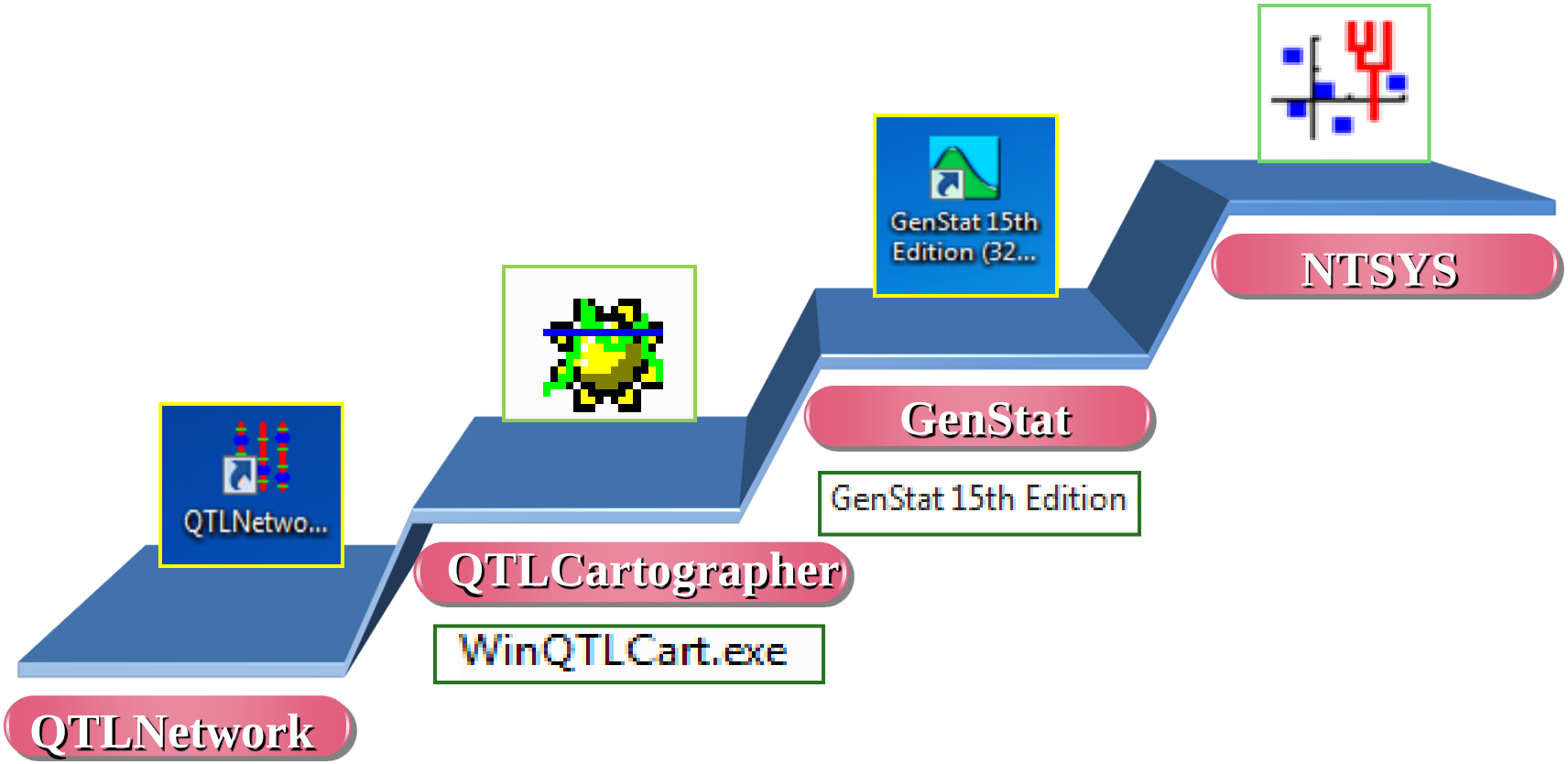
داده های مربوط به ترتیب نشانگرها و فواصل بین آنها و همچنین داده های فنوتیپی برای هر صفت به نرم افزار QTLCartographer for Windows Version 2.0 انتقال می یابد. QTLها بر اساس نقشه یابی فاصله ای مرکب یا CIM (Composite Interval Mapping) و با روش رگرسیون پیش رونده و حذف پس رونده و با فواصل پویش ۲ سانتی مورگان و LOD=۳ نقشه یابی خواهد شد.

برای بررسی اثر متقابل QTL و محیط در هر صفت از نرم افزار QTLNetwork version 2.0 استفاده خواهد شد.

نرم افزارهای آماری برای ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی



نرم افزارهای آماری برای ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی



- با انجام این تحقیق پیش بینی می شود که علاوه بر تعیین برخی پارامترهای ژنتیکی مفید مانند تنوع ژنتیکی موجود بین لاین های مورد مطالعه و برآورد اجزای واریانس ژنتیکی و فنوتیپی، مکان QTLهای کنترل کننده برخی صفات مرتبط با تحمل به تنش آلومینیوم تعیین گردد.
- همچنین با تعیین نشانگرهای مفید و همبسته با این QTLها می توان به انتخاب لاین های با عملکرد بالا و متحمل به تنش آلومینیوم اقدام کرد.

با تشکر

GALLERY.JENDJ.COM - FOT.IR

هدفمندترین کلمه موفقیت است.....

پس پیش به سوی آن

PresenterMedia