

محاضرة رقم (٧)
الاتجاهات حديثة في تربية النبات
لطلاب المستوي الرابع برنامج الانتاج النباتي
(محاصيل و بساتين)
اعداد

دكتور / إسماعيل محمود احمد بديوي

استاذ مساعد تربية المحاصيل

لمزيد من المعلومات يرجى التواصل عبر البريد الالكتروني

ismail_bedawy@yahoo.com

Construction of linkage maps

رسم وعمل الخرائط الارتباطية الوراثية

تعرف الخريطة الارتباطية الوراثية بانها:

- هي خريطة للاتحادات الجديدة والتي حدثت بين الكروموسومات المتشابهة اثناء الانقسام الميوزي.
- وهي تعتبر كخارطة طريق لمعرفة التغيرات في الاجيال الجديدة الناتجة عن التزاوج بين ابيين مختلفين.
- الاهمية الكبرى للخرائط الارتباطية هي تعريف اجزاء معينة من الكروموسومات تحتوي علي الجينات المسؤولة عن وراثة الصفات سواء الكمية QTL او الوصفية المدروسة او المرغوبة.
- هنا يظهر مصطلح Quantitative Trait Loci (QTL) وهي عبارة عن المواقع الوراثية المسؤولة عن توارث الصفات الكمية للصفة المرغوبة
- يمكن ان تسمى الخرائط الوراثية ايضا باسم QTL Mapping

انواع العشائر المستخدمة في الخرائط الوراثية

- تتطلب الخرائط الارتباطية عشائر انعزالية ناتجة من تزاوج جنسي بين فردين ولا بد ان يكونا الفردين مختلفين علي الاقل في الصفة المراد دراستها

- حجم العشيرة المراد دراستها لا يقل عن ٥٠ ويمكن ان يصل الي ٢٥٠ تركيب وراثي فردي

- امكن في السنوات الاخيرة استخدام عشائر ارتباطية (مجموعة من الافراد يتبعون نفس النوع النباتي الا انهم مختلفين وراثيا ومظهريا ولا تمون الاختلافات بينهم ناتجة عن التهجين بين ابين) في عمل الخرائط الارتباطية وتسمى الخرائط في هذه الحالة باسم

- Association mapping – GWAS

- الشريحة التالية توضح بالرسم انواع العشائر المستخدمة في دراسات الخرائط الارتباطية والمنحدرين من التزاوج بين ابين مختلفين وهم

- Doubled haploid (DH) lines

- Back crossing with recurrent parent عشائر التهجين الرجعي لاحد الاباء

- و Recombinant Inbred lines (RIL) وهي عشائر الاتحادات الجديدة بعد عدد ٥ او

٦ اجيال انعزالية

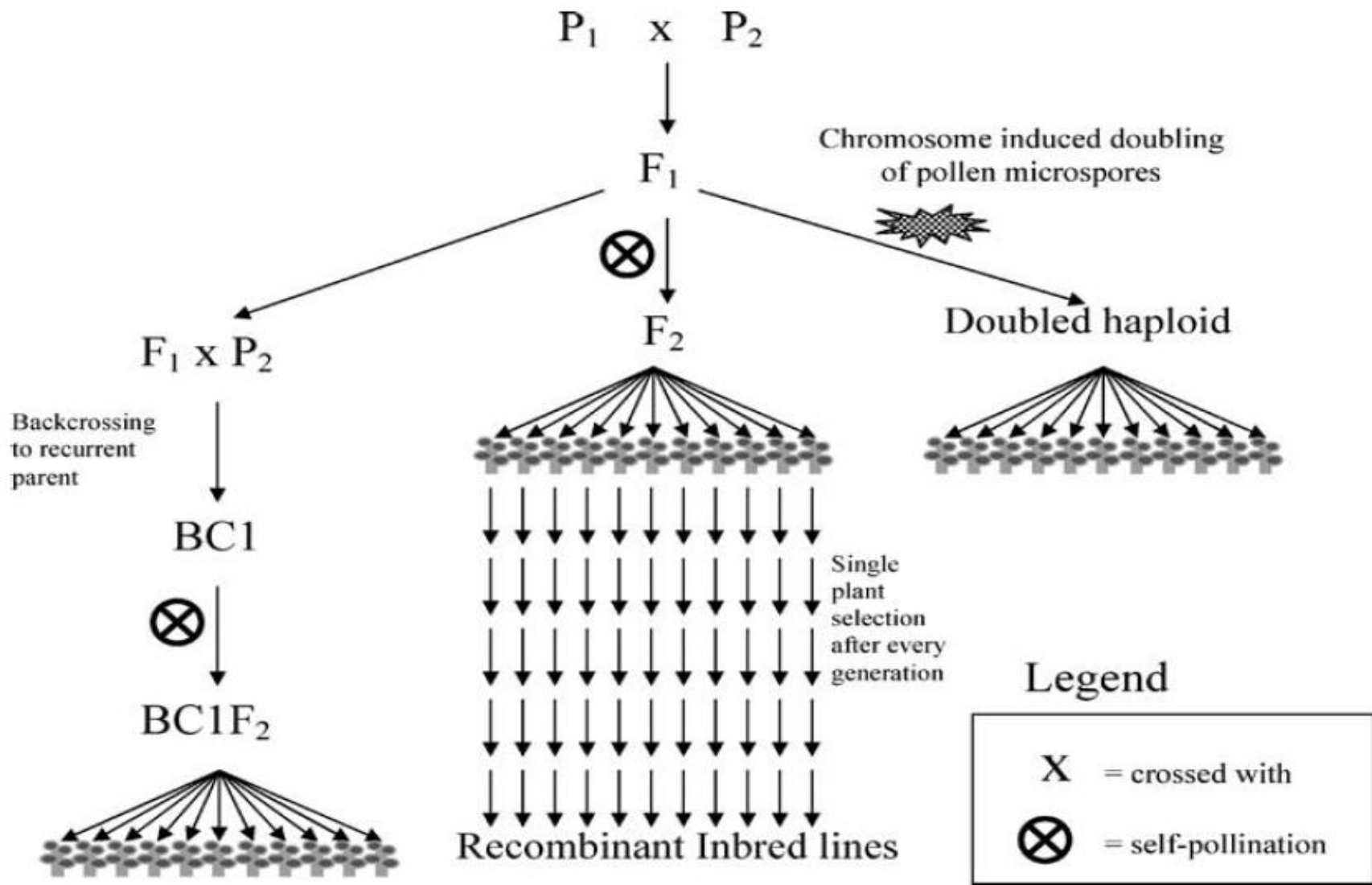


Figure 4. Diagram of main types of mapping populations for self-pollinating species.

• QTL analysis

• تحليل ال QTL

Principle of QTL analysis

اساسيات التحليل

- يعتبر تعريف جين او QTL مسؤل عن وراثة الصفة شئ في منتهي الصعوبة
- لكن تحليل ال QTL مع وجود المعلومات الاساسية يمكن عن يعرف المواقع الوراثة المسؤولة عن الصفات الكمية.
- ١- بداية لابد من وجود نوع من الماركز يغطي كل الجينوم (التركيب الوراثة)
- ٢- ثم بعد ذلك يتم تقسيم الجينوم الي مجموعات (كروموسومات) عن طريق الماركز
- ٣- من المعروف ان الماركز الموجودة والمعرفة لا توجد في جميع الافراد فقد توجد علي كروموسومات لبعض الافراد او تغيب
- ٤- من هنا يوجد لكل ماركر حالتين موجود 1 Presence او 0 Absence
- ٥- الجدول التالي يبين بصورة بسيطة وجود او عدم ماركز معينة في تركيب وراثي معين وهي من نوع DArT markers

اسم الماركر

الكروموسوم

الموقع علي
الكروموسوم

التراكيب الوراثية

الماركر موجود 1

الماركر غائب 0

	MarkerName	Chromosome	ChromosomePosition	ICB180001	ICB180006	ICB180007	ICB180013	ICB180014	ICB180018	ICB180035	ICB180044	ICB180046	ICB180049	ICB180051	ICB180052	ICB180063	ICB180068	ICB180069	ICB180070
1																			
2	bPb-7697	1H	3.27	0	1	0	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0	0	0	0
3	bPb-6451	1H	3.27	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1
4	bPb-9881	1H	7.21	1	0	1	1	0	0	0	1	X	1	1	1	X	1	1	1
5	bPb-1165	1H	7.21	1	0	1	1	0	0	0	X	1	1	1	1	0	1	1	1
6	bPb-3622	1H	7.21	1	0	1	1	0	0	0	X	1	1	1	1	0	1	1	1
7	bPb-2723	1H	11.54	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
8	bPb-3249	1H	11.54	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
9	bPb-7043	1H	11.54	0	0	1	0	X	1	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0
10	bPb-9608	1H	11.54	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	X	0
11	bPb-7137	1H	11.74	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
12	bPb-2055	1H	12.96	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
13	bPb-0487	1H	12.96	1	1	0	1	0	1	1	X	1	0	0	1	1	1	1	1
14	bPb-8973	1H	13.14	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
15	bPb-1318	1H	13.14	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
16	bPb-9414	1H	16.10	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
17	bPb-9604	1H	16.10	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0
18	bPb-0473	1H	18.94	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
19	bPb-7306	1H	19.11	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	bPb-5638	1H	19.11	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
21	bPb-6408	1H	40.53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
22	bPb-9418	1H	40.53	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	X	1
23	bPb-3217	1H	40.53	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	X	1
24	bPb-9423	1H	48.95	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
25	bPb-1347	1H	48.95	1	0	X	0	1	0	1	0	1	0	0	X	0	1	1	1
26	bPb-0429	1H	52.77	1	X	1	0	1	0	0	0	1	0	0	X	0	1	1	1
27	bPb-9333	1H	52.77	1	X	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1

Identification of polymorphism

هذه هي الخطوة الثانية في تحليل QTL يجب ان تكون المراكز المستخدمة في الدراسة تظهر اختلافات فيما بينها ... بمعنى اذا كان لدي عدد حوالي ١٠٠٠ مراكز لجينوم العشيرة يجب ان يكون كل ماركر منها يظهر اختلافات علي مستوي ال DNA علي السلالات موضع الدراسة ويسمي هذا الماركر polymorphic markers

اما اذا كانت المراكز متشابهة بين بعضها اي تشترك في نفس المعلومات وتسمي Monomorphic markers ويجب في هذه الحالة اجراء عملية تنقية للمراكز المتشابهة فاذا كانوا اكثر من اثنين يظهروا نفس المعلومات فيجب ترك واحد فقط ومسح الاخرين

مثال رقمي في بحث (Bedawy et al., 2018) تم عمل تنقية لعدد 7680 SNPs Markers لتصبح في النهاية عدد 5892 polymorphic markers والذين استخدما فعليا في البحث عن جينات المقاومة لمرض اللفحة المتأخرة في ١٤٠ تركيب وراثي من الشعير البري والمنزوع (عشيرة ارتباطية)

Methods to detect QTL

طرق تحديد واكتشاف ال QTL

طريقة Single-marker analysis

وهي ابسط طريقة لتعريف ال QTL المرتبط بالصفة

- تحليل ال QTL احصائيا ما هو الا تحليل انحدار يستخدم لربط البيانات المورفولوجية الماخوذة من النباتات في الحقل وبين البيانات الوراثية علي مستوي ال DNA
- عن طريق هذا التحليل يتم الكشف عن المواقع الوراثية ال QTL المرتبطة بالصفة موقع الدراسة
- النتائج دائما تاتي في صورة رقمية وهي عبارة عن تغيير في المتوسط العام للصفة سواءا بالارتفاع او الانخفاض في وجود هذا الماركر المرتبط فعليا ب ال QTL

متطلبات تحليل ال QTL

- ١- عشيرة نباتية (تحتوي علي ٥٠ - ٢٥٠ تركيب وراثي)
 - ٢- الصفة موضع الدراسة (الصفة المظهرية الماخوذة علي تلك السلالات)
 - ٣- مراكز تغطي التركيب الوراثي او الجينوم باكملة
 - ٤- برنامج تحليل احصائ مناسب لربط البيانات المظهرية بالوراثية (لتحديد ال QTL المرتبط بالصفة)
- في هذه النقطة يمكن استخدام برامج مثل

SAS – TASSEL – R-package

Mining the global diversity of barley for Fusarium resistance using leaf and spike inoculations.

Ismail M. A. Bedawy, Heinz-Wilhelm Dehne, Jens Leon and Ali Ahmad Naz (Euphytica (2018) 214:18)

في هذا البحث اراد الباحث البحث عن جينات المقاومة لفطر الفيوزاريوم الذي يصيب محصول الشعير عن طريق عدوي الاوراق والسنابل المواد المستخدمة:

- ١- عشيرة نباتية لمحصول الشعير تحتوي علي ١٤٠ تركيب وراثي مختلف ومنها الشعير البري من دول مختلفة من العالم وكذلك الشعير المنزرع (عشيرة ارتباطية)
- ٢- اجراء عدوي صناعية في الاصص في الصوبة علي الاوراق والسنابل ل ١٤٠ تركيب
- ٣- جمع قراءات الاصابة بعد حدوثها (نسب الاصابة وهي الصفة المظهرية موضع الدراسة)
- ٤- عمل ماركرز تم في هذا البحث بنوعين مختلفين
 - أ- DArT markers (895 markers)
 - ب – SNPSs markers (5892 markers)
 - ٥- التحليل الاحصائي ببرنامج SAS

اظهرت التراكيب الوراثية درجات مختلفة من المقاومة في السنتين ومثلت بالشكل التالي:

المتوسط العام للإصابة في الاوراق

المتوسط العام للإصابة في السنابل

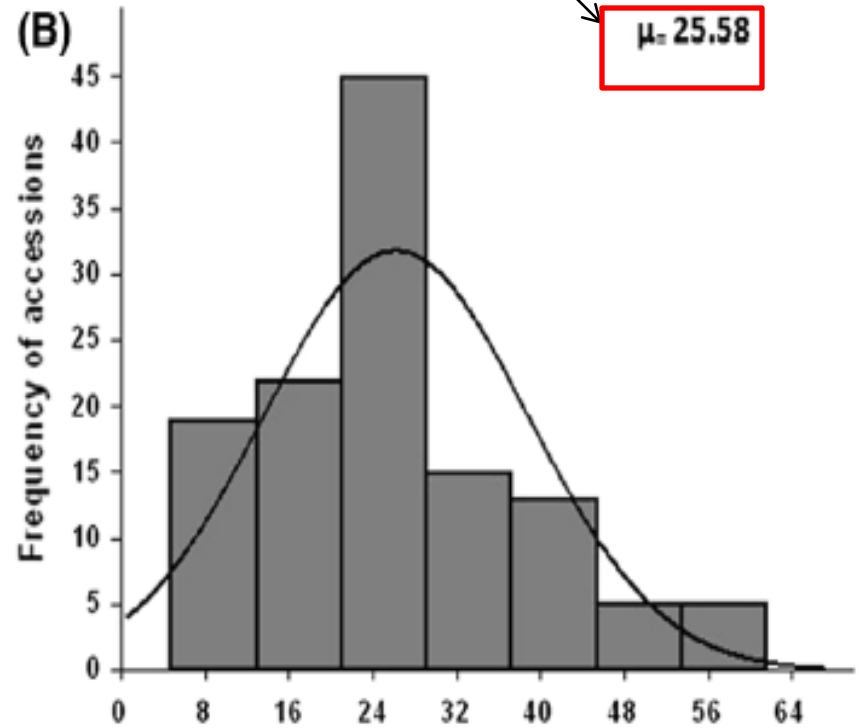
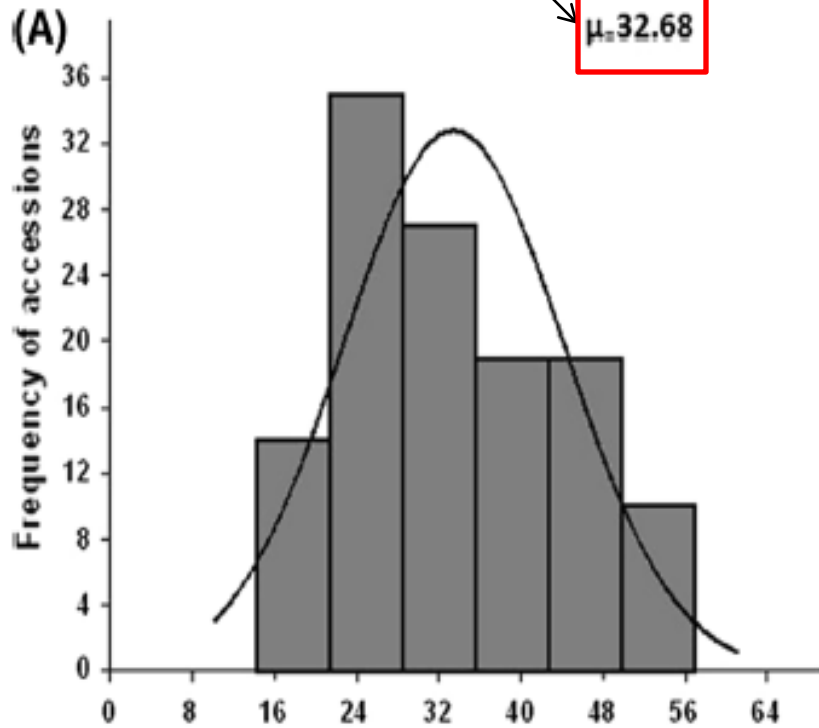


Fig. 2 Frequency distribution of barley diversity set for a leaves disease scoring and b spikes disease scoring. Horizontal axis represents disease scores in percent

شكل يوضح التوزيع الطبيعي لنسب الإصابة في العشيرة تحت الدراسة الاول إصابة الاوراق والثاني إصابة السنابل

نتائج تحليل ال QTL

اظهر التحليل وجود ١١ ماركر مرتبطين بصفة المقاومة للاوراق

ووجود ٩ ماركرز (QTL) مرتبطين بصفة المقاومة للسنايل وكانت اهم النتائج في الجدول التالي:

Table 3 Summary of QTL for LDS and SDS detected as markers main effect

Trait	QTL ^a	Marker	Chr ^b	Pos ^c	Flanking	ProbF ^d	Sign ^e	R ^{2f}	M ₀ ^g	M ₁ ^h	Diff ⁱ
LDS	Qlds.1Ha	SCRI_RS_239784	1H	30.45	30.45	1.0E-06	***	45.69	56.76	27.75	29.01
	Qlds.1Hb	bPb-5290	1H	64.89	64.89–67.88	0.0002	***	3.58	35.93	27.13	8.8
	Qlds.2H	bPb-5991	2H	14.40	14.40–15.76	0.0003	***	1.72	35.90	27.87	8.03
	Qlds.3Ha	BOPA1_76-1059	3H	109.77	109.77	0.0033	**	21.53	37.86	27.12	10.74
	Qlds.3Hb	bPb-8621	3H	140.29	140.29	0.0008	***	11.29	37.86	30.73	7.13
	Qlds.4H	SCRI_RS_181886	4H	52.69	52.69	0.0002	***	30.57	40.76	26.31	14.45
	Qlds.5Ha	bPb-7407	5H	16.91	16.91–18.03	0.0010	***	10.12	36.58	29.59	6.99
	Qlds.5Hb	bPb-2273	5H	43.50	43.50–45.58	0.0021	**	10.03	41.76	32.30	9.46
	Qlds.6H	bPb-3554	6H	19.42	19.42–20.46	0.0013	**	8.26	35.91	29.31	6.6
	Qlds.7Ha	BOPA2_12_11499	7H	74.58	74.58	0.0004	***	27.72	42.42	27.37	15.05
	Qlds.7Hb	bPb-1770	7H	84.95	84.95–87.39	0.0001	***	4.41	36.07	26.88	9.19
	Qsds.1H	SCRI_RS_239784	1H	30.45	30.45	6.8E-06	***	35.26	50.19	22.74	27.45
	SDS	Qsds.4H	BOPA1_6249-572	4H	50.85	50.85	4.5E-04	***	22.97	17.91	28.71
Qsds.5Ha		SCRI_RS_219574	5H	44.24	43.96–46.59	5.0E-04	***	22.74	35.61	21.93	13.68
Qsds.5Hb		SCRI_RS_161118	5H	71.67	71.67	1.8E-03	***	23.59	29.57	18.60	10.97
Qsds.5Hc		SCRI_RS_174710	5H	121.74	121.74	8.2E-06	***	39.24	41.54	21.45	20.09
Qsds.6H		bPb-0245	6H	40.08	40.08	0.0018	**	8.52	21.84	29.69	7.85
Qsds.7Ha		bPb-6747	7H	35.22	35.22–38.70	0.0015	**	10.32	27.95	18.97	8.98
Qsds.7Hb		SCRI_RS_150783	7H	48.30	48.30	3.0E-04	***	29.12	30.51	18.65	11.86
Qsds.7Hc	BOPA1_1272-459	7H	74.43	74.43	5.3E-04	***	26.85	34.01	21.21	12.8	

- يشير العمود الاول الي الصفة موضع الدراسة وكانت صفتان الاولى الاصابة في الاوراق LDS والثانية الاصابة في السنابل SDS
- العمود الثاني اسم ال QTL – العمود الثالث اسم الماركر – العمود الرابع الي الكروموسوم
- العمود الخامس الموقع علي الكروموسوم – السادس تاثير الماركر في مسافة معينة من الكروموسوم – السابع والثامن معنوية الماركر – التاسع مقدار ما يؤثره كل ماركر منفردا في تباين الصفة موضع الدراسة – العمواد العاشر والحادي عشر يشيرا الي تغير متوسط الصفة في حالة وجود الماركر وفي حالة عدم وجوده
- نلاحظ من الجدول التالي جميع الماركرز تؤثر معنويا في الصفات موضع الدراسة
- هناك ماركرز معينة تتحكم بنسب عالية في تباين الصفة مثل الماركر الاول في الجدول مما يدل علي تاثير هذا الموقع علي نسبة الاصابة وراثيا الارقام الهامة معلمة بالاحمر في العمود التاسع
- نلاحظ ايضا بعض الماركرز تؤثر علي خفض متوسط نسبة الاصابة وهي المرغوبة فعليا في الدراسة الارقام الهامة معلمة بالاخضر في العمواد العاشر والحادي عشر
- من الممكن تحميل المقال بسهولة من الانترنت عن طريق البحث علي موقع جوجل لمن يريد الاطلاع علي معلومات اكثر.

THANKS

شكرا لكم

تمنياتي بالتوفيق والنجاح

دكتور / إسماعيل بديوي