

## استفاده از مارکرهای مولکولی RAPD و RFLP برای تعیین محل کروموزومی ژن‌های کنترل کننده تحمل به بُر در نخود فرنگی (*Pisum sativum* L.)

### Chromosomal localization of genes mediating tolerance to boron in pea (*Pisum sativum* L.) using molecular markers

عبدالرضا باقری<sup>۱</sup>، جی پاوول<sup>۲</sup> و آ. جی. راتجین<sup>۳</sup>

#### چکیده

مسمومیت ناشی از غلظت زیاد بُر در بعضی از اراضی مناطق خشک سبب کاهش تولیدات زراعی می‌گردد. تنوع ژنتیکی برای تحمل به بُر در تعدادی از گیاهان از جمله نخود فرنگی وجود دارد. توارث تحمل به بُر در این گیاه تحت کنترل ژن‌های بزرگ مندلی با اثر افزایشی می‌باشد و تفکیک ژنتیکی حاصل از تلاقی بین رقم نسبتاً متحمل Alma با لاین متحمل SA 310، تفکیک در سطح یک مکان ژنی را نشان می‌دهد. در مطالعه حاضر تعیین پیوستگی بین ژن متحمل به بُر با مارکرهای مولکولی RAPD و RFLP و امکان استفاده از این مارکرها در برنامه‌های به نژادی برای انتقال آلل متحمل به واریته‌های حساس مورد بررسی قرار گرفته است. برای تعیین پیوستگی از تفکیک مارکرهای مولکولی در دو جمعیت گیاهی استفاده شد. در این بررسی از روش تجزیه تفکیک بالک در جمعیت نسل دوم حاصل از تلاقی بین دو ژنوتیپ یاد شده استفاده شد. تجزیه مارکرمولکولی RAPD بر اساس تفکیک مولکولی PCR بر روی بافت گیاهی حاصل از گیاهان نسل دوم و عکس العمل گیاهان به بُر در فامیل‌های نسل سوم مورد ارزیابی قرار گرفت. از بین ۱۲۶ آغازگر (Primer) تصادفی استفاده شده برای تعیین چند شکلی بین والدین، ۸۶ آغازگر، حالت چند شکلی را نشان دادند. پس از آزمون این آغازگرها با روش تجزیه بالک، دو آغازگر این چندشکلی را بین DNA والد حساس و DNA حاصل از مخلوط ۱۰ گیاه هموزیگوس حساس نشان دادند. تجزیه کامل جمعیت گیاهی با این دو آغازگر نشان داد که فرآورده حاصل از این دو آغازگر با ژن مورد نظر پیوستگی نشان می‌دهد. DNA حاصل از نوارهای این دو آغازگر با روش انتقال در پلاسمید باکتری کلون گردید و در نهایت از قطعات DNA منتقل شده به پلاسمید به عنوان کاوشگر (Probe) برای آنالیز RFLP استفاده شد. نتایج حاصل، چند شکلی بین والدین را نشان دادند ولی داده‌های حاصله پیوستگی با ژن مورد نظر را نشان ندادند.

مطالعه RFLP در جمعیت لاین‌های نوترکیب حاصل از تلاقی JI 15 x JI 399، تفکیک برای تحمل به بُر در حد یک ژن را نشان داد و مشخص شد که این ژن بر روی کروموزوم شماره ۱ و در حدود ۱۰ واحد نقشه ژنی از مارکر dr7- واقع شده است. این مکان ژنی حدوداً بین دو مارکر معمولی *i-af* و *d-sym-2* واقع است. برای تعیین محل کروموزومی ژن متحمل به بُر در جمعیت حاصل از تلاقی DNA, Alma x SA 310 حاصل از گیاهان دو جمعیت با تعدادی کاوشگر که در محل‌های نزدیک به این ژن در جمعیت لاین‌های نوترکیب واقع شده‌اند آزمایش گردید. تفکیک این مارکرها مستقل از عکس العمل گیاهان به بُر بودند و بنابراین به نظر می‌رسد ژن‌های متفاوتی کنترل تحمل به بُر را در دو جمعیت به عهده دارند.

#### مقدمه

شدن ریشه، بافت مریستمی، مسیر بیوسنتز پیریمیدین، تقسیم سلولی و دیواره سلولی نقش دارد (Gupta et al., 1985). مقدار مورد نیاز گیاه به این عنصر

بُر یکی از هفت میکرومنت مورد نیاز برای رشد طبیعی در اکثر گیاهان است. این عنصر در انتقال قند، طویل