Name of Candidate: Mohamed Atia Mohamed **Degree:** M.Sc.
Title of Thesis: Construction of a genetic linkage map of cotton using molecular markers
Supervisors: Prof. Dr. Ebtissam Hussein Aly, Prof. Dr. Hashem Hussein and Dr. Sami Saeid Adawy
Department: Genetics **Approval:** 7/6/2009

ABSTRACT

Cotton is the world's leading fiber crop and the second most important oil seed crop. In Egypt, plant breeders have made major contributions to the productivity of this crop; however, this has led to a decrease in the genetic variation among Egyptian cotton varieties. Enhancing the productivity of cotton could be addressed through improving different agronomic traits including early flowering and maturation.

In the present investigation, an interspecific cross (*G. barbadense* x *G. hirsutum*) was performed between two genotypes, cvs. 'Giza 83' (late flowering) and 'Deltapine' (early flowering) to develop an F2 segregating population.

Analysis of segregation among the 71 F2 individuals was performed using 3 RAPD, 18 SSR, and 10 AFLP primer combinations. In addition, twenty four AFLP primer combinations were used in bulked segregant analysis for flowering time. Linkage analysis and map construction were performed using Map Manager QTX1.4.

The map showed 26 linkage groups with 182 markers covering a total length of 2370.5 cM. The average length of linkage groups ranged from 1.4 to 889.2 cM. Of 26 linkage groups, four linkage groups were assigned to corresponding chromosomes by SSR anchor markers with known chromosome locations.

QTL Cartographer software was used to identify the genomic regions controlling traits for plant height, number of nodes at flowering time, bolling date, days to flowering and number of bolls. In total, 40 significant QTL were identified for the five traits on eleven linkage groups. These included 13 QTL for plant height, 9 for number of bolls, 6 QTL for each of days to flowering and bolling date and 6 QTL for number of nodes at flowering time.

This work represents the first linkage map for the intercross between 'Giza 83' and 'Deltapine' showing chromosomal regions associated with some agronomic traits.

Keywords: cotton, *G. barbadense*, *G. hirsutum*, molecular markers, genetic linkage map, QTL

اسم الطالب: محمد عطية محمد عطية **الدرجة:** الماجستير

عنوان الرسالة: تشييد خريطة ارتباطية لنبات القطن باستخدام الواسمات الجزيئية

المشرفون : الأستاذ الدكتور : إبتسام حسين على حسين
الأستاذ الدكتور : هاشم أحمد حسين
الدكتور : سامى سعيد عدوى

قسم: الوراثة **تاريخ منح الدرجة: ٧ / ٦ /٢٠٠٩**

المستخلص العربي

يحتل القطن المرتبة الأولى في العالم بالنسبة لمحاصيل الألياف و المرتبة الثانية بالنسبة لمحاصيل الزيت. وفي مصر يعتبر القطن من أهم المحاصيل الأقتصادية. ويعتبرتحسين بعض الصفات الاقتصادية الهامة مثل التبكير في الأزهار وزيادة وزن اللوزة من الاستراتيجيات الفعالة لتحسين انتاجية القطن .

وفي هذه الدراسة تم عمل تهجين نوعي بين *G. barbadense x G. hirsutum* وذلك عن طريق التهجين بين صنف دلتاباين (مبكر التزهير) مع صنف جيزة٨٣ (متأخر التزهير) وذلك للحصول على الجيل الانعزالي الثاني . وبتحليل الانعزالات الوراثية لـ ٧١ نبات من الجيل الانعزالي الثاني باستخدام تقنية الـ RAPD (٣ بادئات عشوائية) وتقنية الـ SSR (١٨ ازواج من البادئات) و (١٠ توليفات من بادئات الـ AFLP) بالاضافة الى بيانات الطرز المظهرية لعشيرة الجيل الثاني من القطن وهم (طول النبات ، رقم العقدة عند أول زهرة ، ميعاد الازهار ، ميعاد التلويز ، عدد اللوز على النبات) . كما استخدمت تقنية Bulked Segregant Analysis (٢٤ توليفة من بادئات AFLP) لتحليل الانعزالات المجمعة لصفة الازهار المبكر. ومن النتائج المجمعة تم عمل التحليلات الارتباطية و تشييد الخريطة الوراثية الارتباطية باستخدام برنامج حاسوبي (MAP MANAGER) .

وقد اظهرت الخريطة الارتباطية ٢٦ مجموعة ارتباطية موقع عليها ١٨٢ واسم جزيئي بمجموع أطوال ٢٣٧٠.٥ سنتيمورجان ، وكان متوسط طول المجاميع الارتباطية يتراوح ما بين ١.٤ الى ٨٨٩.٢ سنتيمورجان.كما تم تمييز أربع مجاميع ارتباطية ككروموسومات وذلك باستخدام بادئات SSR مميزة للكروموسومات.

كما تم إجراء (Single Point Analysis) باستخدام البرنامج الحاسوبي (QTL Cartographer) وذلك للتعرف على المناطق الجينومية التي تتحكم في كل من صفات (طول النبات ، رقم العقدة عند أول زهرة ، ميعاد الازهار ، ميعاد التلويز ، عدد اللوز على النبات) حيث تم التعرف على ٤٠ QTL لهم علاقة ارتباطية بالصفات الاقتصادية السابق ذكرها و موقعين على ١١ مجموعة ارتباطية ، من بينها ١٣ QTL ذات صلة بصفة طول النبات و ٩ QTL ذات صلة بصفة عدد اللوز على النبات و ٦ QTL لكل من صفتي ميعاد الازهار وميعاد التلويز و ٦ QTL ذات صلة بصفة رقم العقدة عند اول زهرة .

ويعتبر هذا البحث أول خريطة ارتباطية لتهجين نوعي بين صنفي دلتاباين X جيزة٨٣ يظهر مناطق جينومية مرتبطة أو ذات صلة ببعض الصفات الاقتصادية الهامة في القطن باستخدام هذه التوليفة من تقنيات الواسمات الجزيئية.

الكلمات الدالة: القطن، الواسمات الجزيئية، الخريطة الارتباطية، مواقع جينات الصفات الكمية.

CONTENTS

	Page
INTRODUCTION	**1**
REVIEW OF LITERATURE	**5**
1. Molecular markers	**5**
a. Simple sequence repeat (SSR)	**5**
b. Expressed sequence tag (EST) and expressed sequence tagged- simple sequence repeat (EST- SSR)	**11**
c. Amplified fragment length polymorphism (AFLP)	**19**
d. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)	**25**
e. Bulked segregant analysis (BSA)	**32**
2. Genetic linkage map and QTL analysis	**36**
MATERIALS AND METHODS	**67**
1. Materials	**67**
a. Plant material (Mapping population)	**67**
2. Methods	**68**
a. Phenotypes and traits measurement	**68**
b. Normality test of the phenotypic traits	**68**
c. DNA isolation	**69**
d. Molecular markers	**71**
e. Bulked segregant analysis	**86**
f. Marker codes and designation	**87**
g. Linkage analysis and map construction	**87**
RESULTS AND DISCUSSION	**89**
1. Parental selection and production of mapping population	**90**
2. Statistics and normality test of traits	**94**
3. Molecular markers analysis	**98**
a. Polymorphism as detected by SSR analysis	**99**
b. Polymorphism as detected by EST and EST-SSR analysis	**103**
c. Polymorphism as detected by AFLP analysis	**106**
d. Polymorphism as detected by RAPD analysis	**111**
e. Bulked segregant analysis	**114**

4. Linkage analysis and map construction..... **117**
5. Assignment of linkage groups to the chromosomes..... **126**
6. QTL analysis..... **127**
7. Correlation between traits..... **134**
8. QTL associated with bolling dates **136**
9. QTL associated with number of bolls per plant..... **136**
10. QTL associated with plant height..... **137**
11. QTL associated with days to flowering..... **138**
12. QTL associated with number of nodes..... **138**
SUMMARY..... **141**
REFERENCES **147**
ARABIC SUMMARY .....