مکان‌یابی QTL های برخی صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج

حسین صبوری[۱*]، عاطفه صبوری[۲] و رسول خاتمی نژاد[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۴/۱۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۱۴)

چکیده

شناسایی نشانگرهای پیوسته به ژن‌های کنترل‌کننده تحمل به خشکی از نیازهای اصلاح ارقام برنج با عملکرد زیاد در نواحی خشک می‌باشد. در مطالعه حاضر، برخی صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج با استفاده از نشانگر ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۱۹۲ فرد و خانواده مشتق از تلاقی بین دو رقم شاه‌پسند (متحمل) و۲۸ IR (حساس) در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه گنبد کاووس در سال زراعی ۱۳۸۹ برای شناسایی QTL های تعیین‌کننده تحمل به خشکی روی کروموزوم یک و شش کشت شدند. نقشه پیوستگی با استفاده از ۳۳ نشانگر ریزماهواره چند شکل و ۱۹۲ فرد، دو گروه پیوستگی تشکیل داد که ۳۶۶ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد. در این مطالعه، ناحیه‌ای از کروموزوم یک در فاصله RM۵۶۳۸ – RM۸۱۵۵ و هم‌چنین کروموزوم شش در فاصله ۱۶۲ RM – ۷۴۳۴ RM و RM۲۱۷ - RM۴۶۰۸ مشخص شد که چندین صفت را در شرایط تنش خشکی تحت کنترل داشتند. نتایج نشان داد که QTL های کنترل‌کننده درجه سوختگی برگ با QTL های درجه لوله شدن برگ روی کروموزوم ۱ همپوشانی دارند. سه QTL برای درصد باروری مکان‌یابی شد. از بین QTL های ردیابی شده، دو QTL کنترل‌کننده درجه لوله شدن برگ (*qROL*-۱) و درجه باروری (*qFER*-۶) بزرگ‌اثر تشخیص داده شدند که به ترتیب توجیه ۱۴/۱۱ و ۱۴/۶۵ درصد از تغییرات فنوتیپی را به خود اختصاص دادند. براساس نتایج این بررسی، روش‌های اصلاحی متکی بر هرمی کردن ژن‌ها برای فن انتخاب به کمک نشانگر می‌توانند برای تولید رقم‌های جدید با عملکرد زیاد در شرایط تنش خشکی مفید باشند. با توجه به این‌که نواحی مذکور درصد قابل توجهی از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمودند، پتانسیل کاربردی شدن در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر برای تحمل به خشکی را دارند.

واژه‌های کلیدی: ریزماهواره، بزرگ‌اثر، نشانگر

۱. استادیار تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

۲. استادیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

۳. کارشناس‌ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hossein.sabouri@ghec.ac.ir

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]

مقدمه

خشک‌سالی یک پدیده مهم و قابل توجه در کشاورزی سراسر جهان است. با افزایش روز افزون جمعیت و فشار بر منابع (آب و زمین‌های دست نخورده) تلاش‌ها برای تأمین غذا و پوشاک دو چندان شده است. از طرف دیگر، تغییر اقلیم نیز در این راستا مزید بر علت خواهد بود. بنابراین یکی از اهداف مهم در اصلاح نباتات، زادآوری و باروری گیاهان زراعی و هم‌چنین بهبود محصولات گیاهان در شرایط خشک است (۴). در برنج، QTL های کنترل‌کننده عملکرد گیاه تحت شرایط خشکی و سازگار به تنش با QTL های مرتبط با صفات تحمل ریشه همپوشانی دارند. آلل‌های مطلوب برای ایجاد عملکرد مناسب روی کروموزم ۱ برنج مشاهده شده است (۲، ۲۵ و ۲۷). این QTL ها برای تعداد زیادی از ویژگی‌های وابسته به خشکی همانند وزن خشک ریشه، ظرفیت نگهداری آب و نقش برگ‌ها در شرایط خشکی کاربرد دارند (۱). در حال حاضر، اصلاح‌گران به آلل‌های مفید تعیین‌کننده تحمل به خشکی و پیدا کردن ژن‌های مفید برای به دست آوردن عملکرد زیاد نیاز دارند. البته باید توجه داشت در برخی موارد هم ممکن است محل کروموزومی که برای مقاومت گیاه به خشکی مد نظر است، به عنوان یک صفت کاهش‌دهنده عملکرد نیز عمل نماید. ونوپراساد و همکاران (۲۴) با استفاده از جمعیت دابل هاپلوئید حاصل از تلاقی ارقام آزوسینا و IR۶۴ صفات ریشه را در شرایط تنش خشکی مکان‌یابی نمودند. در پژوهش آنها همبستگی بین طول ریشه با عملکرد در شرایط عادی و تنش به ترتیب منفی و مثبت گزارش شد. آنها تنها یک QTL برای افزایش روز تا گل‌دهی در شرایط غیرتنش شناسایی نمودند که روی حجم ریشه تأثیرگذار بود. هم‌چنین نتایج این تحقیق فرض وجود آثار پلیوتروپی را برای کنترل صفات در شرایط تنش خشکی رد کرد.

وینود و همکاران (۲۶) در ارزیابی ۱۲ ژن کاندید چند شکل روی یک جمعیت ۱۴۸ فردی از جمعیت دابل هاپلوئید حاصل از تلاقی CT۹۹۹۳ و IR۶۲۲۶۶ دو ژن کاندید EXP۱۵ و EXP۱۳ را پیوسته به صفات تعداد ریشه و محتوای سیلیس آنها در شرایط عادی و تنش خشکی شناسایی نمودند. مک‌میلان و همکاران (۱۱) اهمیت اثر متقابل ژنوتیپ و محیط را برای صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج با استفاده از مکان‌یابی QTL ها بررسی نمودند. در این بررسی، ۱۴۵ QTL روی ۳۷ مکان کروموزومی ردیابی شد. از بین QTL های ردیابی شده، تعداد ۵ عدد با محیط اثر متقابل نشان دادند. مونوکادا و همکاران (۱۶) با هدف ارزیابی کارایی جمعیت BC_2F_2 مکان‌های کمی کنترل‌کننده عملکرد و اجزای عملکرد را در جمعیت BC_2F_2 حاصل از تلاقی *Qryza sativa* و *Oryza rufipogon* ردیابی کردند. آنها از ۱۲۵ نشانگر SSLP و RFLP استفاده کردند که در سراسر ژنوم برنج پراکنده شده بود. با توجه به QTL های ردیابی شده، نتایج نشان داد که جمعیت BC_2F_2 برای ارزیابی مکان‌های کنترل کننده صفات بسیار مفید است.

پرایس و همکاران (۱۹) مکان‌های مرتبط با اجتناب از خشکی را در برنج‌های آپلند در فیلیپین و شرق آفریقا تشخیص دادند. آنها با استفاده از ۱۷۶ لاین خویش آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام Azuceana و Bala و نقشه ژنتیکی حاصل از ۱۰۲ نشانگر RFLP، ۳۴ نشانگر AFLP، ۶ نشانگر ریزماهواره و روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، درجه لوله شدن برگ، سوختگی برگ و محتوای نسبی آب برگ را مکان‌یابی نمودند. در پژوهش آنها ۶ ناحیه از ۷ ناحیه در بر دارنده QTL، بیش از یک صفت را کنترل نمودند که حاکی از وجود همبستگی بین صفات بود. سه QTL نیز فقط در فیلیپین ردیابی شد. QTL مربوط به محتوای نسبی آب برگ روی کروموزوم ۸ ردیابی شد که با QTL مربوط به تنظیم اسمزی هم‌مکان بود و در مطالعات پیشین نیز شناسایی شده بود. پرایس و همکاران (۱۸) در مطالعه دیگری، صفات مربوط به مورفولوژی ریشه را در جمعیت لاین خویش آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام Azuceana و Bala مطالعه کردند. این صفات در شرایط کنترل شده گلخانه اندازه‌گیری شد. هفت QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۴، ۷، ۹ (دو QTL) و ۱۱ ردیابی شد.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]

صفات مرتبط با تحمل به خشکی توسط کومار و همکاران (۷) نیز مورد تجزیه ژنتیکی قرار گرفت. این تجزیه با استفاده از جمعیت حاصل از تلاقی ۱-۱۰-۵-۹۹۹۳ CT و ۲-۶-۴۲-۶۲۲۶۶ IR با اعمال خشکی در زمان گل‌دهی انجام شد. در این مطالعه، یک QTL روی کروموزوم ۱ ردیابی شد که ۳۲٪ از تغییرات عملکرد را در شرایط تنش کنترل می‌کرد. گومز و همکاران (۵) صفات فیزیو- مورفولوژی مرتبط با تولید محصول در برنج را تحت شرایط خشکی مورد تجزیه QTL قرار دادند. آنها از ۱۷۷ لاین خویش آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام Azuceana و Bala استفاده نمودند. در این مطالعه، تنش خشکی در مرحله زایشی به گیاه وارد شد. تعداد ۲۴ QTL در شرایط تنش خشکی ردیابی شدند که از ۴/۶ تا ۳۳/۳ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند. سه ناحیه شامل نشانگرهای RM۳۸۹۴، RG۴۰۹ و G۱۰۷۳ روی کروموزوم‌های ۳ و ۸ با صفت عملکرد ارتباط داشتند که این مکان‌ها QTL های صفات درجه سوختگی، روز تا ۵۰٪ گل‌دهی و تعداد پنجه را هم کنترل نمودند.

بابو و همکاران (۱) ارتباط بین صفات ثانویه و عملکرد گیاه برنج در شرایط تنش خشکی را با استفاده از تجزیه QTL مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی، از ۱۵۴ دابل هاپلوئید حاصل از تلاقی ۱-۱۰-۵-۹۹۹۳ CT و ۲-۶-۴۲-۶۲۲۶۶ IR استفاده شد. در این پژوهش، به طور کلی ۴۷ QTL برای صفات مختلف شناسایی شد که ۵ تا ۵۹ درصد از تغییرات را توجیه کردند. ناحیه‌ای روی کروموزوم ۴ QTL بزرگ‌اثری را شامل شد که ارتفاع بوته و صفات ریشه را کنترل می‌کرد. با توجه به این‌که برنج یکی از محصولات استراتژیک محسوب می‌شود و ایران نیز از جمله کشورهایی است که در سال‌های آتی به شدت تحت تنش‌های غیرزیستی، مانند خشک‌سالی‌ها، قرار خواهد گرفت، لذا پژوهش حاضر به منظور تعیین و تشخیص نواحی ژنی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج پایه‌ریزی شد.

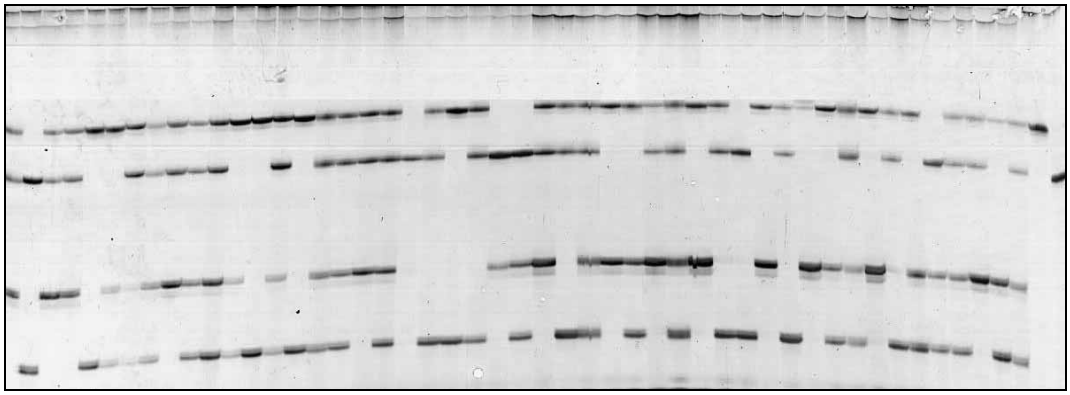
مواد و روش‌ها

برای مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی و صفات مرتبط با تحمل به خشکی، ارقام شاه‌پسند و IR۲۸ در سال ۱۳۸۶ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس تلاقی داده شدند. سپس در سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ نسل‌های دوم و سوم تهیه گردید. در سال زراعی ۱۳۸۸، نمونه‌های برگی ۱۹۲ تک بوته تصادفی از جمعیت حاصل از تلاقی ارقام شاه‌پسند × IR۲۸ انتخاب و DNA ژنومی آنها استخراج گردید. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده تعیین شد.

پس از اتمام نمونه‌گیری از بوته‌های جمعیت F_2، استخراج DNA به روش CTAB (۲۰) انجام شد. آغازگرهای ریزماهواره مورد استفاده در مکان‌یابی، توزیع یکنواختی روی دو کروموزوم برنج (یک و شش) داشتند به طوری که سعی شد فاصله بین هر دو نشانگر مجاور براساس نقشه‌های اشباع موجود در منابع، بیشتر از ۵ سانتی‌مورگان نباشد (۳، ۱۲، ۱۳، ۱۴ و ۲۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در ابتدا تنها برای نمونه‌های DNA والدینی (شاه‌پسند × IR۲۸) با استفاده از ۱۰۶ جفت آغازگر ریزماهواره انجام شد. فرآورده‌های PCR کلیه آغازگرهای چند شکل برای دو نمونه DNA والدینی (شاه‌پسند × IR۲۸) روی ژل پلی‌آکریل‌آمید واسرشته‌ساز ۶٪ الکتروفورز شدند (شکل ۱). گروه‌های پیوستگی اولیه با استفاده از نرم‌افزارهای Map ManagerQTX۱۷ (۱۵) ایجاد شدند. برای تبدیل نسبت‌های نوترکیبی بین نشانگرها به واحد نقشه (سانتی‌مورگان) از تابع تهیه نقشه کوزامبی (۶) استفاده شد. تعیین ژنوتیپ و فنوتیپ افراد جمعیت در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس طی سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ انجام شد. اندازه‌گیری‌های فنوتیپی روی خانواده‌های F_3 انجام گرفت. بدین ترتیب که در بهار ۱۳۸۹ از هر ۱۹۲ فامیل F_3 (حاصل از ۱۹۲ بوته F_2)، ۲۰ بذر انتخاب شد و در ردیف‌های مجزا در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه گنبد کاووس کشت گردید و صفات مورد بررسی برای ۲۰ کپه رقابت‌کننده از هر خانواده ثبت شد. صفات مورد بررسی شامل تعداد پنجه، وزن خوشه، طول خوشه، طول خروج خوشه از

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]



شکل ۱. الگوی نواربندی الکتروفورز محصول PCR نشانگر RM ۸۲۳۵ روی ژل آکریل‌آمید ۶٪ برای افراد نسل F۲ حاصل از تلاقی ارقام شاه‌پسند × IR ۲۸ که در دو ردیف بارگذاری شدند.

غلاف، ارتفاع بوته، وزن دانه، تعداد دانه پر، تعداد خوشچه، تعداد روز تا گل‌دهی، میزان سوختگی برگ، میزان لوله شدن برگ و درصد باروری مطابق جدول ۱ و براساس روش دداتا و همکاران (۴) و لوریستو و چانگ (۹) روی ۲۰ فرد از هر خانواده ثبت شدند. برای اعمال تنش خشکی، مزرعه آزمایشی از مرحله حداکثر پنجه‌زنی تا پایان مرحله رشد و برداشت آبیاری نشد. هم‌چنین برای جلوگیری از نفوذ آب از حاشیه مزرعه، دورتادور مزرعه به عمق یک متر از پوشش پلاستیکی استفاده شد. جدول ۲ آمار هواشناسی شهرستان گنبد کاووس از ماه فروردین تا مهر ۱۳۸۹ را نشان می‌دهد. به منظور ردیابی QTLهای کنترل‌کننده صفات، از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب اینکلوسیو (به نقل از ۲۹) استفاده شد. در این روش، بیشترین احتمال وجود QTL در موقعیت مفروض (با حذف اثر سایرQTL ها) آزمون شد. نهایتاً منحنی‌های درستنمایی (LOD یا LRT) رسم شد و نقاط اوج منحنی‌ها به عنوان مکان QTLها شناسایی گردید. برآورد پارامترها در این روش با استفاده از الگوریتم EM و به کمک نرم‌افزار QGENE (۱۷) انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی فنوتیپی صفات مورد مطالعه حاکی از وجود تغییرات کمی و پیوسته بود. برای کلیه این صفات، ارزش‌هایی بیشتر از والد دارای حداکثر مقدار صفت و کمتر از والد دارای حداقل صفت دیده شد که مبین تفکیک متجاوز برای این صفات بود (شکل ۲). وجود تفکیک متجاوز در بسیاری از مطالعات QTL گزارش شده است (۲۳ و ۲۹). تیان و همکاران (۲۳) که برای تمامی صفات مورد مطالعه‌شان تفکیک متجاوز مشاهده کردند اظهار داشتند این پدیده می‌تواند به دلیل نوترکیبی QTLهای کوچک‌اثر، اپیستازی، اثر متقابل ژنوتیپ با محیط و جهش در طول فرآیند کشت بافت برای تولید جمعیت هاپلوئید مضاعف شده باشد.

در پژوهش حاضر، تعداد ۳۳ نشانگر چند شکل از بین ۱۰۶ نشانگر بررسی شده متعلق به کروموزوم‌های ۱ و ۶، در دو گروه پیوستگی قرار گرفتند (شکل ۳). نقشه حاصل، ۳۶۶ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد و با توجه به این‌که متوسط فاصله بین نشانگرها کمتر از ۲۰ سانتی‌مورگان بود، براساس نظر لندر و بوتیستین (۱۰) از نقشه فوق برای مکان‌یابی صفات کمی مرتبط با تحمل به خشکی استفاده شد. براساس اطلاعات موجود در پایگاه داده گرامینه (http://www.gramene.org)، مطالعات زیادی در زمینه مکان‌یابی صفات مرتبط با تنش‌های غیرزیستی صورت گرفته و مشخص شده که نواحی کنترل‌کننده آنها تقریباً روی هر ۱۲ کروموزوم برنج به نسبت‌های متفاوت توزیع شده‌اند. به‌طوری‌که در کل، تعداد ۱۰۳۱ QTL (تا تاریخ نوامبر ۲۰۱۱) برای این صفات در این پایگاه به ثبت رسیده است که از این

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]

جدول ۱. کدهای مربوط به لوله شدن و درجه سوختگی برگ برای تحمل به خشکی در مرحله رویشی (۳ و ۹)

سوختگی برگ	لوله شدن برگ	واکنش	کد
بدون نشانه‌های تنش	بدون نشانه‌های تنش	بسیار متحمل	۰
خشک شدن جزئی نوک برگ‌ها	بدون لوله شدن برگ	متحمل	۱
گسترش یافتن خشکی نوک برگ‌ها به اندازه یک چهارم در سه برگ گیاه	به طور جزئی لوله شده و عدم لوله شدن در صبح	نسبتاً متحمل	۳
خشک شدن نصف برگ‌های جوان و تمام برگ‌های پایین	به طور جزئی لوله شده و عدم لوله شدن در صبح و عصر	نسبتاً حساس	۵
گسترش یافتن خشکی برگ‌ها به اندازه سه چهارم برگ	کاملاً لوله شده و عدم لوله شدن در صبح	حساس	۷
گسترش یافتن خشکی به تمام برگ‌ها	مانند لوله و لوله شدن در صبح	بسیار حساس	۹

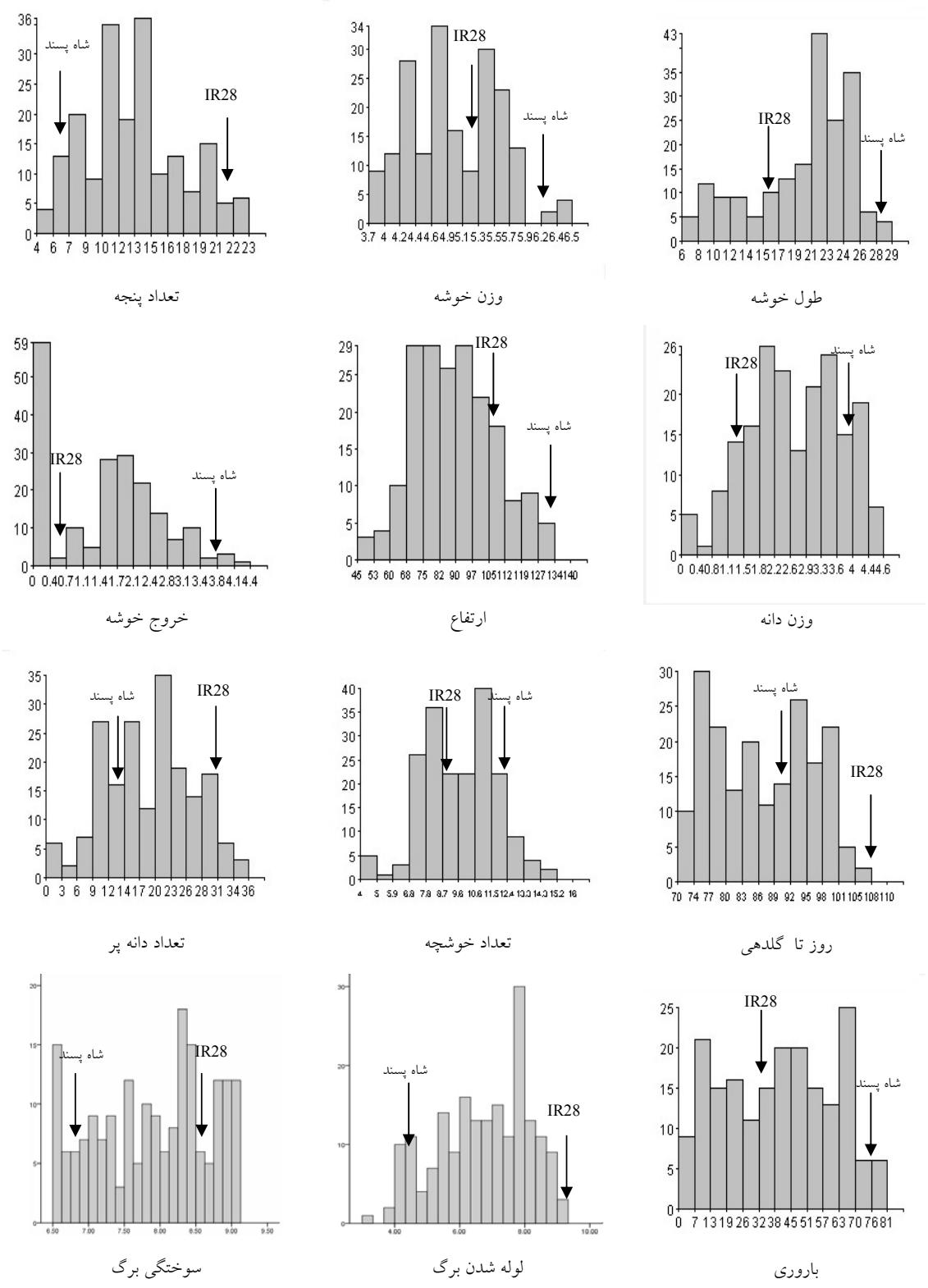
جدول ۲. آمار هواشناسی شهرستان گنبد کاووس از فروردین تا مهر سال ۱۳۸۹

	فروردین	اردیبهشت	خرداد	تیر	مرداد	شهریور	مهر
حداقل دما (°C)	۹/۲	۱۴/۲	۱۹/۷	۲۵/۰	۲۴/۰	۲۰/۱	۱۷/۱
حداکثر دما (°C)	۱۹/۰	۲۴/۹	۳۷/۰	۳۸/۵	۳۸/۶	۳۵/۰	۳۰/۹
حداقل رطوبت نسبی (٪)	۶۱	۵۸	۲۶	۳۲	۲۹	۳۲	۳۹
حداکثر رطوبت نسبی (٪)	۹۴	۹۱	۶۶	۷۲	۷۰	۷۲	۸۰
میزان بارندگی (mm)	۵۶/۲	۳۷/۲	۰/۲	۴۳/۶	۱/۸	۱/۱	۳۱/۹
ساعات آفتابی	۱۵۳/۵	۱۶۷/۹	۳۴۰/۷	۳۱۷/۹	۳۲۹/۱	۲۸۹/۰	۲۳۳/۸
تبخیر (mm)	۶۰/۱	۸۴/۲	۲۴۷/۱	۲۴۸/۱	۲۵۲/۰	۱۹۲/۲	۱۲۳/۱

تعداد بیشترین سهم به کروموزوم شماره ۱ تعلق دارد. مطابق نتایج به دست آمده، در مجموع ۲۴ QTL مرتبط با صفات ارزیابی شده در مطالعه حاضر شناسایی شد. برای صفت تعداد روز تا گل‌دهی، مکان ژنی کنترل‌کننده روی کروموزوم ۶ شناسایی شد و اثر افزایشی آن ۴/۶۱۴- بود. آلل‌های شاه‌پسند در این مکان باعث کاهش تعداد روز تا گل‌دهی شدند (جدول۳). این مکان ژنی کمی شناسایی شده توانست ۷/۳۲٪ از تغییرات فنوتیپی مربوط به تعداد روز تا گل‌دهی را توجیه کند. چاکرابورتی و زنگ (۲) با استفاده از جمعیت هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی رقم ژاپونیکا M ۱-۱۰-۵-CT۹۹۹۳ و رقم ایندیکا ۲-۶-۴۲-IR ۶۲۲۶۶، برای تعداد روز تا گل‌دهی در برنج تحت شرایط خشک، QTLهایی را روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۵ و ۸ شناسایی کردند. اما QTL شناسایی شده در پژوهش حاضر در آن مطالعه ردیابی نشد. برای ارتفاع بوته نیز یک QTL روی کروموزوم ۶ در حد فاصل نشانگرهای RM۴۶۱ – RM۱۶۲ شناسایی شد که حدود ۱۲٪ از کل تغییرات فنوتیپی این صفت را تبیین نمود. هیتالمانی و همکاران (۸) یک QTL بزرگ‌اثر را روی کروموزوم ۱ در مجاورت نشانگرهای RZ۸۰۱ – RZ۷۳۰ برای ارتفاع بوته شناسایی کردند. هم‌چنین شیائو و همکاران (۲۸) به منظور مکان‌یابی QTLهای ۱۳ صفت مهم زراعی و تعیین سهم هر QTL در تنوع فنوتیپی صفات، از ۱۱۴ نشانگر RFLP و ۱۹۴ لاین اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی دو لاین برگزیده به نام‌های (*indica*) ۹۰۲۴ و (*japonica*) LH۴۲۲ استفاده نمودند و توانستند شش QTL

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

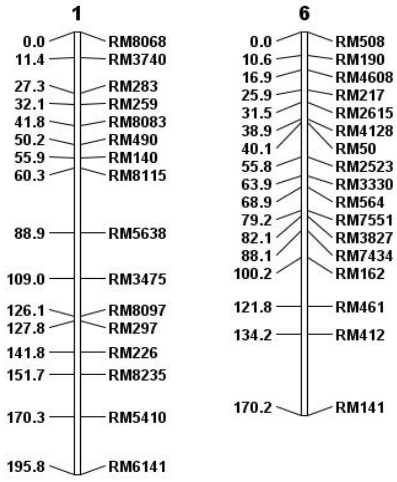
[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]



شکل ۲. توزیع فنوتیپی صفات زراعی خانواده‌های F_3 برنج

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]



شکل ۳. نقشه پیوستگی کروموزوم‌های ۱ و ۶ برنج در جمعیت شاه‌پسند × IR۲۸

بـرای ارتفـاع بوتـه روی کرومـوزوم‌هـای ۱، ۲، ۵، ۶، ۷ و ۸ شناسایی کننـد. ایـن QTL هـا در مجمـوع ۴۲/۸٪ از تغییـرات فنوتیپی را توجیه کردند. با بررسی کلی نتایج مکان‌یـابی ارتفـاع بوته روی جمعیت‌های مختلف می‌توان به این نتیجه رسـید کـه مکان‌های ژنی کنتـرل‌کننـده ایـن صـفت روی کرومـوزوم‌هـای مختلف پراکنده‌اند که این امـر مـی‌توانـد ناشـی از کمـی بـودن صفت مذکور باشد.

برای طول خروج خوشه از غلاف، دو مکان ژنی کمی روی کروموزوم ۶ شناسایی شدند. اثر افزایشی مکان‌های مربـوط بـه طول خروج خوشه از غلاف از ۰/۴۰۵- تا ۰/۶۰۱ متغیر بود. در مورد qPE-6a آلل IR ۲۸ باعث کاهش طـول خـروج خوشـه از غلاف شد. در حالی‌که در خصوص مکان qPE-6b آلـل‌هـای شاه‌پسند باعث افزایش طول خروج خوشـه از غـلاف شـدند (جدول ۳). هیتالمانی و همکاران (۸) یک مکـان ژنـی کمـی برای کنترل طول خروج خوشه از غـلاف روی کرومـوزوم ۸ (qPEN ۸-۱) گـزارش کردنـد. دو مکـان ژنـی کمـی کنتـرل‌کننـده طـول خوشـه روی کرومـوزوم ۶ قـرار داشـت. مکان‌های qPL-6a و qPL-6b به ترتیب بـا نـسبت درسـتنمایی برابر با ۴/۲۲ و ۳/۳۴۲ اثر بزرگی بر طول خوشـه داشـتند و بـه ترتیب ۹/۶۳ و ۷/۷۷ درصد از تنوع فنـوتیپی موجـود را توجیـه نمودند. اثر افزایشی هر مکان ژنـی کمـی منفـرد از ۳/۳۴۹- تـا ۲/۲۰۱- متغیر بود و در دو مکان کمی شناسایی شده آلـل‌هـای IR۲۸ به طور متوسط ۲/۵۱ سانتی‌متـر طـول خوشـه را کـاهش دادند (جدول ۳). برای طول خوشه، تامـسون و همکـاران (۲۲) نیز مکان ژنی کمی را روی کرومـوزوم ۱۲ (pl۱۲/۱) شناسـایی کردند.

برای تعداد دانه پر در خوشـه، سـه مکـان ژنـی کمـی روی کرومـوزوم‌هـای ۱ و ۶ (دو مـورد) بـا اثـر افزایـشی آلـل IR۲۸ شناسایی شد (qFG-۱ و qFG-6a). این مکان‌های ژنی کمی، بـه ترتیب ۵/۲۳، ۴/۷۳ و ۴/۲۳ درصـد از تغییـرات فنـوتیپی تعـداد دانـه را توجیـه نمودنـد (جـدول ۳). شـیائو و همکـاران (۲۸) توانستند برای طول خوشه دو QTL روی کرومـوزوم‌هـای ۷ و ۹، برای تعداد خوشه در بوتـه یـک QTL روی کرومـوزوم ۴ و برای وزن هزار دانـه و تعـداد دانـه در خوشـه سـه QTL روی کرومـوزوم‌هـای ۳، ۴ و ۵ شناسـایی کننـد. در مطالعـه آنهـا QTLهای ردیابی شده در پژوهش حاضر شناسایی نشد که ایـن امر می‌تواند ناشی از عوامـل بـسیاری همچـون متفـاوت بـودن جمعیت مکان‌یابی و والدین مورد استفاده باشد. مکان‌های ژنـی کمی شناسایی شده برای وزن دانه روی کرومـوزوم‌هـای ۱ و ۶ (دو مورد) قـرار داشـتند. در همـه مکـان‌هـای شناسـایی شـده،

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]

جدول ۳. مکان، نسبت درستنمایی، اثر افزایشی، اثر غالبیت و جهت اثر QTL های ردیابی شده برای صفات مورد ارزیابی

صفت	QTL	کروموزوم	فاصله QTL از ابتدای کروموزوم	نشانگرهای مجاور	نسبت درستنمایی	اثر افزایشی	اثر غالبیت	درجه تبیین	جهت آلل
تعداد پنجه	*qTN-1*	۱	۵۲	RM۴۹۰–RM۱۴۰	۲/۵۹۸	۲/۱۸۹	−۲/۸۵۸	۶/۲۳	IR۲۸
وزن خوشه	*qPW-1*	۱	۷۴	RM۸۱۱۵–RM۵۶۳۸	۲/۴۲۵	۲/۰۰۶	۲/۴۴۲	۵/۷۳	شاه‌پسند
	qPW-6	۶	۱۰۰	RM۷۴۳۴–RM۱۶۲	۲/۰۳۲	۲/۰۲۹	۰/۸۰۷	۴/۸۵	شاه‌پسند
طول خوشه	*qPL-6a*	۶	۲۰	RM۴۶۰۸–RM۲۱۷	۴/۲۲۲	−۲/۲۰۱	۴/۵۷۸	۹/۶۳	IR۲۸
	qPL-6b	۶	۸۶	RM۳۸۲۷–RM۷۴۳۴	۳/۳۴۲	−۳/۳۴۹	۰/۷۵۰	۷/۷۷	IR۲۸
خروج خوشه	*qPE-6a*	۶	۲۶	RM۴۶۰۸–RM۲۱۷	۳/۰۰۹	−۰/۴۰۵	۰/۳۲۵	۷/۲۱	IR۲۸
	qPE-6b	۶	۹۸	RM۷۴۳۴–RM۱۶۲	۲/۳۵۶	۰/۶۰۱	۰/۲۸۸	۵/۵۵	شاه‌پسند
ارتفاع بوته	*qHE-6*	۶	۱۱۲	RM۱۶۲–RM۴۶۱	۲/۰۷۷	۱۴/۶۰۸	−۱۶/۰۷۳	۱۲/۱۲	شاه‌پسند
وزن دانه	*qGW-1*	۱	۸	RM۸۱۱۵–RM۵۶۳۸	۲/۵۲۴	۰/۳۸۰	۰/۳۵۷	۵/۹۵	شاه‌پسند
	qGW-6a	۶	۲۱	RM۵۰۸–RM۱۹۰	۲/۵۴۶	۳/۲۴۹	−۳/۷۲۲	۵/۳۲	شاه‌پسند
	qGW-6b	۶	۹۸	RM۷۴۳۴–RM۱۶۲	۲/۰۰۱	۰/۴۹۰۰	۰/۳۴۷	۴/۷۳	شاه‌پسند
تعداد دانه پر	*qFG-1*	۱	۷۲	RM۸۱۱۵–RM۵۶۳۸	۲/۳۷۰	۲/۶۹۵	۲/۵۲۵	۵/۲۳	IR۲۸
	qFG-6a	۶	۸	RM۵۰۸–RM۱۹۰	۲/۱۴۷	۲۱/۴۷۱	−۲۴/۸۰۹	۴/۷۳	IR۲۸
	qFG-6b	۶	۲۶	RM۴۶۰۸–RM۲۱۷	۲/۱۰۸	−۱/۶۹۶	۲/۷۳۳	۴/۲۳	شاه‌پسند
تعداد خوشچه	*qBN-1*	۱	۶۰	RM۱۴۰–RM۸۱۱۵	۲/۲۶۵	−۰/۰۲۷	−۱/۲۹۸	۵/۵۵	IR۲۸
روز گل‌دهی	*qDF-6*	۶	۸۴	RM۳۸۲۷–RM۷۴۳۴	۱/۸۷۷	−۴/۶۱۴	−۰/۸۴۹	۷/۳۲	شاه‌پسند
سوختگی برگ	*qLFI-1*	۱	۶۲	RM۸۱۱۵–RM۵۶۳۸	۲/۸۲۳	−۰/۴۸۲	−۱/۵۳۷	۹/۱۲	شاه‌پسند
	qLFI-6	۶	۷۲	RM۵۹۴–۷۵۵۱	۲/۰۰۷	۰/۴۸۲	−۲/۱۹۶	۵/۷۶	IR۲۸
لوله شدن برگ	*qROL-1*	۱	۶۰	RM۸۱۱۵–RM۵۶۳۸	۲/۷۹۴	−۰/۹۴۹	−۰/۶۶۷	۱۴/۱۱	شاه‌پسند
	qROL-6a	۶	۸	RM۵۰۸–RM۱۹۰	۲/۱۷۹	−۷/۸۹۶	۸/۹۰۷	۳/۳۳	شاه‌پسند
	qROL-6b	۶	۹۸	RM۷۴۳۴–RM۱۶۲	۲/۲۳۹	−۱/۳۶۴	−۰/۷۵۹	۴/۶۷	شاه‌پسند
باروری	*qFER-1a*	۱	۵۶	RM۴۹۰–RM۱۴۰	۱/۹۷۰	۷/۲۱۴	−۲/۵۹۰	۵/۷۲	شاه‌پسند
	qFER-2a	۱	۶۰	RM۱۴۰–RM۸۱۱۵	۲/۵۸۰	۸/۲۶۴	۴/۰۸۵	۸/۹۴	شاه‌پسند
	qFER-6	۶	۸	RM۵۰۸–RM۱۹۰	۳/۵۹۰	۷۱/۷۴۳	−۸۵/۴۸۴	۱۴/۶۵	شاه‌پسند

آلل‌های شاه‌پسند باعث افزایش وزن دانه شدند. مکان‌های ژنی کمی مجموعاً بیش از ۲۰٪ از تنوع فنوتیپی موجود در این صفت را توجیه نمودند. برای وزن خوشه، دو مکان ژنی کمی روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ شناسایی شد که در در هر دو آنها آلل شاه‌پسند باعث افزایش وزن خوشه گردید (جدول ۳). وجود همبستگی‌های منفی و معنی‌دار بین صفات می‌تواند به‌وسیله اثر پلیوتروپی یا پیوستگی شدید بین ژن‌های کنترل‌کننده آنها توصیف شود. صفات همبسته اغلب به وسیله مکان‌های ژنی کمی کنترل می‌شوند که در نواحی مشابهی روی کروموزوم‌ها قرار دارند. چنین نتایجی برای وزن دانه در این مطالعه نیز مشاهده شد. به طوری که از بین مکان‌های شناسایی شده برای وزن دانه، در فاصله RM۵۶۳۸ – RM۸۱۱۵، دو مکان

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]

ژنی کمی دیگر برای صفات وزن خوشه و تعداد دانه در غلاف ردیابی شد. جهت اثر مکان ژنی کمی ردیابی شده به سمت افزایش صفات فوق بود. از بین مکان‌های ژنی کمی شناسایی شده برای طول خوشه، در فاصله RM۲۱۷ – RM ۴۶۰۸، دو مکان ژنی کمی دیگر برای صفات طول خروج خوشه از غلاف و تعداد دانه پر ردیابی شد. هم‌چنین از بین مکان‌های شناسایی شده برای وزن خوشه در فاصله RM۱۶۲ – RM۷۴۳۴، دو مکان ژنی کمی دیگر برای طول خروج خوشه و وزن دانه ردیابی شد. فواصل نام‌برده کاندید خوبی برای برنامه‌ریزی در پروژه‌های اصلاحی خواهند بود.

برای میزان سوختگی برگ، دو QTL به ترتیب با LOD برابر ۲/۸۲۳ و ۲/۰۰۷ مشاهده شد که مجموعاً بیش از ۱۵٪ از تغییرات مربوط به میزان سوختگی برگ را کنترل نمودند (جدول ۳). از بین QTL های ردیابی شده qLFI-۱، ۹/۱۲٪ از تغییرات مرتبط با میزان سوختگی برگ را کنترل نمود (جدول۳). آلل‌های افزایشی این QTL از والد شاه‌پسند باعث کاهش میزان سوختگی برگ شدند. برای میزان لوله شدن برگ سه QTL تشخیص داده شد که از بین آنها qROL-1 بیش از سایر QTL ها توانست تغییرات میزان لوله شدن برگ (۱۴/۱۱٪) را کنترل کند. آلل‌های کاهش‌دهنده میزان لوله شدن برگ از والد شاه‌پسند توانست ۰/۹۴۹- مقدار لوله شدن برگ را کاهش دهد. از بین QTL های مشخص شده، qROL-1 با نسبت درستنمایی ۲/۱۷۹ و اثر افزایشی ۰/۹۴۹ سانتی‌متر، ۱۴/۱۱٪ از تغییرات میزان لوله شدن برگ را کنترل نمود. برای درصد باروری، سه QTL ردیابی شد که بیشترین تغییرات را QTL روی کروموزوم ۶ توجیه نمود (qFER-۶). موقعیت مکانی qFER-۶ با QTL ردیابی شده برای درصد لوله شدن برگ (qROL-۶a) مطابقت داشت. اثر افزایشی این ناحیه از ژنوم برنج روی کروموزوم ۶، مثبت و در جهت افزایش درصد باروری گزارش شد. بالا بودن درصد توجیه این QTL آنرا کاندید بسیار مناسبی برای برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر ساخت.

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر برای تعیین و تشخیص نواحی ژنی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج انجام شد. بررسی فنوتیپی صفات مورد مطالعه حاکی از وجود تغییرات کمی و پیوسته بود. برای کلیه این صفات، ارزش‌هایی بیشتر از والد دارای حداکثر مقدار صفت و کمتر از والد دارای حداقل صفت دیده شد که مبین تفکیک متجاوز برای این صفات بود. در پژوهش حاضر، تعداد ۳۳ نشانگر چند شکل از بین ۱۰۶ نشانگر بررسی شده متعلق به کروموزوم‌های ۱ و ۶، در دو گروه پیوستگی قرار گرفتند. در مجموع، ۲۴ QTL مرتبط با صفات ارزیابی شده شناسایی شد. برای صفت تعداد روز تا گل‌دهی، مکان ژنی کنترل‌کننده روی کروموزوم ۶ شناسایی شد و اثر افزایشی آن ۴/۶۱۴- بود. برای ارتفاع بوته نیز یک QTL روی کروموزوم ۶ در حد فاصل نشانگرهای RM۴۶۱ – RM۱۶۲ شناسایی شد. برای طول خروج خوشه از غلاف و طول خوشه، دو مکان ژنی کمی کنترل‌کننده روی کروموزوم ۶ قرار داشت. برای تعداد دانه پر در خوشه، سه مکان ژنی کمی روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ با اثر افزایشی آلل IR۲۸ شناسایی شد. مکان‌های ژنی کمی شناسایی شده برای وزن دانه و وزن خوشه روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ قرار داشتند. برای میزان سوختگی برگ، دو QTL دیده شد. برای میزان لوله شدن برگ سه QTL تشخیص داده شد که از بین آنها qROL-۱ بیش از سایر QTL ها توانست تغییرات میزان لوله شدن برگ را کنترل کند. برای درصد باروری، سه QTL ردیابی شد که بیشترین تغییرات را QTL روی کروموزوم ۶ توجیه نمود.

منابع مورد استفاده

1. Babu, R. C., B. D. Nguyen, V. Chamarerk, P. Shanmugasundaram, P. Chezhian, P. Jeyaprakash, S. K. Ganesh, A. Palchamy, S. Sadasivam, S. Sarkarung, L. J. Wade and H. T. Nguyen. 2003 .Genetic analysis of drought

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]

resistance in rice by molecular markers: Association between secondary traits and field performance. *Crop Science* 43: 1457-1469.

2. Chakraborty, S. and Z. B. Zeng. 2011. QTL Mapping for days to flowering under drought condition in rice (*Oryza sativa* L.) genome. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 39: 58-63.
3. Chen, X., S. Temnykh, Y. Xu, Y. G. Cho and S. R. McCouch. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.*). Theoretical and Applied Genetics* 95: 553-567.
4. De Datta, S. K., J. A. Malabuyoc and E. L. Aragon. 1988. A field screening technique for evaluating rice germplasm for drought tolerance during vegetative stage. *Field Crops Research* 19: 123-124.
5. Gomez, S. M., S. S. Kumar, P. Jeyaprakash, R. Suresh, K. R. Biji, N. M. Boopathi, A. H. Price and R. Babu. 2006. Mapping QTLs linked to physio-morphological and plant production traits under drought stress in rice (*Oryza sativa* L.) in the target environment. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2: 161-169.
6. Kosambi, D. D. 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Annuals of Human Genetics* 12: 172-175.
7. Kumar, R., R. Venuprasad and G. N. Atlin. 2007. Genetic analysis of rainfed lowland rice drought tolerance under naturally-occurring stress in eastern India: Heritability and QTL effects. *Field Crops Research* 103: 42-52.
8. Hittalmani, S., H. E. Shashidhar, P. G. Bagali, N. Huang, J. S. Sidhu, V. P. Singh and G. S. Khush. 2002. Molecular mapping of quantitative trait loci for plant growth, yield and yield related traits across three diverse locations in a doubled haploid rice population. *Euphytica* 125: 207-214.
9. Loresto, G. C. and T. T. Chang. 1981. Decimal scoring system for drought reactions and recovery ability in screening nurseries of rice. *International Rice Research Newsletter* 6(2): 9-10.
10. Lander, E. S. and D. Botestein. 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199.
11. MacMillan, K., K. Emrich, H. P. Piepho, C. E. Mullins and A. H. Price. 2006. Assessing the importance of genotype × environment interaction for root traits in rice using a mapping population. II: Conventional QTL analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 113: 953-964.
12. McCouch, S. R., L. Teytelman, Y. Xu, K. Lobos, K. Clare and M. Walton. 2002. Development of 2243 new SSR markers for rice by the International Rice Microsatellite initiative. Proceeding of the First International Rice Congress, Shanghai, China pp. 150-152.
13. McCouch, S. R., L. Teytelman, Y. B. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. K. Li, Y. Z. Xing, Q. F. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware and L. Stein. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research* 9: 199-207.
14. McCouch, S. R. and S. D. Tanksley. 1994. Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. *Genetics* 138: 1251-1274.
15. Manly, K. F. and J. M. Olson. 1999. Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QTX. *Mammalian Genome* 10: 327-334.
16. Moncada, P., C. Martínez, P. Borrero, J. M. Chatel, H. Gauch, J. E. Guimaraes, J. Tohme and S. R. McCouch. 2001. Quantitative trait loci for yield and yield components in an *Oryza sativa* × *Oryza rufipogon* BC2F2 population evaluated in an upland environment. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 41-52.
17. Nelson, J. C. 1997. QGENE: software for marker-based genomic analysis and breeding. *Molecular Breeding* 3(3): 239-245.
18. Price, A. H., K. A. Steele, B. J. Moore and R. G. W. Jones. 2002. Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water deficit regimes. II. Mapping quantitative trait loci for root morphology and distribution. *Field Crops Research* 76: 25-43.
19. Price, A. H., J. Townsend, M. P. Jones, A. Audebert and B. Courtois. 2002. Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice grown in the Philippines and West Africa. *Plant Molecular Biology* 48: 683-695.
20. Saghai Maroof, M. A., R. M. Biyashev, G. P. Yang, Q. Zhang and R. W. Allard. 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellites DNA in barely: Species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. Proceedings of the Academy of Sciences, USA, 91: 5466-5570.
21. Temnykh, S., W. D. Park, N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y. G. Cho, T. Ishii and S. R. McCouch. 2000. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 100: 697-712.
22. Thomson, M. J., T. H. Tai, A. M. McClung, X. H. Lai, M. E. Hinga, K. B. Lobos, Y. Xu, C. P. Martínez and S. R. McCouch. 2003. Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 479-493.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]

23. Tian, R., G. H. Jiang, L. H. Shen, L. Q. Wang and Y. Q. He. 2005. Mapping quantitative trait loci underlying the cooking and eating quality of rice using a DH population. *Molecular Breeding* 15: 117-124.
24. Venuprasad, R., H. E. Shashidhar, S. Hittalmani and G. S. Hemamalini. 2002. Tagging quantitative trait loci associated with grain yield and root morphological traits in rice (*Oryza sativa* L.) under contrasting moisture regimes. *Euphytica* 128: 293-300.
25. Vikram, P., B. P. Swamy, S. Dixit, H. U. Ahmed, M. Teresa Sta Cruz, A. K. Singh and A. Kumar. 2011. $qDTY_{1.1}$, a major QTL for rice grain yield under reproductive-stage drought stress with a consistent effect in multiple elite genetic backgrounds. *BMC Genetics* 12: 89-102.
26. Vinod, M. S., N. Sharma, K. Manjunath, A. Kanbar, N. B. Prakash and H. E. Shashidhar. 2006. Candidate genes for drought tolerance and improved productivity in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Bioscience* 31: 69-74.
27. Wang, X. S., J. Zhu, L. Mansueto and R. Bruskiewich. 2005. Identification of candidate genes for drought stress tolerance in rice by the integration of a genetic (QTL) map with the rice genome physical map. *Journal of Zhejiang University Science B* 6: 382-388.
28. Xiao, J. H., J. M. Li, L. P. Yuan and S. D. Tanksley. 1996. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from subspecific rice cross. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 230-244.
29. Zeng, Z. B. 1994. Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136: 1457-1468.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-25]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.4.1.7]