نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیستم، شماره سوم، ۱۳۹۲
http://jopp.gau.ac.ir

بررسی تنوع آللی نشانگرهای ریزماهواره ناحیه QTL کنترل‌کننده تحمل به شوری در ارقام برنج ایرانی

قاسم محمدی‌نژاد[۱]، مرجان قاسم‌خانی[۲]، رضیه زارع[۲]، سمیه ساردویی‌نسب[۳] و *حسین صبوری[۴]

[۱] استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید باهنر کرمان، [۲]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، [۳]کارشناس‌ارشد اصلاح‌نباتات، دانشگاه شهید باهنر کرمان، [۴]استادیار گروه تولیدات گیاهی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۲۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۱۵

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی تنوع آللی پنج نشانگر ریزماهواره ناحیه QTL بزرگ اثر کنترل کننده تحمل به شوری واقع بر روی کروموزوم ۱۰ برنج و ارزیابی صفات زراعی برخی ارقام ایرانی تحت تنش شوری به همراه دو شاهد متحمل (Pokkali) و حساس (IR29) و تجزیه ارتباط صفات مورفولوژیک با نشانگرهای ریزماهواره انجام گردید. براساس داده‌های فنوتیپی ارقام برنج به ۳ گروه حساس، متحمل و نیمه متحمل طبقه‌بندی شدند. بر اساس نتایج مولکولی پژوهش، نشانگر RM6100 واقع در این ناحیه کروموزومی به‌عنوان مؤثرترین نشانگر جهت شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به شوری در مرحله زایشی شناسایی شد و بیشترین صفات مربوط به اجزای عملکرد با این نشانگر ارتباط معنی‌دار نشان دادند و در برنامه‌های به‌نژادی برنج به‌عنوان نشانگر اطلاع رسان و سودمند پیشنهاد می‌گردد. همچنین، صفت وزن تک دانه در شرایط تنش شوری با همه نشانگرهای مورد بررسی رابطه معنی‌داری را نشان داد که به نحوی بیانگر اهمیّت این ناحیه کروموزومی در کنترل این صفت می‌باشد. بنابراین، بر اساس این مطالعه با استفاده از اطلاعات نشانگری این ناحیه ژنومی می‌توان در اصلاح برنج جهت تولید ارقام پرمحصول و متحمل به تنش بهره گرفت.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی صفات تحت تنش شوری، برنج، تجزیه ارتباطی، تنوع آللی، ریز ماهواره

*مسئول مکاتبه: hos.sabouri@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

تنش شوری به‌علت حساسیت بالای واریته‌های برنج یکی از محدودیت‌های عمده در مناطق تولید کننده برنج به شمار می‌رود (اسماعیل و همکاران، ۲۰۱۰؛ ناخدا و همکاران، ۲۰۱۲). برنج در تغذیه صدها میلیون انسان در سرتاسر جهان نقش داشته و کشت آن در چین و هندوستان سابقه ۷۰۰۰ ساله دارد (فائو، ۲۰۰۵) و تقریبا ۳۰ درصد از مناطق تحت کشت برنج در جهان تحت تأثیر شوری قرار دارند (تاکهیسا و همکاران، ۲۰۰٤). از آن‌جا که برنج در مراحل گیاهچه‌ای و زایشی به نسبت حساس به شوری می‌باشد و رشد و عملکرد آن به‌طور محسوسی تحت شرایط تنش کاهش می‌یابد، بنابراین، شناسایی مکانیسم‌های کلیدی و QTLهای بزرگ اثر دخیل در تحمل به شوری می‌تواند باعث تسریع برنامه‌های اصلاحی جهت توسعه واریته‌های متحمل به شوری شود (لی و همکاران، ۲۰۰٦؛ وانگ و همکاران، ۲۰۱۱). تلاش برای کاهش شوری خاک با استفاده از روش‌های مکانیکی و اصول به زراعی مانند آبیاری، زهکشی و اصلاح خاک به‌طور معمول کاربردی نبوده و از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نمی‌باشد و برای تداوم زراعت برنج در این نواحی به واریته‌های مقاوم با توانایی بیشتر در برابر تنش شوری نیاز می‌باشد (کاووسی، ۲۰۰۱). موفقیت‌های به‌دست آمده در گذشته به‌دلیل پیچیدگی کار اصلاح برای تحمل به شوری، فقدان احساس ضرورت و فوریت واقعی برای اصلاح آن، تنوع ژنتیکی ناکافی برای تحمل به شوری، پیچیدگی اثرات متقابل شوری با عوامل محیطی و فقدان تکنیک‌های گزینشی کارا چندان قابل توجه نبوده است (فلاوور و یائو، ۱۹۹۵؛ گریگوریو و همکاران، ۲۰۰۲). طراحی استراتژی‌های اصلاحی پویا برای اصلاح تحمل به شوری در ارقام برنج نیازمند درک مکانیسم‌های تحمل به شوری است (مرادی، ۲۰۰۲). شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با تحمل به شوری اصلاحگر را قادر به توسعه واریته‌های متحمل به شوری با استفاده از انتخاب به کمک نشانگر می‌سازد که باعث افزایش کارایی اصلاح و قدرت انتخاب می‌شود (لی و همکاران، ۲۰۰٦؛ وانگ و همکاران، ۲۰۱۱). نشانگرهای ریزماهواره نشانگرهای مناسبی جهت نشانمند کردن و نقشه‌یابی QTL های مرتبط با تحمل به شوری می‌باشند (لانگ و همکاران، ۲۰۰۱). مک کوچ و همکاران (۲۰۰۲) نقه‌ای شامل ۲۲٤۰ نشانگر ریزماهواره تهیه نمودند که تمام ژنوم برنج را پوشش داد. پس از آن نقشه ژنتیکی کامل‌تری توسط International Rice Genome Sequencing Project ارایه شد که تعداد ۱۸۸۲۸

Archive of SID

www.SID.ir

نشانگر SSR (دو، سه و چهار نوکلئوتیدی) را شامل می‌شود (پروژه بین‌المللی توالی‌یابی ژنوم برنج[1]، ۲۰۰۵). این نشانگرها در برنج قادرند چند شکلی را در بین واریته‌ها و یا درون واریته‌ها شناسایی نمایند (اولفووت و همکاران، ۱۹۹۷؛ یانگ و همکاران، ۱۹۹٤). ارتباط مارکرها با صفات زراعی مورد علاقه به‌منظور شناسایی QTLهای دخیل در کنترل صفت در بسیاری از گیاهان بررسی شده است. زمانی‌که چنین ارتباطی بین مارکر و صفت به وجود آمد، گزینش غیرمستقیم می‌تواند از طریق بررسی حضور یا عدم حضور مارکرهای موردنظر صورت گیرد که می‌تواند به‌طور جدی هزینه‌های برنامه‌های اصلاحی را کاهش داده و علاوه بر این زمان موردنیاز برای اصلاح یک رقم جدید را کوتاه‌تر نماید (یین و همکاران، ۲۰۰۳). مطالعه رابطه بین نشانگرهای مولکولی و صفات زراعی دارای کاربردهای متعددی است که برخی از آن‌ها عبارت است از امکان بررسی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص پیش از ارزیابی فنوتیپی، آلل‌های صفت مطلوب در مجموعه‌های ژرم‌پلاسم، تسهیل مکان‌یابی خیلی دقیق QTLها و تأیید ژن‌های کاندیدای مسئول صفات کمی (گبهارد و همکاران، ۲۰۰٤).

از آن‌جا که برنج به شوری حساس می‌باشد (ناخدا و همکاران، ۲۰۱۲)، به‌منظور مطالعه دقیق‌تر QTLهای شناسائی شده جهت استفاده در اصلاح برای تحمل به شوری، بررسی تنوع آللی نشانگرهای ریزماهواره در جمعیت ارقام ایرانی جهت اعتبارسنجی QTL بزرگ اثر کنترل کننده تحمل به شوری در مرحله زایشی در این ژنوتیپ‌ها از اهداف مهم این مطالعه می‌باشد. بهره‌گیری از روش ارزیابی صفات فنوتیپی در کنار نشانگرهای مولکولی SSR به‌منظور شناسایی نشانگرهای مثبت مرتبط با برخی صفات مورفولوژیک مهم در این ارقام، همچنین ارزیابی فنوتیپی صفات جهت بررسی و میزان الگوی تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌ها جهت گروه‌بندی و ایجاد زمینه بهره‌برداری از این تنوع ژنتیکی از طریق روش‌های مرسوم و مولکولی از دیگر اهداف این پژوهش بودند.

مواد و روش‌ها

ارزیابی مزرعه‌ای: صفات عقیمی (نسبت تعداد دانه‌های پوک به تعداد کل دانه‌ها)، وزن دانه، عملکرد (در بوته اندازه‌گیری شد)، روز تا گلدهی، تعداد پنجه، ارتفاع، درصد زنده ماندن، وزن کل بوته، تعداد دانه پر بوته، تعداد دانه پوک، تعداد بوته، وزن دانه در بوته، طول خوشه، باروری دانه، شاخص برداشت

1- IRGPS

Archive of SID

www.SID.ir

و وزن تک دانه در شرایط تنش شوری (در شرایط مزرعه شور با هدایت الکتریکی dsm^{-1} ۸ در دانشگاه گنبد کاووس) ثبت گردیدند. امتیاز تحمل به شوری ژنوتیپ‌ها (SES)[1] با استفاده از سیستم نمره‌دهی ۹-۱ صورت پذیرفت (گریگوریو، ۱۹۹۷). ژنوتیپ‌ها از رتبه ۱ (بسیار متحمل)، ۳ (متحمل)، ۵ (نیمه متحمل)، ۷ (حساس) و ۹ (بسیارحساس) رتبه‌دهی شدند که متحمل‌ترین ژنوتیپ رتبه ۱ و حساس‌ترین ژنوتیپ رتبه ۹ را به خود اختصاص دادند.

ارزیابی مولکولی: به‌منظور استخراج DNA، بذور ۲۰ رقم برنج ایرانی و دو شاهد متحمل (Pokkali) و حساس (IR29) به شوری در گلخانه به مدت ۱٤ روز کشت گردیدند، سپس DNA ژنومی طبق روش تغییر یافته دلاپورتا از برگ‌های جوان استخراج گردید (دلاپورتا، ۱۹۸۳). ۵ نشانگر چند شکل ریزماهواره، واقع بر روی کروموزوم ۱۰ برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد استفاده قرار گرفتند.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Eppendorf در حجم ۱۰ میلی‌مولار انجام شد. مخلوط واکنش حاوی، بافر PCR یک برابر، ۰/۲۵ میکرولیتر MgCl2 ۱/۵ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر dNTPs، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۵ میلی‌مولار، تک پلیمراز یک واحد و ۵۰ نانو گرم از DNA الگو بود. به‌منظور تکثیر قطعات DNA چرخه‌های PCR به شرح زیر انجام شد: بعد از ۵ دقیقه واسرشت‌سازی در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد سپس ۳۵ چرخه شامل: ۱ دقیقه در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد، ٤۵ ثانیه در دمای اتصال ۵۵ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. محصولات PCR در ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد با ولتاژ ۱۰۰ در بافر TBE (1x) به‌مدت ۲ ساعت تفکیک شدند. سپس در اتیدیوم برماید رنگ‌آمیزی شدند و اسکوردهی باندها با استفاده از نرم‌افزار AlphaEaseFC4 (Alpha Innotech Corp., San Leandro, CA) انجام شد.

ترسیم دندروگرام بر اساس داده‌های صفات مزرعه‌ای: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۰ ژنوتیپ بر اساس داده‌های صفات مزرعه‌ای بر مبنای روش Ward که بیشترین استفاده را در بین پژوهشگران دارد (قره‌یاضی و همکاران، ۲۰۱۰) و بهترین روش گروه‌بندی برای صفات کمی است با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS.V.17 انجام شد. ترکیب آللی برای هر ژنوتیپ برای هر یک از نشانگرها مشخص شد. جهت محاسبه فراوانی آللی هر لوکوس و هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای

1- Standard Evaluation System

Archive of SID

www.SID.ir

هر لوکوس از نرم‌افزار Power Marker Ver 3.25 (لیو و میوس، ۲۰۰۵)، استفاده شد. محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC) که نشان دهنده قدرت تمایز ژنوتیپ‌ها برای هر ترکیب نشانگری است، طبق فرمول زیر محاسبه شد (اندرسون و همکاران، ۱۹۹۳):

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^{n} p_{ij}^2$$

که در رابطه فوق Pij فراوانی i امین آلل برای نشانگر j و n تعداد کل آلل‌های مشاهده شده برای لوکوس نشانگری است.

همچنین با استفاده از این نرم‌افزار تعداد آلل مشاهده شده در هر مکان ژنی نیز محاسبه گردید.

تنوع آللی نشانگرهای ریزماهواره ناحیه QTL بزرگ اثر واقع بر روی کروموزوم ۱۰: ارزیابی تنوع آللی و بررسی گروه‌های هاپلوتیپی براساس مقایسه الگوی آللی ارقام مورد مطالعه با ژنوتیپ مرجع (Pokkali) صورت گرفت (لئو و اندرسون، ۲۰۰۳؛ بای و همکاران، ۲۰۰۳؛ مک کارتنی و همکاران، ۲۰۰٤؛ یو و بان، ۲۰۰٦؛ یو و همکاران، ۲۰۱۰؛ محمدی‌نژاد و همکاران، ۲۰۱۰). رقم Pokkali به‌عنوان مرجع جهت بررسی تنوع آللی استفاده شد و بر مبنای مطابقت توالی ریزماهواره‌های ناحیه موردنظر در ژنوتیپ‌ها با Pokkali به بررسی الگوهای هاپلوتیپی مختلف پرداخته شد.

بررسی ارتباط نشانگرهای SSR با صفات مزرعه‌ای: برای شناسایی نشانگرهای مثبت مرتبط با صفات مورفولوژیک مورد مطالعه، تجزیه رگرسیون گام به گام با در نظر گرفتن مکان‌های نشانگری به‌عنوان متغیرهای مستقل و صفات مورفولوژیک به‌عنوان متغیرهای وابسته با استفاده از نرم‌افزار SPSS.17 انجام گرفت.

نتایج و بحث

گروه‌بندی ژنوتیپ‌های ایرانی: دندروگرام به‌دست آمده از تجزیه کلاستر با استفاده از داده‌های صفات مزرعه‌ای در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس این شکل ۲۰ ژنوتیپ مورد مطالعه به ۳ گروه جداگانه تقسیم گردیدند. در گروه اول ژنوتیپ‌های حساس به شوری شامل نعمت، ندا، گیل ۱، سپید رود، خزر و بینام قرار گرفتند. در این گروه سپید رود فاصله ژنتیکی بیشتری با ۵ ژنوتیپ دیگر داشت به‌طوری‌که در فاصله اقلیدوسی حدود ۵ از بقیه جدا گردید. در این گروه ندا، نعمت و گیل نزدیک‌ترین فاصله ژنتیکی را نسبت به هم داشتند. گروه ۲، ده ژنوتیپ را در بر داشت که ژنوتیپ‌های

Archive of SID

www.SID.ir

این گروه را در فاصله حدود ۵ می‌توان به دو زیر گروه متحمل و نیمه متحمل نسبت به شوری تقسیم‌بندی کرد. به‌طوری‌که زیر گروه اول شامل ژنوتیپ‌های نیمه متحمل، موسی طارم، طارم پاکوتاه، حسنی و زاینده رود و زیر گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های متحمل غریب، قشنگه، شاهپسند، طارم محلی، اهلمی طارم و صدری بود. گروه سوم نیز شامل ژنوتیپ‌های حساس به شوری دمسیاه، آمل ۱، عنبربو و درفک بود.

ارزیابی تنوع ژنتیکی نشانگرهای ریزماهواره: تعداد آلل‌های تولید شده توسط ۵ نشانگر SSR مورد استفاده در مرحله زایشی بین ۳ تا ۵ بود که بیشترین تعداد آلل مربوط به نشانگر RM25181 بود (جدول ۱). محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) از ۰/٤ تا ۰/٦۳ متغییر بود که بالاترین مقدار مربوط به RM25181 بود و RM 6100 کمترین مقدار را نشان داد (جدول ۱). در نهایت می‌توان بیان کرد نشانگر RM25181 با داشتن بیشترین تعداد آلل و بیشترین PIC به‌عنوان بهترین نشانگر برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در مرحله زایشی ارقام برنج ایرانی شناسایی شد.

جدول ۱- تعداد آلل و محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) ۵ نشانگر SSR.

نشانگر	فراوانی آلل	تعداد آلل	محتوای اطلاعات چند شکلی
RM 25181	۰/۵	۵	۰/٦۳
RM 271	۰/٦	٤	۰/۵۲
RM 6833	۰/٦۵	۳	۰/٤٦
RM 6100	۰/۷	۳	۰/٤۰
RM 333	۰/۵۵	٤	۰/۵۸

بررسی تنوع آللی نشانگرهای ریزماهواره ناحیه QTL واقع بر روی کروموزوم ۱۰: کروموزوم ۱۰ به‌عنوان کروموزوم در برگیرنده ژن‌های کنترل کننده تحمل به شوری در مرحله زایشی برنج شناسایی شده است (قاسم‌خانی و محمدی‌نژاد، ۲۰۱۲). جهت ارزیابی تنوع آللی نشانگرهای ریزماهواره QTL بزرگ اثر واقع بر روی کروموزوم ۱۰، از ۵ نشانگر SSR بر روی ۲۰ رقم ایرانی در مرحله زایشی استفاده گردید و رقم Pokkali به‌عنوان مرجع جهت مقایسه الگوی آللی ژنوتیپ‌ها در این ناحیه مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲). ارقام مورد استفاده از لحاظ مطابقت آللی با جایگاه‌های مختلف ژنوتیپ مرجع در ۹ گروه هاپلوتیپی قرار گرفتند که افراد مورد بررسی ترکیب متفاوت آللی نشان دادند

Archive of SID

www.SID.ir

و ژنوتیپ‌هایی که رفتار کراسینگ اوری یکسانی داشتند، در یک گروه قرار گرفتند. بررسی تنوع هاپلوتیپی با استفاده از نشانگرهای SSR پیوسته به QTLهای مرتبط با صفات که بر مبنای مقایسه الگوی آللی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با ژنوتیپ مرجع (کولتیوارهای شناخته شده)، می‌باشد، می‌تواند اطلاعات مفیدی جهت شناسایی QTLهای جدید فراهم کند (یو و بان، ۲۰۰٦). اگر ژنوتیپ‌ها الگوی آللی یکسان با الگوی باندی نشانگرهای پیوسته به QTL مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های مقاوم شناخته شده داشته باشند، به احتمال زیاد دربردارنده همان QTL می‌باشند (بای و همکاران، ۲۰۰۳؛ مک کارتنی و همکاران، ۲۰۰٤). از طرف دیگر اگر دارای الگوی آللی متفاوتی با ژنوتیپ مقاوم شناخته شده باشند، به احتمال زیاد آلل‌های متفاوتی نسبت به آن QTL دارند (یو و بان، ۲۰۰٦).

جدول ۲- گروه‌های هاپلوتیپی تولید شده به وسیله نشانگرهای SSR واقع بر روی کروموزوم ۱۰ با ارجاع به رقم متحمل *Pokkali (مرجع).

RM25181	■				■				
RM271	■	■			■	■			
RM6833	■	■		■			■	■	
RM6100	■	■			■	■	■	■	
RM333	■		■				■		
گروه‌های هاپلوتیپی	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹

*۱: Pokkali،۲: صدری، بینام، موسی طارم، قشنگه، حسنی، اهلمی طارم، طارم محلی، عنبربو، شاهپسند، غریب، ۳: درفک، سپیدرود، ٤: خزر، ٥: طارم پاکوتاه، ٦: گیل، ۷: زاینده رود، ۸: دم سیاه، ۹: ندا، نعمت، آمل ۱

در این مطالعه ٥ گروه هاپلوتیپی مربوط به گروه‌های ژنوتیپی منفرد بود و هیچ‌یک از ۲۰ ژنوتیپ، مطابقت آللی از لحاظ همه جایگاه‌های نشانگری Pokkali نداشتند. ارقام مختلف ترکیب متفاوتی از برخی آلل‌های Pokkali را تکثیر کردند در حالی‌که ارقام ندا، نعمت و آمل ۱ شباهت آللی از لحاظ جایگاه‌های نشانگری Pokkali نداشتند. نتایج به‌دست آمده نشان داد نشانگر RM6100 نسبت به سایر نشانگرها بیشترین مطابقت آللی را با مرجع داشت به‌عبارت دیگر این نشانگر، آلل مطابق با پوکالی را در بیشتر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تکثیر کرد. از مقایسه ترکیب آللی لاین‌های مورد مطالعه،

Archive of SID

www.SID.ir

می‌توان گفت ارقام موجود در گروه هاپلوتیپی شماره ۲ (صدری، موسی طارم، قشنگه، اهلمی طارم، طارم محلی، شاهپسند و غریب) که الگوی آللی یکسانی با ژنوتیپ مرجع از لحاظ نشانگرهای RM271، RM6883 و RM6100 داشتند و پتانسیل بالایی در شرایط تنش در مرحله زایشی نشان دادند که می‌تواند بیانگر تأثیرگذاری آلل موجود در QTL کنترل کننده تحمل به شوری واقع در کروموزوم ۱۰ در این ارقام باشد همچنین، بیانگر اهمیت این نشانگرها در ارتباط قوی و مثبت با تحمل به شوری در مرحله زایشی در برنج می‌باشد. ژنوتیپ‌هایی که آلل نشانگر یکسان با Pokkali را برای RM6833 و RM333 دارا بودند، پاسخ متفاوتی به شوری نشان دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که بیشتر ارقام متحمل مورد مطالعه از لحاظ نشانگرهای RM271 و RM6100 بیشترین مطابقت آللی را با Pokkali داشتند، بنابراین می‌توان از این نشانگرها به‌منظور انتخاب به کمک نشانگر در برنامه‌های به نژادی برنج در جهت تحمل به شوری بهره برد.

بررسی ارتباط نشانگرهای SSR با صفات فنوتیپی: نتایج آزمون F برای آلل‌های موجود در مکان‌های ژنی نشانگرهای مورد مطالعه، تحت تنش شوری نشان داد که بین ارقام متعلق به گروه‌های آللی نشانگر RM25181 با صفت تعداد پنجه ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$)، همچنین با صفت وزن تک دانه این ارتباط نیز مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$) به‌عبارتی بیانگر ارتباط بین نشانگر فوق با صفات تعداد پنجه و وزن تک دانه در روی کروموزوم ۱۰ می‌باشد (جدول ۳). بین صفات تعداد پنجه، ارتفاع گیاه، قابلیت زنده ماندن دانه گرده، تعداد دانه پوک و وزن تک دانه با آلل‌های نشانگر RM271 ارتباط معنی‌داری وجود داشت که ممکن است بیانگر ارتباط بین توالی این نشانگر در روی کروموزوم ۱۰ با بخشی از ژن‌های کنترل کننده این صفات در تنش شوری باشد (جدول ۳). مکان‌یابی QTLها بر اساس مارکرها و تغییرات فنوتیپی صفت موردنظر استوار است. ارتباط معنی‌دار نشان‌دهنده وجود ژن در حوزه مارکر است (ین و همکاران، ۲۰۰۳). صفات عقیمی، شاخص برداشت و وزن تک دانه ارتباط معنی‌داری با نشانگر RM6833 نشان دادند (جدول ۳). صفات تعداد پنجه، وزن دانه در بوته، تعداد دانه پر و وزن تک دانه ارتباط معنی‌داری را با آلل‌های نشانگر RM6100 نشان دادند (جدول ۳) بنابراین می‌توان استنتاج نمود که احتمالا بخشی از ژن‌های کنترل کننده این صفات در مجاور این نشانگر قرار دارند و رابطه معنی‌داری با صفات ذکر شده دارد. بنابراین نشانگر RM6100 به‌عنوان مؤثرترین نشانگر جهت شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به شوری در مرحله زایشی شناسایی شد

Archive of SID

www.SID.ir

بیشترین صفات مربوط به اجزای عملکرد با این نشانگر ارتباط معنی‌دار نشان دادند و در برنامه‌های به‌نژادی برنج به‌عنوان نشانگر اطلاع رسان و سودمند پیشنهاد می‌گردد.

جدول ۳- میانگین مربعات نشانگرهای ریز ماهواره (واقع بر روی کروموزوم ۱۰) در ارتباط با صفات مورفولوژیک.

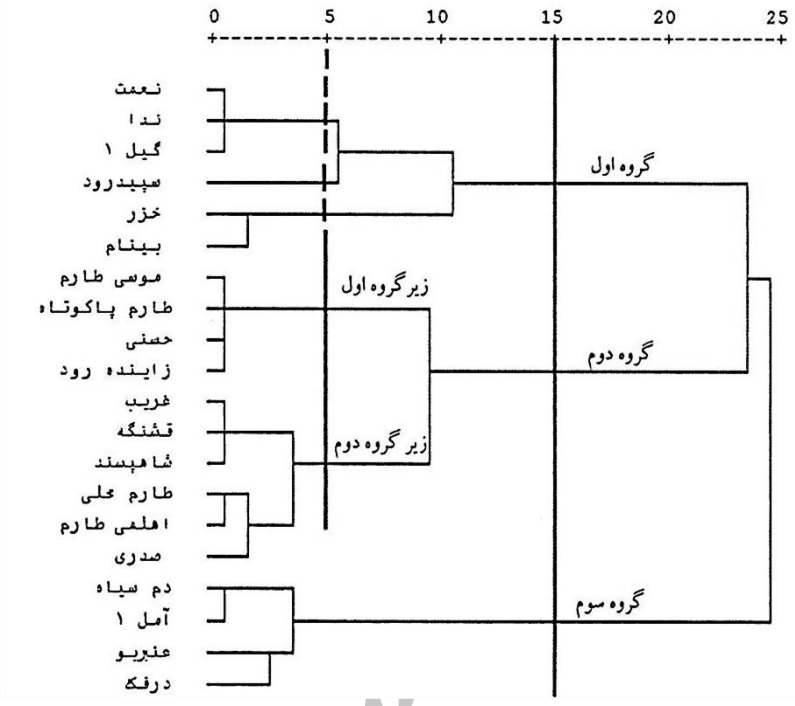
صفات	نشانگ	میانگین مربعات
تعداد پنجه	RM25181	۳۱۲/۷*
	RM271	۲۷٦/۵۳**
	RM6100	۲٦۱/۱۱*
وزن تک دانه	RM25181	٤/٦**
	RM271	۲/۱۳*
	RM6833	۳**
	RM6100	۱/٤٥**
	RM333	۲/٤٦**
ارتفاع	RM271	۱۸۹/۰۷*
تعداد دانه پوک	RM271	۱۷/۰۱*
قابلیت زنده ماندن دانه گرده	RM271	۳٤۷/۸*
شاخص برداشت	RM6833	٤/٥×۱۰$^{-٥}$*
تعداد دانه پر	RM6100	۱۹۷٤۷۱٤/٦*
وزن دانه	RM333	۳۹/۳۹**
	RM6100	۱۹/۹٥**

*و** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

نشانگر RM333 رابطه بسیار معنی‌داری ($p<0.01$) با صفات وزن دانه در بوته و وزن تک دانه نشان داد (جدول ۳). در نهایت می‌توان بیان داشت که صفت وزن تک دانه در شرایط تنش شوری با همه نشانگرهای مورد بررسی رابطه معنی‌داری را نشان داد که به نحوی بیانگر اهمیت این ناحیه کروموزومی در کنترل این صفت می‌باشد. با توجه به ارتباط معنی‌دار نشانگرهای مورد مطالعه و صفات مورد مطالعه که بیانگر تأثیر ناحیه QTL شناسائی شده می‌باشد، می‌توان از این نشانگرها همراه با اطلاعات مربوط به صفات مورفولوژیک در اصلاح برنج جهت تولید ارقام پرمحصول و متحمل به تنش بهره گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- نمودار خوشه‌ای ارقام ایرانی براساس روش Ward.

منابع

1.Anderson, J.A., Churchill, G.A., Autrique, J.E., Tanksley, S.D., Sorrells, M.E. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. Genome. 36: 181-186.

2.Bai, G., Peiguo, G, and Kolb, F.L. 2003. Genetic relationships among head blight-resistant cultivars of wheat assessed on the basis of molecular markers. Crop Science. 43: 498-507.

3.Delaporta, S.L., Wood, J., and Hicks, J.B. 1983. A plant DNA minipreparation: version II. Plant Molecular Biology 4: 19-21

4.FAO. 2005. Food and Agricultural Organization of United Nation (FAO), http://apps.fao.org

5.Flowers, T.J., and Yeo, A.R. 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: Where next Australian. Journal Pant Physiology. 22: 875-884.

6.Ghareyazie, B., Naghavi, B. and Hosseini Salekdeh, G. 2010. Molecular Markers. Tehran University Press.

Archive

www.SID.ir

7.Ghasemkhani, M. and Mohammadi-Nejad, G. 2012. Gene mapping of Traits Attributed to Salinity Tolerance at Seedling and Reproductive Stages in Rice. Journal of Agricultural Biotechnology. 4: 2, 43-59.
8.Gebhardt, C., Ballvora, A., Walkemeier, B., Oberhagemann, P., and Schuler, K. 2004. Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: A case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. Molecular Breeding. 13: 93-102.
9.Gregorio, G.B. 1997. Tagging salinity tolerance genes in rice using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). PhD Thesis. Los Banos. Philippines.
10.Gregorio, G.B., Senadhira, D., and Mendoza, R.D. 1997. Screening rice for salinity tolerance. IRRI 502 Discussion Paper Series No. 22. International Rice Research Institute, Los Baños, 503 Philippines.
11.Gregorio, G.B., Senadhira, D., Mendoza, R.D., Manigbas, N.L., Roxas, J.P., and Guerta, C.Q .2002. Progress in breeding for salinity tolerance and other abiotic associated stresses in rice. Field Crops Research. 76: 91-101
12.IRGSP (International Rice Genome Sequencing Project) 2005. "The map-based sequence of the rice genome", Nature 436: 793-800.
13.Ismail, A.M., Thomson, M.J., Vergara, G.V., Rahman, M.A., Singh, R.K., Gregorio, G.B., et al. 2010. Designing resilient rice varieties for coastal deltas using modern breeding tools. In: Hoanh CT, Szuster BW, Pheng KS, Ismail AM, Nobel AD, editors. Tropical Deltas and coastal zones: food production, communities and environment at the land-water interface. Wallingford: CAB. Pp: 154-65.
14.Kavousi, M. 2001. Study of interaction effects between different levels of nitrogen and potassium on rice yield. Rice Research Institute of Iran. Research Report. 24p. (Translated in Persian)
15.Lang, N.T., Yanagihara, S., and Buu, B.C .2001. QTL analysis of salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). SABRAO J Breed. Genet. 33: 11-20.
16.Lee, S.Y., Ahn, J.H., Cha, Y.S., Yun, D.W., Lee, M.C., Ko, J.C., Lee, K.S., and Eun, M.Y. 2006. Mapping of quantitative trait loci for salt tolerance at the seedling stage in rice. Mol Cells. 21: 192-196.
17.Liu, S., and Anderson, J.A. 2003. Targeted molecular mapping of a major wheat QTL for head resistance using wheat ESTs and synteny with rice. Genome. 46: 817-823.
18.Liu, K., and Muse, S.V. 2005. Power Marker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics. 21: 2128-2129.
19.McCartney, C.A., Sommers, D.J., Fedak, G., and Cao, W. 2004. Haplotype diversity at Fusarium head blight resistance QTLs in wheat. Theoretical and Applied Genetics. 109: 261-271.
20.McCouch, S.R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K., Clare, K., and Walton, M. 2002. Development of 2243 new SSR markers for rice by the international

Archive of SID

www.SID.ir

rice microsatellite initiative. Proc. First International Rice Congress China. Pp: 150-152.
21.Moradi, F. 2002. Physiological characterization of rice cultivars for salinity tolerance during vegetative and reproductive stage. PhD Thesis. University of Philippines, Los Banos. Philippines.
22.Mohammadi Nejad, G., Singhb, R.K., Arzanic, A., Rezaie, A.M., Sabouri, H., and Gregorio, G.B. 2010. Evaluation of salinity tolerance in rice genotypes. International Journal of Plant Production. 4 (3).
23.Nakhoda, B., Leung, H., Mendioro, M.S., Mohammadi-Nejad, G., and Ismail, A.M .2012. Isolation, characterization, and field evaluation of rice (*Oryza sativa* L., Var. IR64) mutants with 529 altered responses to salt stress. Field Crops Research. 127: 191-202.
24.Olufowote, J.O., Xu, Y, Chen, X., Park, W.O., Beachell, H.M., Dilday, R.H., Goto, M., and McCouch, S.R . 1997. Comparative evaluation of within cultivar variation of rice using microsatellite and RFLP markers. Genome. 40: 370-378.
25.Takehisa, H, Shimodate, T., Fukuta, Y., Ueda, T., Yano, M., Yamaya, T., Kameya, T., and Sato, T. 2004. IdentiWcation of quantitative trait loci for plant growth of rice in paddy Weld Xooded with salt water. Field Crops Res. 89:85-95.
26.Wang, Z.F., Wang, J.F., Bao, Y.M., Wu, Y.Y., and Zhang, H.S .2011c. Quantitative trait loci controlling rice seed germination under salt stress. Euphytica. 178: 297-307.
27.Yang, G.P., Saghai, Maroof, M.A., Xu, C.G., Zhang, Q., and Biyashew, R.M. 1994. Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. Molecular Gen Genetic. 245: 187-194.
28.Yin, X., Stam, P., Kropoff, M.J., and Schapendonk, H.C.M. 2003. Crop modeling, QTL mapping, and their complementary role in plant breeding. Agronomy Journal. 95: 90-98.
29.Yu, J.B., and Ban, T. 2006. Marker-assisted characterization of Asian wheat lines for resistance to fusarium head blight. Theoretical and Applied Genetic 113: 308-320.
30.Yu, L.X., Liu, S., Anderson, J.A., Singh, R.P., Jin, Y., Dubcovsky, J., Brown-Guider, G., Bhavani, S., Morgounov, A., Huerta-Espino, Z. He. J., and Sorrells, M.E. 2010. Haplotype diversity of stem rust resistance loci in uncharacterized wheat lines. Mol Breeding. 26: 667-680.

Archive of SID

www.SID.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Plant Production, Vol. 20(3), 2013
http://jopp.gau.ac.ir

Evaluation of allelic diversity of microsatellite markers in QTL region attributed to salinity tolerance in Iranian rice cultivars

Gh. Mohammadi Nezhad[1], M. Ghasem Khani[2], R. Zare[2], S. Sardouei Nasab[3] and *H. Sabouri[4]

[1]Assistant Prof. Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Shahid Bahonar University of Kerman, [2]M.Sc Graduate, Dept. of Biotechnology, Shahid Bahonar University of Kerman, [3]M.Sc. Student, Dept. of Plant Breeding, Shahid Bahonar University of Kerman, [4]Assistant Prof., Dept. of Plant Production, Gonbad Kavous University
Received: 08/19/2012; Accepted: 05/05/2013

Abstract

This study was carried out in order to evaluate allelic diversity of microsatellite markers in QTL region for salinity tolerance on chromosome 10 in rice and evaluation of agronomical traits of some Iranian rice cultivars in salinity stress along with two tolerant (Pokkali) and sensitive (IR29) check varieties, and association analysis for morphological traits using microsatellite markers. Based on the phenotypic data genotypes were categorized into 3 different groups (sensitive, semi tolerant and tolerant). Based on the molecular results, RM6100 marker at this chromosomal region, is introduced as the effective marker for identification of salt tolerance genotypes at reproductive stage and most traits of related to yield components, showed significant association with this marker, thus suggested as informative and benefit marker in breeding program of rice. Likewise, grain weight showed significant association with all the under studied markers at saline condition, which is indicator of the importance of this chromosomal region in controlling of this trait. Therefore based on this study using of marker information of this chromosomal region can be used in breeding of rice to produce high yielding and tolerant rice cultivars.

Keywords: Association analysis, Allelic diversity, Microsatellite, Rice, Traits assessment under salinity.

* Corresponding Author; Email: hos.sabouri@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir