ژنتیک نوین
دوره هشتم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۲
صفحه ۴۴۸- ۴۳۵

مکان‌یابی QTLهای اصلی و اپیستاتیک برای شاخص‌های تحمل به خشکی در جمعیت F_5 برنج

Mapping main and epistatic QTLs for drought tolerance indices in F_5 population of rice

مهدی رحیمی[۱]، بابک ربیعی*[۲]، حمید دهقانی[۱]، علیرضا ترنگ[۳]

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار، دانشگاه تربیت مدرس
۲- دانشیار، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان
۳- استادیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، رشت

Rahimi M[1], Rabiei B*[2], Dehghani H[1], Tarang AR[3]

1. PhD Student and Associate Professor, Tarbiat Modares University
2. Associate Professor, University of Guilan
3. Assistant Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute, Rasht

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rabiei@guilan.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۶ - تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۲۴)

چکیده

۱۵۰ لاین جمعیت F_5 حاصل از تلاقی بین سپیدرود (*Indica*) و غریب (*Indica*) در شرایط نرمال و تنش خشکی در مزرعه برای شناسایی QTLهای شاخص‌های تحمل به خشکی و صفات وابسته مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس نقشه پیوستگی شامل ۱۳۱ نشانگر ریزماهواره (SSR) و ۵۲ نشانگر AFLP که ۱۴/۱۰۶۳ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را با فاصله متوسط ۵/۸۱ سانتی‌مورگان بین نشانگرها پوشش دادند، ۳۲ QTL اصلی (M-QTL) و ۲۱ QTL اپیستازی (E-QTL) برای عملکرد دانه و وزن هزار دانه در شرایط نرمال و تنش و هشت شاخص تحمل به خشکی به وسیله نرم افزار IciMapping QTL با استفاده از تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب پوششی شناسایی شدند. برای عملکرد در شرایط نرمال و تنش به ترتیب یک QTL اصلی و یک QTL اپیستازی و دو QTL اصلی و دو QTL اپیستازی مکان‌یابی شد. همچنین برای وزن هزار دانه پنج QTL اصلی و یک QTL اپیستازی در شرایط نرمال و چهار QTL اصلی در شرایط تنش شناسایی شد. برای هر کدام از شاخص‌های متوسط بهره‌وری (MP)، شاخص میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)، شاخص میانگین هارمونیک (HM) و شاخص تحمل تنش (STI) سه QTL اصلی روی کروموزوم‌های ۱، ۷ و ۱۱، برای هر کدام از شاخص‌های حساسیت به تنش (SSI)، شاخص پایداری عملکرد (YSI) و شاخص عملکرد (YI) دو QTL اصلی روی کروموزوم‌های ۱و ۷ و برای شاخص تحمل (TOL) دو QTL اصلی روی کروموزوم‌های ۶ و ۷ شناسایی شدند. تنوع فنوتیپی کنترل شده توسط هر یک از QTLهای اصلی و QTLهای اپیستازی به ترتیب از ۵/۹۳ تا ۲۱/۱۲ درصد و ۳/۹۸ تا ۱۸/۸۶ درصد متغیر بود. همچنین تنوع فنوتیپی کل QTLهای اصلی برای صفات عملکرد دانه و وزن هزار دانه در شرایط نرمال و خشکی و شاخص‌های MP، GMP، HM، TOL، SSI، STI، YI و YSI به ترتیب ۷/۴۳ درصد، ۱۸/۶ درصد، ۴۹/۷۱ درصد، ۳۱/۰۹ درصد، ۱۶/۲۷ درصد، ۱۶/۰۱ درصد، ۱۶/۲۰ درصد، ۲۳/۸۴ درصد، ۱۹/۲۶ درصد، ۱۹/۱۱ درصد، ۱۸/۶ درصد و ۱۹/۲۶ درصد بود. نواحی ژنومی بزرگ اثر مرتبط با عملکرد دانه تحت شرایط نرمال و تنش خشکی و شاخص‌های تحمل به تنش برای تولید ارقام با عملکرد بالا و پایداری عملکرد می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی

اپیستازی
برنج
شاخص تحمل به خشکی
DNA
QTL

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

برنج مهم‌ترین محصول غذایی در جهان و منبع اصلی مواد غذایی برای بیشتر از نصف جمعیت جهان است (Khush 2005). مناطق رشد برنج شامل مناطق گرمسیر، نیمه گرمسیر، نیمه‌خشک نواحی گرمسیری و مناطق معتدل جهان است. عمدتا مناطق رشد برنج در آسیا (۱۳۰ میلیون هکتار) اغلب با تنش‌های شدید غیرزنده که رایج‌ترین آن‌ها خشکی است، مورد تهدید قرار می‌گیرند. این مناطق، زمین‌های پست آبی و دیمی که روی هم بیش از ۸۵ درصد برنج دنیا را تولید می‌کنند، به خود اختصاص می‌دهند (Gorantla et al. 2007). خشکی اصلی‌ترین مشکلی است که سازگاری ارقام پرمحصول برنج به خصوص در محیط‌های خشک و دیم برنج را محدود می‌کند (Lafitte et al. 2007). تحقیقات نشان داده که حدود ۲۰۰ میلیون تن از محصول برنج در اثر تنش‌های زنده و غیرزنده از بین رفته است (Giri and Laxmi 2000). تنش خشکی تقریباً در ۵۰ درصد از اراضی تولید برنج دنیا اتفاق می‌افتد (Ndjiondjop et al. 2010).

ارزیابی عملکرد دانه در محیط‌های با تنش فراوان، معمول‌ترین معیار عملی برای توصیف سازگاری ارقام به شرایط پرتنش است (Fischer and Maurer 1978; Gavuzzi et al. 1997). مهمترین روش بررسی واکنش ارقام به تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی ارزیابی عملکرد ارقام در هر دو شرایط نرمال و تنش و سپس ارزیابی شاخص‌های تحمل و حساسیت می‌باشد. سازگاری گیاه به تنش نقش مهمی در تحمل به تنش ایفا کرده به طوری که این رفتارها توسط ژن‌ها کنترل می‌شوند و می‌توانند تحت شرایط تنش و گاهی در شرایط غیرتنش فعالیت کنند (Bouman and Tuong 2001). در صورتی که بتوان با اعمال روش‌های مناسب، تعداد ژن‌ها، جایگاه ژنومی و سهم هر یک از آن‌ها را در کنترل تنوع فنوتیپی عملکرد دانه و این شاخص‌ها مشخص کرد، شاید بتوان همانند صفات تک ژنی به اصلاح این صفات پرداخت. روش‌های تجزیه QTL[1] راهکاری جدید و مناسب برای رسیدن به این هدف بوده و می‌توان از نتایج آن به خوبی در برنامه‌های به‌نژادی آینده استفاده کرد.

تشخیص پیوستگی بین QTLها و نشانگرها، تعیین جایگاه آن‌ها روی کروموزوم‌ها و برآورد اثر آن‌ها روی عملکرد در شرایط تنش و نرمال به وسیله محققین زیادی در برنج مورد مطالعه قرار گرفته است (Babu et al. 2003; Lafitte et al. 2004; Bernier et al. 2007; Gomez et al. 2010; Liu et al. 2010). اگرچه این مطالعات برای شاخص‌های تحمل به تنش در گیاهان دیگر انجام شده (Dashti et al. 2007; Kirigwi et al. 2007; Guo et al. 2008; Du et al. 2009)، اما تنها در یک تحقیق که با استفاده از ۲۱۳ نشانگر ریزماهواره در ۱۹۵ لاین اینبرد برنج انجام شد، چهار QTL برای شاخص تحمل به خشکی[2] یا شاخص پایداری عملکرد[3] روی کروموزوم‌های ۱، ۴، ۵ و ۹ شناسایی شد که به ترتیب ۱۹/۷۹، ۹/۴۳، ۷/۸۳ و ۶/۸۲ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمودند (Hu et al. 2007). Movafegh et al. (2009) با استفاده از ۱۱۷ نشانگر AFLP بر روی جمعیت F_2 برنج، یک QTL برای عملکرد دانه در کروموزوم دو شناسایی کردند که حدود ۸/۳ درصد واریانس فنوتیپی را توجیه کرد. در مطالعه‌ای که بر روی ۱۴۰ اینبرد لاین برنج با استفاده از ۱۱۳ نشانگر ریزماهواره انجام شد، یک QTL برای عملکرد دانه در شرایط نرمال بین نشانگرهای RM493-RM486 در کروموزوم یک و یک QTL برای عملکرد دانه در شرایط تنش در کروموزوم ۸ بین نشانگرهای RM38-RM331 مکان‌یابی شد (Srividhya et al. 2011).

هدف از این مطالعه مکان‌یابی QTLهای کنترل‌کننده عملکرد دانه و وزن هزار دانه در شرایط تنش خشکی و نرمال و همچنین شاخص‌های تحمل به خشکی در جمعیت F_5 برنج بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل ۱۵۰ لاین F_5 حاصل از تلاقی دو رقم برنج ایرانی به اسامی غریب (یک رقم بومی گیلان با ارتفاع بوته متوسط، کیفیت پخت متوسط تا خوب، تعداد پنجه و خوشه کم و عملکرد پایین) به عنوان والد نر و

[1] Quantitative traits locus

[2] Drought resistance index

[3] Yield stability index

Archive of SID
www.SID.ir

سپیدرود (یک رقم اصلاح شده و پاکوتاه ایرانی، کیفیت پخت و تبدیل پایین، تعداد پنجه و خوشه زیاد و عملکرد نسبتاً بالا) به عنوان والد ماده بود. لاین‌های F_5 از خود باروری افراد نسل F_2 (حاصل از تلاقی والدین خاص و خودباروری افراد نسل F_1) به روش انتخاب تک بذر و بدون انجام گزینش تا نسل F_5 تولید شد. همچنین رقم غریب در مرحله گلدهی و رسیدگی یک رقم حساس و رقم سپیدرود در این مرحله از رشد یک رقم متحمل به خشکی می‌باشد (Safaei Chaeikar et al. 2008; Abarshahr et al. 2011).

آزمایش مزرعه‌ای و اندازه‌گیری صفات

این آزمایش تحت تنش خشکی و شرایط نرمال بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان در سال ۱۳۸۹ انجام شد. در شرایط تنش خشکی آبیاری مزرعه پژوهشی ۳۰ روز پس از نشا کاری به طور کامل متوقف شد و تا پایان فصل برداشت ادامه داشت، اما در شرایط نرمال آبیاری مزرعه به صورت غرقابی انجام شد به طوری که همیشه حدود ۵ سانتی‌متر آب در سطح خاک مزرعه وجود داشت. در هر دو شرایط (نرمال و تنش خشکی) لاین‌های F_5 به همراه والدین در یک ردیف که شامل ۲۰ بوته بود، نشا کاری شدند. ۳۰ روز پس از کاشت در خزانه، نشاهای سالم و قوی به زمین اصلی منتقل شدند و فاصله بوته‌ها روی هر ردیف ۲۰ سانتی‌متر و بین ردیف‌ها ۳۰ سانتی‌متر بود. کلیه عملیات زراعی مورد نیاز در طول دوره رشد و نمو بوته‌ها در شرایط تنش و نرمال به طور یکسان انجام شد و فقط از نظر آبیاری متفاوت بودند. اندازه‌گیری ارزش‌های فنوتیپی عملکرد دانه و وزن هزار دانه در دو شرایط بر اساس دستورالعمل استاندارد ارزیابی صفات در برنج[1]، انجام شد (SES 2002)، به این ترتیب که برای وزن هزار دانه تعداد ۱۰۰۰ شلتوک کامل و رسیده به طور تصادفی از هر لاین انتخاب و با ترازوی حساس بر حسب گرم مورد توزین قرار گرفت و برای عملکرد دانه کل دانه‌های پر هر لاین در هر تکرار بعد از رسیدن کامل دانه‌ها برداشت شد و سپس با ترازوی حساس مورد توزین قرار گرفت و سپس میانگین سه تکرار در هر شرایط آبیاری محاسبه شد و برای مکان‌یابی QTL و ارزیابی شاخص‌های تحمل به خشکی استفاده شد.

شاخص‌های تحمل به خشکی شامل شاخص حساسیت به تنش[2] (SSI) (Fischer and Maurer 1978)، شاخص تحمل[3] (TOL)، شاخص متوسط بهره‌وری[4] (MP) (Hossain et al. 1990)، شاخص میانگین هندسی بهره‌وری[5] (GMP)، شاخص تحمل تنش[6] (STI) (Fernandez 1992)، شاخص میانگین هارمونیک[7] (HM) (Rosielle and Hamblin 1981)، شاخص پایداری عملکرد[8] (YSI) (Bouslama and Schapaugh 1984) و شاخص عملکرد[9] (YI) (Gavuzzi et al. 1997) بود و براساس روابط زیر محاسبه شدند:

$$\text{Stress susceptibility index } (SSI) = \frac{1-(Ys/Yp)}{1-(\overline{Ys}/\overline{Y}p)} \quad (۱)$$

$$\text{Harmonic mean } (HM) = \frac{2(Ys \times Yp)}{(Ys + Yp)} \quad (۲)$$

$$\text{Yield stability index } (YSI) = \frac{Ys}{Yp} \quad (۳)$$

$$\text{Tolerance index } (TOL) = Yp - Ys \quad (۴)$$

$$\text{Mean productivity } (MP) = \frac{Yp + Ys}{2} \quad (۵)$$

$$\text{Stress tolerance index } (STI) = \frac{Yp + Ys}{Y_p^2} \quad (۶)$$

$$\text{Geometric mean productivity } (GMP) = \sqrt{Yp \times Ys} \quad (۷)$$

$$\text{Yield index } (YI) = \frac{Ys}{\overline{Ys}} \quad (۸)$$

در این روابط، Ys عملکرد دانه لاین‌های F_5 در شرایط تنش خشکی، Yp عملکرد دانه لاین‌های F_5 در شرایط نرمال، $\overline{Ys}$ و $\overline{Y}p$ به ترتیب میانگین عملکرد دانه همه لاین‌های F_5 در شرایط تنش خشکی و نرمال می‌باشد.

استخراج DNA و ارزیابی نشانگرهای مولکولی

[1] Standard evaluation system

[2] Stress susceptibility index
[3] Tolerance index
[4] Mean productivity
[5] Geometric mean productivity
[6] Stress tolerance index
[7] Harmonic mean
[8] Yield stability index
[9] Yield index

Archive of SID
www.SID.ir

استخراج DNA از نمونه‌های برگ جوان با استفاده از روش تغییر یافته CTAB (Murray and Thompson 1980) انجام شد. مجموعه‌ای از ۵۵۰ نشانگر ریزماهواره که به خوبی روی ۱۲ کروموزوم برنج پخش شده بودند، از پایگاه اطلاعاتی گرامینه (http://www.gramene.org/) شناسایی شدند و برای تست چندشکلی روی والدین مورد استفاه قرار گرفتند و بر اساس پایگاه عمومی (Temnykh et al. 2000, 2001; McCouch et al. 2002) تنظیم شدند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با روش مکفیرسون و مولر با اندکی تغییرات انجام شد (McPherson and Møller 2006). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با دستگاه ASTEC-PC818 ترموسایکلر در حجم واکنش ۱۰ میکرولیتر که شامل دو میکرولیتر DNA الگو، ۰/۴ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای پیشرو و پسرو با غلظت ۱۰ پیکومول، ۰/۶ میکرولیتر مخلوط چهار نوکلئوتید (دو میلی‌مولار)، ۰/۱۲ میکرولیتر آنزیم *Taq* پلیمراز (۵ واحد در میکرولیتر)، ۰/۴۸ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰ میلی‌مولار)، یک میکرولیتر بافر PCR با غلظت ۱۰ برابر (10x) و ۵ میکرولیتر آب مقطر استریل بود، صورت گرفت. این مواد برای تعداد ۹۶ واکنش مخلوط شدند و در پلیت PCR ۹۶ خانه‌ای پخش شدند و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با شرایط پنج دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشته سازی رشته‌ی DNA الگو و به دنبال آن ۳۵ چرخه با ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشته سازی، ۴۵ ثانیه در ۵۵ تا ۶۵ (دمای اتصال آغازگر) درجه سانتی‌گراد برای اتصال و یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط و سپس پنج دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط نهایی انجام شد.

روش AFLP با ۵۰۰ نانوگرم DNA ژنومی در هر واکنش انجام شد. هضم آنزیمی، اتصال سازگارسازها، تکثیر پیش از مرحله انتخاب و تکثیر انتخابی همانند روش Vos et al. (1995) با اندکی تغییرات انجام شد. هضم DNA الگو با آنزیم‌های برشی *Eco*RI و *Mse*I بود. مرحله پیش تکثیر DNA الگو با آغازگرهای بدون باز اضافی و با استفاده از شرایط سه دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشته سازی رشته‌ی DNA الگو و به دنبال آن ۱۰ چرخه با ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۶۵ درجه سانتی‌گراد (کاهش یک درجه سانتی‌گراد در هر چرخه) و یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن ۲۳ چرخه با ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۵۶ درجه سانتی‌گراد و یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و سپس پنج دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط نهایی انجام شد و مرحله تکثیر انتخابی با سه باز اضافی انتخابی در انتهای ′۳ و همین شرایط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز صورت گرفت. نشانگرهای AFLP با نام آنزیم‌های برشی *Eco*RI و *Mse*I مربوطه مورد استفاده در تکثیر انتخابی و به دنبال آن سایز آللی بر طبق روش استاندارد نامگذاری آغازگرهای AFLP (http:// wheat.pw.usda.gov/ ggpages/ keygeneAFLPs.html) انجام شد (جدول۱). همه محصولات PCR روی ژل پلی اکریل‌آمید ۶ درصد واسرشته‌ساز جداسازی شدند و با روش رنگ‌آمیزی نیترات نقره (An et al. 2009) شناسایی شدند.

تهیه نقشه ژنتیکی و مکان‌یابی QTL

برای تهیه نقشه پیوستگی در جمعیت مورد مطالعه، از داده‌های ژنوتیپی ۱۳۱ نشانگر SSR و ۵۲ نشانگر AFLP در ۱۵۰ لاین F_5 استفاده گردید. آزمون کای اسکور (χ^2) برای تفرق ژنوتیپ‌های نشانگر از نسبت مورد انتظار ۱:۱ و همچنین ایجاد گروه‌های پیوستگی با استفاده از نرم‌افزار JoinMap 4 (Van Ooijen 2006) با حداقل LOD برابر ۴ انجام شد. فواصل نشانگری در این نقشه نیز بر اساس تابع کوسمبای (Kosambi 1943) محاسبه شدند. QTLهای اصلی و اپیستازی کنترل‌کننده عملکرد دانه در شرایط نرمال و تنش خشکی و شاخص‌های تحمل روی نقشه پیوستگی حاصل با استفاده از نرم افزار QTL IciMapping ver. 3.2 (Wang et al. 2012) با روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب پوششی (Li et al. 2007, 2008) مکان‌یابی شدند. همچنین از روش نامگذاری پیشنهاد شده محققین قبلی برای نامگذاری QTLها استفاده شد (McCouch and CGSNL 2008).

نتایج و بحث

تعداد ۵۵۰ نشانگر ریزماهواره در والدین مورد ارزیابی قرار گرفت که از این تعداد ۱۳۱ نشانگر الگوی نواربندی متفاوتی بین دو والد نشان دادند که برای تجزیه QTL مورد استفاده قرار گرفتند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- توالی آغازگرهای AFLP استفاده شده برای مکان‌یابی QTL در این مطالعه

آغازگر	توالی
MseI[a]	5'-GATGAGTCCTGAGTAA-3'
EcoRI[a]	5'-GTAGACTGCGTACCAATTC-3'
MseI adaptor	5'-GACGATGAGTCCTGAG-3'
MseI adaptor	3'-TACTCAGGACTCAT-5'
EcoRI adaptor	5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3'
EcoRI adaptor	3'- CATCTGACGCATGGTTAA -5'
E36 Primer[b]	5'-GTAGACTGCGTACCAATTCACC-3'
E37 Primer[b]	5'-GTAGACTGCGTACCAATTCACG-3'
E38 Primer[b]	5'-GTAGACTGCGTACCAATTCACT-3'
M59 Primer[b]	5'-GATGAGTCCTGAGTAACTA-3'
M61 Primer[b]	5'-GATGAGTCCTGAGTAACTG-3'

[a] آغازگرهای استفاده شده در پیش تکثیر

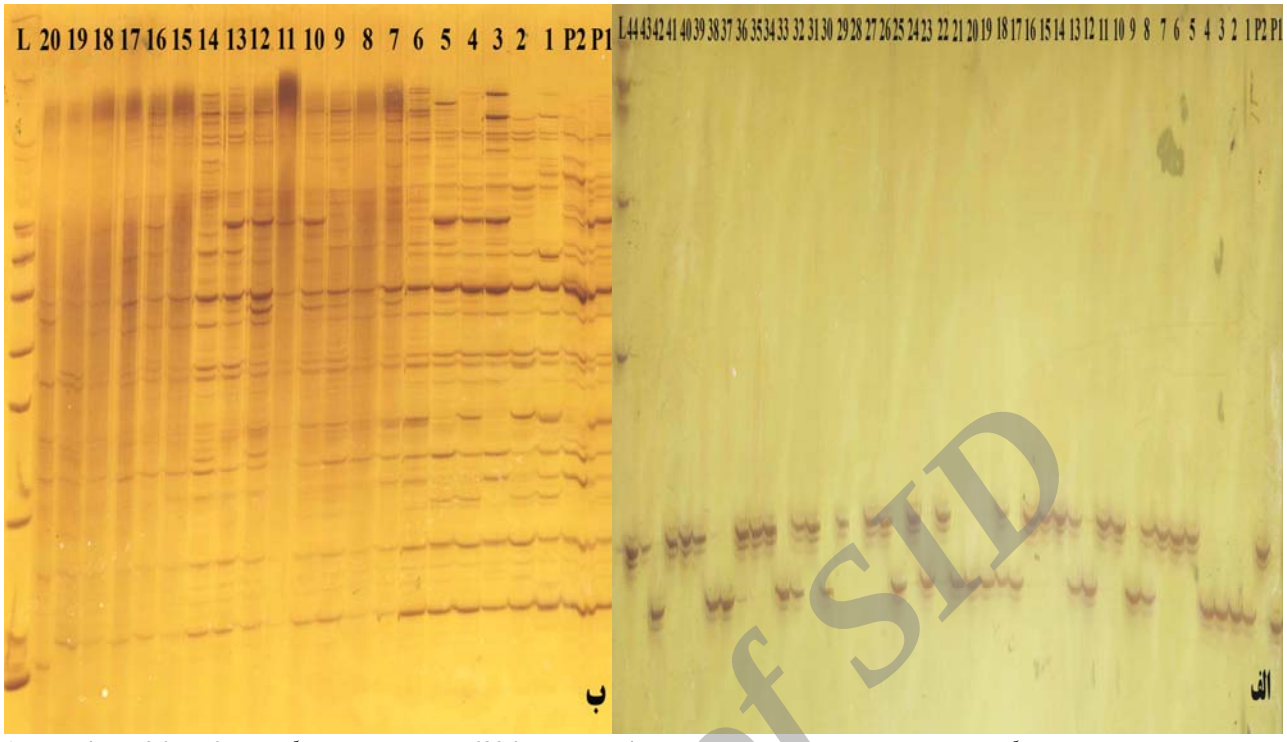
[b] آغازگرهای استفاده شده در تکثیر انتخابی

همچنین، ده ترکیب مختلف از آغازگرهای AFLP مربوط به آنزیم‌های *Eco*RI و *Mse*I مورد ارزیابی قرار گرفتند که پنج ترکیب آغازگری انتخاب شد. با استفاده از این پنج ترکیب آغازگری، ۵۲ نوار چندشکل در بین والدین مشاهده شد. به این ترتیب، ۱۸۳ نشانگر چندشکل بر اساس اطلاعات حاصل از ۱۵۰ لاین F_5 جهت تهیه نقشه پیوستگی جمعیت مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه‌ای از باندهای مشاهده شده از افراد F_5 برای نشانگر ریزماهواره RM6836 و ترکیب آغازگری E36-M59 نشانگر AFLP در شکل ۱ نشان داده شده است.

به دلیل این‌که نسل F_5 نسل تقریباً خالصی است، از اینرو قبل از تهیه نقشه پیوستگی نسبت‌های ژنوتیپی مورد انتظار برای نشانگرهای SSR و AFLP (۱:۱) آزمون شد. برای اکثر نشانگرهای ریزماهواره افراد هتروزیگوت در جمعیت مشاهده شد و بنابراین به منظور بررسی انحراف فراوانی‌های ژنوتیپی نشانگرها از فراوانی مورد انتظار مندلی، آزمون کای‌اسکور (χ^2) برای نشانگرهای ریزماهواره و همچنین نشانگرهای AFLP انجام شد و نتایج نشان داد که ۱۶۸ نشانگر (۹۱/۸ درصد) مطابقت خوبی با نسبت‌های مورد انتظار داشتند و فقط ۱۵ نشانگر (۸/۲ درصد) دارای فراوانی آللی و ژنوتیپی متفاوت و معنی‌داری از فراوانی مورد انتظار ۱:۱ بودند. همه این ۱۵ نشانگر روی چهار کروموزوم متفاوت برنج قرار داشتند. از آنجا که نشانگرهای دارای عدم تعادل به نواحی خاصی از ژنوم برنج متعلق بودند، این نتیجه را به یکی از ویژگی‌های آن نواحی از ژنوم در نقشه جمعیت حاصل نسبت داده و برای تهیه نقشه از این نشانگرها استفاده شد (Liu 1998). اگر چنین انحراف‌های ژنوتیپی تولید QTLهای دروغین نکنند و تاثیری روی موقعیت و اثر QTLها نداشته باشند (اگر این انحراف‌ها خیلی شدید نباشند) می‌توان از آن‌ها در تهیه نقشه و شناسایی QTLها استفاده کرد (Zhang et al. 2010). علاوه بر آن، در اغلب موارد فقط یک عامل گامتی در ناحیه ژنومی مورد نظر انحراف دارد که نمی‌تواند تاثیر معنی‌داری روی تخمین نوترکیبی بین سایر نشانگرها داشته باشد و بنابراین می‌توان از آن‌ها در تهیه نقشه استفاده کرد (Lu et al. 2002).

بعد از تعیین ژنوتیپ کلیه افراد F_5، داده‌های حاصل به‌صورت یک ماتریس ۱۵۰×۱۸۳ تنظیم و با استفاده از نرم‌افزار JoinMap 4 ، تعداد ۱۸۳ نشانگر چند شکل SSR و AFLP به دوازده گروه پیوستگی معادل با دوازده کروموزوم برنج منتسب شدند. طول نقشه حاصل بر اساس تابع کوسمبای، ۱۰۶۳/۱۴ سانتی‌مورگان و متوسط فاصله بین نشانگرهای مجاور ۵/۸۱ سانتی‌مورگان بود (شکل ۲).

Archive of SID
www.SID.ir

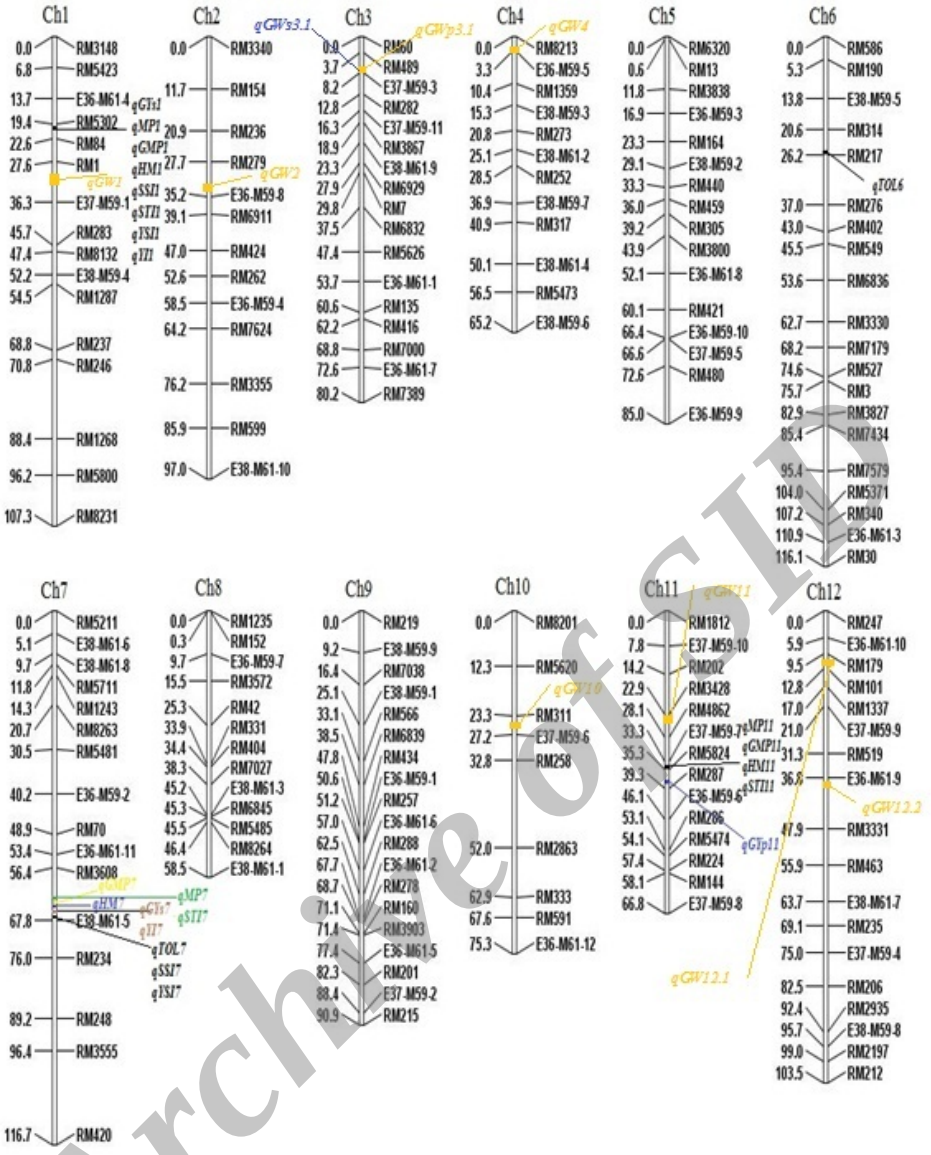


شکل ۱- نمونه‌ای از تصویر ژل پلی‌آکریلامید واسرشته‌ساز ۶ درصد افراد F_5 برای نشانگر ریزماهواره RM6836 (الف) و ترکیب آغازگری E36-M59 نشانگر AFLP (ب).

نقشه پیوستگی را در جمعیت‌های مختلفی از ارقام برنج ایرانی تهیه شده است (Rabiei et al. 2004; Ahmadi et al. 2009; Movafegh et al. 2009). Sabouri et al. (2010) توانستند نقشه پیوستگی شامل ۱۰۵ نشانگر ریزماهواره را در جمعیت $F_{2:3}$ حاصل از تلاقی ارقام غریب و سپیدرود (والدین یکسان با این مطالعه) تهیه نمایند که طول کل نقشه آن‌ها ۱۴۴۰/۷ سانتی‌مورگان با متوسط فاصله ۱۳/۷۳ سانتی‌مورگان بین نشانگرهای مجاور بود. در پژوهش حاضر طول نقشه و فاصله بین نشانگرها در نقشه ژنتیکی ارائه شده با محققین دیگر متفاوت بود که می‌تواند به دلیل استفاده از جمعیت‌های متفاوت و میزان خلوص جمعیت‌ها، نوع نشانگرهای به‌کار رفته، تعداد افراد جمعیت نقشه‌یابی و همچنین تعداد نشانگرهای به‌کار رفته در این مطالعه باشد.

QTLهای شناسایی شده برای عملکرد دانه، وزن هزار دانه و شاخص‌های مورد مطالعه به همراه فاصله نشانگری، مقدار LOD، جهت و مقدار اثر افزایشی و درصد تغییرات فنوتیپی آن‌ها در جدول‌های ۲ و۳ ارایه شده‌اند. در کل ۳۲ QTL اصلی و ۲۱ QTL اپیستاتیک برای عملکرد و وزن هزار دانه در شرایط تنش و نرمال و هشت شاخص تحمل به خشکی شناسایی شد. برای صفت عملکرد دانه در بوته در محیط نرمال و تنش به ترتیب یک و دو QTL اصلی (*qGYp11*، *qGYs1* و *qGYs7*) روی کروموزوم‌های ۱، ۷ و ۱۱ مکان‌یابی شدند. همچنین در این مطالعه برای وزن هزار دانه پنج QTL اصلی (*qGWp1*، *qGWp2*، *qGWp3.1*، *qGWp11* و *qGWp12.2*) در شرایط نرمال و چهار QTL اصلی (*qGWs3.1*، *qGWs4*، *qGWs10* و *qGWs12.1*) در شرایط تنش خشکی شناسایی شدند. اثر افزایشی این QTLها بین ۲/۹۶ تا ۵/۹۸ گرم و LOD آن‌ها نیز بین ۲/۶۸ تا ۱۰/۴۵ متغیر بود. در QTLهای *qGWs12.1*، *qGWp12.2* و *qGYp11*، آلل‌های افزاینده از والد غریب به نتاج انتقال می‌یابد ولی در *qGWp1*، *qGWp2*، *qGWs4*، *qGWs10*، *qGWp11*، *qGYs1* و *qGYs7* آلل‌های افزاینده از والد سپیدرود به نتاج منتقل می‌شد. آلل‌های

Archive of SID
www.SID.ir



شکل۲- QTLهای اصلی شناسایی شده برای شاخص‌های تحمل به خشکی، وزن هزار دانه و عملکرد دانه به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب پوششی (ICIM) در جمعیت F_5 حاصل از تلاقی ارقام سپیدرود و غریب

والد سپیدرود برای *qGW3.1* در شرایط نرمال اثر افزاینده داشت در حالی که در شرایط تنش خشکی برای این QTL آلل‌های والد غریب اثر افزاینده‌ای داشت. دلیل این تفاوت می‌تواند اثر محیط بر روی این QTL باشد که تاثیر محیط و پیچیدگی این مکان ژنی را نشان می‌دهد. تحقیقات گذشته QTLهای *qGWp 1*، *qGWs10*، *qGWs12.1* و *qGYs1* را در فاصله نشانگری یکسانی نشان داده بودند، هرچند موقعیت آن‌ها یکسان نبود (Yu et al. 1997; Brondani et al. 2002; Hua et al. 2002; Cho et al. 2003). همچنین QTLهای متفاوتی بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۱ و ۱۲ در مطالعات قبلی گزارش شده است (Marri et al. 2005; Tan et al. 2007, 2008; Fu et al. 2010). دلیل این تفاوت می‌تواند نوع جمعیت مورد مطالعه، تعداد و نوع نشانگر، روش مکان‌یابی و شرایط محیطی باشد. اما QTLهای *qGWp2*، *qGW3.1*، *qGWs4*، *qGWp11*، *qGWp12.2*،

Archive of SID
www.SID.ir

qGYs7 و *qGYp11* برای اولین بار در این تحقیق شناسایی شدند که از بین آن‌ها *qGWp3.1* در شرایط نرمال بیش از ۱۵ درصد از تنوع فنوتیپی وزن هزار دانه را توجیه کرد. همچنین *qGWp1* نیز ۲۱/۱۲ درصد واریانس فنوتیپی را به تنهای توجیه کرد و این دو QTL به عنوان QTL بزرگ اثر شناسایی شدند و نشانگرهای RM1، RM489، E37M59-1 و E37M59-3 کمتر از پنج سانتی مورگان از این QTLها قرار داشتند و به عنوان نشانگر پیوسته معرفی شدند که می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب به کمک نشانگر (MAS) استفاده کرد. صفت وزن هزار دانه از اجزای اصلی عملکرد دانه به حساب می‌آید، بنابراین ژنوتیپ‌های دارای وزن هزار دانه بیشتر می‌تواند برای رسیدن به ارقام پرعملکرد مطلوب باشد. لذا می‌توان با هرمی کردن آلل‌های مثبت از منابع مختلف برای این صفت گامی موثر در بهبود و افزایش عملکرد برداشت. همچنین در این پژوهش، QTLهای *qGYs1* و *qGYs7* در شرایط تنش بیش از ۱۰ درصد از تنوع فنوتیپی عملکرد دانه را توجیه نمودند. به دلیل پیچیدگی صفت عملکرد دانه، در بیشتر مطالعات QTLهای شناسایی شده دارای اثرات فنوتیپی بسیار کمی بوده‌اند و از اینرو این دو QTL به عنوان QTL بزرگ اثر شناسایی شدند و نشانگرهای RM5302، RM84 و E38M61-5 که در فاصله کمتر از پنج سانتی‌مورگان از این QTLها قرار داشتند به عنوان نشانگرهای نزدیک به آن‌ها معرفی شدند تا احتمالاً بتوان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی به وسیله هرمی کردن ژن‌های مثبت از منابع مختلف و یا انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در افزایش عملکرد دانه استفاده کرد. شناسایی تعداد، محل ژنومی و اثرات فنوتیپی QTLها، انتخاب به کمک نشانگر و توسعه ارقام با ویژگی‌های مطلوب را تسهیل می‌کند. در کل ۲۰ QTL اصلی برای شاخص‌های تحمل به خشکی شناسایی شد (جدول۲). برای هر کدام از شاخص‌های متوسط بهره‌وری (MP)، میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)، میانگین هارمونیک (HM) و تحمل تنش (STI) سه QTL اصلی روی کروموزوم‌های ۱، ۷ و ۱۱ به ترتیب بین فاصله نشانگری RM5302-RM84، RM3608-E38M61-5 و E37M59-RM58247 شناسایی شد (جدول۲ و شکل۲). اگرچه این نوع مطالعات برای بعضی شاخص‌های تحمل به تنش در گیاهان دیگر انجام شده، اما تنها در یک تحقیق که با استفاده از ۲۱۳ نشانگر ریزماهواره در ۱۹۵ لاین اینبرد برنج انجام شد، چهار QTL برای شاخص تحمل به خشکی یا شاخص پایداری عملکرد روی کروموزوم‌های ۱، ۴، ۵ و ۹ شناسایی شد که به ترتیب ۱۹/۷۹، ۹/۴۳، ۷/۸۳ و ۶/۸۲ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمودند (Hu et al. 2007). در QTLهای شناسایی شده روی کروموزوم‌های ۱ و ۷ برای این شاخص‌ها آلل‌های افزاینده از والد سپیدرود به نتاج انتقال یافت، ولی در QTLهای شناسایی شده روی کروموزوم ۱۱ آلل‌های افزاینده از والد غریب به نتاج منتقل شد. این QTLها در نزدیکی همان موقعیتی که QTLهای عملکرد در شرایط تنش و نرمال شناسایی شدند، مکان‌یابی شدند. اثر افزایشی این QTLها از ۰/۱۲ تا ۴/۴۰ متغیر بود و بین ۷/۱۱ تا ۱۰/۶۰ درصد از واریانس فنوتیپی این شاخص‌ها را توجیه کردند. واریانس فنوتیپی کل توجیه شده توسط این QTLها برای شاخص‌های متوسط بهره‌وری (MP)، میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)، میانگین هارمونیک (HM) و تحمل تنش (STI) به ترتیب ۱۶/۲۷، ۱۶/۰۱، ۱۶/۲۰ و ۱۹/۱۱ درصد بود (جدول۲). برای هر کدام از شاخص‌های حساسیت به تنش (SSI)، عملکرد (YI) و پایداری عملکرد (YSI) دو QTL اصلی روی کروموزوم‌های ۱ و ۷ به ترتیب در فاصله نشانگری RM5302-RM84 و RM3608-E38M61-5 در نزدیکی یا همان موقعیتی که QTLهای عملکرد در شرایط تنش شناسایی شدند، مکان‌یابی شدند (جدول۲ و شکل۲). برای QTLهای شاخص حساسیت به تنش (SSI) آلل‌های افزاینده از والد غریب به نتاج انتقال یافت، ولی برای QTLهای شناسایی شده‌ی شاخص‌های عملکرد (YI) و پایداری عملکرد (YSI) آلل‌های افزاینده از والد سپیدرود به نتاج منتقل شد. برای شاخص تحمل (TOL) دو QTL اصلی روی کروموزوم‌های ۶ و ۷ به ترتیب در فاصله نشانگری RM314-RM217 و RM3608-E38M61-5 در موقعیت ۲۶ و ۶۷ سانتی‌مورگانی مکان‌یابی شد. با مقایسه QTLهای شناسایی شده

Archive of SID
www.SID.ir

جدول۲- QTLهای اصلی (M-QTLs) شناسایی شده برای صفات و شاخص‌های مورد مطالعه به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب پوششی (ICIM) در جمعیت F_5 برنج

صفت	QTL	کروموزوم	موقعیت[a]	فاصله نشانگری	LOD	اثر افزایشی[b]	درصد واریانس فنوتیپی[c]	درصد واریانس فنوتیپی کل[d]
عملکرد در شرایط تنش (GYs)	*qGYs1*	۱	۲۰	RM5302-RM84	۳/۹۹	۴/۵۷	۱۰/۸۰	۱۸/۶۰
	qGYs7	۷	۶۵	RM3608-E38M61-5	۴/۰۰	۴/۷۰	۱۱/۸۱	
عملکرد در شرایط نرمال (GYp)	*qGYp11*	۱۱	۳۷	RM5824-RM287	۲/۶۸	-۳/۳۸	۹/۱۳	۷/۴۳
وزن هزار دانه در شرایط تنش (GWs)	*qGWs3.1*	۳	۷	RM489-E37M59-3	۳/۵۹	-۴/۳۱	۹/۵۳	۳۱/۰۹
	qGWs4	۴	۳	RM8213-E36M59-5	۲/۷۱	۳/۴۹	۶/۱۳	
	qGWs10	۱۰	۲۴	RM311-E37M59-6	۲/۸۷	۳/۸۷	۷/۶۴	
	qGWs12.1	۱۲	۱۰	RM179-RM101	۳/۲۴	-۴/۰۸	۸/۴۳	
وزن هزار دانه در شرایط نرمال (GWp)	*qGWp1*	۱	۳۲	RM1-E37M59-1	۹/۷۶	۵/۶۸	۲۱/۱۲	۴۹/۷۱
	qGWp2	۲	۳۵	RM279-E36M59-8	۳/۵۵	۲/۹۶	۵/۹۳	
	qGWp3.1	۳	۸	RM489-E37M59-3	۱۰/۴۵	۵/۲۹	۱۸/۹۲	
	qGWp11	۱۱	۲۴	RM3428-RM4862	۴/۳۱	۳/۳۸	۷/۷۲	
	qGWp12.2	۱۲	۳۷	E36M61-9-RM3331	۴/۷۳	-۳/۳۹	۷/۷۸	
شاخص متوسط بهره‌وری (MP)	*qMP1*	۱	۲۰	RM5302-RM84	۲/۵۸	۳/۱۴	۷/۱۱	۱۶/۲۷
	qMP7	۷	۶۱	RM3608-E38M61-5	۲/۷۷	۳/۵۰	۹/۱۴	
	qMP11	۱۱	۳۵	E37M59-7-RM5824	۳/۲۰	-۳/۵۱	۹/۱۲	
شاخص میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)	*qGMP1*	۱	۲۰	RM5302-RM84	۲/۷۲	۳/۵۳	۷/۳۹	۱۶/۰۱
	qGMP7	۷	۶۲	RM3608-E38M61-5	۳/۰۴	۴/۰۲	۹/۹۱	
	qGMP11	۱۱	۳۵	E37M59-7-RM5824	۲/۸۵	-۳/۶۴	۸/۰۹	
شاخص میانگین هارمونیک (HM)	*qHM1*	۱	۲۰	RM5302-RM84	۲/۹۱	۳/۸۷	۷/۹۲	۱۶/۲۰
	qHM7	۷	۶۳	RM3608-E38M61-5	۳/۳۲	۴/۴۰	۱۰/۶۰	
	qHM11	۱۱	۳۵	E37M59-7-RM5824	۲/۵۹	-۳/۶۶	۷/۲۹	
شاخص تحمل (TOL)	*qTOL6*	۶	۲۶	RM314-RM217	۲/۵۷	۲/۳۹	۶/۶۴	۲۳/۸۴
	qTOL7	۷	۶۷	RM3608-E38M61-5	۳/۷۵	-۲/۹۰	۹/۸۹	
شاخص حساسیت به تنش (SSI)	*qSSI1*	۱	۲۰	RM5302-RM84	۴/۳۳	-۰/۲۳	۱۱/۷۵	۱۹/۲۶
	qSSI7	۷	۶۷	RM3608-E38M61-5	۴/۴۰	-۰/۲۳	۱۲/۵۳	
شاخص تحمل تنش (STI)	*qSTI1*	۱	۲۰	RM5302-RM84	۳/۳۹	۰/۱۳	۸/۷۷	۱۹/۱۱
	qSTI7	۷	۶۱	RM3608-E38M61-5	۳/۱۴	۰/۱۴	۹/۷۱	
	qSTI11	۱۱	۳۵	E37M59-7-RM5824	۲/۹۳	-۰/۱۲	۷/۹۶	
شاخص عملکرد (YI)	*qYI1*	۱	۲۰	RM5302-RM84	۳/۹۹	۰/۱۷	۱۰/۸۰	۱۸/۶۰
	qYI7	۷	۶۵	RM3608-E38M61-5	۴/۰۰	۰/۱۷	۱۱/۸۰	
شاخص پایداری عملکرد (YSI)	*qYSI1*	۱	۲۰	RM5302-RM84	۴/۳۳	۰/۰۸	۱۱/۷۵	۱۹/۲۶
	qYSI7	۷	۶۷	RM3608-E38M61-5	۴/۴۰	۰/۰۹	۱۲/۵۳	

[a] موقعیت QTL شناسایی شده از ابتدای کروموزوم.

[b] اثر افزایشی که اثر جایگزینی یک آلل والد سپیدرود برای یک آلل والد غریب هست، ارزش مثبت نشان دهنده این است که والد سپیدرود آلل مثبت دارد در حالی که ارزش منفی عکس این مورد هست.

[c] واریانس فنوتیپی قابل توجیه توسط هر QTL.

[d] واریانس فنوتیپی قابل توجیه توسط QTLهای هر صفت.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- QTLهای اپیستازی (E-QTLs) شناسایی شده برای شاخص‌های مورد مطالعه به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب پوششی (ICIM) در جمعیت F_5 برنج

صفت و شاخص	QTL	مکان ژنی (i)			مکان ژنی (j)			LOD	اثر افزایشی در افزایشی[a]	درصد واریانس فنوتیپی[b]
		کروموزوم	موقعیت	فاصله نشانگری	کروموزوم	موقعیت	فاصله نشانگری			
عملکرد در شرایط تنش (GYs)	*qGYs3-6*	۳	۳۰	RM7-RM6832	۶	۱۱۶	E36M61-3-RM30	۴/۷۰	-۴/۳۸	۱۰/۲۲
	qGYs9-10	۹	۲۴	RM7038-E38M59-1	۱۰	۲۲	RM5620-RM311	۴/۵۰	-۴/۹۳	۱۲/۶۶
عملکرد در شرایط نرمال (GYp)	*qGYp1-6*	۱	۲۲	RM5302-RM84	۶	۲۶	RM314-RM217	۶/۸۴	۴/۹۶	۱۸/۸۶
وزن هزار دانه در شرایط نرمال (GWp)	*qGWp2-11*	۲	۵۲	RM424-RM262	۱۱	۰	RM1812-E37M59-10	۴/۴۸	۳/۲۰	۶/۶۴
شاخص متوسط بهره‌وری (MP)	*qMP3-6*	۳	۲۰	RM3867-E38M61-9	۶	۹۴	RM7434-RM7579	۴/۶۶	-۴/۷۸	۱۷/۰۲
شاخص میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)	*qGMP3-6*	۳	۱۶	RM282-E37M59-11	۶	۹۸	RM7579-RM5371	۴/۵۱	-۴/۷۶	۱۳/۵۸
شاخص میانگین هارمونیک (HM)	*qHM3-6*	۳	۱۶	RM282-E37M59-11	۶	۱۰۰	RM7579-RM5371	۴/۵۲	-۵/۱۵	۱۴/۲۳
شاخص تحمل (TOL)	*qTOL1-6*	۱	۱۸	E36M61-4-RM5302	۶	۲۶	RM314-RM217	۱۷/۰۸	۳/۷۳	۱۵/۱۹
	qTOL3-6	۳	۵۰	RM5626-E36M61-1	۶	۲۶	RM314-RM217	۱۳/۷۷	۳/۰۸	۱۱/۰۴
	qTOL5-6	۵	۰	RM6320-RM13	۶	۲۶	RM314-RM217	۱۴/۹۱	-۳/۲۳	۱۲/۰۲
	qTOL5-7	۵	۰	RM6320-RM13	۷	۵۶	E36M61-11-RM3608	۸/۷۰	-۲/۳۹	۶/۶۷
	qTOL9-10	۹	۲۴	RM7038-E38M59-1	۱۰	۲۴	RM311-E37M59-6	۴/۸۹	۱/۸۶	۳/۹۸
شاخص حساسیت به تنش (SSI)	*qSSI3-6*	۳	۶۲	RM135-RM416	۶	۳۲	RM217-RM276	۴/۰۴	۰/۱۹	۸/۱۹
	qSSI5-6	۵	۰	RM6320-RM13	۶	۲۶	RM314-RM217	۵/۷۶	-۰/۲۲	۱۰/۷۹
	qSSI8-9	۸	۰	RM1235-RM152	۹	۴۴	RM6839-RM434	۴/۴۶	-۰/۲۱	۱۰/۵۸
شاخص تحمل تنش (STI)	*qSTI3-6*	۳	۲۰	RM3867-E38M61-9	۶	۹۴	RM7434-RM7579	۵/۰۳	-۰/۱۹	۱۸/۳۷
شاخص عملکرد (YI)	*qYI3-6*	۳	۳۰	RM7-RM6832	۶	۱۱۶	E36M61-3-RM30	۴/۷۰	-۰/۱۶	۱۰/۲۲
	qYI9-10	۹	۲۴	RM7038-E38M59-1	۱۰	۲۲	RM5620-RM311	۴/۵۰	-۰/۱۸	۱۲/۶۶
شاخص پایداری عملکرد (YSI)	*qYSI3-6*	۳	۶۲	RM135-RM416	۶	۳۲	RM217-RM276	۴/۰۴	-۰/۰۷	۸/۱۹
	qYSI5-6	۵	۰	RM6320-RM13	۶	۲۶	RM314-RM217	۵/۷۶	۰/۰۸	۱۰/۷۹
	qYSI8-9	۸	۰	RM1235-RM152	۹	۴۴	RM6839-RM434	۴/۴۶	۰/۰۸	۱۰/۵۸

[a] اثر متقابل افزایشی در افزایشی بین دو مکان: ارزش مثبت (+) نشان دهنده این است که ژنوتیپ‌های دو مکان ژنی از یک والد مشابه (سپیدرود یا غریب) تظاهر صفت را افزایش می‌دهد و ارزش منفی (-) نشان دهنده این است که ترکیبات جدید آللی از دو والد متفاوت تظاهر صفت را افزایش می‌دهد.

[b] واریانس فنوتیپی قابل توجیه توسط هر QTL.

Archive of SID

www.SID.ir

برای عملکرد دانه در شرایط تنش و نرمال و شاخص‌های تحمل و حساسیت به تنش مشاهده شد که QTLهای شناسایی شده برای همه شاخص‌ها در همان موقعیت یا در ناحیه‌ای در نزدیکی QTLهای شناسایی شده برای عملکرد دانه قرار داشتند. این نتیجه یک نتیجه بسیار مهم برای انجام برنامه‌های به‌نژادی به منظور افزایش عملکرد دانه است و بنابراین می‌توان از این QTLها و همچنین نشانگرهای نزدیک به آن‌ها برای اصلاح ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در برنامه‌های به‌نژادی و انتخاب به کمک مارکر استفاده کرد.

در این مطالعه ۲۱ QTL اپیستاتیک برای شاخص‌ها، وزن هزار دانه و عملکرد در شرایط نرمال و تنش مکان‌یابی شد که شامل دو QTL اپیستاتیک برای عملکرد در شرایط تنش، یک QTL اپیستاتیک برای عملکرد در شرایط نرمال، یک QTL اپیستاتیک برای وزن هزار دانه در شرایط نرمال، یک QTL اپیستاتیک برای شاخص متوسط بهره‌وری، یک QTL اپیستاتیک برای شاخص میانگین هندسی بهره‌وری، یک QTL اپیستاتیک برای شاخص میانگین هارمونیک، پنج QTL اپیستاتیک برای شاخص تحمل، سه QTL اپیستاتیک برای شاخص حساسیت به تنش، یک QTL اپیستاتیک برای شاخص تحمل تنش، دو QTL اپیستاتیک برای شاخص عملکرد و سه QTL اپیستاتیک برای شاخص پایداری عملکرد بود (جدول۳). درصد واریانس فنوتیپی این QTLهای اپیستاتیک بین ۳/۹۸ تا ۱۸/۸۶ درصد متغیر بود. لغت اپیستاتیک اولین بار به وسیله (Bateson 1909) برای ژن‌های که اثرات سایر ژن‌ها را پنهان می‌کنند یا پوشش می‌دهند، به کار برده شد. سه نوع اثر اپیستازی که بر صفات کمی اثر می‌گذارند، پیشنهاد شده است (Li 1998): الف) اثر متقابل بین دو QTL با اثرات افزایشی (AA)؛ ب) اثر متقابل بین یک QTL با اثر افزایشی و یک مکان دیگر بدون اثر افزایشی یا اپیستازی زمینه (AN یا NA)؛ ج) اثر متقابل بین دو مکان فقط با اثر اپیستازی یا اپیستازی تکمیلی (NN). در این مطالعه دو نوع اپیستازی تکمیلی و زمینه برای صفات و شاخص‌های مورد مطالعه مشاهده شد. این نتایج نشان داد که مکان‌های بدون اثرات افزایشی معنی‌دار نقش مهمی در اثرات متقابل اپیستازی بازی می‌کنند و می‌توانند مستقیماً روی صفات مورد مطالعه تاثیر بگذارند. Rahman et al. (2007) و Zhao et al. (2010b) تعدادی از QTLهای اپیستازی را که بر عملکرد و وزن هزار دانه تاثیر می‌گذارند شناسایی کردند. همچنین در این مطالعه چندین QTL اپیستازی که درصد قابل توجهی (بیش از ۱۵ درصد) از واریانس فنوتیپی صفت مورد مطالعه را توجیه می‌کردند، شناسایی شد. بنابراین باید تاثیر اثرات اپیستازی را در کاربرد انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در برنامه‌های اصلاحی برنج مدنظر قرار داد. علاوه بر آن، مطالعات مکان‌یابی QTL در سال‌های اخیر آشکار کرد که اثرات متقابل اپیستازی بین مکان‌های مختلف نقش مهمی را برای صفات کمی مثل عملکرد و اجزای عملکرد بازی می‌کنند و باید آن‌ها را مدنظر قرار داد.

در این پژوهش، اثرات اپیستازی مثبت و منفی به ترتیب در ۸ و ۱۳ مکان مشاهده شد (جدول۳). اثرات مثبت نشان‌دهنده این است که آلل‌های دو مکان ژنی از یک والد مشابه (سپیدرود یا غریب) در تعامل مکانی اثر افزاینده دارند و اثرات منفی نشان‌دهنده این است که آلل‌های دو مکان ژنی از والدهای متفاوت در تعامل مکانی اثر افزاینده دارد. نتایج نشان داد که اپیستازی می‌تواند نقش مهمی در کنترل عملکرد دانه و حتی شاخص‌های تحمل به تنش بازی کند. با مقایسه QTLهای اپیستاتیک برای شاخص‌های مورد مطالعه مشاهده شد که QTLهای اپیستاتیک متفاوتی برای این شاخص‌ها مکان‌یابی شده است و تنها بعضی از این QTLها در بعضی‌ها شاخص‌ها مشترک می‌باشند. بنابراین می‌توان پیشنهاد کرد که QTLهای اپیستاتیک نقش مهمی در تحمل به خشکی در برنج دارند. به‌ویژه QTLهای اپیستاتیکی که درصد قابل توجهی (بیش از ۱۵ درصد) از واریانس فنوتیپی عملکرد و شاخص‌های مورد مطالعه را توجیه کردند.

QTLهای اپستاتیک *qGYp1-6*، *qMP3-6*، *qTOL1-6* و *qSTI3-6* به ترتیب ۱۸/۸۶ درصد، ۱۷/۰۲ درصد، ۱۵/۱۹ درصد و ۱۸/۳۷ درصد از تنوع فنوتیپی عملکرد دانه در شرایط نرمال، شاخص متوسط بهره‌وری (MP)، شاخص تحمل (TOL) و تحمل تنش

Archive of SID
www.SID.ir

(STI) را کنترل کردند و به عنوان QTLهای اپیستاتیک بزرگ اثر شناسایی شدند و نشانگرهای RM5302، RM84، RM7579، RM217، RM3867 و E38M61-9 که در فاصله کمتر از پنج سانتی‌مورگان از این QTLهای اپیستاتیک قرار داشتند به عنوان نشانگرهای نزدیک به آن‌ها معرفی می‌شوند تا احتمالاً بتوان از این QTLهای اپیستاتیک برای بهبود ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب به کمک نشانگر (MAS) استفاده کرد.

منابع

Abarshahr M, Rabiei B, Samizadeh-Lahigi H (2011) Assessing genetic diversity of rice varieties under drought stress conditions. Notulae Scientia Biologicae 3: 114-123.

Ahmadi J, Fotokian MH, FabrikiOurang S (2009) The study on linkage between SSR markers and yield components QTLs in rice (*Oriza sativa*). Modern Genetics Journal 3: 45-55.

An ZW, Xie LL, Cheng H, Zhou Y, Zhang Q, He XG, Huang HS (2009) A silver staining procedure for nucleic acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. Analytical Biochemistry 391: 77-79.

Babu RC, Nguyen BD, Chamarerk V, Shanmugasundaram P, Chezhian P, Jeyaprakash P, Ganesh SK, Palchamy A, Sadasivam S, Sarkarung S, Wade LJ, Nguyen HT (2003) Genetic analysis of drought resistance in rice by molecular markers: Association between secondary traits and field performance. Crop Science 43: 1457-1469.

Bateson W (1909) Mendel's principles of heredity. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Bernier J, Kumar A, Ramaiah V, Spaner D and Atlin G (2007) A large-effect QTL for grain yield under reproductive-stage drought stress in upland rice. Crop Science 47: 507-518.

Bouman BAM, Tuong TP (2001) Field water management to save water and increase its productivity in irrigated lowland rice. Agricultural Water Management 49: 11-30.

Bouslama MS, Schapaugh WT (1984) Stress Tolerance in soybeans. I. evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. Crop Science 24: 933.

Dashti H, Yazdi-Samadi B, Ghannadha M, Naghavi M, Quarri S (2007) QTL analysis for drought resistance in wheat using doubled haploid lines. International Journal of Agriculture and Biology 9: 98-101.

Du W, Wang M, Fu S, Yu D (2009) Mapping QTLs for seed yield and drought susceptibility index in soybean (*Glycine max* L.) across different environments. Journal of Genetics and Genomics 36: 721-731.

Fernandez GCJ (1992) Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Kuo, C.G. (Ed.), Adaptation of vegetables and other food crops in temperature and water stress. AVRDC Staff Publication, Shanhua, pp. 257-270.

Fischer RA, Maurer R (1978) Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. Australian Journal of Agricultural Research 29: 897-912.

Fu Q, Zhang P, Tan L, Zhu Z, Ma D, Fu Y, Zhan X, Cai H, Sun C (2010) Analysis of QTLs for yield-related traits in Yuanjiang common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). Journal of Genetics and Genomics 37: 147-157.

Gavuzzi P, Rizza F, Palumbo M, Campanile RG, Ricciardi GL, Borghi B (1997) Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. Canadian Journal of Plant Science 77: 523-531.

Giri CC, Laxmi GV (2000) Production of transgenic rice with agronomically useful genes: an assessment. Biotechnology Advances 18: 653-683.

Gomez SM, Boopathi NM, Kumar SS, Ramasubramanian T, Chengsong Z, Jeyaprakash P, Senthil A, Babu RC (2010) Molecular mapping and location of QTLs for drought-resistance traits in indica rice (*Oryza sativa* L.) lines adapted to target environments. Acta Physiologiae Plantarum 32: 355-364.

Gorantla M, Babu PR, Reddy Lachagari VB, Reddy AMM, Wusirika R, Bennetzen JL, Reddy AR (2007) Identification of stress-responsive genes in an indica rice (*Oryza sativa* L.) using ESTs generated from drought-stressed seedlings. Journal of Experimental Botany 58: 253-265.

Guo J, Su G, Zhang J, Wang G (2008) Genetic analysis and QTL mapping of maize yield and associate agronomic traits under semi-arid land condition. African Journal of Biotechnology 7: 1829-1838.

Hossain ABS, Sears RG, Cox TS, Paulsen GM (1990) Desiccation tolerance and its relationship to assimilate partitioning in winter wheat. Crop Science 30: 622-627.

Hu SP, Yang H, Zou GH, Liu HY, Liu GL, Mei HW, Cai R, Li MS, Luo LJ (2007) Relationship between coleoptile length and drought resistance and their QTL mapping in Rice. Rice Science 14: 13-20.

Hua JP, Xing YZ, Xu CG, Sun XL, Yu SB, Zhang Q (2002) Genetic dissection of an elite rice hybrid revealed that heterozygotes are not always advantageous for performance. Genetics 162: 1885-1895.

Khush GS (2005) What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030. Plant Molecular Biology 59: 1-6.

Archive of SID

www.SID.ir

Kirigwi F, Van Ginkel M, Brown-Guedira G, Gill B, Paulsen G, Fritz A (2007) Markers associated with a QTL for grain yield in wheat under drought. Molecular Breeding 20: 401-413.
Kosambi DD (1943) The estimation of map distances from recombination values. Annals of Human Genetics 12: 172-175.
Lafitte HR, Price AH and Courtois B (2004) Yield response to water deficit in an upland rice mapping population: associations among traits and genetic markers. Theoretical and Applied Genetics 109: 1237-1246.
Lafitte HR, Yongsheng G, Yan S and Li ZK (2007) Whole plant responses, key processes, and adaptation to drought stress: the case of rice. Journal of Experimental Botany 58: 169-175.
Li H, Ribaut JM, Li Z and Wang J (2008) Inclusive composite interval mapping (ICIM) for digenic epistasis of quantitative traits in biparental populations. Theoretical and Applied Genetics 116: 243-260.
Li H, Ye G and Wang J (2007) A modified algorithm for the improvement of composite interval mapping. Genetics 175: 361-374.
Li Z (1998) Molecular analysis of epistasis affecting complex traits. In: Paterson, A.H. (Ed.), Molecular dissection of complex traits, CRC Press LLC, pp. 119-130.
Liu BH (1998) Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis. CRC Press.
Liu G, Mei H, Liu H, Yu X, Zou G and Luo L (2010) Sensitivities of rice grain yield and other panicle characters to late-stage drought stress revealed by phenotypic correlation and QTL analysis. Molecular Breeding 25: 603-613.
Lu H, Romero-Severson J and Bernardo R (2002) Chromosomal regions associated with segregation distortion in maize. Theoretical and Applied Genetics 105: 622-628.
McCouch SR and CGSNL (2008) Gene nomenclature system for rice. Rice 1: 72-84.
McCouch SR, Teytelman L, Xu YB, Lobos KB, Clare K, Walton M, Fu B, Maghirang R, Li ZK, Xing YZ, Zhang QF, Kono I, Yano M, Fjellstrom R, DeClerck G, Schneider D, Cartinhour S, Ware D and Stein L (2002) Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Research 9: 199-207.
McPherson MJ and Møller SG (2006) PCR. Second edn. Taylor & Francis Group.
Movafegh S, Rabiei B, Zare FA and Taheri G (2009) Mapping QTLs controlling yield in two Iranian rice cultivars-F_2 populations. Iranian Journal of Field Crops Research 7: 673-683.
Murray MG and Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research 8: 4321-4326.
Ndjiondjop MN, Cisse F, Futakuchi K, Lorieux M, Manneh B, Bocco R and Fatondji B (2010) Effect of drought on rice (*Oryza spp.*) genotypes according to their drought tolerance level. Innovation and Partnerships to Realize Africa's Rice Potential, Second Africa Rice Congress, Bamako, Mali, 22-26 March 2010
Rabiei B, Valizadeh M, Ghareyazie B, Moghaddam M, Ali A (2004) Identification of QTLs for rice grain size and shape of Iranian cultivars using SSR markers. Euphytica 137: 325-332.
Rahman ML, Chu SH, Choi M, Li Qiao Y, Jiang W, Piao R, Khanam S, Cho Y, Jeung J, Jena KK (2007) Identification of QTLs for some agronomic traits in rice using an introgression line from *Oryza minuta*. Molecules and Cells 24: 16.
Rosielle AA, Hamblin J (1981) Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. Crop Science 21: 943-946.
Sabouri A, Toorchi M, Rabiei B, Aharizad S, Moumeni A, Singh RK (2010) Identification and mapping of QTLs for agronomic traits in *indica-indica* cross of rice (*Oryza sativa* L.). Cereal Research Communications 38: 317-326.
Safaei Chaeikar S, Rabiei B, Samizadeh HA and Esfahani M (2008) Evaluation of tolerance to terminal drought stress in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. Iranian Journal of Crop Sciences 9: 315-331.
SES (2002) Standard evaluation system for rice. International Rice Research Institute Manila, Philippines.
Srividhya A, Vemireddy LR, Sridhar S, Jayaprada M, Ramanarao PV, Hariprasad AS, Reddy HK, Anuradha G and Siddiq E (2011) Molecular mapping of QTLs for yield and its components under two water supply conditions in rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Crop Science and Biotechnology 14: 45-56.
Tan L, Liu F, Xue W, Wang G, Ye S, Zhu Z, Fu Y, Wang X, Sun C (2007) Development of *Oryza rufipogon* and *O. sativa* introgression lines and assessment for yield-related quantitative trait loci. Journal of Integrative Plant Biology 49: 871-884.
Tan L, Zhang P, Liu F, Wang G, Ye S, Zhu Z, Fu Y, Cai H, Sun C (2008) Quantitative trait loci underlying domestication-and yield-related traits in an *Oryza sativa*×*Oryza rufipogon* advanced backcross population. Genome 51: 692-704.
Temnykh S, DeClerck G, Lukashova A, Lipovich L, Cartinhour S, McCouch S (2001) Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. Genome Research 11: 1441-1452.
Temnykh S, Park WD, Ayres N, Cartinhour S, Hauck N, Lipovich L, Cho YG, Ishii T, McCouch SR (2000) Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics 100: 697-712.
Van Ooijen J (2006) JoinMap 4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma B. V., Wageningen, Netherlands.

Archive of SID

www.SID.ir

genetic basis of heterosis in an elite rice hybrid. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 94: 9226-9231.
Zhang L, Wang S, Li H, Deng Q, Zheng A, Li S, Li P, Li Z, Wang J (2010) Effects of missing marker and segregation distortion on QTL mapping in F_2 populations. Theoretical and Applied Genetics 121: 1071-1082.
Zhao X, Qin Y, Sohn JK (2010) Identification of main effects, epistatic effects and their environmental interactions of QTLs for yield traits in rice. Genes and Genomics 32: 37-45.
Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, van De Lee T, Hornes M, Friters A, Pot J, Paleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23: 4407-4414.
Wang J, Li H, Zhang L, Meng L (2012) Users' manual of QTL IciMapping version 3.2. The Quantitative Genetics Group, Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Beijing 100081, China, and Genetic Resources Program, International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Apdo. Postal 6-641, 06600 Mexico, D.F., Mexico.
Yu SB, Li JX, Xu CG, Tan YF, Gao YJ, Li XH, Zhang Q, Maroof MA (1997) Importance of epistasis as the

Archive of SID

www.SID.ir