Archive of SID

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

شناسایی QTLهای کنترل‌کننده صفات مرتبط با کیفیت پخت و تبدیل در یک جمعیت $F_{2:4}$ برنج

مجتبی کردرستمی[۱]، بابک ربیعی[۲]، عاطفه صبوری[۳] و حسین صبوری[۴]

۱ و ۳- دانشجوی دکتری و استادیار، دانشگاه گیلان
۲- استاد، دانشگاه گیلان، (نویسنده مسوول: rabiei@guilan.ac.ir)
۴- دانشیار، دانشگاه گنبد کاووس

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۳۰

چکیده

در این پژوهش، از جمعیتی متشکل از ۱۹۶ خانواده $F_{2:4}$ حاصل از تلاقی دو رقم اصلاح شده و بومی ایرانی به اسامی سپیدرود و غریب جهت شناسایی QTLهای صفات مرتبط با کیفیت پخت دانه و تبدیل شلتوک استفاده شد. وجود چندشکلی بین والدین در ۵۵۰ نشانگر ریزماهواره (SSR) و ده ترکیب آغازگر از نشانگرهای AFLP بررسی و سپس نقشه پیوستگی جمعیت بر اساس داده‌های ژنوتیپی ۲۱۶ نشانگر چندشکل (۱۰۵ نشانگر SSR و ۱۱۱ نشانگر AFLP) تهیه شد. نقشه حاصل ۱۸۶۱/۳ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد و فاصله متوسط بین نشانگرها ۸/۹۵ سانتی‌مورگان بود. نتایج حاصل از مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب در مجموع تعداد بیست و هشت QTL برای این صفات شناسایی نمودکه تعدادی از QTLهای شناسایی شده کنترل بیش از یک صفت را بر عهده داشتند. برای هر یک از صفات مورد مطالعه یک یا چند QTL کوچک اثر به همراه حداقل یک QTL بزرگ اثر که سهم زیادی از تنوع فنوتیپی صفت را کنترل می‌کردند، شناسایی شد. QTLهای بزرگ اثر کنترل‌کننده صفات مورد نظر و نشانگرهای پیوسته با آنها می‌توانند در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: برنج، نقشه پیوستگی، صفات مرتبط با کیفیت پخت و تبدیل، QTL، SSR، AFLP

مقدمه

برنج (*Oryza sativa*) غذای عمده و اصلی بیش از ۵۰٪ از افراد جهان تشکیل می‌دهد (۷). از این‌رو نتایجی که از ژنوم‌شناسی برنج حاصل می‌شود، می‌تواند مستقیماً بر زندگی بشر (به‌عنوان یک ذخیره عمده غذایی) تأثیر بگذارد. به‌علاوه دستاوردهای عمده علمی که در برنامه‌های اصلاحی برنج حاصل می‌گردد، می‌توانند استفاده‌های عملی زیادی در اصلاح سایر غلات داشته باشند (۱۰). کیفیت دانه برنج یک خصوصیت پیچیده و شامل کیفیت ظاهری، کیفیت تبدیل و کیفیت پخت و خوراک است. این صفات همیشه در کنار عملکرد دانه مورد توجه متخصصین اصلاح نباتات قرار گرفته‌اند. به‌خصوص در ایران که ذائقه ایرانی برنج‌های معطر با طول دانه بلند و عرض دانه کم را ترجیح می‌دهد، کیفیت ظاهری و پخت و تبدیل دانه برنج اهمیت بیشتری دارد و از این‌رو بهنژادگران ایرانی همیشه در کنار افزایش عملکرد و اجزای عملکرد دانه، خصوصیات مرتبط با کیفیت دانه را نیز مد نظر قرار داده‌اند (۲۲).

اکثر صفات زراعی و اقتصادی در گیاهان، صفات کمی بوده و به‌وسیله چندین ژن یا ناحیه ژنومی با اثرات کم کنترل می‌شوند. این صفات تنوع عموماً پیوسته‌ای در بین افراد یک جمعیت نشان می‌دهند و علاوه بر وجود تعداد زیاد ژن، به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند (۱۷). در این راستا داشتن اطلاعات اولیه در مورد نحوه کنترل ژنتیکی هر صفت، جایگاه ژنومی و نیز میزان مشارکت و سهم هر یک از ژن‌ها در تظاهر فنوتیپی صفات از عواملی هستند که بدون تردید برای اصلاح عملکرد و کیفیت برنج در قالب یک برنامه به‌نژادی کارا و مؤثر، لازم و ضروری می‌باشند که از طریق انجام یک پروژه تجزیه QTL به‌دست خواهد آمد (۴).

ربیعی (۱۵) و ربیعی و همکاران (۱۸) اولین نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهواره را در زمینه ژنتیکی برنج‌های ایرانی با استفاده از یک جمعیت F_2 حاصل از تلاقی ارقام دم‌سفید و گرده تهیه و برای طول، عرض و شکل دانه به ترتیب پنج، هفت و شش QTL مکان‌یابی نمودند و نشان دادند که علت وجود همبستگی معنی‌دار بین این صفات، وجود تعدادی از QTLهای بزرگ‌اثر دارای اثرات پلیوتروپی می‌باشند. فتوکیان و همکاران (۵) QTLهای صفات مرتبط با کیفیت دانه برنج شامل طول، عرض و نسبت طول به عرض دانه خام و پخته را با استفاده از ۱۱۴ نشانگر ریزماهواره در ۶۲ لاین BC_2F_5 حاصل از تلاقی ارقام Teqing و طارم مولایی مطالعه نمودند و نشان دادند که دلیل وجود همبستگی بین این صفات وجود

www.SID.ir

Archive of SID

QTLهای مشترکی است که کنترل آنها را بر عهده دارند. در مطالعه دیگر صبوری (۱۹) از یک جمعیت $F_{2:3}$ حاصل از دو رقم ایرانی طارم محلی و خزر برای شناسایی QTLهای موثر بر میزان آمیلوز، درجه حرارت ژلاتینه شدن و قوام ژل استفاده نمود و تعداد چهار QTL برای آمیلوز، سه QTL برای حرارت ژلاتینه شدن و یک QTL برای قوام ژل مکان‌یابی نمود که هیچ یک از QTLهای آمیلوز در ناحیه ژن مومی یا قلیا روی کروموزوم ۶ قرار نداشتند.

در این مطالعه، QTLهای کنترل‌کننده صفات مرتبط با کیفیت پخت و تبدیل مرتبط با ارقام برنج ایرانی شناسایی شدند. هدف از این مطالعه، تهیه نقشه پیوستگی نشانگرهای SSR و AFLP در زمینه برنج‌های ایرانی، مکان‌یابی QTLهای کنترل‌کننده صفات مرتبط با کیفیت پخت و تبدیل، برآورد سهم هر یک از QTLهای شناسایی شده در تبیین تنوع فنوتیپی صفات مورد مطالعه و شناسایی نشانگرهای پیوسته با QTLهای بزرگ‌اثر برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی آینده بود.

مواد و روش‌ها

جمعیت تهیه نقشه شامل ۱۹۶ لاین $F_{2:4}$ حاصل از تلاقی دو رقم برنج ایرانی به اسامی سپیدرود و غریب بود. بذرهای والدین و لاین‌های F_4 در ردیف‌های جداگانه در خزانه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان کشت شدند و برای تفکیک لاین‌ها از یکدیگر، شماره لاین‌ها در جلوی آنها ثبت شد. رقم سپیدرود از ارقام اصلاح شده در موسسه تحقیقات برنج کشور است که با روش انتخاب از بین لاین‌های خالص ارسالی از IRRI انتخاب شده و سپس مراحل آزمایش‌های سازگاری و پایداری را در مناطق مختلف کشور طی کرده و در نهایت به‌عنوان رقم به کشاورزان معرفی شده است. این رقم پاکوتاه، دارای پنجه‌زنی زیاد، عملکرد دانه نسبتاً زیاد و دارای برگ‌های ایستاده است. همچنین خاصیت کودپذیری بالایی دارد و به خوابیدگی مقاوم است. در مقابل، رقم غریب از ارقام محلی ایران است که طی سال‌های متمادی در مناطق شمالی کشور کشت شده است. این رقم پابلند و حساس به خوابیدگی می‌باشد و خاصیت کودپذیری بالایی ندارد. از سایر خصوصیات بارز این رقم می‌توان به دوره رشد کم تا متوسط، عملکرد پایین و کیفیت دانه خوب اشاره نمود. هر لاین F_4 در هر تکرار در یک خط و هر خط شامل ۳۰ بوته به‌صورت تک‌بوته با فاصله ۲۵ × ۲۵ سانتی‌متر از یکدیگر نشا شد. تمامی مراقبت‌های لازم در طول مرحله رشد و نمو بوته‌ها از قبیل آبیاری و مبارزه با آفات و بیماری‌ها به‌ویژه کرم ساقه‌خوار و بلاست برنج، در زمان مناسب مطابق با توصیه‌های مؤسسه تحقیقات برنج کشور انجام شد.

صفات مورد بررسی و روش اندازه‌گیری آنها

برای اندازه‌گیری صفات موردنظر، ابتدا دانه‌های هر لاین جداگانه برداشت شد و پس از جدا کردن شلتوک از ساقه و خوشه، پوست‌کنی شلتوک طی دو مرحله برای تهیه برنج قهوه‌ای و برنج سفید انجام و صفات زیر اندازه‌گیری شدند: بازده تبدیل از نسبت وزن برنج سفید سالم به وزن شلتوک، بازده تبدیل محاسبه و بر حسب درصد بیان شد. طول، عرض و شکل دانه سفید، برای اندازه‌گیری این دو صفت از هر لاین ۱۷ بوته و از هر بوته ۱۰ دانه سالم به‌طور تصادفی انتخاب و طول و عرض آنها به کمک دستگاه فتوالایزر با دقت ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. همچنین از تقسیم طول برنج به عرض برنج سفید، شکل دانه سفید ثبت شد.

طویل شدن و عریض شدن دانه پس از پخت، برای این منظور، ابتدا دانه‌ها در یک لوله آزمایش ریخته شدند و مقدار ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده شد. پس از نیم ساعت که دانه‌ها به خوبی خیس خوردند، عمل پخت دانه‌ها انجام شد، به این ترتیب که لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم $100C^{\circ}$ قرار داده شدند. آنگاه نمونه‌ها از آب خارج شدند و پس از ۵ دقیقه نگهداری در هوای اتاق، به‌وسیله دستگاه فتوالایزر طول و عرض دانه‌های پخته ثبت شد. از تقسیم طول برنج پخته به طول برنج خام، نسبت افزایش طول یا طویل شدن دانه به‌دست آمد و از تقسیم عرض برنج پخته به عرض برنج خام، میزان عریض شدن دانه محاسبه شد.

مقدار آمیلوز، از هر خانواده F_4، حداقل ۱۷ بوته و از هر بوته تعداد ۲۵ دانه سفید به‌طور تصادفی انتخاب و به‌وسیله دستگاه آسیاب مخصوص آرد شد. برای جلوگیری از مخلوط شدن آرد هر نمونه با نمونه بعدی، کاسه آسیاب پس از هر مرتبه آرد کردن به دقت تمیز گردید. سپس بر اساس روش جولیانو و ویلاریبل (۹) و پرز و جولیانو (۱۴) مقدار آمیلوز مورد سنجش قرار گرفت. لازم به ذکر است که ارقام با آمیلوز خیلی پایین، پایین، متوسط و بالا به ترتیب دارای ۱۰-۲، ۲۰-۱۰، ۲۵-۲۰ و بالاتر از ۲۵ درصد آمیلوز هستند (۸). ارقام با آمیلوز پایین پس از پخت، لزج و چسبنده و لعابدار و در مقابل ارقام با آمیلوز بالا، سفت و خشک می‌شوند.

دمای ژلاتینه شدن، بر زمان پخت و همچنین بافت دانه‌های برنج دلالت دارد و اندازه‌گیری آن یک روند گرماگیر است به‌طوری‌که دانه‌ها در حین ژلاتینه شدن،

www.SID.ir

Archive of SID

گرما جذب می‌کنند. برای اندازه‌گیری این صفت، از هر لاین به‌طور تصادفی تعداد ۱۲ دانه برنج سالم در دو تکرار در یک ظرف پتری کوچک حاوی پنج میلی‌لیتر محلول هیدروکسید پتاسیم ۱/۷ درصد طوری قرار داده شدند که دانه‌ها در داخل ظرف غوطه‌ور شده و با هم و همچنین به دیواره‌های ظرف تماس نداشته باشند. ظروف پتری به مدت ۲۳ ساعت در دمای $30^{\circ}C$ در داخل آون گذاشته شدند. نمونه‌ها بر حسب میزان تأثیر هیدروکسید پتاسیم، به هفت درجه امتیازدهی شدند. این امتیاز به تک تک دانه‌ها داده شد و سپس میانگین نمرات به‌دست آمده به عنوان دمای ژلاتینه شدن آن لاین ثبت شد. قوام یا پیوستگی ژل، با استفاده از اتانول و هیدروکسید پتاسیم تعیین شد (۳).

تهیه نقشه پیوستگی

نمونه‌های برگی از برگ‌های جوان و تازه کلیه بوته‌های F_2 و هر یک از والدین در زمان حداکثر پنجه‌دهی تهیه و تا مرحله استخراج DNA در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA به روش CTAB (۲۰) انجام شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده به ترتیب با انجام الکتروفورز روی ژل آگاروز و اسپکتروفتومتر تعیین شد و قبل از انجام واکنش PCR، غلظت تمامی نمونه‌ها تا مقدار ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند.

تکثیر DNA ژنومی با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) و با دستگاه ترموسایکلر (GeneAmp) انجام شد. برای تهیه مخلوط واکنش در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر برای هر نمونه، ۱ میکرولیتر بافر PCR (۱۰ برابر)، ۰/۴۸ میکرولیتر MgCl2 (۵۰ میلی‌مولار)، ۰/۶ میکرولیتر مخلوط چهار نوع dNTPs (۲ میلی‌مولار)، ۰/۴ میکرولیتر از هر آغازگر مستقیم و معکوس (۶۰ نانوگرم در میکرولیتر)، پنج واحد آنزیم تک دی‌ان‌ای پلی‌مراز (۰/۱۲ میکرولیتر)، ۲ میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر و ۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل با هم مخلوط شدند. برنامه حرارتی PCR برای آغازگرهای SSR شامل چهار دقیقه دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشته شدن اولیه DNA الگو و ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشته شدن، ۳۰ ثانیه در ۵۵ یا ۶۱ درجه سانتی‌گراد برای اتصال آغازگرها به DNA الگو و یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط آغازگرها بود و این برنامه ۳۰ دور تکرار شد. به‌منظور تکثیر اختصاصی قطعات و جلوگیری از تکثیر قطعات اضافه، در چرخه اول، دمای اتصال آغازگرها حدود ۵ درجه سانتی‌گراد بیشتر در نظر گرفته شد و سپس به ازای هر دو چرخه، دمای اتصال یک درجه سانتی‌گراد کاهش یافت تا دمای اتصال ویژه هر آغازگر (۵۵ یا ۶۱ درجه سانتی‌گراد) ایجاد شود.

انجام روش AFLP بر اساس روش وس و همکاران (۲۵) صورت گرفت. به‌منظور برش DNA از آنزیم‌های EcoRI و MseI استفاده گردید (جدول ۱). برای تهیه سازگارساز EcoRI از آغازگرهای رفت (5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3') و برگشت (3'-CATCTGACGCATGGTTAA-5') و برای تهیه سازگارساز MseI از آغازگرهای رفت (5′-GACGATGAGTCCTGAG-3′) و برگشت (3′-TACTCAGGACTCAT-5′) استفاده شد (جدول ۱). برای مرحله پیش تکثیر از آغازگرهای بدون نوکلئوتید اضافی در انتهای `۳ آغازگر، E000 (5'-GTAGACTGCGTACCAATTC-3') و M000 (5'-GATGAGTCCTGAGTAA-3') استفاده شدند.

برنامه PCR به‌صورت ۳۰ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه بود. اجزای واکنش ۱۵ میکرولیتری برای پیش‌تکثیر شامل دو میکرولیتر از محصول DNA هضم شده و اتصال یافته با سازگارسازها (رقیق شده به نسبت ۱:۵) یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای فوق با غلظت ۶۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۱ میکرولیتر کلرید منیزیم ۲ میلی مولار، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR ۱۰ برابر (×۱۰)، ۰/۵ میکرولیتر مخلوط چهار نوع نوکلئوتید با غلظت ۱۰ میلی مولار و ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq پلی‌مراز ۵ واحد بود. جهت تأیید مراحل انجام روش، ۴ میکرولیتر از محصولات این مرحله با دو میکرولیتر بافر نمونه‌گذاری مخلوط و روی ژل آگارز ۰/۷ درصد TAE و با ولتاژ ۸۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه الکتروفورز گردیدند.

در مرحله تکثیر انتخابی در مجموع ۱۰ ترکیب آغازگری مختلف برای انجام تکثیر انتخابی تشکیل شد (جدول ۱). مخلوط ۱۵ میکرولیتری برای انجام این مرحله شامل دو میکرولیتر از محصول PCR رقیق‌شده مرحله قبل، یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای اختصاصی، ۰/۶ میکرولیتر کلرید منیزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۱/۵ میکرولیتر بافر PCR ۱۰ برابر (×۱۰)، ۰/۳ میکرولیتر مخلوط چهار نوع نوکلئوتید با غلظت ۱۰ میلی‌مولار و ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq پلی‌مراز ۵ واحد بودند. مخلوط فوق جهت تکثیر انتخابی، تحت برنامه دمایی مشابه مرحله پیش تکثیر قرار گرفتند. به‌منظور انجام الکتروفورز، ابتدا ۵ میکرولیتر محلول رنگی بارگذاری (دای) به محصول PCR حاصل از تکثیر انتخابی مرحله قبل افزوده شده و به مدت

www.SID.ir

Archive of SID

سه دقیقه در دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد به‌منظور انجام عمل واسرشته‌سازی قرار گرفتند و سپس سریعاً روی یخ منتقل گردیدند. چهار میکرولیتر از این مخلوط روی ژل پلی‌اکریلامید ۶ درصد بارگذاری و با توان ۸۵ وات ثابت به مدت ۱/۵ ساعت الکتروفورز گردید. برای رنگ‌آمیزی ژل‌ها از روش نیترات نقره (۱) استفاده شد.

جدول ۱- آغازگرهای AFLP مورد استفاده در این مطالعه

آغازگرهای مرحله پیش‌تکثیر	
5'-GATGAGTCCTGAGTAA-3'	M000
5'-GTAGACTGCGTACCAATTC-3'	E000
5'-GACGATGAGTCCTGAG-3' 3'-TACTCAGGACTCAT-5'	سازگارساز MseI
5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3' 3'- CATCTGACGCATGGTTAA -5'	سازگارساز EcoRI
آغازگرهای مرحله تکثیر انتخابی	
5'-GTAGACTGCGTACCAATTCAAC-3'	E32
5'-GTAGACTGCGTACCAATTCAAG-3'	E33
5'-GTAGACTGCGTACCAATTCACA-3'	E35
5'-GATGAGTCCTGAGTAAATC-3'	M44
5'-GATGAGTCCTGAGTAAAGT-3'	M42
5'-GATGAGTCCTGAGTAAAGA-3'	M39
5'-GATGAGTCCTGAGTAACTT-3'	M62
5'-GATGAGTCCTGAGTAACTG-3'	M61
5'-GATGAGTCCTGAGTAAAAG-3'	M33
5'-GATGAGTCCTGAGTAACTA-3'	M59
5'-GATGAGTCCTGAGTAACTC-3'	M60
5'-GATGAGTCCTGAGTAATTG -3'	M93
5'-GATGAGTCCTGAGTAATGT -3'	M90

برای تهیه نقشه پیوستگی ۵۵۰ نشانگر SSR و ده ترکیب آغازگری از نشانگرهای AFLP از نظر وجود چندشکلی در بین والدین غریب و سپیدرود مورد بررسی قرار گرفتند و در نهایت از داده‌های ژنوتیپی ۲۱۶ نشانگر چندشکل (۱۰۵ نشانگر SSR و ۱۱۱ نشانگر AFLP) در دو والد و ۱۹۶ فرد جمعیت F_2 استفاده گردید. پس از تعیین ژنوتیپ کلیه افراد جمعیت، ابتدا نسبت مورد انتظار ۱:۲:۱ برای نشانگرهای SSR و ۳:۱ برای نشانگرهای AFLP به‌وسیله آزمون کای‌اسکور (χ^2) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Ver. 16) مورد آزمون قرار گرفت. پس از آن گروه‌های پیوستگی با استفاده از نرم‌افزار Map Manager Ver. 2.6.5 (۱۳) ایجاد شدند. فواصل نشانگری در این نقشه نیز بر اساس تابع کوسامبی (۱۱) محاسبه گردیدند.

تجزیه QTL

QTLهای کنترل‌کننده صفات مورد مطالعه، با استفاده از نقشه پیوستگی تهیه شده و میانگین ارزش‌های فنوتیپی صفات در لاین‌های F_4 شناسایی شدند. برای تجزیه QTL از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (۲۶) استفاده شد و QTLهای کنترل‌کننده هر یک از صفات مورد نظر به کمک نرم‌افزار Win QTL ver. 2.5 Cartographer (۲) مکان‌یابی گردیدند. حد آستانه LOD با آزمون تبدیل[1] با تعداد جایگشت ۱۰۰۰ و QTLهایی با LOD بزرگ‌تر از ۲/۵ به‌عنوان QTLهای مطلوب انتخاب شوند (شکل ۱).

نتایج و بحث

از بین ۲۱۶ نشانگر چندشکل در این مطالعه، تعداد ۴ نشانگر AFLP شامل E32-M44-4، E32-M44-8، E32-M60-10 و E33-M60-7 و ۳ نشانگر ریزماهواره RM13، RM70 و RM30 با هیچ‌یک از نشانگرها پیوسته نبودند و از این‌رو نقشه پیوستگی شامل ۲۰۹ نشانگر (۱۰۲ نشانگر SSR و ۱۰۷ نشانگر AFLP) بود که در ۱۲ گروه پیوستگی قرار گرفتند. نقشه حاصل ۱۸۶۱/۳ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را تحت پوشش قرار داد و فاصله هر دو نشانگر مجاور از یکدیگر به‌طور متوسط ۸/۹۵ سانتی‌مورگان برآورد شد. بلندترین طول گروه پیوستگی در کروموزوم ۲ با ۲۱۶/۷ سانتی‌مورگان و کوچک‌ترین طول گروه پیوستگی ۹۹/۸ سانتی‌مورگان در کروموزوم ۸ بود.

ارزش‌های فنوتیپی صفات مورد مطالعه در هر یک از والدین (سپیدرود و غریب) و فامیل‌های F_4 در جدول ۲ ارائه شده است. مقایسه میانگین بین والدین با انجام آزمون t نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد برای تمامی صفات کیفی مورد مطالعه وجود داشت. والد غریب که یک رقم بومی ایرانی با خصوصیات نسبتاً مطلوب است، مقادیر بالایی به‌خصوص برای بازده تبدیل داشت، در مقابل والد سپیدرود که یک رقم اصلاح‌شده است، دارای مقادیر بالایی برای درصد آمیلوز، دمای ژلاتینه شدن، طول دانه سفید و شکل دانه سفید (نسبت

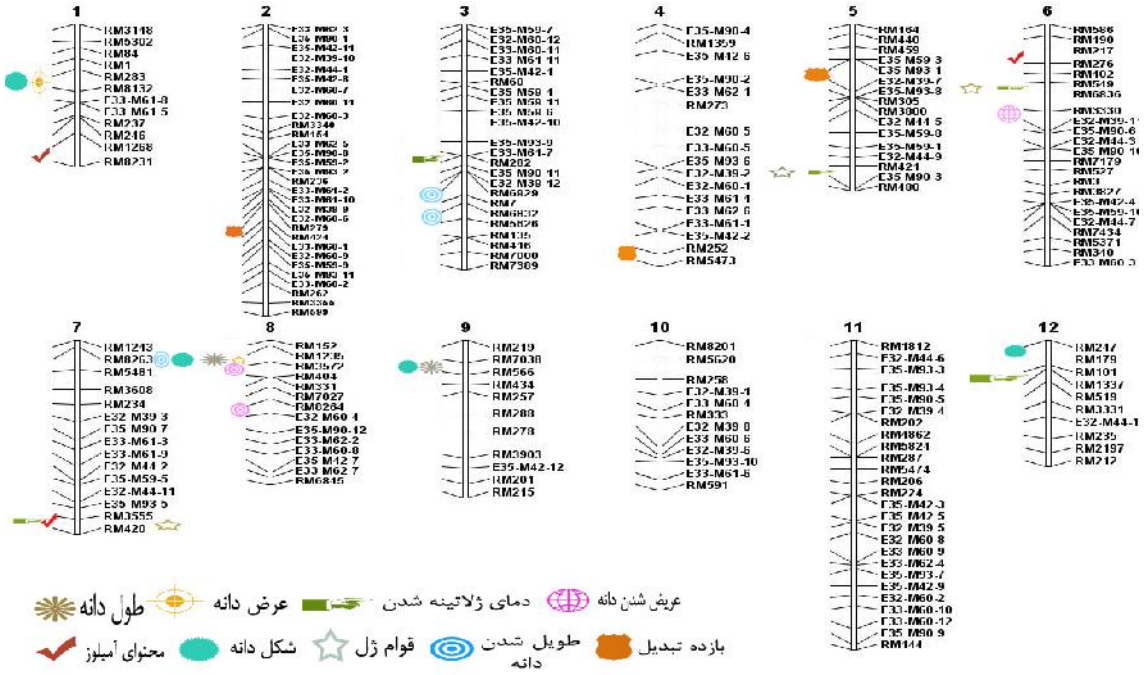
1- Permutation test

www.SID.ir

Archive of SID

طول به عرض دانه سفید خام) بود (جدول ۲). بنابراین والد سپیدرود از نظر کیفیت ظاهری یعنی صفات طول، عرض و شکل دانه ارزشمندتر از والد غریب بود، اما از نظر کیفیت پخت و به‌خصوص بازده تبدیل والد غریب ارزشمندتر از والد سپیدرود بود.

در حقیقت، یکی از مشکلات اساسی رقم سپیدرود که موجب عدم پذیرش آن در پیش کشاورزان و مصرف‌کنندگان شده است، بازده تبدیل بسیار پایین آن می‌باشد.



شکل ۱- محل قرارگیری QTLهای کنترل‌کننده صفات مرتبط با کیفیت دانه روی ۱۲ گروه پیوستگی برنج

جدول ۲- ارزش‌های فنوتیپی صفات مرتبط با کیفیت دانه در والدین و نسل F_4

صفات مورد مطالعه	میانگین والدین		میانگین لاین‌های F_4	مقدار t $\lvert P_1-P_2\rvert$
	سپیدرود	غریب		
درصد آمیلوز	۲۷/۰	۲۰/۱	۲۴/۰	۲۲/۰۴**
دمای ژلاتینه شدن	۷/۰	۳/۶	۵/۵	۱۰/۲۵**
قوام ژل (میلی‌متر)	۳۰	۷۰	۴۰	۲۵/۷۷**
طول دانه سفید (میلی‌متر)	۷/۵۱	۶/۳۳	۶/۷۵	۸/۱۴**
عرض دانه سفید (میلی‌متر)	۱/۸۸	۲/۴۷	۲/۱۲	۶/۱۲**
شکل دانه (نسبت طول به عرض)	۳/۹۹	۲/۵۶	۳/۴۵	۱۴/۲۷**
طویل شدن دانه	۱/۵۰	۲/۱۰	۱/۹۰	۱۱/۳۹**
عریض شدن دانه	۱/۵۱	۱/۷۰	۱/۵۸	۹/۰۸**
بازده تبدیل (درصد)	۵۸	۷۳	۶۵	۲۷/۴۳**

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

آزمون‌های چولگی و کشیدگی داده‌های جمعیت F_4 نشان داد که مقدار چولگی و کشیدگی داده‌ها برای تمامی صفات (به‌جز قوام ژل برای چولگی) غیرمعنی‌دار بود که نشان‌دهنده توزیع پیوسته و تقریباً نرمال داده‌ها و در نتیجه احتمال وجود توارث کمی برای صفات مورد مطالعه بود. همچنین، والدین مورد استفاده در این مطالعه از نظر تمامی صفات مورد مطالعه در دو نقطه مقابل هم بودند و وجود این حالت موجب می‌شود تا تنوع بیشتری در نتایج حاصل ایجاد شده و بتوان تجزیه ژنتیکی مناسبی برای شناسایی QTLهای کوچک‌اثر در صفات مورد مطالعه انجام داد (۱۶).

www.SID.ir

Archive of SID

ضرایب همبستگی بین صفات مرتبط با کیفیت دانه در جدول ۳ ارائه شده است. همبستگی بین مقدار آمیلوز با دمای ژلاتینه شدن مثبت و معنی‌دار و با قوام ژل منفی و معنی‌دار بود، اما بین دمای ژلاتینه شدن و قوام ژل همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد. به‌طور کلی همبستگی بین بیشتر صفات کیفی مورد مطالعه پایین و غیرمعنی‌دار بود. بیشترین ضرایب همبستگی مثبت و معنی‌دار به ترتیب بین طویل شدن و عریض شدن دانه (۰/۹۱) و طول و شکل دانه سفید خام (۰/۷۶۳) و بیشترین ضریب همبستگی منفی و معنی‌دار بین عرض و شکل دانه سفید خام (۰/۷۹۰-) برآورد شد. همچنین همبستگی بین طول با عرض دانه سفید خام و بین طویل شدن دانه با طول و شکل دانه سفید خام منفی و معنی‌دار بود.

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین صفات مرتبط با کیفیت دانه در لاین‌های F_4 مورد مطالعه

صفات	مقدار آمیلوز (x_1)	دمای ژلاتینه شدن (x_2)	قوام ژل (x_3)	طول دانه سفید خام (x_4)	عرض دانه سفید خام (x_5)	شکل دانه سفید خام (x_6)	طویل شدن دانه (x_7)	عریض شدن دانه (x_8)	بازده تبدیل (x_9)
X_1	۱								
X_2	۰/۲۶۵	۱							
X_3	-۰/۱۶۲	-۰/۰۳۳	۱						
X_4	-۰/۰۳۲	۰/۰۲۳	۰/۰۳۶	۱					
X_5	۰/۰۸۱	۰/۰۸۱	۰/۰۶۸	-۰/۲۱۴	۱				
X_6	-۰/۰۷۰	-۰/۰۴۶	-۰/۰۲۷	۰/۷۶۳	-۰/۷۹۰	۱			
X_7	-۰/۰۱۰	۰/۰۳۱	۰/۰۴۱	-۰/۳۵۷	۰/۰۴۷	-۰/۲۵۲	۱		
X_8	-۰/۰۰۸	۰/۰۶۰	۰/۰۷۴	۰/۰۲۸	۰/۱۵۳	-۰/۰۸۲	۰/۹۱۰	۱	
X_9	۰/۰۵۲	۰/۰۱۰	-۰/۰۰۹	۰/۰۰۶	۰/۰۸۹	-۰/۰۵۱	-۰/۰۳۶	-۰/۰۱۸	۱

اعداد بزرگتر از ۰/۱۶ در سطح احتمال پنج درصد و اعداد بزرگتر از ۰/۲۳ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار هستند.

شناسایی QTLهای کنترل‌کننده صفات مورد مطالعه

QTLهای شناسایی شده برای صفات مرتبط با کیفیت دانه در جدول (۴) ارائه شده‌اند. مجموعاً بیست و هشت فاصله واجد QTL شناسایی شد که کنترل نه صفت کیفی مورد مطالعه را بر عهده داشتند. از این تعداد، سه QTL میزان آمیلوز، پنج QTL دمای ژلاتینه شدن، سه QTL قوام ژل، دو QTL عرض دانه سفید خام، دو QTL طول دانه سفید خام، چهار QTL شکل دانه، سه QTL طویل شدن دانه پس از پخت، سه QTL عریض شدن دانه پس از پخت و سه QTL بازده تبدیل را کنترل کردند. سه QTL برای صفت محتوای آمیلوز روی کروموزوم‌های ۱، ۶ و ۷ مکان‌یابی شدند (جدول ۴). QTL *qAC-6* در فاصله بین نشانگرهای RM217-RM276 روی کروموزوم ۶ با LOD معادل ۹/۴۹ به‌عنوان یک QTL بزرگ‌اثر به تنهایی توانست نزدیک به ۴۰ درصد از تنوع فنوتیپی میزان آمیلوز را توجیه نماید. پس از آن QTLهای *qAC-1* و *qAC-7* به ترتیب روی کروموزوم‌های ۱ و ۷ با کنترل حدود ۱۶ و ۱۲ درصد از تنوع صفت در درجه بعدی اهمیت قرار داشتند. QTL *qAC-6* در ناحیه مربوط به ژن مومی (*wx*) مکان‌یابی شد و به‌نظر می‌رسد که احتمالاً یکی از آلل‌های ژن فوق یا یک ژن پیوسته به آن باشد. اثر افزایشی هر سه QTL شناسایی شده مثبت بوده و در همه آنها آلل‌های والد سپیدرود باعث افزایش میزان آمیلوز شدند، اما اثر غالبیت آنها منفی و در جهت کاهش میزان آمیلوز بود. برآورد درجه غالبیت ژن‌ها نیز نشان داد که QTL بزرگ اثر *qAC-6* دارای عمل فوق غالبیت و دو QTL دیگر دارای عمل غالبیت ناقص برای کاهش میزان آمیلوز بودند. در مطالعه هی و همکاران (۶) نیز همانند مطالعه حاضر یک ژن بزرگ‌اثر که احتمالاً یک آلل مومی بود، ۹۱/۹ درصد از کل تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه کرد. نتایج مطالعه تان و همکاران (۲۳) پیشنهاد هی و همکاران (۶) را مبنی بر کنترل مقدار آمیلوز توسط ژن مومی تأیید کرد. مکان ژنی مومی در مجاورت QTL موثر در کنترل مقدار آمیلوز در مطالعه سپتی‌نینگ‌سی و همکاران (۲۱) که با استفاده از خانواده‌های تلاقی برگشتی پیشرفته حاصل از تلاقی ارقام IRGC105491 و IR64 انجام شد، نیز به‌عنوان یک ناحیه مهم ژنومی در کنترل این صفت شناسایی شد.

پنج QTL برای صفت دمای ژلاتینه شدن در این روش مکان‌یابی شدند. از بین این QTLها که روی کروموزوم‌های ۳، ۵، ۶، ۷ و ۱۲ قرار داشتند (جدول ۴)، تنها QTL *qGT-5* در حد فاصل بین نشانگرهای RM421 و E35-M90-3

www.SID.ir

Archive of SID

روی کروموزوم ۶ کنترل حدود ۱۶ درصد از واریانس فنوتیپی درجه حرارت ژلاتینه شدن را به‌عهده داشت. به‌غیر ازQTL *qGT-5* که دارای اثرات افزایشی منفی بود و در آن آلل‌های والد غریب موجب افزایش این صفت شدند، سایر QTLها اثر افزایشی مثبت داشته و در آنها آلل‌های والد سپیدرود موجب افزایش درجه حرارت ژلاتینه شدن شد. در مقابل، اثرات غالبیت تمامی QTLهای شناسایی شده منفی و به سمت کاهش درجه حرارت ژلاتینه شدن بود. عمل ژن‌ها نیز نشان داد که همه QTLها دارای عمل فوق غالبیت برای کاهش این صفت بودند. برای صفت قوام ژل سه QTL مکان‌یابی گردید که این QTLها روی کروموزوم‌های ۵، ۶ و ۷ قرار داشتند (جدول ۴). QTLهای *qGC-6* و *qGC-7* به ترتیب در فاصله RM549-RM6836 و RM3355-RM420 روی کروموزوم‌های ۶ و ۷ به ترتیب با LOD برابر با ۴/۲۷ و ۳/۹۹، بیش از ۲۱ و ۱۸ درصد از تنوع فنوتیپی صفت فوق را توجیه نمودند. در هر سه QTL شناسایی شده، آلل‌های والد سپیدرود موجب کاهش قوام ژل شدند. اثر غالبیت نیز در هر سه QTL منفی و به سمت کاهش قوام ژل و عمل ژن‌ها در هر سه QTL به‌صورت فوق غالبیت برای کاهش قوام ژل بودند.

هی و همکاران (۶) دو QTL (*qGC-2* و *qGC-7*) روی کروموزوم‌های ۲ و ۷ شناسایی نمودند که در مجموع ۳۴/۴ درصد از تغییرات قوام ژل را توجیه کردند که QTL دوم در مجاورت QTL گزارش شده در پژوهش حاضر بود. لنسرانس و همکاران (۱۲) همچنین دو QTL روی کروموزوم ۶ در حدفاصل نشانگرهای RG64-2171 و Waxy-RM225 و یک QTL روی کروموزوم ۷ در حد فاصل نشانگرهای OSR22-RM10 را به‌عنوان جایگاه‌های مهم در کنترل قوام ژل معرفی نمودند. QTL گزارش شده در پژوهش حاضر تقریباً با QTL گزارش شده توسط لنسراس و همکاران (۱۲) روی کروموزوم ۷ مطابقت داشت.

نتایج تجزیه QTL در مورد صفات مربوط به کیفیت فیزیکی دانه منجر به شناسایی مجموعاً هفده QTL در پژوهش حاضر شد. تعداد دو QTL برای صفت عرض دانه مکان‌یابی شد (جدول ۴). این QTLها (*qGW-1* و *qGW-8*) که به ترتیب با LOD برابر ۴/۱۳ و ۳/۷۹ در فاصله بین نشانگرهای RM283-RM8132 و RM1235-RM3572 روی کروموزوم‌های ۱ و ۷ قرار داشتند، نزدیک به ۱۸ و ۱۵ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت را توجیه نمودند. اثر افزایشی این QTLها منفی و در آنها آلل‌های والد غریب باعث افزایش عرض دانه گردید، اما اثر غالبیت ژن‌ها نشان داد که در QTL بزرگ‌اثر *qGW-1* غالبیت ژن‌ها به سمت کاهش و درQTL *qGW-8* غالبیت به سمت افزایش عرض دانه بود. همچنین، مطالعه عمل ژن‌ها نشان داد که *qGW-1* دارای عمل غالبیت ناقص در جهت کاهش و *qGW-8* دارای غالبیت ناقص در جهت افزایش عرض دانه بود. همچنین در مطالعه این صفت مشخص گردید که نشانگر RM1235 با پیوستگی بسیار شدید به *qGW-8* QTL می‌تواند به‌عنوان نشانگر مناسب جهت مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

برای صفت طول دانه دو QTL مکان‌یابی گردید که روی کروموزوم‌های ۸ و ۹ قرار داشتند (جدول ۴). این دو QTL، *qGL-8* و *qGL-9* بودند که به ترتیب در فاصله RM1235-RM3572 و RM7038-RM566 روی کروموزوم‌های ۸ و ۹ شناسایی شدند و در حدود ۱۴ و ۱۰ درصد از تنوع فنوتیپی صفت فوق را توجیه نمودند. اثر افزایشی هر دو QTL منفی و در آنها آلل‌های والد غریب باعث افزایش طول دانه گردید. اثر غالبیت در هر دو QTL نیز در جهت افزایش طول دانه بود. برآورد درجه غالبیت نیز نشان داد که هر دو QTL دارای اثر فوق غالبیت برای افزایش طول دانه می‌باشند.

برای صفت شکل دانه، تعداد چهار QTL روی کروموزم‌های ۱، ۸، ۹ و ۱۲ مکان‌یابی گردید (جدول ۴). هر چهار QTL بیش از ۱۰ درصد از تنوع صفت را کنترل نمودند، به‌خصوص*qGS-1* QTL که در فاصله نشانگرهای RM283-RM8132 روی کروموزوم ۱ مکان‌یابی شد، بیش از ۱۸ درصد از واریانس فنوتیپی شکل دانه را کنترل کرد. اثر افزایشی QTLها از ۰/۱۲ تا ۰/۸۴ متغیر بود و در هر چهار QTL آلل‌های والد سپیدرود شکل دانه را افزایش دادند. اثر غالبیت در هر چهار QTL به‌غیر از *qGS-1* مثبت و به سمت افزایش شکل دانه بود. برآورد عمل ژن‌ها نیز نشان داد که دو QTL *qGS-1* و *qGS-12* دارای عمل غالبیت ناقص و دو QTL *qGS-8* و *qGS-9* دارای عمل فوق غالبیت می‌باشند. نتیجه جالب در مورد شکل دانه این بود که این صفت از نسبت طول به عرض دانه به‌دست آمد و همبستگی بالا و معنی‌داری بین آنها وجود داشت (جدول۳). در بین QTLهای شناسایی شده برای این صفات نیز یک QTL واقع در فاصله بین نشانگرهای RM1235-RM3572 روی کروموزم ۸ کنترل هر سه صفت را بر عهده داشت. برای طول، عرض و شکل دانه در پژوهش‌های مختلف مکان‌های متعددی به‌عنوان جایگاه‌های مهم در کنترل این صفات معرفی شدند. تجزیه QTL روی طول و عرض دانه در مطالعه تان و همکاران (۲۲) نشان داد که طول و عرض دانه هر یک به‌وسیله یک QTL بزرگ‌اثر و یک یا دو QTL کوچک اثر کنترل

www.SID.ir

Archive of SID

می‌شوند. ربیعی و همکاران (۱۶) دو QTL روی کروموزوم‌های ۵ و ۷ به ترتیب در حد فاصل نشانگرهای RM437-RM289 و RM481-RM125 شناسایی نمودند که کنترل طول، عرض و شکل دانه را بر عهده داشتند.

برای صفت طویل شدن دانه تعداد سه QTL مکان‌یابی شد که از آنها دو QTL روی کروموزوم ۳ و یک QTL روی کروموزوم ۸ قرار داشتند (جدول ۴).

جدول ۴- QTLهای کنترل‌کننده صفات مرتبط با کیفیت دانه در روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب

صفت	QTL	فاصله نشانگری	کروموزوم	LOD	اثر افزایشی (a)	اثر غالبیت (d)	درجه غالبیت	در صد واریانس فنوتیپی (R^2)
محتوای آمیلوز	*qAC-1*	RM1268-RM8231	۱	۵/۵۱	-۰/۲۳	-۰/۱۶	-۰/۶۹	۱۶
	qAC-6	RM217-RM276	۶	۹/۴۹	-۰/۰۹	-۰/۲۸	-۳/۰۲	۳۹/۷
	qAC-7	RM3355-RM420	۹	۲/۷۰	۰/۱۴	-۰/۳۹	-۳/۰۰	۴/۵
دمای ژلاتینه شدن	*qGT-3*	E33-M61-7-RM282	۳	۲/۷۳	۰/۱۱	-۰/۳۱	-۲/۸۲	۶/۷۸
	qGT-5	RM421-E35-M90-3	۵	۴/۳۹	-۱/۶۳	-۳/۹۲	-۲/۴۰	۱۶/۴۱
	qGT-6	RM549-RM6836	۶	۶/۲۱	۰/۲۷	-۰/۴۹	-۱/۸۱	۳۰/۸۲
	qGT-7	RM3355-RM420	۷	۳/۳۸	۰/۱۸	-۰/۲۹	-۱/۶۱	۱۱/۱۷
	qGT-12	RM101-RM1337	۱۲	۳/۰۲	۰/۱۳	-۰/۴۱	-۳/۱۵	۹/۵۴
قوام ژل	*qGC-5*	RM421-E35-M90-3	۵	۳/۰۴	-۳/۰۱	-۴/۲۲	-۱/۴۰	۱۲/۵۸
	qGC-6	RM549-RM6836	۶	۴/۲۷	-۲/۸۹	-۵/۹۲	-۲/۰۵	۲۱/۴
	qGC-7	RM3355-RM420	۷	۳/۹۹	-۰/۵۸	-۱۲/۳۰	-۲۱/۳۱	۱۸/۲۷
عرض دانه	*qGW-1*	RM283-RM8132	۱	۴/۱۳	-۰/۱۹	-۰/۰۶	-۰/۸۴	۱۷/۸۵
	qGW-8	RM1235-RM3572	۸	۳/۷۹	-۰/۱۳	۰/۰۲	۰/۱۹	۱۴/۸۱
طول دانه	*qGL-8*	RM1235-RM3572	۸	۲/۷۵	-۰/۱۸	۰/۲۸	۱/۵۵	۱۰/۰۴
	qGL-9	RM7038-RM566	۹	۴/۴۹	-۰/۰۸	۰/۱۷	۲/۱۲	۱۴/۵۹
شکل دانه	*qGS-1*	RM283-RM8132	۱	۸/۶۷	۰/۵۳	-۰/۳۸	-۰/۷۲	۱۸/۶۵
	qGS-8	RM1235-RM3572	۸	۵/۱۱	۰/۱۲	۰/۲۵	۲/۰۸	۱۲/۴۲
	qGS-9	RM7038-RM566	۹	۷/۱۸	۰/۷۲	۰/۸۶	۱/۱۹	۱۶/۱۸
	qGS-12	RM247-RM179	۱۲	۴/۳۹	۰/۸۴	۰/۳۸	۰/۴۵	۱۰/۲۴
طویل شدن دانه	*qSL-3a*	RM6929-RM7	۳	۲/۷۳	۰/۱۵	۰/۴۵	۳/۰	۸/۶
	qSL-3b	RM6832-RM5626	۳	۶/۹۴	۰/۱۳	۰/۵۲	۳/۳۹	۱۲/۳۹
	qSL-8	RM1235-RM3572	۸	۱۱/۱۱	-۰/۱۷	-۰/۱۴	-۰/۸۲	۱۹/۵۲
عریض شدن دانه	*qSW-6*	RM3330-E32-M39-11	۶	۲/۵۲	۰/۱۹	-۰/۹۵	-۴/۹۵	۴/۲۴
	qSW-8a	RM3572-RM404	۸	۵/۱۲	-۰/۷۴	-۰/۵۹	-۰/۸۰	۷/۶۲
	qSW-8b	RM8264-E32-M60-4	۸	۸/۶۴	-۱/۱۶	-۱/۲۸	-۱/۰۸	۱۲/۴۱
بازده تبدیل	*qBT-2*	RM279-RM424	۲	۴/۸۷	۲/۱۵	-۱/۹۳	-۰/۸۹	۱۶/۶۱
	qBT-4	RM252-RM5473	۴	۳/۶۰	۰/۱۳	۲/۷۳	۲۰/۹۲	۱۴/۶۶
	qBT-5	E35-M93-1-E32-M39-7	۴	۲/۹۰	۴/۵۱	-۱/۶۴	-۰/۳۷	۱۰/۷۰

از میان QTLهای شناسایی شده، *qSL-8* QTL در فاصله بین نشانگرهای RM1235-RM3572 روی کروموزوم ۸ با LOD معادل ۱۱/۱۱، مقدار قابل توجهی از تنوع فنوتیپی صفت فوق را توجیه کرده و به‌عنوان مهم‌ترین QTL طویل شدن دانه بود. اثر افزایشی در این QTL منفی بوده و در آن آل‌های والد غریب به میزان ۰/۱۷ میلی‌متر موجب طویل شدن دانه پس از پخت شد. اثر غالبیت این QTL نیز منفی و به سمت کاهش طویل شدن دانه و عملکرد ژن در آن از نوع غالبیت ناقص و در جهت کاهش این صفت عمل نمود.

برای صفت عریض شدن دانه پس از پخت تعداد سه QTL مکان‌یابی شد که روی کروموزوم‌های ۶ و ۸ (دو QTL) قرار داشتند (جدول ۴). اثر افزایشی QTLهای شناسایی شده از ۱/۱۶- تا ۰/۱۹ میلی‌متر متغیر بوده و به غیر از *qSW-6* که در آن اثر افزایشی مثبت و آل‌های والد سپیدرود باعث افزایش عریض شدن دانه پس از پخت شدند، در دو QTL دیگر اثر افزایشی منفی و در آنها آل‌های والد غریب باعث افزایش عریض شدن دانه شدند. اثر غالبیت ژن‌ها نیز در هر سه QTL فوق منفی و به سمت کاهش عریض شدن دانه بود. برآورد عمل ژن‌ها نیز نشان داد که به‌غیر از *qSW-8a* که در آن غالبیت ناقص به سمت کاهش عریض شدن دانه بود، در دو QTL دیگر عمل فوق غالبیت به سمت کاهش عریض شدن دانه وجود داشت. تیان و همکاران (۲۴) برای طویل شدن دانه پخته

www.SID.ir

Archive of SID

شده، دو QTL کوچک اثر (*qCRE-2* و *qCRE-6*) با میزان توجیه تغییرات فنوتیپی ۹/۲ و ۱۱/۷ درصد شناسایی کردند. همچنین برای عریض شدن دانه پخته شده، دو QTL (*qVE-6* و *qVE-11*) با میزان توجیه تغییرات فنوتیپی ۳۰/۰ و ۱۰/۸ درصد مکان‌یابی نمودند که QTL با اثر بزرگ‌تر در حد فاصل نشانگرهای RM190-RM170 روی کروموزوم ۶ ردیابی شد.

سه QTL کنترل‌کننده صفت بازده تبدیل روی کروموزوم‌های ۲، ۴ و ۵ قرار داشتند (جدول ۴). QTL *qBT-2* (واقع در فاصله RM279-RM424) روی کروموزوم ۲ با LOD معادل ۴/۸۷ بیشترین اثر را بر بازده تبدیل داشته و به تنهایی نزدیک به ۱۷ درصد از تنوع فنوتیپی صفت مزبور را توجیه نمود. پس از آن QTLهای *qBT-4* و *qBT-5* به ترتیب در فاصله RM252-RM5473 و E35-M93-1-E32-M39-7 روی کروموزوم‌های ۴ و ۵، نزدیک به ۱۵ و ۱۱ درصد از واریانس صفت را کنترل کردند و به‌عنوان QTLهای موثر بر بازده تبدیل بودند.

اثر افزایشی QTLهای شناسایی شده از ۴/۵۱- تا ۲/۱۵ متغیر بود و به‌غیر ازQTL *qBT-2* که در آن اثر افزایشی مثبت و آلل‌های والد سپیدرود بازده تبدیل را افزایش دادند، در دو QTL دیگر آلل‌های والد غریب باعث افزایش بازده تبدیل شدند. آثار غالبیت QTLها نیز در QTL *qBT-4* در جهت افزایش صفت و در دو QTL دیگر غالبیت منفی و به سمت کاهش بازده تبدیل بود. برآورد درجه غالبیت نیز نشان داد که عمل ژن‌ها در QTL *qBT-4* به‌صورت فوق غالبیت در جهت افزایش این صفت و دو QTL qBT-2 و qBT-5 به‌صورت غالبیت ناقص در جهت کاهش بازده تبدیل بود.

به‌طور کلی نتایج حاصل از ایـن پژوهش نشان داد کـه برای بسیاری از صفات مورد مطالعه حداقل یک QTL با اثر نسبتاً بزرگ و چند QTL با اثرات کوچک‌تر شناسایی شدند. اگرچه انجام مطالعات بیشتر و استفاده از جمعیت‌های دیگر برای به‌دست آوردن نتایج دقیق‌تر ضروری است، اما با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان از یش این صفت و دو QTL *qBT-2* و *qBT-5* به‌صورت غالبیت ناقص در جهت کاهش بازده تبدیل بود. نشانگرهای پیوسته با QTLهای بزرگ‌اثر کنترل‌کننده صفات مورد نظر در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر (MAS) استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر با حمایت مالی مؤسسه بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور (ABRINI) انجام شده است. بدین‌وسیله از کلیه همکاران و مدیریت محترم مؤسسه بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور و همکاران محترم آزمایشگاه‌های مرکزی و ژنومیکس و مزرعه پژوهشی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان جهت اجرای طرح پژوهشی فوق تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Bassam, B.J., G.C. Anollés and P.M. Gresshoff. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Analytical Biochemistry, 196: 80-83.
2. Basten, C.J., B.S. Weir and Z.B. Zeng. 2001. QTL Cartographer: A reference manual and tutorial for QTL mapping. North Carolina State University. USA. 163 pp.
3. Cagampang, G.B., C.M. Perez and B.O. Juliano. 1973. A gel consistency test for eating quality in rice. Journal of the Science of Food and Agriculture, 24: 1589-1594.
4. Collard, B.C.Y., C.M. Vera Cruz, K.L. McNally, P.S. Virk and D.J. Mackill. 2008. Rice molecular breeding laboratories in the genomics era: Current status and future considerations. International Journal of Plant Genomics. Article ID: 524847. 25 pp.
5. Fotoukian, M.H., B. Ghareyazi and A.R. Talei. 2005. Investigation of microsatellite markers associated with grain quality in rice. Journal of Sustainable Agriculture, 15: 129-140.
6. He, P., S.G. Li, Q. Qian, Y.Q. Ma, J.Z. Li, W.M. Wang, Y. Chen and L.H. Zhu. 1999. Genetic analysis of rice grain quality. Theoretical and Applied Genetics, 98: 502-508.
7. Jena, K.K. and D.J. Mackill. 2008. Molecular markers and their use in marker assisted selection in rice. Crop Science, 48: 1266-1276.
8. Juliano, B.O. 1979. Amylase analysis in rice: A review. In: Proceedings of the Workshop on Chemical Aspects of Rice Grain Quality. International Rice Research Institute, Manila, Philippines, 251-260 pp.
9. Juliano, B.O. and C.P. Villareal. 1993. Grain quality evaluation of world rices. International Rice Research Institute, Manila, Philippines, 205 pp.
10. Khush, G.S., D.S. Brat, P.S. Virka, S.X. Tang, S.S. Malik, G.A. Bastos, Y.T. Lee, R. McNally, L.N. Trinh. Y. Jiang and M.A.M. Shata. 2003. Classifying rice germplasm by isozyme polymorphism and origin of cultivated rice. Discussion paper series No 46. Los Banos (Philippines). International Rice Research Institute. 279 pp.
11. Kosambi, D.D. 1994. The estimation of map distance from recombination values. Annals of Eugenics 12: 172-175.

www.SID.ir

Archive of SID

12. Lanceras, J.C., Z.L. Huang, O. Naivikul, A. Vavavichit, V. Ruanjaichon and S. Tragoonrung. 2000. Mapping of genes for cooking and eating quality in Thai Jasmine rice (KDML105). DNA Res. 7: 93-101.
13. Manly, K.F. and J.M. Olson. 1999. Overview of QTL mapping software an introduction to map manager QT. Mammalian genome. 10: 327-334.
14. Perez, C.M. and B.O. Juliano. 1978. Modification of the simplified amylase test for milled rice. Starke. 30: 424-426.
15. Rabiei, B. 2003. QTL analysis of grain characteristics in the Iranian rice cultivars. Ph.D. Dissertation. Tabriz University. 147 pp.
16. Rabiei, B. and B. Ghareyazi. 2005. Linkage map construction of SSR markers and QTL mapping of days to maturity in an F_2 rice population. Proceeding of the 4th National Conference of Biotechnology, 15-17 August, 2005, Mahan, Kerman.
17. Rabiei, B. and H. Sabouri. 2008. Mapping genes controlling quantitative traits. University of Guilan Press. 193 pp.

www.SID.ir

Archive of SID

Identification of QTLs Controlling Cooking and Milling Quality Traits in an $F_{2:4}$ Population of Rice (*Oryza sativa* L.)

Mojtaba Kordrostami[1], Babak Rabiei [2], Atefeh Sabouri[3] and Hossein Sabouri[4]

1 and 3- Ph.D. Student and Assistant Professor, University of Guilan
2- Professor, University of Guilan (Corresponding author: rabiei@guilan.ac.ir)
4- Associate Professor, Gonbad Kavous University
Received: January 21, 2013 Accepted: August 21, 2013

Abstract

In Present research, 196 $F_{2:4}$ families from the cross between two Iranian local and improved rice varieties, Sepidrood and Gharib, were used to identify QTLs controlling cooking and milling quality traits. The polymorphism between parents was evaluated by 550 SSR markers and 10 primer combinations of the AFLP markers and linkage map was constructed by 216 polymorphic markers (105 SSRs and 111 AFLPs). The map covered 1861.3 cM of the rice genome with an average distance of 8.95 cM between markers. QTL analysis by composite interval mapping identified 28 QTLs for the studied traits, which some QTLs controlled more than one trait. Furthermore, one major QTL explaining high percentage of the phenotypic variance together with one or several minor QTLs were identified for each studied traits. The major QTLs controlling the studied traits and their linked markers can be considered as selectable markers for marker assisted selection (MAS) programs.

Keywords: AFLP, Cooking and milling quality traits, Linkage map, QTL, Rice, SSR

www.SID.ir