

مکان‌یابی ژنتیکی خصوصیات مادگی، پرچم و پوشینه مرتبط با سیستم آمیزشی در برنج

حسین صبوری^{۱*}، عاطفه صبوری^۲ و مهناز کاتوزی^۳

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

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

۳، کارشناس ارشد زراعت و دانشجوی کارشناسی‌ارشد اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۳/۴)

Genetic Mapping of Pistil, Stamen and Glume Traits Associated with Mating System in Rice

H. SABOURI^{1*}, A. SABOURI² AND M. KATOZUZI

1, Assistant Professor, Department of Plant Production, College of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad, Golestan, Iran; 2, Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran; 3, M. Sc. in Agronomy and Plant Breeding Student, Gorgan University of Agriculture Science and Natural Resource, Gorgan, Iran.

(Received: December 23, 2012 - Accepted: May 25, 2013)

Abstract

Due to the importance of mating system in plant fertilization ability, and in order to understand the genetic basis of floral traits associated with mating system in rice including pistil, stamen and glume, these traits were analyzed using a $F_{2:3}$ population derived from a cross between Iranian cultivar Gharib \times Khazar. Quantitative trait loci (QTLs) affecting floral features were detected by Composite interval mapping using a linkage map constructed by using 111 SSR markers. Rate of exerted stigma, stigma length, stigma breadth, style length, anther length, lemma length, palea length, lemma thickness, palea thickness, lemma width and palea width were recorded. As many as 38 QTLs were detected to be associated with 11 traits. A total of 10, 5 and 23 QTLs were detected for trait related to pistil, stamen and size and shape of geumele, respectively. The result obtained revealed that QTLs of qSYL-1, qSYL-6 and qSTL-2a were able to explain 25.99, 30.67 and 24.61% of the total variation of style length and stigma length and distinguished as major effect QTLs. Through the identification of these QTLs, plant breeders would be able to gain more and deeper understanding and insights into the genetic basis of the traits associated with the combining ability in rice cultivars.

Keywords: Combining ability, Linkage map, Floral traits, QTL mapping, Rice.

چکیده

به دلیل اهمیت سیستم آمیزشی در توانایی باروری گیاه به منظور فهم اساس ژنتیکی صفات مرتبط با سیستم آمیزشی در برنج، خصوصیات مادگی، پرچم و پوشینه با استفاده از جمعیت $F_{2:3}$ حاصل از تلاقی ارقام ایرانی غریب \times خزر مورد تجزیه قرار گرفت. مکان‌های ژنی کنترل‌کننده (QTLs) خصوصیات گل با استفاده از مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب ردیابی شدند و نقشه پیوستگی متشکل از ۱۱۱ نشانگر ریزماهواره تشکیل شد. صفات درجه خروج کلاله، طول کلاله، عرض کلاله، طول خامه، طول بساک، طول لما، طول پالنا، ضخامت لما، ضخامت پالنا، عرض لما و عرض پالنا بررسی شدند. تعداد ۱۰، ۵ و ۲۳ QTL به ترتیب برای صفات مرتبط با مادگی، پرچم و اندازه و شکل پوشینه شناسایی شد. نتایج نشان داد که QTLهای qSYL-1، qSYL-6 و qSTL-2a به ترتیب ۲۵/۹۹، ۳۰/۶۷ و ۲۴/۶۱ درصد از تنوع فنوتیپی صفات طول خامه و طول کلاله را تبیین نمودند و به عنوان QTL بزرگ‌اثر تشخیص داده شدند. با شناسایی این QTLها، به‌نژادگران قادر خواهند بود درک بهتری از ماهیت ژنتیکی صفات مرتبط با قدرت ترکیب‌پذیری ارقام برنج داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: برنج، صفات گل، قدرت ترکیب‌پذیری، مکان‌یابی،

نقشه پیوستگی

مقدمه

QTL برای طول بساک با استفاده از یک جمعیت F_2 حاصل از تلاقی بین رقم اهلی برنج *Oryza sativa* به نام Nate و رقم وحشی *O. rufipagun* به نام P16 شناسایی نمودند. Cai and Morishima (2002) با استفاده از جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی بین رقم اهلی برنج *Oryza sativa* به نام Pei-kuh و رقم وحشی *O. rufipagun* به نام W1944 برای طول بساک گزارش نمودند. Uga *et al.* (2003) با استفاده از یک جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی بین رقم آسیایی Pei-kuh و رقم وحشی W1944، ۷، ۴ و ۱۴ QTL برای صفات مرتبط با طول اندام مادگی، پرچم، اندازه و شکل پوشینک ردیابی نمودند. مقایسه ۳۱ QTL ردیابی شده نشان داد که ۱۰ QTL مرتبط با ارگان‌های مختلف در ناحیه‌ای نزدیک به هم روی کروموزوم‌های ۲، ۴، ۵ و ۱۰ قرار دارند، اما اکثر QTL‌های شناسایی شده در مکان‌های مجزایی قرار داشتند. نتایج آن‌ها نشان داد که تغییرات کمی صفات مرتبط با طول اندام مادگی، پرچم و پوشینه با چندین ژن کوچک‌اثر مجزا از هم کنترل می‌شود. اگرچه پژوهش‌های گذشته اطلاعات مفیدی مبنی بر دخالت ژن‌های چندگانه در کنترل صفات مرتبط با دستگاه تولیدمثلی گیاهان در اختیار به‌نژادگران قرار می‌دهد، اما هنوز ارتباط بین ژن‌های کنترل‌کننده این ارگان‌ها به‌خوبی مشخص نشده است و به‌منظور تشخیص دقیق‌تر ژن‌های کنترل‌کننده دگرگرفته‌افشانی، فهم دقیق نحوه کنترل ژنتیکی صفات مرتبط با سیستم آمیزشی گیاه ضروری است. در این راستا و با توجه به اینکه تاکنون گزارشی از QTL‌های کنترل‌کننده این صفات در جمعیت برنج حاصل از تلاقی دو رقم ایندیکا وجود ندارد، در این تحقیق سعی شده است ساختار ژنتیکی صفات مرتبط با خصوصیات گل با استفاده از روش مکان‌یابی QTL در جمعیت غریب \times خزر به‌وسیله روش‌های مولکولی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

با توجه به مطالعات پیشین روی ارقام برنج ایرانی مشخص شده است که ارقام برنج غریب و خزر به‌ترتیب از نظر قابلیت ترکیب‌پذیری عمومی به‌ترتیب یکی از مناسب و نامناسب‌ترین ارقام در برنامه‌های به‌نژادی هستند (Sabouri *et al.*, 2010). بدین‌منظور برای مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با خصوصیات گل در جمعیت برنج ایرانی، ارقام غریب با خزر تلاقی داده شدند و جمعیت F_2 مکان‌یابی حاصل از این تلاقی، در سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۵

در برنج، مرفولوژی گل (اندام ماده^۱، اندام نر^۲ و پوشینه^۳) نقش مهمی را در فرآیند تولیدمثل جنسی آن مانند گرده‌افشانی، باروری، پرکردن دانه و سیستم آمیزشی بازی می‌کند (Oka and Morishima, 1967; Takeoka *et al.*, 1993). عموماً اغلب برنج‌های آسیایی خویش‌آمیزی نشان می‌دهند درحالی‌که اجداد وحشی آن‌ها مقداری جزئی دگرگرفته‌افشانی دارند و این موضوع اصلاح‌گران نبات را قادر می‌سازد تا شناخت بهتری از نحوه ترکیب‌پذیری ارقام داشته باشند (Oka and Morishima, 1967). از سوی دیگر دگرگرفته‌افشانی تحت تأثیر بسیاری از صفات گل مانند درجه خروج خامه، طول اندام مادگی و پرچم^۴ می‌باشد (Virmani, 1994) و تنوع ژنتیکی برای صفات مذکور بین ارقام برنج گزارش شده است. به‌طوری‌که برنج‌های اهلی مانند یک گیاه خودگرده‌افشان عموماً درجه خروج خامه کمتر و طول اندام مادگی و پرچم کوتاه‌تری از ارقام وحشی دارند (Virmani and Athwal, 1973). محققین معتقدند که این صفات نقش مهمی را در فرآیند اهلی‌شدن برنج‌های وحشی بازی می‌کنند و درک مکانیزم ژنتیکی مرفولوژی گل به فهم تغییر و تکامل از دگرگرفته‌افشانی به خودگرده‌افشانی کمک شایانی خواهد نمود (Oka and Morishima, 1967). نشان داده شده است که توارث این صفات کمی است (Virmani and Athwal, 1974) و کمی‌بودن این صفات استفاده از روش‌های اصلاح نباتات مولکولی را در تجزیه ژنتیکی این صفات اجتناب‌ناپذیر نموده است. پیشرفت‌های اخیر در تکنولوژی نشانگرهای DNA، بررسی ژنتیکی صفات پیچیده از جمله صفات کمی مرتبط با گل در گیاهان مختلف را تسهیل نموده است. QTL‌های^۵ مرتبط با مرفولوژی گل در گیاهان باغی مانند گل میمون^۶ (Bradshaw *et al.*, 1995; Bradshaw *et al.*, 1998) آراییدوسیس‌تالیانا^۷ (Juenger *et al.*, 2000) گوجه‌فرنگی (Branacchi and Tanksly, 1997; Georgiady *et al.*, 2002) و (Xiong *et al.*, 1999) Uga *et al.* (2003)، Li *et al.* (2001, 2003) و Cai and Morishima (2002) در برنج شناسایی شده است. Xiong *et al.* (1999) ۷

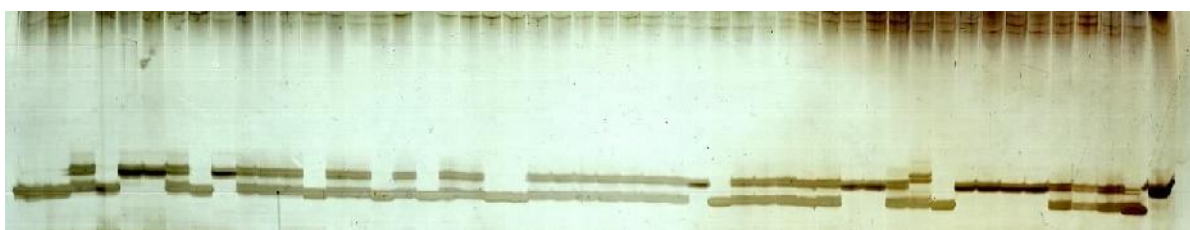
1. Pistil
2. Stamin
3. Glume
4. Anther
5. Quantitative Trait Loci
6. *Arabidopsis thaliana*
7. *Antirrhinum majus*

1944) استفاده گردید. به منظور اندازه‌گیری‌های فنوتیپی بر روی خانواده‌های F_۳ در بهار ۱۳۸۷، پس از اینکه نمونه‌های بذر به منظور شکسته‌شدن خواب، به مدت ۳ روز در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، بذرپاشی و مراحل آماده‌سازی نشاها در خزانه انجام شد. برای تولید هر خانواده F_۳، تعداد ۲۰ تک نشاء از هر خانواده در یک ردیف در مزرعه تحقیقاتی مجتمع آموزش عالی گنبد کشت شدند. صفات درجه خروج کلاله (RES)^۲، طول کلاله (STL)^۳، عرض کلاله (STB)^۴، طول پالنا (STB)^۴، طول خامه (SYL)^۵، طول بساک (AL)^۶، طول لما (LL)^۷، طول پالنا (PL)^۸، ضخامت لما (LT)^۹، ضخامت پالنا (PT)^{۱۰}، عرض لما (LW)^{۱۱} و عرض پالنا (PW)^{۱۲} با استفاده از بینوکولار^{۱۳} ثبت شد (شکل‌های ۲ و ۳).

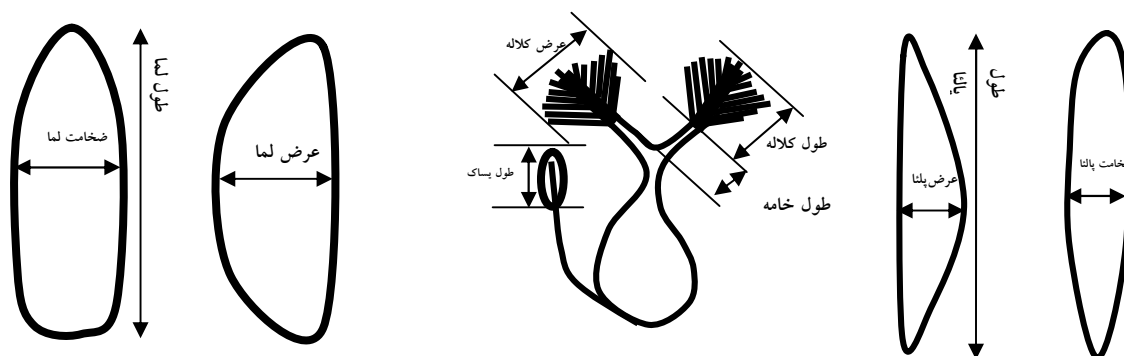
2. Rate of Exerted Stigma
3. Stigma Length
4. Stigma Breadth
5. Style Length
6. Anther Length
7. Lemma Length
8. Palea Length
9. Lemma Thickness
10. Palea Thickness
11. Lemma Width
12. Palea Width
13. Binocular

در مؤسسه تحقیقات برنج کشور تهیه شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در ابتدا تنها برای نمونه‌های DNA والدینی (غریب و خزر) با استفاده از ۳۶۵ جفت آغازگر ریزماهوره انجام شد. هدف از انجام این آزمایش تشخیص چندشکلی آغازگرهای موجود برای دو والد بود. فرآورده‌های PCR کلیه آغازگرها برای دو نمونه DNA والدینی (غریب و خزر) بر روی ژل پلی‌آکریلامید واسرشته‌ساز ۶ درصد الکتروفورز شدند. از بین ۳۶۵ جفت آغازگر مطالعه‌شده، ۱۱۱ جفت آغازگر برای جمعیت غریب و خزر توانستند الگوی نواریندی متفاوتی برای دو والد در جریان الکتروفورز نشان دهند و سایر آغازگرها تفاوتی بین والدین نشان ندادند. در مرحله بعد، نمونه‌های DNA کلیه افراد F_۳ با استفاده از ۱۱۱ جفت آغازگر چندشکل تکثیر شدند و فرآورده‌های حاصل به منظور تعیین ژنوتیپ افراد الکتروفورز شدند (شکل ۱). کلیه کارهای مولکولی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی مؤسسه تحقیقات برنج کشور در سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ انجام شد. پس از تعیین ژنوتیپ افراد F_۳، نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهوره با استفاده از نرم‌افزار Map Manager QTX17 (Manly and Olson, 1999) تهیه شد. برای تبدیل نسبت‌های نوترکیبی بین نشانگرها به واحد نقشه (سانتی‌مورگان) از تابع تهیه نقشه کوزامبی (Kosambi, 1983) استفاده شد.

1. Polymerase Chain Reaction



شکل ۱- الگوی نوار الکتروفورزی افراد جمعیت F_۳ حاصل از تلاقی ارقام غریب در خزر از لحاظ نشانگر RM5195



شکل ۲- تصویر شماتیک از صفات اندازه‌گیری شده

کوواریت^۲ از اثر QTL اصلی جدا شده و در نتیجه اشتباه آزمایشی کاهش یافته و مکان‌یابی QTLها با دقت بیشتری انجام می‌شود.

با استفاده از این روش ۳۸ فاصله واجد QTL شناسایی شد که کنترل ۱۱ صفت را بر عهده داشتند. از این تعداد ۲ QTL درجه خروج کلاله، ۳ QTL طول کلاله، ۲ QTL عرض کلاله، ۳ QTL طول خامه، ۵ QTL طول بساک، ۳ QTL طول لما، ۶ QTL طول پالئا، ۱ QTL ضخامت لما، ۷ QTL ضخامت پالئا، ۲ QTL عرض لما و ۴ QTL عرض پالئا را کنترل کردند. جایگاه QTLهای مشاهده‌شده روی کروموزوم‌های برنج در شکل ۵ و خصوصیات QTLهای شناسایی‌شده در جدول ۱ نشان داده شده است. QTLهای شناسایی‌شده برای درجه خروج کلاله، بر روی کروموزوم‌های ۱ و ۳ قرار داشتند که در هر دو آل‌های غریب باعث افزایش درجه خروج کلاله شد. این QTLها مجموعاً ۸/۸۲ درصد از تغییرات فنوتیپی درجه خروج کلاله را توجیه نمودند که تقریباً ۸ درصد از آن به qRES-3 مربوط می‌شد. QTLهای شناسایی‌شده برای طول کلاله بر روی کروموزوم ۲ (سه مورد) و ۸ قرار داشتند که در QTLهای واقع در کروموزوم ۲ آل‌های غریب باعث افزایش طول کلاله شدند و توانستند درصد قابل توجهی از تنوع فنوتیپی مربوط به طول کلاله را توجیه نمودند به نحوی که qSTL-2a با ارزش LOD برابر با ۸/۲۸ توانست به تنهایی ۲۴/۶۱ درصد از تنوع فنوتیپی موجود در صفت را توجیه نماید. در این QTL اثر غالبیت نیز همانند اثر افزایشی باعث افزایش طول کلاله شد. در کنار این QTL، qSTL-2b درصد ناچیزی از این صفت را تبیین نمود اما QTL واقع در کروموزوم ۸ توانست در توجیه ۸/۵۲ درصد از این صفت نقش داشته باشد که آل‌های والد خزر در این مکان در جهت کاهش طول کلاله عمل نمود اما اثر غالبیت در جهت افزایش این صفت بود. برای عرض کلاله ۲ QTL بر روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ شناسایی شد که در مجموع کمتر از ۵ درصد تغییرات این صفت را توجیه کردند. در بین این ۲ QTL، در qSTB-6، علاوه بر اینکه والد غریب باعث افزایش عرض کلاله شد، اثر غالبیت نیز در همین راستا عمل نمود. ۲ QTL بزرگ‌اثر برای طول خامه روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ شناسایی شد که به ترتیب ۲۵/۹۹ و ۳۰/۶۷ درصد از تغییرات این صفت را توجیه کردند و تنها اثر غالبیت برای qSYL-1 در جهت افزایش این صفت بود و سایر اثرها در



شکل ۳- ثبت داده‌ها زیر بینوکولار

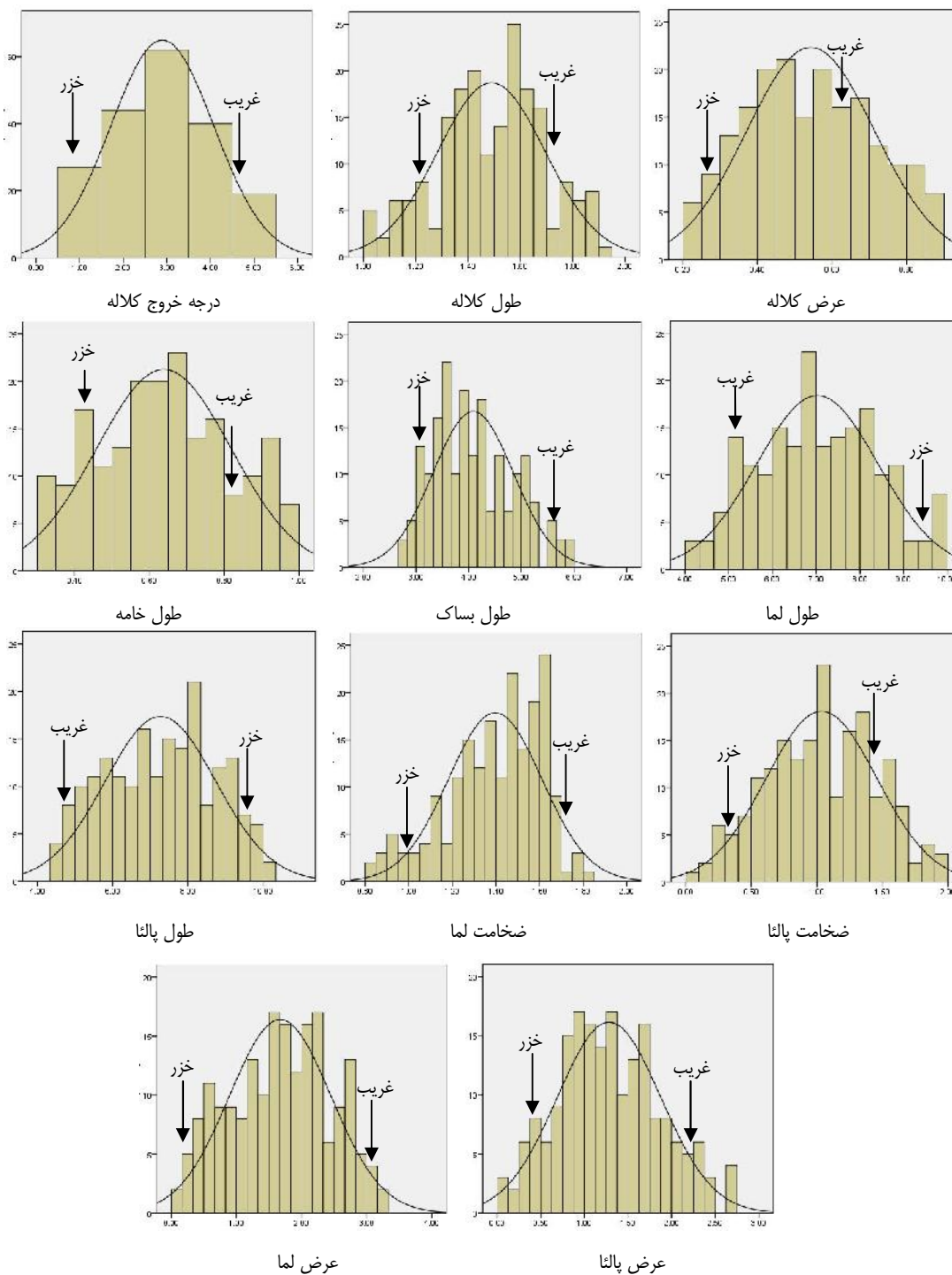
برآورد پارامترها و مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM)^۱ (Lander and Botstein, 1989) با استفاده از الگوریتم EM و نرم‌افزار QTL Cartographer 2.5 (Basten et al., 2001) انجام شد و نقاط واجد مقادیر LOD بالاتر از حد آستانه که در نقطه اوج منحنی درست‌نمایی قرار داشتند به‌عنوان QTL شناسایی و جایگاه دقیق آن‌ها نسبت به نشانگرهای طرفین QTL تعیین شدند.

نتایج و بحث

توزیع فنوتیپی کلیه صفات مرتبط با گل در خانواده‌های F_3 جمعیت غریب \times خزر به‌صورت پیوسته و نرمال بود که وجود وراثت کمی برای صفات مورد بررسی را تأیید می‌کند (شکل ۴). همچنین ارزیابی فنوتیپی صفات نشان داد، تعدادی از نتایج F_3 ، ارزش‌های فنوتیپی خارج از محدوده والدینی دارند. به‌عبارت دیگر ارزش مشاهده‌شده صفت در آن‌ها بیشتر از والد دارای حداکثر مقدار صفت و کمتر از والد دارای حداقل مقدار صفت بود که می‌تواند مبین وقوع پدیده تفکیک متجاوز در نتایج باشد. نظر به اینکه وجود بیش از یک QTL در فواصل نزدیک به هم روی یک کروموزوم، باعث می‌شود QTL موردنظر در فاصله مورد آزمون تحت تأثیر QTLهای دیگر قرار گیرد، از مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب به‌عنوان روش مرسوم‌تر و معتبرتر برای شناسایی QTLهای صفات مرتبط با خصوصیات گل در جمعیت غریب \times خزر استفاده شد. در این روش یک آزمون فاصله‌ای برای ردیابی QTL در یک فاصله انجام می‌شود و اثر سایر QTLها به‌عنوان متغیرهای

بیشتری بر طول بساک داشتند و به ترتیب ۱۳/۲۱ و ۱۲/۲۲ درصد از تنوع فنوتیپی موجود را توجیه نمودند. اثر افزایشی هر QTL منفرد از ۰/۲۳ تا ۰/۳۶ متغیر بود و در QTL‌های شناسایی شده qAL-1، qAL-3a، و qAL-4 آل‌های غریب به‌طور متوسط ۲/۸ میلی‌متر طول بساک را افزایش دادند.

این QTL ۲ در جهت کاهش آن بود. همچنین QTL واقع در کروموزوم ۹ به تنهایی تقریباً ۱۱ درصد از تغییرات فنوتیپی طول خامه را تبیین نمود. QTL ۵ کنترل‌کننده طول بساک بر روی کروموزوم‌های ۱، ۳ (سه مورد) و ۴ قرار داشتند. QTL‌های qAL-1 و qAL-4 به‌ترتیب با ارزش LOD برابر با ۴/۶۳ و ۲/۹۸ اثر نسبتاً



شکل ۴- توزیع فنوتیپی صفات مرتبط با سیستم آمیزشی در جمعیت برنج غریب × خزر

جدول ۱- QTL‌های شناسایی شده برای خصوصیات مادگی، پرچم و گلوم در جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی غریب × خزر

جهت اثر	درصد توجیه	اثر غالبیت	اثر افزایشی	LOD	نشانه‌های مجاور	Chr	QTL	صفات
غریب	1.00	0.57	0.15	2.77	RM6141- RM220	1	<i>qRES-1</i>	درجه خروج کلاله
غریب	7.82	-0.49	0.41	2.64	RM6080- RM6832	3	<i>qRES-3</i>	
غریب	24.61	0.16	0.04	8.28	RM5699- RM1358	2	<i>qSTL-2a</i>	طول کلاله
غریب	1.46	-0.17	0.03	3.25	RM6733- RM5916	2	<i>qSTL-2b</i>	
خزر	8.52	0.06	-0.09	2.54	RM8264- RM5720	8	<i>qSTL-8</i>	
خزر	0.59	0.14	-0.02	2.92	RM5310- RM6141	1	<i>qSTB-1</i>	عرض کلاله
غریب	4.06	0.06	0.05	4.35	RM3827- RM7434	6	<i>qSTB-6</i>	
خزر	25.11	0.19	-0.03	7.15	RM3475- RM8097	1	<i>qSYL-1</i>	طول خامه
خزر	30.67	-0.17	-0.01	8.32	RM7243- RM5814	6	<i>qSYL-6</i>	
خزر	10.91	0.08	-0.08	3.53	RM4405- RM3909	9	<i>qSYL-9</i>	
غریب	13.21	-0.23	0.37	4.63	RM431- RM3520	1	<i>qAL-1</i>	طول بساک
غریب	1.29	-0.53	0.11	3.82	RM6080- RM1940	3	<i>qAL-3a</i>	
خزر	0.02	-0.31	-0.02	3.32	RM6080- RM6832	3	<i>qAL-3b</i>	
خزر	6.22	-0.21	-0.23	3.46	RM135- RM7000	3	<i>qAL-3c</i>	
غریب	12.22	-0.18	0.36	2.98	RM6589- RM5473	4	<i>qAL-4</i>	
غریب	10.73	1.15	-0.60	5.35	RM262- RM6843	2	<i>qLL-2</i>	طول لما
غریب	2.64	-0.41	-0.28	3.10	RM7000- RM7389	3	<i>qLL-3</i>	
غریب	1.02	0.01	-0.20	2.68	RM1359- RM6589	4	<i>qLL-4</i>	
خزر	2.32	0.56	0.36	4.30	RM466- RM5638	1	<i>qPL-1</i>	طول پالنا
خزر	3.98	-0.69	0.38	2.61	RM3865- RM5862	2	<i>qPL-2a</i>	
غریب	6.96	1.86	-0.56	2.66	RM5699- RM1358	2	<i>qPL-2b</i>	
غریب	8.93	1.11	-0.61	3.08	RM1358- RM324	2	<i>qPL-2c</i>	
غریب	0.14	-1.78	-0.06	2.68	RM420- RM125	7	<i>qPL-7</i>	
خزر	10.92	-1.55	0.78	4.03	RM447- RM5720	8	<i>qPL-8</i>	
خزر	0.30	-0.14	-0.02	3.07	RM1022- RM6080	3	<i>qLT-3</i>	ضخامت لما
غریب	6.85	-0.06	0.14	2.73	RM3148- RM8115	1	<i>qPT-1a</i>	ضخامت پالنا
خزر	7.86	0.39	-0.16	4.21	RM3520- RM5310	1	<i>qPT-1b</i>	
خزر	0.03	-0.22	-0.01	3.06	RM3294- RM5862	2	<i>qPT-2</i>	
خزر	0.98	-0.27	-0.05	4.16	RM135- RM7000	3	<i>qPT-3</i>	
غریب	13.55	-0.19	0.20	3.11	RM70- RM125	7	<i>qPT-7a</i>	
غریب	13.68	-0.06	0.23	4.72	RM125- RM7546	7	<i>qPT-7b</i>	
غریب	7.20	-0.27	0.17	2.56	RM277- RM276	12	<i>qPT-12</i>	
غریب	0.43	0.91	0.07	4.20	RM5501- RM8231	1	<i>qLW-1</i>	عرض لما
غریب	9.27	-0.70	0.31	3.64	RM5140- RM480	5	<i>qLW-5</i>	
غریب	7.74	-0.08	0.21	3.32	RM3148- RM8115	1	<i>qPW-1</i>	عرض پالنا
خزر	15.17	0.16	-0.31	4.07	RM1022- RM6080	3	<i>qPW-3</i>	
خزر	7.03	-0.03	-0.25	3.06	RM320- RM11	7	<i>qPW-7</i>	

a: QTL‌ها با مخفف نام صفت و شماره کروموزوم نامگذاری شدند. b: اثر افزایشی، c: درصدی از کل تغییرات فنوتیپی صفت که توسط QTL توجیه می‌گردد. d: جهت اثرات فنوتیپی ANB و SPD به ترتیب نشان دهنده عنبربو و سپیدرود می‌باشند.

صفت را توجیه نمود و اثر غالبیت در آن در جهت افزایش طول لما بود، نسبت به ۲ QTL دیگر از ارزش بالاتری برخوردار بود. ۶ QTL کنترل‌کننده طول پالنا بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲ (۳ QTL)، ۷ و ۸ قرار داشتند و اثر

QTL‌های شناسایی شده برای طول لما بر روی کروموزوم‌های ۲، ۳ و ۴ قرار داشتند و در هر ۳ QTL آل‌های غریب باعث کاهش طول لما شدند. در بین این ۳ QTL، *qLL-2* که تقریباً ۱۱ درصد از تغییرات فنوتیپی

برنج داشته باشد. بررسی بیشتر و اشباع بیشتر نقشه در این کروموزوم‌ها می‌تواند اطلاعات بیشتری در ارتباط با کنترل ژنتیکی و QTL‌های کنترل‌کننده این صفات به دست دهد. از سوی دیگر مقاربت QTL‌های شناسایی شده برای صفات مختلف روی این کروموزوم‌ها می‌تواند دلیل دیگری بر اهمیت این کروموزوم‌ها باشد. بررسی نتایج سایر محققین که از زمینه‌های ژنتیکی دیگری به منظور مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با سیستم آمیزشی گیاه استفاده نمودند حاکی از وجود تفاوت‌ها و شباهت‌هایی در نواحی مؤثر در کنترل این صفات بود. Li *et al.*, (2001) با استفاده از جمعیت تلاقی برگشتی مشتق از تلاقی بین یک رقم اهلی برنج *Oryza sativa* و رقم وحشی *O. rufipagun* به نام Guichao 2، ۴ QTL شناسایی نمودند که ۲ QTL مربوط به طول بساک روی کروموزوم ۲ و ۹ به ترتیب در حدفاصل نشانگرهای C424-G39، C2807-C1263 و ۲ QTL مربوط به نسبت خروج کلاله روی کروموزوم‌های ۵ و ۸ به ترتیب در حدفاصل نشانگرهای C2289-R1553 و G1149-R1963 بود. در تحقیق مشابه دیگری توسط Li *et al.*, (2003) که به کمک هاپلوئیدهای مضاعف شده حاصل از تلاقی ارقام 8 Zaiyeqing و Jingxi انجام گرفت، ۲ QTL برای درصد خروج کلاله روی کروموزوم‌های ۲ و ۳ در حد فاصل نشانگرهای G1327-G365 و G249-G164 شناسایی شد که مطابق گزارش آن‌ها این QTL‌ها نقطه مشترکی با QTL‌های شناسایی شده برای تعداد خوشچه در همان جمعیت نداشتند. البته با توجه به نشانگرهای احاطه‌کننده این QTL‌ها، شباهت قابل توجهی بین این QTL‌ها از لحاظ جایگاه قرارگیری روی کروموزوم‌ها ۲ و ۳ با QTL‌های شناسایی شده در این مطالعه مشاهده نشد. Uga *et al.*, (2003) دو QTL برای طول کلاله و دو QTL برای عرض کلاله به ترتیب روی کروموزوم‌های ۴، ۶، ۴ و ۱۲ شناسایی نمودند که در زمینه ژنتیکی مورد استفاده در این مطالعه هیچ QTL‌ای برای این صفات روی این کروموزوم‌ها شناسایی نشد. استفاده از جمعیت‌های مکان‌یابی مختلف و به‌ویژه زمینه‌های ژنتیکی مختلف می‌تواند منجر به شناسایی QTL‌های مختلف در قسمت‌های مختلف ژنوم گردد. به طوری که می‌توان در برخی زمینه‌های ژنتیکی QTL‌هایی را ردیابی نمود که تاکنون شناسایی نشده باشند و یا QTL‌هایی را معرفی نمود که در زمینه‌های ژنتیکی مختلف مشترک و پایدار بوده‌اند. برای طول بساک ۴ QTL بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۵ و ۹ ردیابی کردند و همچنین برای خصوصیات ظاهری لَمّا و پالنا در مجموع ۱۱ QTL شناسایی

افزایشی آن‌ها از ۰/۰۶- تا ۰/۷۸ متغیر بود. از بین این QTL‌ها، qPL-8 و qPL-2c به ترتیب با تبیین ۱۰/۹۲ و ۸/۹۳ درصد از تغییرات نقش مؤثرتری در توجیه تغییرات فنوتیپی طول پالنا داشتند و در qPL-8 آلل والد خزر باعث افزایش طول پالنا شد، تنها ۱ QTL برای ضخامت لَمّا روی کروموزوم ۳ و در جهت کاهش آن به اندازه ۰/۰۲ سانتی‌متر ردیابی شد. این QTL، درصد ناچیزی از تغییرات ضخامت لَمّا را توجیه نمود. برای ضخامت پالنا، ۷ QTL شناسایی شد که بر روی کروموزوم‌های ۱ (دو مورد)، ۲، ۳، ۷ (دو مورد) و ۱۲ قرار داشتند. اثر افزایشی برای QTL‌های qPT-1a، qPT-7a، qPT-7b و qPT-12 مثبت و در جهت افزایش ضخامت پالنا توسط الل‌های والد غریب بودند.

۲ QTL واقع در کروموزوم ۷ در مجموع بیش از ۲۷ درصد از تغییرات این صفت را تبیین نمودند که در هر دو همان‌طور که اشاره شد اثر افزایشی در جهت افزایش این صفت بود. برای عرض لَمّا، ۲ QTL ردیابی شد که بر روی کروموزوم‌های ۱ و ۵ قرار داشتند. اگرچه qLW-1 درصد ناچیزی از صفت را توجیه کرد اما qLW-5 توانست بیش از ۹ درصد از تغییرات عرض لَمّا را با اثر افزایشی مثبت تبیین نماید. ۴ QTL کنترل‌کننده عرض پالنا بر روی کروموزوم‌های ۱، ۳ و ۷ (دو مورد) قرار داشتند و اثر افزایشی آن‌ها از ۰/۳۱- تا ۰/۲۱+ متغیر بود. این ۴ QTL تقریباً ۳۶ درصد از تغییرات عرض پالنا را توجیه کردند که qPW-3 توانست به تنهایی بخش قابل توجهی از این مقدار را به خود اختصاص دهد.

QTL‌های qSYL-1، qSTL-2a و qSYL-6 به ترتیب با تبیین ۲۴/۶۱، ۲۵/۹۹ و ۳۰/۶۷ درصد از تنوع فنوتیپی سهم بیشتری از تغییرات کل را نسبت به سایر QTL‌های مکان‌یابی شده توجیه نموده و به‌عنوان QTL بزرگ‌اثر تشخیص داده شدند. همچنین QTL‌های qPW-3، qPT-7a، qPT-7b، qAL-1، qAL-4، qPL-8 و qSYL-9 و qLL-2 توانستند بین ۱۰/۷۳ تا ۱۵/۱۷ درصد از تغییرات فنوتیپی صفات مرتبط با سیستم آمیزشی گل برنج را توجیه نمایند و اثر نسبتاً بزرگی در کنترل تغییرات ژنتیکی این صفات داشته باشند. سایر QTL‌های شناسایی شده کوچک‌اثر بوده و اثرات فنوتیپی قابل توجهی در کنترل ژنتیکی این صفات نداشتند. با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد کروموزوم‌های ۱، ۲ و ۳ با داشتن تعداد QTL‌های بیشتر و همچنین مهم‌تر از لحاظ توجیه تغییرات فنوتیپی صفات، در کنترل ژنتیکی صفات مرتبط با سیستم آمیزشی گیاه نقش برجسته‌تری نسبت به سایر کروموزوم‌های

این بررسی اثرات پلیوتروپی یا پیوستگی بین ژن‌های کنترل‌کننده صفات مورد بررسی را مورد تأیید قرار داد. مطابق اصول ژنتیک کمی همبستگی‌های معنی‌دار بین صفات می‌تواند به وسیله اثرات پلیوتروپی یا پیوستگی شدید بین ژن‌های کنترل‌کننده آن‌ها توصیف شود (Falconer and Mackay. 1996; Georgiady *et al.*, 2002). همبسته اغلب به وسیله QTL‌هایی کنترل می‌شوند که در نواحی مشابهی بر روی کروموزوم‌ها قرار دارند (Xiao *et al.*, 1996; Paterson *et al.*, 1988). خوشه‌های QTL می‌تواند منجر به شناسایی نواحی کلیدی در کنترل صفات پیچیده و مرتبط از لحاظ ژنتیکی گردد که انتظار می‌رود بتوان با انجام پژوهش‌های مکان‌یابی QTL با استفاده از جمعیت‌های مختلف و زمینه‌های ژنتیکی مختلف به شناسایی این نواحی دست پیدا کرد. نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش از جمله QTL‌های شناسایی‌شده در نواحی ژنومی خاص با توجیه بخش قابل توجهی از تغییرات می‌توانند پس از تأیید به ارقام برتر برنج ایرانی منتقل شوند و بدین‌وسیله در برنامه‌های انتخاب به‌کمک نشانگر ارقامی با قدرت ترکیب‌پذیری بالا تولید نمود.

به‌منظور بررسی وجود یا عدم‌وجود ارتباط فنوتیپی و ژنوتیپی صفات اندازه‌گیری شده، از برآورد همبستگی‌های فنوتیپی صفات و بررسی جایگاه شناسایی‌شده آن‌ها بر روی ۱۲ کروموزوم برنج استفاده شد. در این مطالعه همبستگی مثبت بین صفات درجه خروج کلاله، طول کلاله، عرض کلاله، طول خامه، طول بساک، ضخامت لما و ضخامت پالنا مشاهده شد. از بین QTL‌های شناسایی‌شده برای درجه خروج کلاله، ۱ QTL طول بساک را نیز کنترل نمود. همچنین از بین QTL‌های شناسایی‌شده برای طول کلاله، ۱ QTL برای طول پالنا نیز شناسایی شد و نتایج مشابهی برای طول بساک مشاهده شد، به‌طوری‌که از بین QTL‌های شناسایی‌شده برای طول بساک، ۱ QTL ضخامت پالنا را نیز کنترل نمود. ضرایب همبستگی بین مورد بررسی در جدول ۲ آمده است. از آنجا که اکثر ژنوتیپ‌های دارای درجه خروج کلاله بالا، طول کلاله، عرض کلاله، طول خامه، طول بساک، ضخامت لما و ضخامت پالنا بالاتری نیز داشتند، همبستگی‌های فوق‌منطقی به‌نظر رسید. در اکثر موارد مورد بررسی جهت همبستگی‌ها با جهت اثر QTL‌های ردیابی‌شده مطابقت داشت. نتایج به‌دست‌آمده در

جدول ۲- ماتریس همبستگی بین صفات مورد بررسی

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
۱. درجه خروج کلاله	1										
۲. طول کلاله	-0.013	1									
۳. عرض کلاله	0.111	0.041	1								
۴. طول خامه	-0.086	-0.193*	0.101	1							
۵. طول بساک	-0.009	-0.125*	-0.049	0.140*	1						
۶. طول لما	-0.260	-0.090	0.338	-0.003	0.065	1					
۷. طول پالنا	0.092	0.111	0.047	-0.128*	0.056	0.141*	1				
۸. ضخامت لما	0.009	0.280**	-0.049	0.094	0.015	-0.010	0.015	1			
۹. ضخامت پالنا	0.030	0.019	-0.256**	0.289**	0.019	-0.241**	0.259**	0.070	1		
۱۰. عرض لما	-0.029	0.254**	0.274**	-0.092	0.127*	-0.276**	0.435**	0.014	0.459**	1	
۱۱. عرض پالنا	-0.004	0.046	-0.163	0.173	-0.072	-0.059	0.288**	0.085	0.702**	0.227**	1

* و **: معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

تحقیقات برنج کشور که ما را در انجام این پژوهش یاری دادند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

سپاسگزاری

از همکاران محترم دانشگاه گنبدکاووس و مؤسسه

REFERENCES

Basten CJ, Weir BS, Zeng ZB (2001) QTL Cartographer: A Reference Manual and Tutorial for QTL Mapping. North Carolina State University Press. Rigny. NC. USA.
Branacchi D, Tanksly SD (1997) A

interspecific backcross of *Lycopersicon esculentum* × *L. hirsutum*: Linkage analysis and a QTL study of sexual compatibility factors and floral traits. Genetics. 147: 861-877.
Bradshaw JR, Wilbert SM, Otto KG,

- Schemske DW (1995) Genetic mapping of floral traits associated with reproductive isolation in monkeyflowers (*Mimulus*). *Nature*. 376: 762-765.
- Bradshaw JR, Otto KG, Frewen BE, McKay JK, Schemske DW (1998) Quantitative trait loci affecting differences in floral morphology between two species of monkey flower (*Mimulus*). *Genetics*. 149: 367-382
- Cai HW, Morishima H (2002) QTL cluster reflect character associations in wild and cultivated rice. *Theor. Appl. Genet.* 104: 1217-1228.
- Falconer DS, Mackay TFC (1996) *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman, Green, Harlow, Essex, UK.
- Georgiady MS, Whitkus RW, Lord EM (2002) Genetic analysis of traits distinguishing outcrossing and self pollinating forms of currant tomato, *Lycopersicon pimpinellifolium* (Jusl). *Mill. Genetics*. 161: 333-344.
- Juenger T, Purugganan M, MacKay TFC (2000) Quantitative trait loci floral morphology in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*. 156: 1379-1392.
- Kosambi DD (1944) The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugen.* 12: 172-175.
- Lander ES, Botstein D (1989) Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*. 121: 185-199.
- Li WH, Dong GJ, Hu XM, Teng S, Guo LB, Zheng DL, Qian Q (2003) QTL analysis for percentage of exerted stigma in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta genetica Sinica*. 30: 637-640.
- Li C, Sun CQ, Mu P, Chen L, Wang XK (2001) QTL analysis of anther length and ratio of stigma exertion, two key traits of classification for cultivated rice (*Oryza sativa* L.) and common wild rice (*O. rufipogon* Griff.). *Acta Genetica Sinica*. 28: 746-751.
- Manly KF, Olson JM (1999) Overview of QTL mapping software and introduction to map manager QTX. *Mammalian Genome*. 10: 327-334.
- Oka H, Morishima H (1967) Variations in the breeding systems of wild rice, *Oryza perennis*. *Evolution*. 21: 249-258.
- Paterson AH, Lander ES, Hewitt JD, Paterson S, Lincoln SE, Tanksley SD (1988) Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete RFLP linkage map. *Nature*. 335: 721-726.
- Sabouri H, Biabani A, Nakhzari A, Mollashhi M, Sabouri A, Katouzi M (2010) Genetic analysis of agronomic traits by diallele methods in rice. Final report of research program. Gonbad High Education Center. 40p.
- Takeoka Y, Shimizu M, Wada, T (1993) Panicles. *In: Matue T., Hoshikawa, K.* (eds) *Science of the rice plant*. 1. Morphology. Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo, pp 295-338.
- Uga Y, Fukuta Y, Cai HW, Iwata H, Ohsawa R, Morishima H, Fujimura, T. (2003) Mapping QTLs influencing rice floral morphology using recombinant inbred lines derived from a cross between *Oryza sativa* L. and *Oryza rufipogon* Griff. *Theor. Appl. Genet.* 107: 218-26.
- Virmani SS (1994) *Heterosis and Hybrid rice breeding*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 79-96.
- Virmani SS, Athwal DS (1973) Genetic variability in floral characters influencing outcrossing in *Oryza sativa* L. *Crop Sci.* 13: 66-67.
- Virmani SS, Athwal DS (1974) Inheritance of floral characters influencing in rice. *Crop Sci.* 14: 350-353.
- Xiao J, Li J, Yuan L, Tanksley SD (1996) Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross. *Theor. Appl. Genet.* 92: 230-244.
- Xiong LZ, Liu KD, Dai XK, Xu CG, Zhang Q (1999) Identification of genetic factors controlling domestication-related traits of rice using an F₂ population of a cross between *Oryza sativa* and *O. rufipogon*. *Theor. Appl. Genet.* 98: 243-251.