

اثر زمینه ژنتیکی در مکان یابی QTL های مرتبط با تحمل به شوری در برنج با استفاده از نشانگرهای میکروساتلیت

محمدحسین فتوکیان<sup>۱</sup>، بابک ناخدا<sup>۲</sup>، قاسم محمدی تژاد<sup>۳</sup>، بهزاد قره‌یاضی<sup>۴</sup>، علیرضا طالعی<sup>۴</sup>

۱- دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد-تهران، نویسنده مسئول، شماره تماس: ۰۲۳۸۶۰۳-۰۹۱۲

[fatokian@shahed.ac.ir](mailto:fatokian@shahed.ac.ir)

۲- استادیار و استاد پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران-کرج

۳- دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان-کرمان

۴- استاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران-کرج

Effect of genetic background on QTL mapping of salinity in Rice by SSR Markers

M. Fotokian<sup>1</sup>, B. Nakhoda<sup>2</sup>, G. Mohammadjad<sup>3</sup>, B. Ghasreyazie<sup>4</sup>, A. Taleei<sup>4</sup>

1- Associate professor, Agricultural college, Shahed university, Tehran. Corresponding Author:

[fatokian@shahed.ac.ir](mailto:fatokian@shahed.ac.ir) 09124238603

2- Assistant professor and professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII)

3- Associate professor, Agricultural college, Shahid bahonar university, Kerman

4- Professor, Agricultural college, Tehran University, Karaj.

## اثر زمینه ژنتیکی در مکان یابی QTL های مرتبط با تحمل به شوری در برنج با استفاده از نشانگرهای میکروساتلیت

### چکیده

به منظور مکان یابی QTL های مرتبط با تحمل به شوری و تعیین سهم هر QTL در تنوع فنوتیپی صفت مربوطه، دو جمعیت تلاقی برگشتی پیشرفته (BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) هر یک شامل ۶۲ لاین در موسسه بین المللی تحقیقات برنج بررسی شدند که در هر دو جمعیت والد پدری رقم طارم مولایی و والدین مادری وارپته های IR64 (جمعیت IR-TM) و Teqqing (جمعیت IR-TM) بودند. صفات مورد مطالعه عبارت بودند از: نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و اندام هوایی، بررسی ژنوتیپی با ۱۱۴ نشانگر چندشکل انجام گرفت. طول نقشه کروموزومی مورد استفاده در هر دو جمعیت حدود ۱۷۰۰ سانتی مورگان با متوسط فاصله ۱۵/۷ سانتی مورگان بین دو نشانگر مجاور بود. برای همه صفات تفرق فراوانده مثبت و یا منفی مشاهده گردید. در جمعیت IR64-TM برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی و ریشه به ترتیب ۲ و ۱۱ و در جمعیت IR-TM به ترتیب یک و چهار QTL مکان یابی شدند. هیچیک از QTL ها در دو جمعیت مشابه نبودند که نشان می دهد زمینه ژنتیکی در مکان یابی QTL می تواند موثر باشد.

کلمات کلیدی: تلاقی برگشتی پیشرفته، تحمل به شوری، ریزماهوره، سدیم و پتاسیم

### مقدمه

گیاه برنج در مرحله جوله زنی به شوری نسبتاً متحمل و در اوایل دوره گیاهچه ای خیلی حساس شده و مجدداً در مرحله رشد رویشی مقاوم می گردد. در مرحله گرده افشانی و لقاح نیز به شوری حساس شده و در مرحله رسیدن بطور فزاینده ای مقاومتر می گردد (۶، ۷، ۸). نسبت یون سدیم به یون پتاسیم معیار مناسبی برای ارزیابی تحمل به شوری است (۵). ترکیب تجزیه QTL با تلاقی برگشتی استراتژی نوینی است جهت کشف و انتقال ژن های با ارزش از لاین های دهنده به لاین های اصلاحی است. در این استراتژی تجزیه QTL تا نسل BC<sub>2</sub> یا BC<sub>3</sub> به تاخیر انداخته می شود و در آن گزینش منفی برای کاهش یا حذف آلل های نامناسب اعمال می گردد (۱). در برنج برای تحمل به شوری تعدادی از ژن های صفات فیزیولوژیکی مکان یابی شده اند (۳، ۵). گویاما و همکاران (۵) با استفاده از نشانگرهای ملکولی RFLP، AFLP و SSR در لاین های اینترید نو ترکیب نشان دادند که QTL های مربوط به جذب سدیم و پتاسیم و نسبت ایندو در گروه های لینکاز متفاوت قرار دارند. آنها برای نسبت سدیم به پتاسیم در کروموزوم های یک-۱ و ۱۲ توانستند QTL شناسایی کنند.

هدف از اجرای این تحقیق بررسی اثر زمینه ژنتیکی در مکان یابی QTL های تحمل به شوری در دو جمعیت BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub> حاصل از تلاقی وارپته Teqqing (TQ) و IR64 با وارپته طارم مولایی (TM) به کمک نشانگر میکروساتلیت بوده است.

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل دو جمعیت ناهای برگشتی پیترفته BCF<sub>5</sub> بود که از ناهای دو واریته زراعی برنج IR64 و Teqqing(TQ) به عنوان والد دورهای و واریته طارم مولاتی (TM) به عنوان والد دهنده بدست آمدند. گیاهچه‌ها بمدت یک هفته با محلول غذایی دارای هدایت الکتریکی ۶ دسی زیمنس بر متر بمدت دو هفته با محلول دارای هدایت الکتریکی ۱۲ تیمار گردیدند. این آزمایش در دو تکرار و در قیتوترون موسسه بین المللی تحقیقات برنج-تیلیپین اجرا گردید (۴). روش اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم ریشه و برگ با استفاده از اسید استیک و دستگاه جذب امسی به روشی که کتوکیان (۱) توضیح داده است انجام گرفت. استخراج DNA به روش نمبیر یافته CTAB (۱) انجام گرفت. مطالعه چیدشکل در والدین با استفاده از ۲۳۵ نشانگر میکروساتلیت انجام گرفت که ۱۱۴ تا از آنها چیدشکلی واضح نشان دادند و برای ارزیابی رزونایی استفاده شدند (۵، ۶، ۷). تجزیه لینکاز با نرم‌افزار Mapmaker و تجزیه QTL با نرم افزار QTL Cartographer V.2 (۲) انجام گرفت. شناسایی QTL ما با مکان‌یابی قاصلهای چیدشکل انجام گرفت.

### نتایج و بحث

#### ۱- تجزیه لینکاز و QTL در جمعیت IR64\*TM

در این جمعیت ۱۷ مکان پلی شد که در همه ۱۲ کروموزوم برنج باستانی کروموزوم ۹ حضور داشتند (جدول ۱). بزرگترین LOD در صفت نسبت سدیم به پتاسیم ریشه با مقدار ۱۴۱۸ مشاهده شد که QTL مربوطه در کروموزوم ۱۲ قرار داشت و توانست ۲۱۱۲ درصد واریانس رزونایی صفت را به خود نسبت دهد. این QTL بر صفت قیو اثر کاهشی داشت و لذا می‌تواند برای تحمل به شوری مفید باشد. یک QTL مشترک برای وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی که در کروموزوم ۵ قرار داشت از طریق نشانگر RM163 شناسایی گردید. برای سدیم و پتاسیم ریشه گرچه هیچ QTLی بدست نیامد ولی برای نسبت این دو تعداد ۱۱ QTL بدست آمد. برای پتاسیم اندام هوایی دو QTL که در کروموزوم‌های ۱ و ۸ قرار داشتند بدست آمد که اولی دارای اثر افزایشی منفی و دیگری دارای اثر افزایشی مثبت بود. نوع مثبت باعث افزایش پتاسیم در اندام هوایی می‌شود که برای اصلاح تحمل به شوری مفید است. برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی یک QTL بدست آمد که در کروموزوم ۱۱ قرار داشت و دارای اثر افزایشی منفی بوده است.

#### ۲- تجزیه لینکاز و QTL در جمعیت Teqqing\*TM

در کروموزوم ۴ از طریق قاصلهای نشانگرهای RM241-RM348 یک QTL برای نسبت سدیم به پتاسیم ریشه مکان‌یابی گردید که مقدار LOD برابر ۴ و اثر افزایشی حدود ۷- بوده است. این QTL توانست ۱۹ درصد واریانس فنوتیپی را توجیه کند. در قاصلهای نشانگرهای RM473A-RM125 در کروموزوم یک نیز برای صفت قیو QTL شناسایی شد. برای نسبت سدیم به پتاسیم ریشه یک QTL به کمک نشانگر RM149 در کروموزوم ۸ مکان‌یابی شد که دارای اثر افزایشی منفی بود.

## دومین همایش ملی تنش‌های محیطی در گیاهان

و باعث افزایش صفات فوق در نتاج گردید. شناسایی بیش از یک QTL برای نسبت سدیم به پتاسیم ریشه تشاگر کمی بودن و پلی رتی بودن صفات مرتبط با تحمل به شوری است.

لانگ و همکاران (۱) توانستند برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی در کروموزوم ۷ از طریق تشاگر RM214 یک QTL شناسایی کنند. در این تحقیق نیز ما توانستیم برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی در جمعیت IR64\*TM این QTL را با LOD=۱۷/۷ شناسایی کنیم. کویاما و همکاران (۵) توانستند با تشاگر RM261 برای نسبت سدیم به پتاسیم در کروموزوم ۴ یک QTL پیدا کنند. ما هم توانستیم در این جمعیت با این تشاگر یک QTL برای نسبت سدیم به پتاسیم ریشه شناسایی کنیم که دارای اثر افزایش منفی بود و از این رو می‌تواند برای اصلاح تحمل به شوری بویژه در هرمی کردن مورد استفاده قرار گیرد.

### نتیجه گیری نهایی

در جمعیت IR-TM برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی و ریشه به ترتیب ۲ و ۱۱ و در جمعیت TQ-TM به ترتیب ۱ و ۴ QTL مکان یابی شدند که هیچ‌یک از QTLها در دو جمعیت مشابه نبودند که نشان می‌دهد در مکان یابی QTL زمینه ژنتیکی می‌تواند موثر باشد. QTLهای شناسایی شده با اثر افزایش منفی در این تحقیق می‌تواند برای اصلاح تحمل به شوری برنج بویژه در هرمی کردن از آن‌ها مورد استفاده قرار گیرد. انتقال QTLهای موثر در این تحقیق بدون یک زمینه ژنتیکی مناسب به کمک تشاگر می‌تواند روش خوبی در اصلاح تحمل به شوری در برنج باشد.

جدول ۱- QTLهای برگ اثر برای صفات تحمل به شوری.

صفات	کروموزوم	فواصل تشاگر	LOD	$r^2$	تث
نسبت سدیم به پتاسیم در اندام هوایی (Na/S/KS)	7	RM214-RM11	12.7	24.6	-18.5
نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه (NaR/KR)	11	RM282-M229	11.5	17.4	-12
نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه	1	RM431-M14	6.2	7.3	60
نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه	2	RM71-M360	6.7	4.8	-64
نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه	3	RM16-M203	6.2	9.3	-58
نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه	4	RM261-M273	7.2	7.6	-54
نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه	5	RM289-M163	5.6	3.6	38
نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه	6	RM204-M314	7.7	1.5	-54
نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه	7	RM172-M51	6.6	25	-50



	8	RM23-M339	8.9	28	67
	10	RM274-M216	7.1	8.3	-75
	11	RM287-M229	4.1	12.7	-58
	12	RM247-M313	13.8	21.2	-69
Na/SK5	1	RM23-RM5	4	19	-7.4
Na/RKR	1	RM473Δ-RM128	4	18.4	-12
	4	RM241-RM348	3	9	7.3
	5	RM122-RM413	5	27.6	-8.7
	8	RM149-M264	3.7	16.7	-8.7

۱- دو ردیف اول مربوط به جمعیت IR6+TM و دو ردیف آخر مربوط به جمعیت TQ-TM است. ۲- شاخص‌هایی که زیرشان خط کشیده شده به QTL مربوطه نزدیکتر هستند.

#### References:

- ۱- افشونکیان، محمدحسین. ۱۳۸۳. تجزیه مکان‌های اِتی (QTL) تحمل به توری و کیفیت دانه در برنج رساله دکتری اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.
- 2- Basten C.J., B.S. Weir, and Z.B.Zeng. 2001. QTL cartographer, version 1.15. Department of statistics, North carolina state university, Raleigh, NC, USA.
- 3- Gong J.M., P. He, Q.A. Qian, L.S. Shan, L.H. Zhu and S.Y. Chen. 1999. Identification of salt-tolerance QTL in rice. *China Sci. Bull.* 4:68-71.
- 4- Gregorio, G.B., D. Sanadhira and R.D. Mendoza. 1997. Screening rice for salinity tolerance. IRRI Discussion paper series No. 22. International Rice Research Institute, Philippines.
- 5- Koyama M.L., A. Levesley, R.M.D. Koebner, T.J. Flowers and A.R. Yeo. 2001. Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. *Plant Physiology* 125:406-422.
- 6- Lang N.T., S. Yamagihara, and B.C. Bui. 2001. A microsatellite marker for a gene contributing salt tolerance on rice at the vegetative and reproductive stages. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics* 33(1):1-10.
- 7- Lang N.T., S. Yamagihara, and B.C. Bui. 2001. QTL analysis of salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*. 33(1):11-20.
- 8- Moradi F. 2002. Physiological characterization of rice cultivars for salinity tolerance during vegetative and reproductive stages. PhD thesis. University of Philippines, Los Banos, Philippines.

**Abstract:**

In order to map the QTLs related to salinity tolerance and also determining of phenotypic variation of each one, two advanced backcross (BC<sub>3</sub>F<sub>3</sub>) populations each with 62 lines derived from crosses between Tarom molai (TM) as donor parent with IR64 and Teqing (TQ) as recurrent parent were investigated in International Rice Research Institute (IRRI). The traits under study included: ratio of Sodium (Na) and Potassium (K) concentrations in root and shoot. Genotyping was done with 114 polymorphic SSR markers. The average of map length and interval size was 1700 cM and 15.7 cM, respectively. Transgressive segregation observed in all traits. For ratio of Sodium and Potassium concentrations in root (NaR/KR) and shoot (NaS/KS) 2 and 11 QTLs were mapped in IR64-TM, respectively, while for TQ-TM population it were mapped 1 and 4. Because of finding any common QTLs in two populations, we concluded the effect of genetic background on QTL mapping.

**Key words:** *Advanced Backcross, Salinity tolerance, Microsatellite, Sodium and Potassium*