نشریه زراعت
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۹۴، بهار ۱۳۹۱

اثر زمینه ژنتیکی در مکان یابی نواحی ژنومی کنترل کننده صفات مرتبط با کیفیت پخت در برنج

● **سید عبدالحمید انگجی** (نویسنده مسئول)
استادیار گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه تربیت معلم
● **محمد حسین فتوکیان**
استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد
● **امیر محمد ناجی**
استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد
● **جعفر احمدی**
استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه بین المللی امام خمینی
تاریخ‌دریافت: مهر ماه ۱۳۸۸ تاریخ‌پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۹
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۳۰۵۸۸۹۱
Email: angaji@tmu.ac.ir

چکیده

به منظور مکان‌یابی QTLهای مرتبط با کیفیت پخت برنج و همچنین مطالعه اثر زمینه ژنتیکی در مکان یابی QTL، دو جمعیت گیاهی شامل ۶۳ لاین BC۲F۵ حاصل از تلاقی IR۶۴ به عنوان والد تکراری و طارم مولائی به عنوان والد دهنده (جمعیت RF۵۴) و ۶۲ لاین BC۲F۵ که از تلاقی واریته های Teqing به عنوان والد تکراری و طارم مولائی بعنوان والد دهنده بدست آمده بودند (جمعیت RF۵۶)، در موسسه بین المللی تحقیقات برنج مورد مطالعه قرار گرفتند. صفات مقدار آمیلوز، قوام ژل و درجه حرارت ژلاتینه برای ارزیابی کیفیت پخت مورد استفاده قرار گرفتند. برای شناسایی چندشکلی های بالقوه پیوسته با مکان های ژنی کنترل کننده صفات مورد مطالعه در والدین ۲۳۵ نشانگر ریزه ماهواره روی ۱۲ گروه لینکاژی استفاده شد. در نهایت ۱۱۴ نشانگر چندشکلی واضح و قابل امتیازبندی نشان دادند و برای بررسی ژنوتیپی جمعیت های در حال تفرق مورد استفاده قرار گرفتند. طول نقشه کروموزمی در دو جمعیت RF۵۴ و RF۵۶ به ترتیب برابر ۱۶۹۲/۶ و ۱۷۴۷/۳ سانتی مورگان بود. متوسط فاصله بین دو نشانگر مجاور در دو جمعیت به ترتیب برابر ۱۶/۳ و ۱۵/۳ سانتی مورگان بوده است. در جمعیت RF۵۴ برای همه صفات تفکیک متجاوز مثبت و یا منفی مشاهده گردید ولی در جمعیت RF۵۶ فقط برای مقدار آمیلوز تفرق فرارونده مشاهده شد. برای صفات مقدار آمیلوز، قوام ژل و درجه حرارت ژلاتینه در جمعیت RF۵۴ به ترتیب ۱، ۳ و ۱۳ مکان ژنی و در جمعیت RF۵۶ به ترتیب ۱، ۱۵ و ۱۰ مکان ژنی شناسایی شدند. نتایج این تحقیق نشان می دهند که زمینه ژنتیکی در تظاهر QTLهای مربوط به کیفیت پخت برنج تاثیر دارد و در اصلاح صفات فوق از طریق گزینش به کمک نشانگر بایستی به این موضوع توجه نمود.

کلمات کلیدی: مقدارآمیلوز، قوام ژل، درجه حرارت ژلاتینی، مکان یابی QTL.

Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 94 pp: 75-84

The effect of genetic background on QTL mapping in rice (*Oryza sativa* L.) for traits related to cooking quality

By: Seyed Abdolhamid Angaji, Department of Biology, Faculty of Sciences, Tarbiat Moallem University (Corresponding Author; Tel: +989123038891) Mohammad Hosein Fotokian, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahed University Amir Mohammad Naji, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahed University Jafar Ahmadi, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Imam Khomeini International University

In order to map the QTLs for cooking quality in rice, two populations of BC2F5 lines, derived from indica rice varieties IR64 and Teqing (TQ) as recurrent parents and an Iranian rice variety, Tarom molaeii (TM) as donor, studied in International Rice Research Institute. Traits amylose content (AMY), gelatinization temperature (GT), and gel consistency (GC) were used to evaluate cooking quality. Two-hundred thirty five SSR markers on all 12 rice linkage groups were tested on parents to identify polymorphic markers potentially linked to QTLs controlling studied traits. One-hundred fourteen markers showed polymorphism and assigned for genotyping of the populations. The map length in IR64/TM and TQ/TM populations were 1692.6 cM and 1743.3 cM, respectively with an average interval size of 16.3 cM and 15.3 cM., respectively. Transgressive segregation observed for all traits in population IR64/TM while in population TQ/TM, it was onley observed for AMY. Seventeen QTLs were identified in the population IR64/TM , including one for AMY, 3 for GC, and 13 for GT.QTLs identified in the population Teqing/TM were twenty six as one for AMY, 15 for GC, and 10 for GT. However, of the 43 QTLs detected in both backgrounds, only one (2%) were common and mapped to the same genomic regions in both genetic backgrounds. Our results indicated that expression of QTLs involved in cooking quality are affected by different genetic backgrounds and should be specially considered in marker-aided breeding programms of cooking quality in rice.

Key words: Cooking quality, Amylose content, Gelatinization temperature, QTL mapping

مقدمه

سطح زیر کشت برنج در دنیا ۱۴۸ میلیون هکتار می باشد که ۸۵ درصد تولید کل آن به مصرف انسان می‌رسد. عملکرد بالا و کیفیت دانه مطلوب اهداف اصلی در بیشتر برنامه‌های به نژادی برنج می‌باشد. کیفیت دانه در برنج به اندازه و شکل دانه، کیفیت آسیاب کردن، عدم وجود لکه آردی، مقدار آمیلوز، قوام ژل، درجه حرارت ژلاتینه، عطر و طعم (آروما)، کیفیت پخت و کیفیت خوراکی بستگی دارد (۴، ۱۵).

پیشرفت سریع در ژنتیک مولکولی به ویژه در زمینه نشانگرهای مولکولی به محققین در اصلاح واریته های برنج با عملکرد و کیفیت دانه برتر کمک خواهد کرد. نشانگرهای مولکولی پتانسیل جدیدی را برای تکمیل روش های اصلاح نباتات معمولی ارائه می دهند و باعث افزایش کارائی در مکان یابی[1] و نشانمند کردن[2] ژن ها، انتقال ژن، و ایجاد ارتباط ژنتیکی بین گونه ها می شوند (۴).

مقدار آمیلوز در برنج یکی از شاخص‌های ارزیابی پخت است و سختی یا نرمی برنج پخته شده را نشان می‌دهد. ارقام برنج بر اساس مقدار آمیلوز در دانه به دو گروه واکسی (یک تا دو درصد) و غیر واکسی (بیش از ۲ درصد) تقسیم‌بندی می‌شوند. برنج های صدری ایران دارای آمیلوز متوسط هستند و پس از پخت مرطوب و ترد باقی می‌مانند و پس از سرد شدن سفت می‌شوند (۲۲، ۲۸). Pooni و همکاران (۱۹۹۳) در کنترل ژنتیکی مقدار آمیلوز، اثرات افزایشی و غالبیت ژن ها را مهم و همچنین نقش اثر سیتوپلاسمی و اپیستازی را در کنترل آن گزارش نمودند. در یک تلاقی اثر یک ژن و در تلاقی دیگر اثر دو یا چند ژن را در کنترل مقدار آمیلوز گزارش شد (۲۶). در گزارش دیگری یک ژن اصلی به همراه ژن های تغییر دهنده[3] مسئول کنترل آمیلوز معرفی گردید (۲۷،۱۰).

قوام ژل شاخص خوبی از بافت برنج پخته می باشد. اگرچه عامل اصلی تعیین کیفیت خوراکی برنج پخته مقدار آمیلوز می‌باشد ولی در بین برنج های با مقدار آمیلوز مشابه، تفاوت وجود دارد که به قوام ژل نسبت داده می‌شود. Zaman و همکاران (۳۳) گزارش نمودند که در کنترل ژنتیکی قوام ژل تعداد زیادی ژن دخالت دارند. Tang و همکاران (۳۰) اثر یک ژن با آلل‌های چندگانه[4] را مسئول کنترل این صفت معرفی نمودند و بر غالب بودن سفتی قوام ژل بر نوع نرم تاکید نمودند.

درجه حرارت ژلاتینه شدن نشاسته آندوسپرم در کیفیت پخت برنج دارای اهمیت فراوان است. Tan و همکاران (۲۹) با مطالعه نسل‌های F1 الی F3 نشان دادند که هر یک از صفات آمیلوز بالا، قوام ژل سفت و درجه حرارت ژلاتینه زیاد تحت کنترل یک ژن غالب هستند. در پژوهی چند ژن اصلی به همراه ژن های تغییردهنده را در کنترل درجه حرارت ژلاتینه شدن گزارش نمود (۱۰).

شناسایی نشانگرهای ملکولی شدیدا پیوسته با ژن مورد نظر و مکان‌یابی آن در روی کروموزم هدفی مهم در اصلاح نباتات برای همسانه سازی ژن ها و گزینش به کمک نشانگر[5] است (۴). طبق آخرین گزارش از توالی یابی ٪۹۵ ژنوم برنج که ۳۷۰ میلیون جفت باز (Mb) می‌باشد، ۱۸۸۲۸ ریز ماهواره با واحدهای تکراری ۲، ۳ و یا ۴ نوکلئوتیدی متفاوت

در ژنوم برنج وجود دارد که می تواند برای ساخت یک نقشه ژنتیکی اشباع در برنج مورد استفاده قرار گیرد. در ژنوم برنج بیشترین و کمترین تراکم ریزماهواره ها به ترتیب در کرموزوم سه و چهار می‌باشد. این نشانگرها ملکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز هستند و دارای کاربرد فراوانی در مطالعات ملکولی می‌باشند (۱۰، ۲۴). Mc Couch و همکاران (۲۰) توانستند نقشه‌ای شامل ۲۲۴۰ نشانگر ریز ماهواره را تهیه نمایند که کل ژنوم برنج را پوشش می‌دهد. این نشانگرها برای مکان‌یابی ژن و گزینش به کمک نشانگر در برنج مفید هستند (۸، ۲۳) و قادرند در بین واریته های برنج چندشکلی[۶] نشان دهند (۴، ۷، ۳۲).

در برنج تعدادی از مکان های ژنی کنترل کننده کیفیت دانه مکان‌یابی شده‌اند. Tan و همکاران (۲۹) با استفاده از نشانگرهای ملکولی RFLP[۷] و ریز ماهواره در دو جمعیت F۲ و لاین‌های اینبرد نوترکیب[۸] توانستند QTLهایی[۹] برای طول و قطر دانه و نسبت این دو صفت پیدا کنند طول و قطر دانه هر یک بوسیله یک QTL اصلی و یک الی دو QTL کوچک اثر کنترل می‌شدند. Huang و همکاران (۱۳) در مطالعه لاین‌های دابل‌هاپلوئید با نشانگرهای RFLP برای طول و قطر دانه و همچنین شکل دانه توانستند دوازده QTL در ۵ کروموزم مختلف با LOD[۱۰] بزرگتر از ۳ شناسایی نمایند. آنها برای طول دانه چهار QTL در کروموزم‌های یک، سه و ۱۰ و برای قطر دانه پنج QTL در کروموزم‌های سه، هفت، نه و ۱۱ و برای شکل دانه سه QTL در کروموزم‌های یک، هفت و ۱۲پیدا نمودند. هی و همکاران (۱۲) توانستند با جمعیت‌های دبل‌هاپلوئید یک ژن بزرگ اثر در کروموزم ۵ و یک ژن کوچک اثر در کروموزم ۶ برای مقدار آمیلوز شناسایی نمایند که ژن اصلی ۹۱/۹ درصد تنوع فنوتیپی صفت را کنترل می‌کرد. همچنین آنها دو QTL برای قوام ژل در کروموزم های دو و هفت یک ژن اصلی و یک ژن فرعی برای درجه حرارت ژلاتینه در کروموزم ۶ شناسایی کردند. عارف (۴) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و جمعیت‌های BC۲F۲ برای شکل و اندازه دانه نپخته هفت QTL، برای عطر و طعم چهار QTL، برای درجه حرارت ژلاتینه سه QTL، برای مقدار آمیلوز چهار QTL، و برای قوام ژل نیز چهار QTL را شناسایی نمود. لی (۱۹) با استفاده از نشانگرهای SSR و AFLP[۱۱] و جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب توانست برای قطر دانه دو QTL در کروموزم های یک و هشت، برای نسبت طول به قطر دانه دو QTL در کروموزم های پنج و ۱۰، برای مقدار آمیلوز سه QTL در کروموزم های یک، شش و ۱۱، و برای قوام ژل سه QTL در کروموزم های سه، هشت و ۱۱ شناسایی نماید. هدف از اجرای این تحقیق مکان‌یابی QTLهای صفات مرتبط با کیفیت دانه، مشخص کردن اثر افزایشی هر QTL، و تعیین سهم هر QTL در تنوع فنوتیپی صفت مربوطه به کمک نشانگرهای ریز ماهواره و مطالعه اثر زمینه ژنتیکی در مکان یابی QTL می باشد.

مواد و روش‌ها

ارزیابی فنوتیپی

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل دو جمعیت تلاقی برگشتی پیشرفته (BC۲F۵) بنام های RF۵۴ و RF۵۶ بود. جمعیت RF۵۴ شامل ۶۳ لاین تلاقی برگشتی پیشرفته حاصل از تلاقی دو واریته زراعی برنج IR۶۴ به عنوان والد تکراری و واریته طارم مولائی به عنوان والد دهنده[۱۲] بود. جمعیت RF۵۶ شامل ۶۲ لاین تلاقی برگشتی پیشرفته بود که از تلاقی دو واریته زراعی برنج Teqing (TQ) به عنوان والد تکراری و واریته طارم مولائی به عنوان والد دهنده بدست آمده بودند. واریته IR۶۴ دارای سطح کشت گسترده در جنوب و جنوب شرقی آسیا است و دارای کیفیت دانه متوسط می‌باشد. واریته طارم مولائی که از واریته‌های بومی شمال کشور است، دارای کیفیت دانه عالی به ویژه در کیفیت پخت است. واریته TQ یک واریته هندی اصلاح شده از کشور چین است که دارای کیفیت دانه متوسط می باشد. صفات مورد مطالعه در این تحقیق شامل: مقدار آمیلوز (AMY)، قوام ژل (GC) و درجه حرارت ژلاتینه (GT) بود که اندازه‌گیری این صفات بر اساس روش دلاکروز (۸، ۹) انجام گرفت.

تعیین ژنوتیپ[۱۳]

استخراج DNA، واکنش زنجیره ای پلیمراز و الکتروفورز: استخراج DNA و واکنش زنجیره ای پلیمراز به روش فتوکیان (CTAB) تغییر یافته (۱) انجام گرفت. برای شناسایی چندشکلی های بالقوه پیوسته با QTL در والدین از ۲۳۵ آغازگر ریزماهواره در ژل‌های پلی آکریل آمید ۵٪ و آگاروز ۳٪ استفاده شد. تعداد ۷۲ نشانگر با ژل پلی آکریل آمید و ۴۲ نشانگر با ژل آگاروز الکتروفورز گردیدند. رنگ آمیزی ژل پلی آکریل آمید با نیترات نقره و رنگ آمیزی ژل آگاروز با اتیدیوم بروماید انجام گرفت (۴). انتخاب نشانگر برای مطالعه چندشکلی در والدین بر اساس توزیع یکنواخت در سطح ژنوم و بررسی منابع انجام گرفت (۷، ۱۶، ۱۷، ۱۸).

تجزیه‌های آماری

محاسبه توزیع فراوانی صفات با نرم افزار Excel، محاسبه ضریب همبستگی فنوتیپی پیرسون با نرم افزار SPSS ۱۱,۵ .V، تجزیه پیوستگی و مکانیابی QTL با نرم افزار QTL Cartographer V.۲ (۵) انجام گرفت. شناسایی QTLهای صفات کیفیت دانه به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب[۱۴] انجام گرفت. سرعت پیمایش[۱۵] بر روی کروموزم ها برای محاسبه پیوستگی نیم سانتی مورگان بود. برای تجزیه به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب از رگرسیون جلوبر[۱۶] استفاده شد (۵). نسبت کل واریانس فنوتیپی قابل توجیه بوسیله هر QTL با معیار R^2 (نسبت مجموع مربعات قابل توجیه بوسیله هر QTL به کل مجموع مربعات) برآورد گردید (۵). نام‌گذاری QTLها بر اساس مک‌کوچ و همکاران (۲۱) انجام گرفت.

نتایج و بحث

توزیع فراوانی صفات

در شکل های ۱ و ۲ توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در لاین‌های BC۲F۵ به همراه میانگین والدین در دو جمعیت RF۵۴ و RF۵۶ ارایه شده است. همه صفات به استثنای درجه حرارت ژلاتینه بدلیل نوع ارزیابی انجام گرفته دارای توزیع پیوسته بود. برای همه صفات تفکیک متجاوز مثبت و یا منفی در نتاج مشاهده گردید. در هر دو جمعیت برای

مقدار آمیلوز چولگی به سمت والد مادری و برای درجه حرارت ژلاتینی چولگی به سمت والد پدری یعنی طارم مولایی بوده است. گرچه تنوع بین والدین از نظر قوام ژل در جمعیت RF۵۶ بیشتر از جمعیت RF۵۴ بوده است ولی در جمعیت اخیر توزیع صفت بیشتر به سمت توزیع نرمال بوده است. مقدار درجه حرارت ژلاتینه در والدین دو جمعیت کاملاً مشابه و در لاین های هر دو جمعیت تقریباً مشابه بوده است.

همبستگی بین صفات

جدول ۱ نتایج همبستگی فنوتیپی پیرسون بین صفات مورد مطالعه را در دو جمعیت نشان می‌دهند. به استثنای همبستگی معنی داری که بین درجه حرارت ژلاتینه و قوام ژل در جمعیت RF۵۴ مشاهده شد جدول ۱ بقیه صفات در دو جمعیت هیچگونه همبستگی معنی دار با یکدیگر نشان ندادند. پلبا موجیکا (۲۵) در مطالعه دو جمعیت BC۲F۳ حاصل از تلاقی Teqing با واریته برنج Basmati ۳۸۵ و IR۶۴ با واریته محلی Karnal هیچگونه همبستگی معنی دار بین صفات درجه حرارت ژلاتینه، مقدار آمیلوز و مقدار قوام ژل مشاهده نکرد. عارف (۴) در جمعیت BC۲F۲ حاصل از تلاقی TQ با رقم ایرانی بینام توانست همبستگی معنی داری بین درجه حرارت ژلاتینه با مقدار قوام ژل مشاهده نماید. وی همچنین در جمعیت BC۲F۲ حاصل از تلاقی IR۶۴ با رقم بینام توانست همبستگی معنی داری بین درجه حرارت ژلاتینه و مقدار آمیلوز مشاهده نماید. همبستگی بین سایر صفات در این مطالعه معنی دار نبود. واریته‌های با مقدار آمیلوز بالا بنظر می‌رسند که دارای قوام ژل سفت هستند و بیشتر واریته‌های با آمیلوز متوسط دارای قوام ژل نرم یا متوسط هستند و واریته‌های با آمیلوز کم دارای قوام ژل نرم هستند (۴). همبستگی بین صفات می تواند ناشی از اثر پلیوتروپی ژن، لینکاژ یا پیوستگی بین ژن ها، اثر اپیستازی ژن ها و یا ناشی از اثرات محیطی باشد (۱).

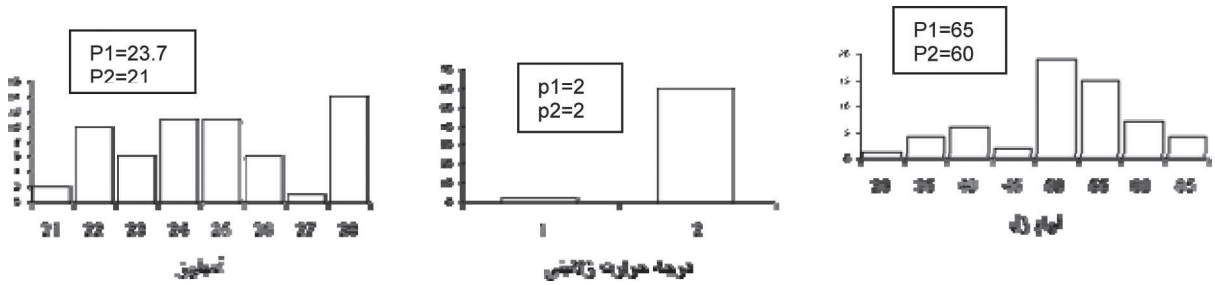
تجزیه پیوستگی و مکان یابی QTLها

در جدول های ۲ و ۳ QTLهای بزرگ اثر برای صفات کیفیت دانه در دو جمعیت مورد مطالعه همراه با موقعیت QTLها در کروموزم، LOD، نسبت واریانس فنوتیپی ناشی از QTL و اثر افزایشی QTLها ارائه شده است. اثر اپیستازی بین هیچ کدام از مکانهای ژنی در دو جمعیت مشاهده نگردید.

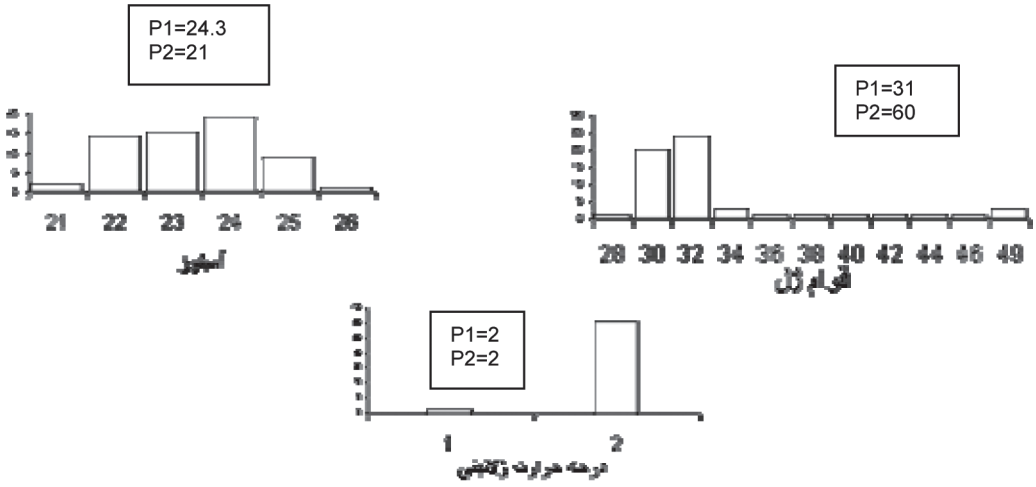
در هر دو جمعیت QTLهای مکان یابی شده در همه ۱۲ کروموزم برنج حضور داشتند.

بخش قابل توجه‌ای از واریانس فنوتیپی برای صفات اندازه‌گیری شده در جمعیت مورد مطالعه به آنها نسبت داده شد. برای هر یک از صفات مقدار آمیلوز، قوام ژل و درجه حرارت ژلاتینه به ترتیب ۱، ۳ و ۱۳ QTL در جمعیت RF۵۴ شناسایی شد (جدول ۲) که این QTLها توانستند به ترتیب ۲۲/۵، ۵۰/۲ و ۹۷/۵ درصد واریانس فنوتیپی صفات فوق را با زمینه ژنتیکی IR۶۴ توجیه نمایند. در جمعیت RF۵۶ برای هر یک از صفات مقدار آمیلوز، قوام ژل و درجه حرارت ژلاتینه به ترتیب ۱، ۱۵ و ۱۰ QTL شناسایی شد جدول ۳ که این QTLها توانستند به ترتیب ۱۶، ۸۶/۹ و ۸۹/۵ درصد واریانس فنوتیپی صفات فوق را با زمینه ژنتیکی TQ توجیه نمایند. مقدار آمیلوز: در جمعیت RF۵۴ در کروموزم ۳ برای مقدار آمیلوز یک QTL شناسایی شد که ۲۲/۵ درصد واریانس این صفت به آن نسبت داده شد. این QTL که از واریته طارم مولائی در زمینه ژنتیکی واریته IR۶۴ قرار گرفته است باعث کاهش آمیلوز و در نتیجه باعث بهبود کیفیت پخت در نتاجی که حاوی QTL فوق هستند گردیده است.

در جمعیت RF۵۶ در کروموزوم ۲ برای مقدار آمیلوز یک QTL شناسایی شد که ۱۶ درصد واریانس این صفت به آن نسبت داده شد. این QTL که از واریته طارم مولائی در زمینه ژنتیکی واریته TQ قرار گرفته است باعث کاهش آمیلوز در نتاج حاوی QTL مورد نظر شده است.



شکل ۱- توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در جمعیت RF۵۴. والد دوره ای IR۶۴ با P۱ و والد دهنده طارم مولائی با P۲ مشخص شده¬اند.



شکل ۲ -توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در جمعیت RF۵۶. والد دوره ای Teqing با P۱ و والد دهنده طارم مولائی با P۲ مشخص شده اند.

جدول ۱- ضرایب همبستگی فنوتیپی پیرسون بین صفات مورد مطالعه در دو جمعیت RF۵۴ و RF۵۶. اعداد داخل پرانتز مقدار ضریب همبستگی فنوتیپی را در جمعیت RF۵۶ نشان می دهد.

	AMY	GC
مقدار آمیلوز (AMY)		
قوام ژل (GC)	-۰/۰۸ (-۰/۱۸)	
درجه حرارت ژلاتینه (GT)	۰/۱۸ (۰/۱۲)	.۳۶** (.۰۸)

**: معنی دار در سطح احتمال ۱ ٪.

قوام ژل

برای قوام ژل سه QTL در کروموزم های ۱ و ۲ در جمعیت RF۵۴ شناسایی شد که یک QTL در کروموزم ۲ در فواصل نشانگرهای RM۲۳۶-RM۴۸۵ قرار داشت. Pealba Mojica (۲۵) یک QTL در کروموزم ۲ برای قوام ژل داد. در این مطالعه نیز یک QTL با نشانگر مشابه در کروموزم فوق برای صفت مربوطه شناسایی شد. عارف (۴) نیز توانست در کروموزم ۲ برای قوام ژل یک QTL با اثر افزایشی منفی شناسایی کند. QTL شناسایی شده در کروموزم ۲ در این تحقیق دارای اثر افزایشی مثبت بود (جدول ۲). در جمعیت RF۵۶ برای قوام ژل در همه کروموزم ها باستثنای کروموزم های دو، هشت و ۱۰ حداقل یک QTL شناسایی گردید که عموماً دارای اثرات افزایشی منفی بودند. Tan و همکاران (۲۹) در کروموزم های یک و شش، و همچنین هی و همکاران (۱۱) در کروموزم دو و هفت توانستند با نشانگر RFLP برای قوام ژل QTL شناسایی کنند که ممکن است با نتایج این تحقیق از نظر مکان QTL مشابهت داشته باشند. عارف (۴) با نشانگر RM۱۶ در کروموزم ۳ یکQTL با اثر افزایشی منفی برای قوام ژل شناسایی نمود. در این تحقیق نیز یک QTL برای قوام ژل شناسایی شد که دارای LOD برابر ۷ و اثر افزایشی ۹- بوده است. Pealba Mojica (۲۵) QTLهایی در کروموزم های چهار و ۱۱ برای قوام ژل گزارش نمود. در این تحقیق نیز با نشانگرهای مشابه در کروموزم های فوق QTLهایی برای صفت قوام ژل شناسایی شد.

درجه حرارت ژلاتینه

در جمعیت RF۵۴ بزرگترین LOD در درجه حرارت ژلاتینه با مقدار ۱۵/۱۳ در کروموزم ۵ مشاهده شدکه این QTL توانست ۲۳/۴ درصد واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه کند. این QTL که از والد دهنده طارم مولائی در اثر تلاقی برگشتی وارد زمینه ژنتیکی والد دوره‌ای IR۶۴ شده است باعث کاهش درجه حرارت ژلاتینه در والد دوره‌ای شده و می‌تواند کیفیت پخت را بهبود بخشد. در همه کروموزم ها برای درجه حرارت ژلاتینه QTL شناسایی شد که بعضی از آنها دارای اثر

افـزایـشـی مـنفی و بعضی دیگر دارای اثر افزایشـی مثبت بودند و تحت این شـرایط مقـداری از اثر QTLهای منتقل شـده خنثـی می گردد. Pealba Mojica (۲۵) QTLهـای برای ایـن صفت در کروموزم های چهـار، ۱۰ و ۱۱ برای درجه حرارت ژلاتینه گزارش نمود در این تحقیق نیز با نشانگرهای مشابه در کروموزم های فوق QTLهایی شناسایی شد. در جمعیـت RF۵۶ بزرگتریـن LOD در مکان ژنی QGt۱۰ که صفت درجه حرارت ژلاتینی را در کروموزم ۱۰ کنترل می کند مشـاهده شـد. این QTL در بین نشـانگرهای RM۲۱۶-RM۲۲۲ با اثر افزایشـی ۱۰ توانست ۶۰ درصد واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه کند. این QTL که از والد دهنده طارم مولائی در اثر تلاقی برگشـتی وارد زمینه ژنتیکی والـد دوره ای TQ شـده بـاعث کاهش درجه حـرارت ژلاتینی در والد دوره ای می شـد. در فاصله نشانگرهای RM۲۳-RM۲۴۳ در کروموزم یک برای درجه حرارت ژلاتینه یک QTL شناسایی شد. فاصله این مکان تا نشانگر RM۲۳ حدود ۲/۸ سانتی مورگان بود.

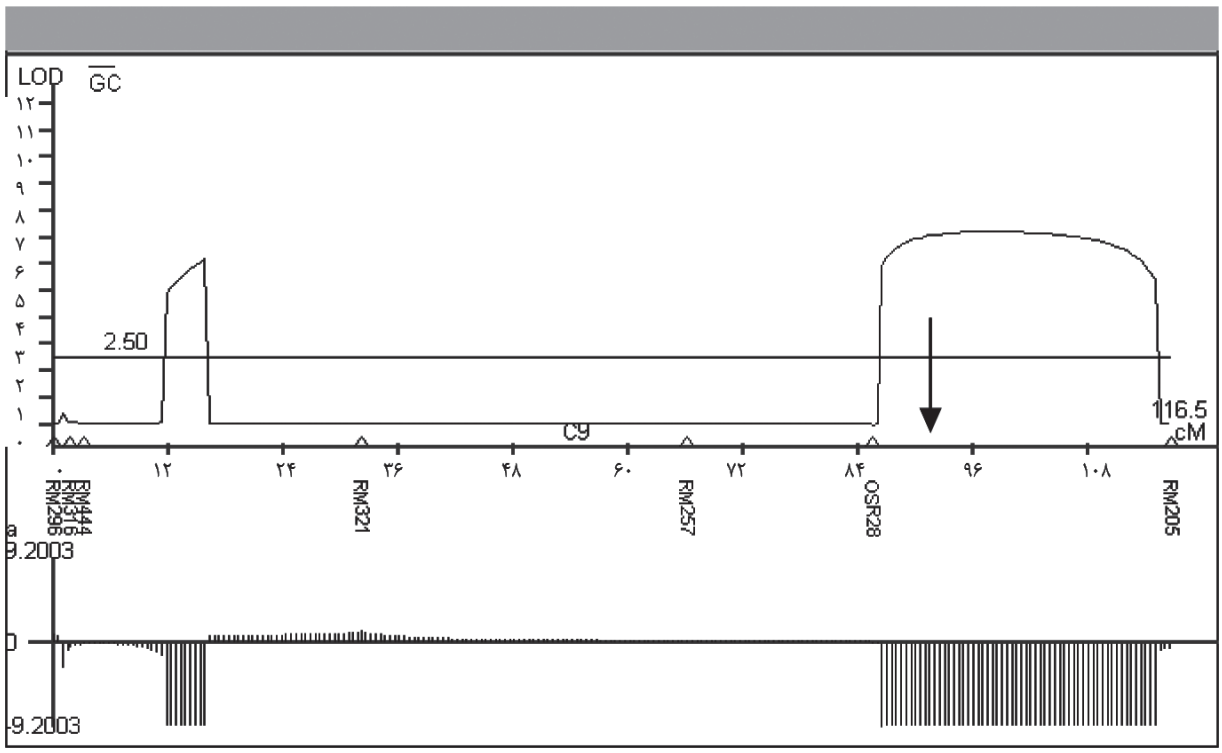
در جمعیت RF۵۶ برای درجه حرارت ژلاتینی و قوام ژل چهار QTL مشترک بدست آمد که در کروموزم های ۱، ۴، ۶ و ۱۱ قرار داشتند. علیرغم وجود اثرات پلیوتروپی QTLهای فوق بین ایندو صفت همبسـتگی معنی دار مشـاهده نگردید (جدول ۱). پلبا موجیـکا (۲۵) نیز در کروموزم ۱۱ با نشانگرهای OSR۱ و RM۱۴۴ برای قوام ژل دو QTL گزارش نمودند که اثرات ژنتیکی- افزایشی آنها همانند نتیجه تحقیق ما بترتیب منفی و مثبت بود. در جمعیت RF۵۴ همبسـتگی فنوتیپی بین قوام ژل و درجه حرارت ژلاتینه معنی دار بود. شـاید علت این همبسـتگی اثر پلیوتروپی QTLی باشـد که توسط نشـانگر RM۷۱ در کروموزوم ۲ شناسایی شده است. اثر افزایشی این QTL برای قوام ژل مثبت و برای درجه حرارت ژلاتینه منفی بوده اسـت. اگرچه پیوسـتگی بین QTLهای مربوط به صفات مختلف در این تحقیق مشاهده شد (جدول های ۲ و ۳)، ولی این پیوستگی آنقدر قوی

جدول ۲- QTLهای بزرگ اثر برای صفات مرتبط با کیفیت پخت در جمعیت BC۲F۵ حاصل از تلاقی TM IR۶۴ x

صفات	کروموزوم	فواصل نشانگر Marker Interval [1]	QTL	LOD	R^2	اثر افزایشی
مقدار آمیلوز (AMY)	۳	RM-۶۰RM۲۲	QAmy۳	۵	۲۲/۵	۲/۵
قوام ژل (GC)	۱	RM۴۷۳A-RM۱۲۸	QGc۱	۳/۵	۱۰/۳	۶/۳
	۲	RM-۴۸۵RM۲۳۶	QGc۲a	۳/۶	۱۰/۹	۷/۷
	۲	RM-۵۵۵RM۷۱	QGc۲b	۸/۱	۲۹	۱۹/۶
درجه حرارت ژلاتینی (GT)	۱	RM-۲۲۰RM۲۴۳	QGt۱	۱۴	۱۰/۶	۳/۶
	۲	RM-۵۵۵RM۷۱	QGt۲	۱۴	۹/۴	-۴/۹
	۳	RM-۱۶RM۲۰۳	QGt۳	۱۵	۱۰/۶	۴/۲
	۴	RM-۳۴۹RM۲۸۰	QGt۴	۴/۲	۲/۹	-۵/۳
	۵	RM-۴۱۳RM۲۸۹	QGt۵	۱۵/۱۳	۸/۴	۴/۲
	۶	RM-۲۰۴RM۳۱۴	QGt۶	۹/۵	۷/۶	-۴/۳
	۷	RM-۴۸۱RM۱۸۰	QGt۷	۱۲/۷	۱۱/۵	-۵/۲
	۸	RM-۳۳۹RM۲۲۳	QGt۸	۱۲/۶	۶/۴	۵/۱
	۹	RM-۲۵۷OSR۲۸	QGt۹	۱۳/۶	۶/۹	۵/۱
	۱۰	RM-۳۰۴RM۲۲۸	QGt۱۰	۱۱	۹/۱	-۴/۹
	۱۱	OSR-۱RM۲۸۷	QGt۱۱	۳/۸	۲/۵	۵/۱
	۱۲	RM۴A-RM۱۹	QGt۱۲a	۵/۳	۵/۱	-۳/۶
	۱۲	RM-۲۴۷RM۳۱۳	QGt۱۲b	۱۲/۶	۶/۵	-۴/۳

۱: نشانگرهائی که زیرشان خط کشیده شده به QTL مربوطه نزدیکتر هستند.

۲: واریانس فنوتیپی قابل توجیه بوسیله هر QTL



شکل ۱- موقعیت QTL مشترک بین قوام ژل و درجه حرارت ژلاتینی که در کروموزم نه برنج در فواصل نشانگرهای RM۲۰۵-OSR۲۸ واقع است (در جمعیت RF۵۶) محل تقریبی QTL مورد نظر با پیکان نشان داده شده است.

نبود تا بتواند همبستگی معنی دار بین این صفات ایجاد نماید (جدول ۱).

در جمعیت RF۵۶ با نشانگر OSR۲۸ برای هر یک از صفات درجه حرارت ژلاتینه و قوام ژل یک QTL با اثر افزایشی منفی شناسایی شد. در جمعیت RF۵۴ فقط برای درجه حرارت ژلاتینه یک QTL با این نشانگر شناسایی شد که دارای اثر افزایشی مثبت بود. شکل ۱ موقعیت این QTL را در جمعیت RF۵۶ برای قوام ژل نشان می دهد. نشانگر OSR۱ در کروموزوم ۱۱ در هر دو جمعیت برای درجه حرارت ژلاتینه یک مکان ژنی شناسایی نمود. با این نشانگر در جمعیت RF۵۶ برای قوام ژل یک مکان ژنی شناسایی شد ولی در جمعیت RF۵۴ هیچ QTLی با این نشانگر شناسایی نشد. گرچه نشانگرهای بکار رفته در دو جمعیت مشابه بودند ولی فقط تعداد محدودی از نشانگرها قادر بودند در هر دو جمعیت برای صفات متناظر QTL شناسایی نمایند. این نتایج نشان می دهد که زمینه ژنتیکی در تظاهر QTLهای مربوط به کیفیت پخت برنج تاثیر دارد و در اصلاح صفات فوق از طریق گزینش به کمک نشانگر بایستی به این موضوع توجه نمود. نتایج مشابه در آزمایشات عارف (۴) و Pealba Mojica (۲۵) نیز مشاهده شد. اگرچه در جمعیت های مورد مطالعه نشانگرهای بکار رفته کل ژنوم برنج را پوشش دادند ولی در بعضی نقاط و در بعضی از کروموزم ها مثل کروموزم های یک، شش، هفت و۱۲ در مناطقی بدلیل فقدان چندشکلی بین والدین از نظر آغازگرهای این نواحی، پوشش ژنومی کامل نبود. بروندای و همکاران (۶) و همچنین عارف (۴) در کروموزم‌های یک، چهار، پنج، شش، هفت و ۱۰ چندشکلی کمتر از میزان مورد انتظار مشاهده کردند. در این تحقیق نیز در کروموزم های پنج، هفت، هشت، نه و ۱۲ چند شکلی کمتر از میزان انتظار مشاهده شد. تولید و تکثیر نشانگرهای ریز ماهواره بیشتر (۲، ۳، ۳۱، ۳۲) برای افزایش تعداد نشانگرهای مکان‌یابی شده در همه کروموزم ها مفید خواهد بود و همچنین دقت مکان‌یابی QTL را افزایش خواهد شد. توصیه می شود با استفاده از جمعیت های با اندازه بزرگتر و تعداد نشانگرهای مولکولی بیشتر اقدام به مکان یابی دقیق[۱۷] نمود و پس از تائید[۱۸] آنها برای گزینش به کمک نشانگر استفاده نمود. با توجه به اینکه اثرات محیطی می تواند بر مکان یابی QTL و همچنین بر مقدار اثر هر QTL اثر بگذارد بهتر است آزمایشات مربوط به اندازه گیری صفات مورفولوژی در بیش از یک محیط انجام گیرد.

جدول ۳- QTLهای بزرگ اثر برای صفات مرتبط با کیفیت پخت در جمعیت BC۲F۵ حاصل از تلاقی TQ x TM

صفات	کروموزم	فواصل نشانگر Marker Interval [1]	QTL	LOD	R^2	اثر افزایشی
مقدار آمیلوز(AMY)	۲	RM۴۷۵-RM۲۶۳	QAmy۲	۴	۱۶	۱
قوام ژل (GC)	۱	RM۲۴۳-RM۲۳	QGc۱a	۵	۴	-۹
	۱	RM۴۳۱-RM۱۴	QGc۱b	۶/۵	۴	-۹
	۳	RM۲۲-RM۵۴۵	QGc۳a	۵/۳	۵/۵	-۹
	۳	RM۲۸۲-RM۱۶	QGc۳b	۷	۵/۲	-۹
	۴	RM۳۳۵-RM۲۶۱	QGc۴a	۶/۷	۶	-۹
	۴	RM۲۴۱-RM۳۴۸	QGc۴b	۵/۳	۵/۷	-۵/۵
	۵	RM۸۷-RM۳۳۴	QGc۵	۶/۸	۶	۹
	۶	OSR۱۹-RM۵۱۰	QGc۶a	۱۹/۶	۲۵	-۱۲
	۶	RM۳۱۴-RM۲۵۳	QGc۶b	۶/۵	۳	-۹
	۷	RM۱۰-RM۱۸	QGc۷	۵	۳/۵	-۷
	۹	OSR۲۸-RM۲۰۵	QGc۹	۷/۲	۴	-۹
	۱۱	OSR۱-RM۲۸۷	QGc۱۱a	۵/۶	۴/۱	-۹
	۱۱	RM۲۲۴-RM۱۴۴	QGc۱۱b	۳/۶	۲/۹	۷
	۱۲	RM۴A-RM۱۹	QGc۱۲a	۶	۵	-۹
	۱۲	RM۲۳۵-RM۱۷	QGc۱۲b	۱۱	۹	-۱۱
درجه حرارت ژلاتینی (GT)	۱	RM۴۳۱-RM۱۴	QGt۱	۱۶	۱۱	۶/۵
	۲	RM۳۲۷-RM۳۰۰	QGt۲a	۲۴	۱۴	۶/۱
	۲	RM۲۶۲-RM۴۷۵	QGt۲b	۲۲	۱۴/۵	۶/۱
	۴	RM۳۳۵-RM۲۶۱	QGt۴	۱۱	۸	۶/۲
	۶	RM۲۵۳-RM۵۳۹	QGt۶	۱۲	۸	۶/۲
	۷	RM۱۷۲-RM۵۱	QGt۷	۸	۶	۴/۶
	۹	RM۲۵۷-OSR۲۸	QGt۹	۴	۳	-۹
	۱۰	RM۲۲۲-RM۲۱۶	QGt۱۰	۷۸	۱۴	۱۰
	۱۱	RM۳۳۲-RM۱۶۷	QGt۱۱a	۵	۶	۴/۵
	۱۱	RM۱۲۰-OSR۱	QGt۱۱b	۵	۵	-۹/۶

۱: نشانگرهائی که زیرشان خط کشیده شده به QTL مربوطه نزدیکتر هستند.

۲: واریانس فنوتیپی قابل توجیه بوسیله هر QTL

تشکر و قدردانی

از موسسه بین المللی تحقیقات برنج در فیلیپین بخاطر حمایت های ارزنده در اجرای این تحقیق سپاسگزاریم.

پاورقی ها

1- Mapping
2- Tagging
3- Modifier
4- Multiple allele
5- Marker-aided selection
6- Polymorphism
7- Restriction Fragment Length Polymorphism
8- Recombinant inbred lines
9- Quantitative Trait Loci
10- Logarithim Of Odds
11- Ampilified Fragment Length Polymorphism
12- Donor
13- Genotyping
14- Composite Interval Mapping
15- Walk speed
16 Forward regression
17- Fine mapping
18- Verification and validation

منابع مورد استفاده

۱- فتوکیان، م ح.، ع. طالعی، ب. قره یاضی، ک. پوستینی و ع. شاه نجات بوشهری. (۱۳۸۳) مکان یابی ژن‌های کنترل کننده تحمل به شوری در برنج با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله علوم زراعی ایران جلد ۶ شماره ۴ . صفحات ۳۶۱ - ۳۷۳.

2-Akagi, H., Yokozeki, Y. Inagaki, A. and Fujimura T. (1996) Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. *Theor. Appl. Genet*. 93:1071-1077.

3- Akagi, H., Yokozeki, Y. Inagaki, A. and Fujimura T. (1997) Highly polymorphic microsatellites of rice consist of AT repears, and a classification of closely related cultivars with these microsatellite loci. T*heor. Appl. Genet*. 94:61-67.

4- Arif, M (2002) *Molecular mapping of genes/QTLs affecting resistance to Xanthomonas oryzae pv*. Oryzae and grain quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). PhD thesis. University of Philippines, Los Banos.Philippines.

5- Basten, C. J., Weir., B.S. and Zeng Z-B. (2001) *QTL cartographer, ver.2. Department of statistics,North Carolina state university.*Raleigh, NC.USA.

6- Brondani,C. Brondani, R. P. Rangel, P. H. and Ferreira M. E. (2001) Development and mapping of Oryza glumaepatula derived microsatellite markers in the interspecific cross Oryza glumaepatula x Oryza sativa. *Hereditas*.134:59-71.

7- Chen, X., Temnykh, S. Xu, Y. Cho, Y.G. and McCOUCH S.R. (1997) Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice. *Theor. Appl. Genet.* 95:553-567

8- Dela Cruz, N., Kumar, I. Kaushik R.P. and Khush G.S. (1989) Effect of temperature during grain development on the performance and stability of cooking quality components of rice. *Jpn. J. Breed.* 39:299-306.

9- Dela Cruz, N (2002) *Rice grain quality evaluation procedures. In: Graham*, R. A proposal for IRRI to establish a grain quality and nutrition research center. Discussion Paper Series No. 44. IRRI. Philippines.

10- Faruq, G. M.O. Hadjim K, and Meisner C.A. (2004) Inheritance of gelatinization temperature in rice. *Int. J. Agri. Bio.* 6(5):810-812.

11- He, P., Li, S.G. Qian, Q. Ma, Y.Q. Li, J.Z. Wang, W.M. Chen, Y. and Zhu L.H. (1999) Genetic analysis of rice grain quality. *Theor. Appl. Genet.* 98:502-508.

12- He, P., Li, J.Z. Zheng, X.W. Shen, L.S. Lu, C.F. Chen, Y. and Zhu L.H. (2001) Comparison of molecular linkage maps and agronomic trait loci between DH and RIL population derived from the same rice cross. *Crop Sci*. 41:1240-1246.

13- Huang, N., Li, J. Z. Zheng, X. W. Shen, L. S. Lu, C. F. Chen,Y. and Zhu L. H. (1997) RFLP mapping of isozymes, RAPD and QTLs for grain shape, brown plant hopper resistance in a double haploid rice population.*Mol. Breed*. 3:105-113.

14- Juliano, B.O., and Duff B. (1991) *Rice grain quality as an emerging priority in national rice breeding programs.* In: Rice grain marketing and quality issues.IRRI, Philippines. Pp: 55-64.

15- Khush, G.S., Paule, C.M. and Delacruz N. (1979) *Rice grain quality evaluation and improvment at IRRI*.. In: Chemical aspects of rice grain quality. IRRI. Los Banos, Phlippines. PP.21-31.

16- Koyama M.L., Levesley, A. Koebner, R.M.D. Flowers T.J. and Yeo A.R. (2001) Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. *Plant Physiol.* 125 :406-422.

17- Lang N.T., Yanagihara, S. and Buu B.C. (2001a) A microsatellite marker for a gene contributing salt tolerance on rice at the vegetative and reproductive stages. *SABRAO Journal of Breed. and Genet*. 33(1):1-10.

18- Lang N.T., Yanagihara, S. and Buu B.C. (2001b) QTL analysis of salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). SABRAO *Journal of Breed. and Genet.* 33(1):11-20.

19- Lee, J.H (2000) *Molecular genetic analysis of quantitative trait loci related to rice yield,* yield component and grain quality. PhD thesis. Kwangwon National University. China.

20- McCouch S.R., Teytelman, L. Xu, Y. Lobos, K. B. Clare, K. Walton, M. Fu, B. Maghirang, R. Li, Z.K. Xing, Y. Zhang, Q. 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 and 257-279 (supplement).

21- McCouch S.R.,Cho, Y.G. Yano, M. Paul, E. and Blinstrub M. (1997) Report on QTL nomenclature. *Rice Genetic Newsletter.* 14:11-13.

22- Mckenzie, K.S. and Rutger J.N. (1983) Genetic analysis of amylose content, alkali spreading score, and grain dimensions in rice. *Crop Sci*. 23:306-313.

23- Olufowote, J.O., Xu, Y. Chen, X. Park, W.O. Beachell, H.M. Dilday, R.H. Goto, M. and McCouch S.R. (1997) Comparative evaluation of within cultivar variation of rice using microsatellite and RFLP markers. *Genome*. 40:370-378.

24- Panaud, O., Chen, X. and McCouch S.R. (1996) Development microsatellite markers and charactrization of Simple Sequence Length Polymorphism (SSLP) in rice. *Mol. Gen. Genet*. 252:597-607.

25- Peǎlba Mojica J (2002) *Molecular mapping of grain quality QTLs* (*Quantitative Trait Loci*) *in Rice* (*Oryza sativa* L.) *by selective genotyping using SSR* (*Simple Sequence Repeats).* B.S. thesis in Genetic. University of the Philippines Los Banǒs.

26- Pooni, H.S., Kumar, I. and Khush G.S. (1993) Genetic control of amylose content in selected crosses of indica rice. *Heredity* 70:269-280.

27- Singh, U.S., R. K. Singh and G. S. Khush (2000) *Aromatic Rices*. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. 292p.

28- Tan, Y.F (1999) The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, shanyou 63. *Theor. Appl. Genet*. 99:642-648.

29-Tan, Y.F., Xing, Y.Z. Li, J.X. Yu, S.B. Xu, C.G. and Zhang Q. (2000). Genetic bases of appearance quality of rice grain in shanyou 63 an elite rice hybrid. *Theor. Appl. Genet.* 101:823-829.

30-Tang, S.X., Khush, G.S. and Juliano B.O. (1991) Genetics of gel consistency in rice (*Oryza sativa* L.). *J. of Genet*. 70:69-78.

31- Temnykh, S., DeClerck, G. Lukashova, A. Lipovich, L. Cartinhour, S. and McCouch S.R. (2001) Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, *and genetic. Genome Research* 11(8):1441-1452.

32- Yang, G.P., Saghai Maroof, M.A. Xu, C.G. Zhang, Q. and Biyashew R.M. (1994) Comparative analysis of microsatellited DNA polymophism in landraces and cultivars of rice. *Mol. Gen. Genet.* 245:187-194.

33- Zaman, F.U., Prasad A.B. and Siddiq E.A. (1985) Genetical analysis of gel consistency in rice (*Oryza sativa* L.). *Indian J. Genet. Plant Breed*. 45(1):111-118.