Applied Biology, Volume 10, Issue 40, 2021

Research Article

Detection of gene loci related to drought tolerance in Iranian rice recombinant inbred lines[1]

FatemehAmirkolaei | MA., Agricultural Biotechnology, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. fatemeh_amirkolaei@yahoo.com
Hossein Sabouri | Associate Professor, Department of Plant Production, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. **(Corresponding Author).** hos.sabouri@gmail.com
Leila Ahangar | Assistants Professor, Department of Plant Production, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. l.ahangar63@gmail.com
Mehdi Zarei | Assistants Professor, Department of Plant Production, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. m_zarei_63@yahoo.com
Hossein Hosseini Moghadam | Assistants Professor, Department of Plant Production, Gonbad Kavous University, Golestan, Iran. hhm548@yahoo.com

Abstract

Objectives: The aim of this study was to determine the linked markers to genes controlling drought tolerance using Iranian rice recombinant inbred lines.

Materials and Methods:In this study, 99 Recombinant Inbred Lines of Iranian rice population derived from the cross of Tarom and Khazar were planted based on randomized complete design in 5 kg pots at the greenhouse of Gonbad Kavous University in 2017. The studied traits were grain weight, Panicle weight, Panicle length, number of Panicle fertile, number of Panicle infertile and number of primary branches. To prepare a genetic map 265 SSR markers, 12 ISSR markers (44 polymorphic alleles), 5 iPBS markers (22 polymorphic alleles) and 2 IRAP markers (8 polymorphic alleles) were used.

Results: The markers were used belonged to 12 chromosomes and 1047.4 cM of rice genome were covered. Five QTLs for drought condition and nine QTLs in flooding were located. QTLs related to number of infertile panicle and panicle weight in drought condition mapped between ISSR57-6 and ISSR58-2 markers, on chromosome 1. Also, out of QTLs identified in flooding condition, two QTLs related to the number of primary branches collocated to panicle weights QTLs on chromosomes 5 in IRAP30-1-ISSR2-1 region. qFGW-5, qPB, qFCN-3 and qSP explained a high percentage of phenotypic variation. The detected major effect QTLs in this study can be used in marker-assisted selection breeding programs after validation.

Keywords: Rice, QTL marker, Recombinant Iranian rice lines, Gene loci, Drought stress.

1. **Received:** 2020/03/08 ; **Accepted:** 2020/08/10

**Copyright © the authors

بیولوژی کاربردی، دوره ۱۰، شماره ۴۰، زمستان ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

شناسایی مکان‌های ژنی مرتبط با تحمّل به تنش خشکی در لاین‌های نوترکیب برنج ایرانی[۱]

فاطمه امیرکلائی | کارشناسی ارشد، رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. fatemeh_amirkolaei@yahoo.com
حسین صبوری | دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران (**نویسنده مسئول**). hos.sabouri@gmail.com
لیلا آهنگر | استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. l.ahangar63@gmail.com
مهدی زارعی | استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. m_zarei_63@yahoo.com
حسین حسینی‌مقدم | استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس، گلستان، ایران. hhm548@yahoo.com

چکیده

هدف: این پژوهش با هدف شناسایی نشانگرهای پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده تحمّل به خشکی با استفاده از لاین‌های نوترکیب برنج انجام شد.

مواد و روش‌ها: ۹۹ لاین نوترکیب نسل هشتم حاصل از تلاقی ارقام برنج طارم محلی × خزر در گلدانه‌های ۵ کیلوگرمی کشت شدند. وزن دانه و خوشه، طول خوشه، تعداد خوشه بارور و نابارور، تعداد خوشه‌چه اولیه، طول، عرض و تعداد روزنه، وزن، حجم و طول ریشه ثبت شد. برای تهیه نقشه ژنتیکی از ۶۵ نشانگر SSR و ۱۲ نشانگر ISSR (با ۴۴ آلل چند شکل) و ۵ نشانگر iPBS (با ۲۲ آلل چند شکل) و ۲ نشانگر IRAP (با ۸ آلل چند شکل) استفاده گردید.

یافته‌ها: نشانگرهای مورد استفاده ۱۲ کروموزوم و ۱۰۴۷/۴ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش دادند. به ترتیب هفت و یازده QTL برای صفات در شرایط تنش خشکی و غرقاب مکان‌یابی شدند. QTLهای مربوط به تعداد خوشه نابارور و وزن خوشه در شرایط تنش خشکی در فاصله نشانگری ISSR58-2–ISSR57-6 روی کروموزوم ۱ همپوشانی داشتند. همچنین از بین QTLهای یافت شده در شرایط غرقاب دو QTL مربوط به تعداد خوشه‌چه اولیه و وزن خوشه روی کروموزوم ۵ در فاصله نشانگری IRAP30-1 - ISSR2-1 هم‌مکانی نشان دادند. با توجه به اینکه qFGW-5، qPB-5، qSWD-5، qPLD-8، qFCN-3 و qSP-7a درصد قابل توجیهی از تغییرات را توجیه نمودند، بعد از تعیین اعتبار می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود.

کلیدواژه‌ها: برنج، نشانگر QTL، لاین‌های نوترکیب برنج ایرانی، مکان‌های ژنی، تنش خشکی.

---

۱. **تاریخ دریافت:** ۱۳۹۸/۱۲/۱۸ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۹/۰۵/۲۰

۱. مقدمه

برنج، یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی دنیا، اغلب کشورهای آسیایی و از جمله ایران به شمار می‌رود (۱). مناطق رشد آن شامل نواحی گرمسیر، نیمه‌گرمسیر و مناطق معتدل جهان است. عمدتهٔ مناطق رشد برنج در آسیا (۱۳۰ میلیون هکتار) با تنش‌های شدید زنده و غیرزنده که رایج‌ترین آن‌ها خشکی می‌باشد، مورد تهدید قرار می‌گیرند. این مناطق زمین‌های پست آبی و دیمی را که روی هم بیش از ۸۵ درصد برنج دنیا را تولید می‌کنند، به خود اختصاص می‌دهند (۲).

میزان تولید غلات جهان از ۰/۹ میلیارد تن در سال ۱۹۶۰ به ۲ میلیارد تن در سال ۲۰۰۶ افزایش یافته است و تولید برنج حدود سه برابر، یعنی از ۲۰۰ میلیون تن در سال ۱۹۶۰ به حدود ۶۳۵ میلیون تن در سال ۲۰۰۶ افزایش یافته است، اما زمین‌های کشت برنج افزایش قابل ملاحظه‌ای نداشته‌اند (۳). برآورد شده که تولید جهانی برنج در سال ۲۰۱۱ برابر با ۷۲۰ میلیون تن است و تقاضا برای این محصول در سال ۲۰۲۵ برابر با ۸۰۰ میلیون تن خواهد بود. این مقدار اضافی از برنج با استفاده از زمین کم‌تر، آب کم‌تر، کار کم‌تر و نهاده‌های شیمیایی کم‌تر باید تولید شود، بنابراین، افزایش در تولید برنج امروزه یک چالش است.

با وجود این‌که آب فراوان‌ترین ماده در سطح زمین می‌باشد، اما محدودیت در دسترسی به آن موجب کاهش تولید محصولات کشاورزی می‌شود (۴). در ایران نیز در سال‌های اخیر، به دلیل کمبود نزولات و کاهش منابع آب جاری، خشکی به عنوان مانع جدی برای تولید برنج مطرح است. بنابراین، یکی از چالش‌های اصلی در کشاورزی، تولید غذای بیشتر با آب کم‌تر می‌باشد (۲). برای رفع این مشکل افزایش تحمل به تنش خشکی از طریق اصلاح و معرفی ارقام متحمل، راه‌حلی اقتصادی برای غلبه بر کمبود غذا در آینده محسوب می‌شود (۵). در این راستا، مکان‌یابی QTLها ابزار مفید و قابل دسترسی برای به‌نژادگران گیاهی در زمینه روشن شدن اساس ژنتیکی صفات مرتبط با تحمل به تنش و تعیین راهکارهای مناسب برای برنامه‌های اصلاحی محسوب می‌شود (۶).

با پیشرفت‌هایی که در زمینه اصلاح نباتات مولکولی از جمله معرفی روش‌های پیشرفته فناوری نشانگرهای مولکولی، تهیه نقشه‌های پیوستگی و مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات

کمی[1] انجام شده، اصلاح برای تحمل به تنش خشکی تسهیل گردید است (۷). هم‌اکنون، به‌نژادگران نبات درپی کسب اطلاعات در خصوص مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی هستند تا با دستکاری آن‌ها، صفت مربوطه را بهبود بخشند. برای رسیدن به چنین هدفی باید تعدادی نشانگر ژنتیکی که به خوبی در طول ژنوم مربوطه توزیع شده‌اند، شناسایی شوند (۸). وقتی که نشانگرها در مجاورت یک QTL قرار بگیرند، آنگاه اگر انتخاب بهترین گیاه براساس نشانگر انجام شود[2]، در واقع به بهترین ژنوتیپ دست خواهیم یافت و پاسخ به انتخاب به حداکثر خواهد رسید (۹). براساس اطلاعات حاصل از QTLها، تلاقی‌ها طراحی شده و احتمال تجمع عمده QTLهای مطلوب در ژنوتیپ‌ها به حداکثر می‌رسد (۱۰-۱۱).

یك QTL روی کروموزوم ۱ در فاصله نشانگری RM8115-RM466 برای طول خوشه شناسایی شد (۱۲). می و همکاران[3] (2003) برای صفت طول خوشه سه QTL به نام‌های qPL-2، qPL -۸ و qPL-10 به ترتیب با میزان توجیه تغییرات فنوتیپی ۸/۵ ،۱۱/۲، ۱۵/۶درصد روی کروموزوم‌های ۲، ۸ و ۱۰ مکان‌یابی کردند (۱۳). همچنین اهمیت اثر متقابل ژنوتیپ و محیط برای صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج با استفاده از مکان‌یابی QTLها بررسی شد. در مجموع، ۱۴۵ QTL روی ۳۷ مکان کروموزومی ردیابی گردید. از بین QTLهای ردیابی شده، تعداد ۵ عدد، با محیط اثر متقابل نشان دادند (۱۴).

در تحقیقی دیگر به منظور مکان‌یابی و تعیین خصوصیات QTLهای مرتبط با طول سنبله، تعداد دانه پر، تعداد دانه خالی، تعداد سنبلچه هر سنبله و عقیمی دانه از جمعیتی شامل ۵۹ لاین تلاقی برگشتی پیشرفته (BC2F5) استفاده شد. این جمعیت از تلاقی واریته‌های برنج IRG4 به عنوان والد دوره‌ای و طارم مولایی به عنوان والد دهنده به دست آمده بود.

بررسی چند شکلی در والدین و مطالعه ژنوتیپی جمعیت به ترتیب با ۲۳۵ و ۱۱۴ نشانگر ریزماهواره انجام شد. در مجموع تعداد بیست و شش QTL مکان‌یابی شد که ۸ مورد برای طول سنبله، ۳ مورد برای تعداد سنبلچه، ۲ عدد برای تعداد دانه‌های پر، ۴ عدد برای تعداد دانه خالی و ۹ عدد هم برای عقیمی دانه بود و حدود ۴۶ درصد مکان‌های ژنی شناسایی شده دارای اثر افزایشی

1. Quantitative Trait Loci
2. MAS
3. Mei & et al.

منفی بودند (۱۵).

جهت شناسایی ارقام برنج متحمل به تنش خشکی، ۲۱ رقم در دو محیط نرمال و تنش خشکی، در منطقه گنبد مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بررسی نشان داد که ارقام IRAT216 و CALAPO بیشترین عملکرد شلتوک را در هر دو محیط تحت تنش خشکی و نرمال و رقم DINORADO نیز با میانگین عملکرد ۰/۸۳۳ تن در هکتار، در هر دو محیط کم‌ترین عملکرد را داشت (۱۶). برای تعیین و تشخیص نواحی ژنی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج نیز آزمایشی انجام شد (۱۷)، بررسی فنوتیپی صفات مورد مطالعه حاکی از وجود تغییرات کمی و پیوسته بود. برای کلیه این صفات، ارزش‌هایی بیشتر از والد دارای حداکثر مقدار صفت و کم‌تر از والد دارای حداقل صفت دیده شد که مبین تفکیک متجاوز برای این صفات بود. در این پژوهش، تعداد ۳۳ نشانگر چند شکل، از بین ۱۰۶ نشانگر بررسی شده متعلق به کروموزوم‌های ۱ و ۶، در دو گروه پیوستگی قرار گرفتند.

در مجموع، ۲۴ QTL مرتبط با صفات ارزیابی شده شناسایی گردید. برای صفت تعداد روز تا گلدهی، مکان ژنی کنترل‌کننده روی کروموزوم ۶ شناسایی شد و اثر افزایشی آن ۴/۶۱۴- بود. برای ارتفاع بوته نیز یک QTL روی کروموزوم ۶ در حد فاصل نشانگرهای RM۱۶۲-RM ۴۶۱ شناسایی گردید.

برای طول خروج خوشه از غلاف و طول خوشه، دو مکان ژنی کمی کنترل‌کننده روی کروموزوم ۶ قرار داشت. برای تعداد دانه پر در خوشه، سه مکان ژنی کمی روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ با اثر افزایشی آلل IR۲۸ شناسایی شد. مکان‌های ژنی کمی شناسایی شده برای وزن دانه و وزن خوشه روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ قرار داشتند. برای میزان سوختگی برگ، دو QTL مشاهده گردید. برای میزان لوله شدن برگ سه QTL تشخیص داده شد که از بین آن‌ها qROL-۱ بیش از سایر QTLها توانست تغییرات میزان لوله شدن برگ را کنترل کند. برای درصد باروری، سه QTL ردیابی شد که بیشترین تغییرات را QTL روی کروموزوم ۶ توجیه نمود (۱۷).

در مطالعه دیگری، صفات مربوط به مورفولوژی ریشه، در جمعیت لاین خویش‌آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام AZUCEANA و BALA مورد مطالعه قرار گرفت. این صفات در شرایط کنترل شده گلخانه اندازه‌گیری شدند. هفت QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۴، ۷، ۹ (دو QTL) و ۱۱ ردیابی گردید (۱۸). سه QTL برای وزن خشک نسبی ریشه روی کروموزم‌های ۱، ۷ و ۸ مکان‌یابی شد. برای حجم ریشه در شرایط غرقاب یک مکان در موقعیت ۱۸ روی کروموزوم۱

شناسایی شد. صفات حجم ریشه qRVN-2A، qRVN-4A و qRVN-4B و تعداد ریشه qRNN-4 کنترل بیش از ۲۰ درصد از تنوع تغییرات فنوتیپی صفات را برعهده داشتند و به عنوان مکان‌های ژنی بزرگ اثر شناخته شدند (۱۹). از اهداف این پژوهش شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده (QTL) خصوصیات مرتبط با تحمل به تنش خشکی در مرحله زایشی، تعیین سهم و نحوه اثر QTLهای شناسایی شده در تغییرات فنوتیپی صفات مورد بررسی و تعیین وراثت‌پذیری صفات و سهم اثر افزایشی آلل‌های والدینی برای QTLهای مکان‌یابی شده در جمعیت برنج بـود.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد گیاهی و محل انجام پژوهش

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل ۹۹ ژنوتیپ F_8 حاصل از تلاقی ارقام طارم محلی و خزر بود. این آزمایش در سال ۱۳۹۶ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس اجرا گردید. ابتدا بذور با هیپوکلرید سدیم دو درصد ضدعفونی شدند. بذور ضد عفونی شده داخل پتری‌دیش قرار گرفتند و پس از اینکه به‌وسیله آب مقطر استریل کاملاً مرطوب شدند، به مدت ۴ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد مدل 1600 SP (ساخت شرکت WEISS TECHNIK) جوانه‌دار شدند.

بذور بعد از جوانه‌زنی به گلدان‌های حاوی ۵ کیلوگرم خاک مزرعه برنج منتقل گردیدند. در ابتدا آبیاری به صورت غرقاب انجام می‌گرفت، اما با ظهور اولین خوشه‌چه‌ها آبیاری گلدان‌های تحت تنش قطع گردید و به فاصله زمانی هر ۵ روز یک بار انجام می‌گرفت. بعد از اتمام مرحله رشد زایشی، گیاه از گلدان برداشت و به آزمایشگاه جهت اندازه‌گیری صفات فنوتیپی منتقل شد. صفات مورد ارزیابی در این پژوهش شامل وزن دانه، وزن خوشه، طول خوشه، تعداد خوشه بارور، تعداد خوشه نابارور و تعداد خوشه‌چه اولیه ، طول، عرض، تعداد روزنه، وزن ریشه، حجم ریشه و طول ریشه بود (۲۰).

۲-۲. ارزیابی مولکولی

به منظور تهیه نقشه پیوستگی از ۶۵ نشانگر SSR و ۱۲ نشانگر ISSR (۴۴ آلل)، ۵ نشانگر iPBS (با ۲۲ نشانگر چند شکل) و ۲ نشانگر IRAP (با ۸ نشانگر چند شکل)، استفاده شد و

روی نقشه نهایی قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) در حجم ۱۰ میکرولیتر برای هر نمونه DNA انجام پذیرفت و برای تکثیر جایگاه‌های SSR و ISSR در برنامه حرارتی تاچ داون قرار گرفت. برای مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی و صفات مرتبط با تحمل به خشکی، نمونه‌های برگی ۹۹ لاین گرفته شد و DNA ژنومی آن‌ها به روش CTAB استخراج گردید (۲۱) و در نهایت کیفیت و کمیت DNA استخراج شده، بررسی شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در ابتدا تنها برای نمونه‌های DNA والدینی(طارم محلی × خزر) با استفاده از نشانگرهای تصادفی iPBS و IRAP و نشانگرهای SSR انجام شد. فرآورده‌های PCR کلیه آغازگرهای چند شکل بر روی ژل پلی‌اکریلامید واسرشته‌ساز ۸ درصد، بارگزاری شدند. بدین صورت که ۴ میکرولیتر از محصولات PCR همراه ۲ میکرولیتر محلول بارگذاری (day 6x) در چاهک‌های ژل الکتروفورز تزریق گردید. پس از پایان کار و شستشوی ژل‌ها، از روش سریع نیترات نقره برای رنگ‌آمیزی و بهتر نشان دادن باندها استفاده شد. در نهایت ژل در یخچال نگه‌داری و برای تعیین ژنوتیپ استفاده گردید.

۲-۳. تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تهیه نقشه ژنتیکی، از نرم‌افزار MapManager QTX17 (۲۲) و برای رسم نقشه از نرم‌افزار MapChart (۲۳) و در نهایت برای پیدا کردن QTLها از Qgene (۲۴) استفاده شد.

جدول ۱- مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در نشانگرهای SSR

اجزای واکنش	مقدار مواد (میکرولیتر)	غلظت مواد
بافر PCR10X	۱	1X
$MgCl_2$	۰/۴۸	۵۰ میلی‌مولار
dNTP	۰/۶	۱۰ میلی‌مولار
آنزیم Taq DNA پلی‌مراز	۰/۱۲	
آغازگر مستقیم	۰/۷۵	۶۰ نانوگرم
آغازگر معکوس	۰/۷۵	۶۰ نانوگرم
DNA رقیق شده	۲/۵	۰/۵-۰/۷۵ نانوگرم
H_2O	۳/۸	
حجم نهایی	۱۰	

جدول ۲- برنامه حرارتی برای تکثیر جایگاه‌های SSR

مرحله	دما (°C)	زمان (دقیقه) و (ثانیه)	تعداد چرخه
واسرشته‌سازی اولیه DNA	۹۴	۵′	۱
واسرشته‌سازی DNA	۹۴	۱	
اتصال آغازگرها	۶۴	۳۰″	۱۸
سنتز	۷۲	۱′	
واسرشته‌سازی DNA	۹۴	۱′	
اتصال آغازگرها	۵۵	۱′	۳۰
سنتز	۷۲	۱′	
تکثیر نهایی	۷۲	۵′	۱

جدول۳- مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در نشانگر ISSR

اجزای واکنش	مقدار مواد (میکرولیتر)	غلظت مواد
بافرPCR10X	۱	1X
MgCl2	۰/۴۸	۵۰ میلی‌مولار
dNTP	۰/۶	۱۰ میلی‌مولار
آنزیم Taq DNA پلی‌مراز	۰/۱۲	
آغازگر	۱/۵ میکرولیتر	۶۰ نانوگرم
DNA رقیق شده	۲/۵ میکرولیتر	۰/۵–۰/۷۵ نانوگرم
H2O	۳/۸ میکرولیتر	
حجم نهایی	۱۰ میکرولیتر	

جدول ٤- برنامه حرارتی تاچ داون برای تکثیر جایگاه‌های ISSR

مرحله	دما (°C)	زمان (دقیقه) و (ثانیه)	تعداد چرخه
واسرشته‌سازی اولیه DNA	۹۵	۵′	۱
واسرشته‌سازی DNA	۹۵	۴۵″	۱۰
اتصال آغازگرها	–	۴۵″	
سنتز	۷۲	۴۵″	
واسرشته‌سازی DNA	۹۵	۴۵″	۲۵
اتصال آغازگرها	–	۴۵″	
سنتز	۷۲	۴۵″	
تکثیر نهایی	۷۲		

۳. نتایج و بحث

QTLهای شناسایی شده در شرایط تنش خشکی

برای تعداد خوشه نابارور یک QTL روی کروموزوم ۱ در فاصله ۱۲ سانتی‌مورگان بین نشانگرهای ISSR58-2 - ISSR57-6 ردیابی شد. این QTL با اثر افزایشی ۳/۵۲۵ باعث افزایش تعداد خوشه نابارور گردید. آلل افزایش‌دهنده از والد خزر به ارث رسید. QTL مذکور ۹ درصد تغییرات فنوتیپی را توجیه نمود. برای وزن خوشه، یک QTL در کروموزوم ۱ شناسایی گردید. این QTL دارای LOD برابر با ۲/۴۰۲ در فاصله کروموزومی ۱۲ سانتی‌مورگان بین دو نشانگر ISSR58-2 - ISSR57-6 قرار داشت که دارای اثر افزایشی ۱۰۵/۷۲ بود و والد طارم محلی، موجب افزایش این صفت گردید.

ضریب تبیین QTL فوق ۹/۴ درصد تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه نمود. برای طول خوشه یک QTL روی کروموزوم ۸ با LOD برابر با ۲/۴۰۶ قرار داشت. که در فاصله نشانگری RM4955-RM447 با اثر افزایشی۱/۷- از طرف والد خزر بود. میزان تغییرات توجیه شده بوسیله این QTL، ۱۰/۶ درصد بود. همچنین QTL مربوط به تعداد خوشه‌چه اولیه در یک موقعیت روی کروموزوم ۵ شناسایی شد. این QTL در موقعیت ۵۰ سانتی‌مورگان روی کروموزوم، در فاصله نشانگری IRAP30-1 - ISSR2-1، LOD =۲/۷۲۶، ۱۱/۹ درصد تغییرات تعداد خوشه‌چه اولیه را توجیه نمود. آلل کاهنده آن از والد طارم محلی ۱/۳۷۶- تعداد خوشه‌چه‌ها را کاهش داد. QTL شناسایی شده برای وزن کل در موقعیت ۱۱۸ روی کروموزوم ۱ و در فاصله نشانگری RM259-iPBS2238-5 قرار دارد.

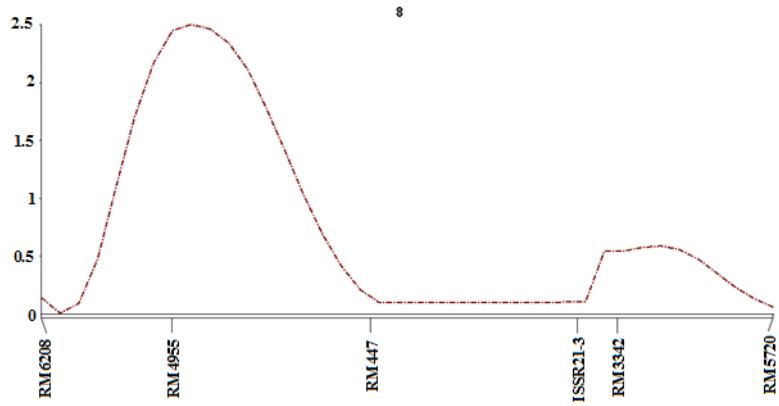
QTLهای شناسایی شده در شرایط غرقاب

QTL مربوط به وزن دانه پر روی کروموزوم شماره ۵ در موقعیت ۵۶ سانتی‌مورگان از روی کروموزوم، فاصله نشانگری RM480 - ISSR2-1، LOD=2/609 و واریانس فنوتیپی ۱۱/۴ درصد ردیابی شد. QTL مذکور با اثر افزایشی از طرف والد خزر، باعث افزایش وزن دانه پر شد. برای تعداد خوشه بارور یک QTL شناسایی گردید. این QTL روی کروموزوم ۳ در موقعیت ۰، در فاصله نشانگری RM6832، میزان LOD =۲/۴۳۶، واریانس فنوتیپی ۱۰/۷ و اثر مثبت از والد طارم محلی به اندازه ۱/۲۷۱ باعث افزایش آن شد. QTL مربوط به تعداد خوشه نابارور در دو موقعیت شناسایی شد. QTL اول در کروموزوم شماره ۷ در موقعیت ۷۰ سانتی‌مورگان، با

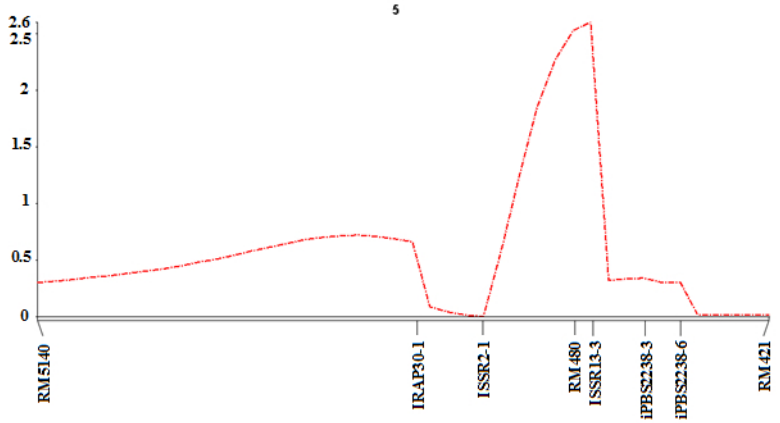
فاصله نشانگری RM5481-RM11، LOD=2/47 و واریانس فنوتیپی ۱۰/۹ بود. اثر مثبت از والد طارم محلی و QTL دوم در موقعیت ۴۲، با فاصله نشانگری RM134 - iPBS2224-2 و LOD=2/129، واریانس فنوتیپی ۹/۴ و اثر مثبت از والد طارم محلی شناسایی گردید. برای وزن خوشه‌ها یک QTL روی کروموزوم شماره ۷ در موقعیت ۷۲ سانتی‌مورگان، با فاصله نشانگری RM5481-RM11، LOD=2/172 با واریانس فنوتیپی ۹/۶درصد ردیابی شد و اثر مثبت از جهت والد طارم محلی باعث افزایش آن شد. QTL مربوط به طول خوشه روی کروموزوم شماره ۵، در موقعیت ۵۰ سانتی‌مورگان از روی کروموزوم، با فاصله نشانگری ISSR2-1 - IRAP30-1 ,LOD=2/156، واریانس فنوتیپی ۹/۵ و اثر مثبت از والد خزر شناسایی گردید. برای وزن ریشه یک QTL در موقعیت ۱۸ روی کروموزوم ۱ شناسایی شد.

همچنین در شرایط تنش خشکی یک QTL برای عرض روزنه در موقعیت ۴۲ سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم ۵ شناسایی شد که ۱۱/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه کرد. برای تعداد روزنه در شرایط تنش خشکی نیز یک QTL در موقعیت ۳۸ سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم ۵ با LOD برابر با ۲/۶۰۳ شناسایی شد.

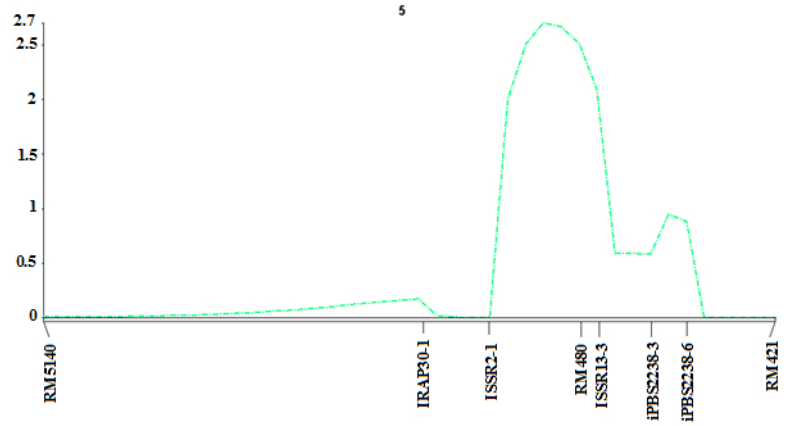
در شرایط نرمال برای طول روزنه، ۳ عدد QTL بر روی کروموزوم‌های ۱۲ و ۷ (دو مورد) ردیابی شد که مقدار LOD آن‌ها به ترتیب برابر با ۳/۴۶۳، ۳/۰۸۴ و ۳/۰۲۱ است.



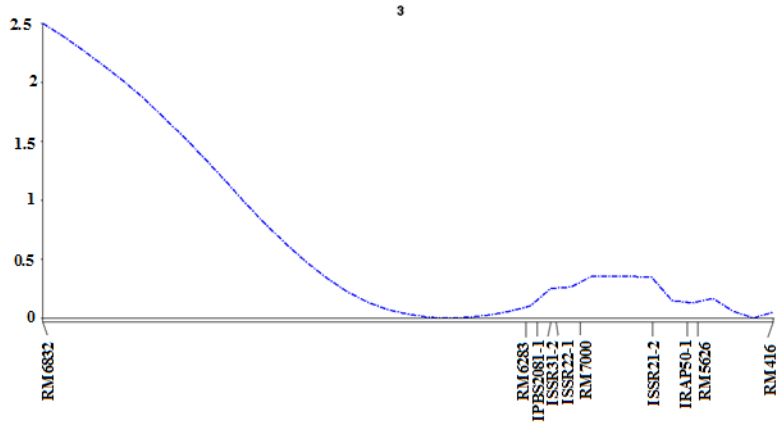
شکل ۱- نمایش گرافیکی QTLهای شناسایی شده و مقادیر LOD برای صفت طول خوشه روی کروموزوم ۸ تحت تنش خشکی



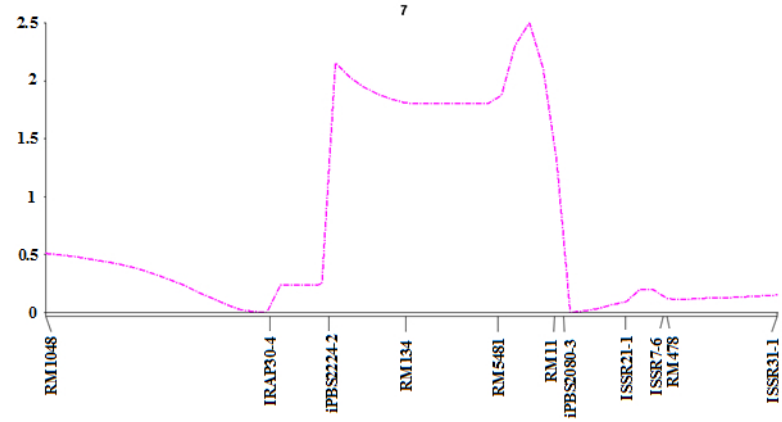
شکل ۲- نمایش گرافیکی QTLهای شناسایی شده و مقادیر LOD برای صفت تعداد خوشه‌چه اولیه در شرایط غرقاب روی کروموزوم ۵



شکل ۳- نمایش گرافیکی QTLهای شناسایی شده و مقادیر LOD برای صفت وزن دانه پر در شرایط غرقاب روی کروموزوم ۵



شکل ٤- نمایش گرافیکی QTLهای شناسایی شده و مقادیر LOD برای صفت تعداد خوشه بارور در شرایط غرقاب روی کروموزوم ۳

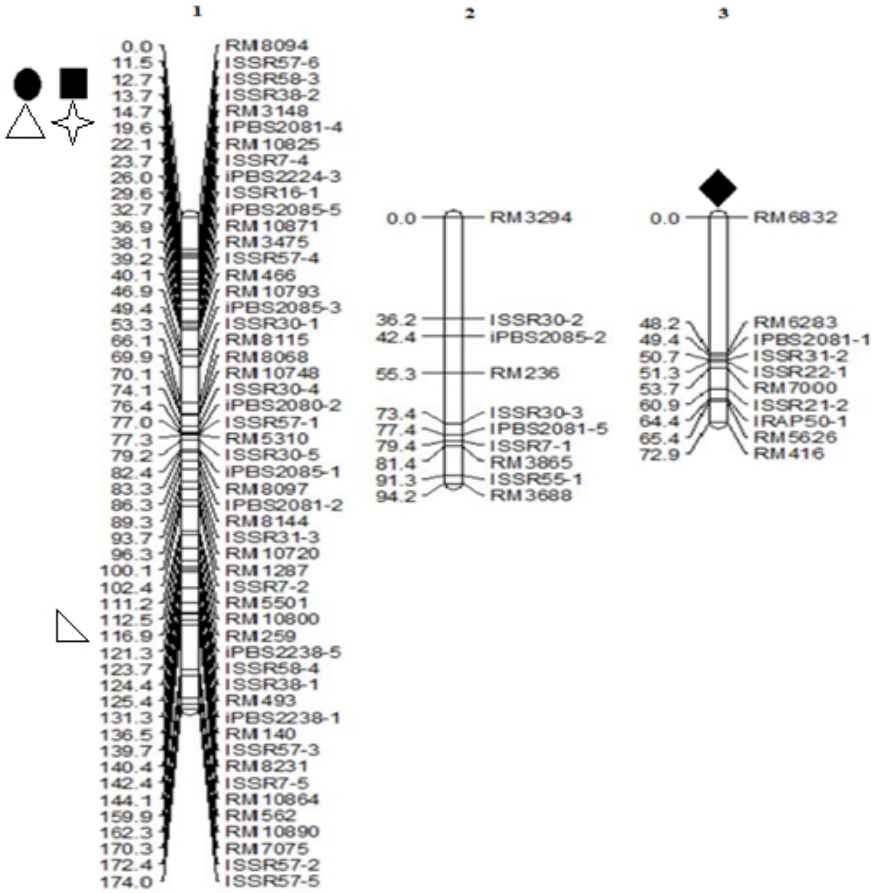


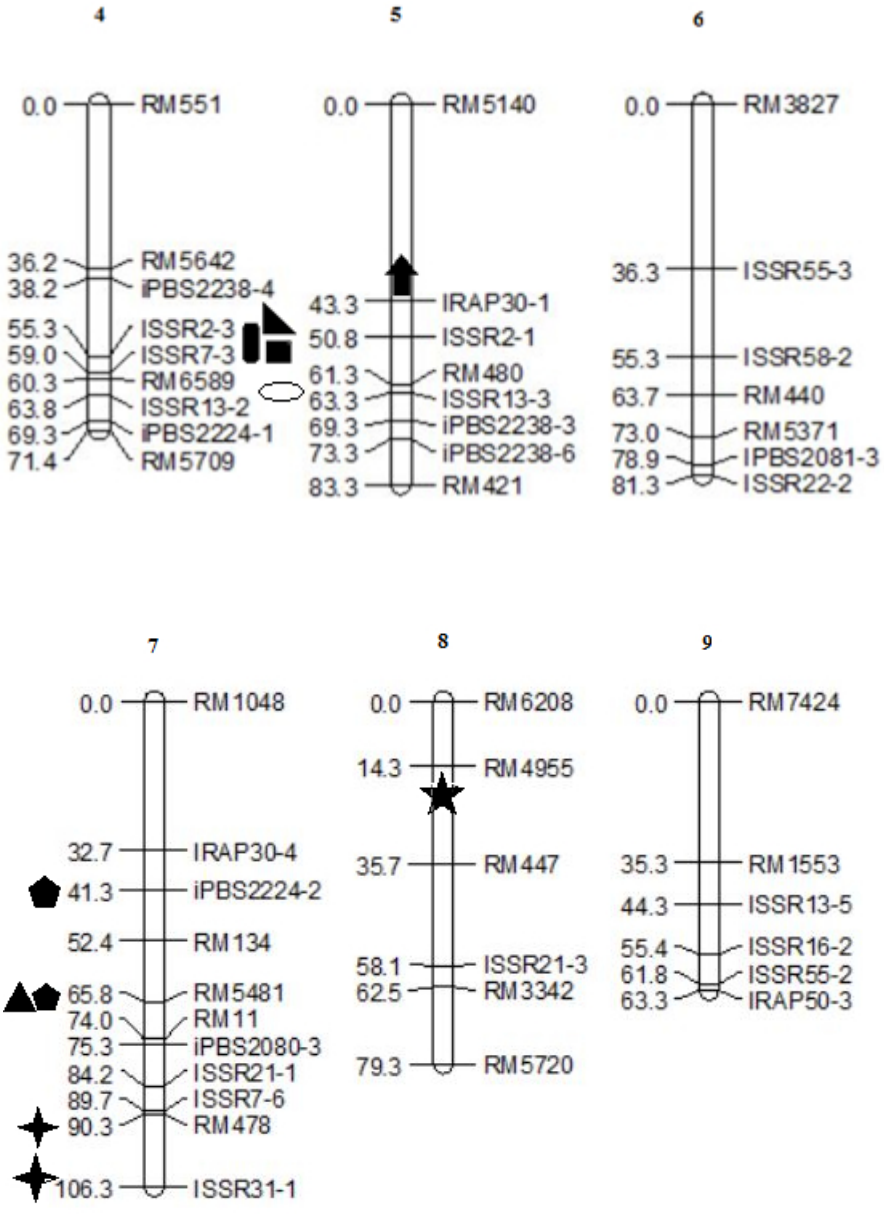
شکل ٥- نمایش گرافیکی QTLهای شناسایی شده و مقادیر LOD برای صفت تعداد خوشه نابارور در شرایط غرقاب روی کروموزوم ۷

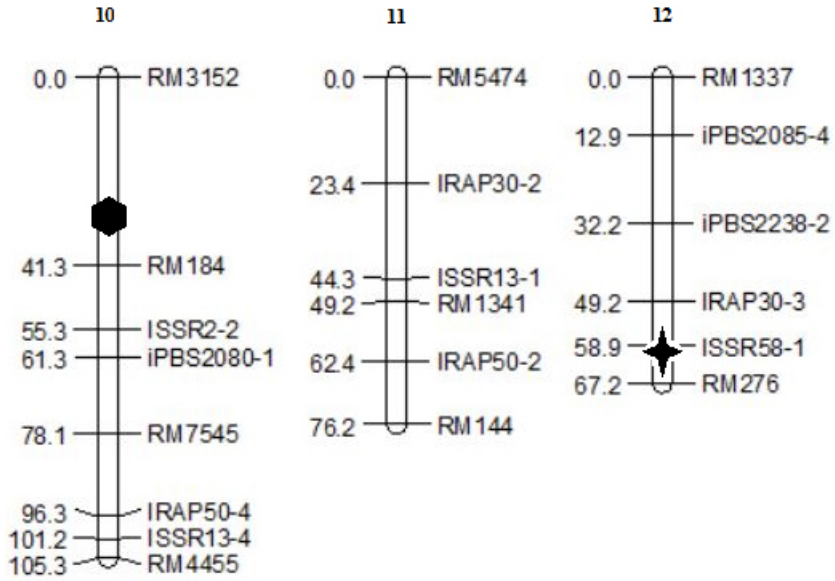
٤. نتیجه‌گیری

با توجه به مکان‌یابی ژنی برای صفات تحت تنش خشکی، سه QTL شناسایی شد که یک مکان برای تعداد خوشه نابارور و یک مکان برای وزن خوشه شناسایی گردید که با یکدیگر هم‌پوشانی داشته و در کروموزوم ۱ و در موقعیت ۱۲ سانتی‌مورگان و فاصله نشانگری ISSR58-2 - ISSR57-6 قرار دارند. همچنین هفت QTL برای صفات اندازه‌گیری شده در شرایط نرمال شناسایی گردید که از این بین QTL مربوط به تعداد خوشه‌چه اولیه و طول خوشه در کروموزوم ۵ در موقعیت ۵۰، با فاصله نشانگری IRAP30-1 - ISSR2-1 با یکدیگر هم‌پوشانی نشان دادند.

به طور کلی در این پژوهش تعداد ۱۹ مکان ژنی روی ۷ کروموزوم برنج برای ۱۶ صفت زراعی در شرایط نرمال و تنش خشکی شناسایی شد. صفت تعداد خوشه نابارور و وزن خوشه در فاصله نشانگری ISSR58-2 - ISSR57-6 در شرایط تنش خشکی روی کروموزوم ۱، در موقعیت ۱۲ با یکدیگر هم‌پوشانی نشان دادند. همچنین وزن خوشچه اولیه و طول خوشه در فاصله نشانگری IRAP30-1 - ISSR2-1 روی کروموزوم ۵ در موقعیت ۵۰ با یکدیگر هم‌پوشانی داشتند. حجم ریشه و وزن ریشه در غرقاب در موقعیت ۱۸ روی کروموزوم ۱ در فاصله نشانگری RM3148-iPBS2081-4 هم‌مکانی نشان دادند. بیشترین تعداد QTL برای طول روزنه در شرایط غرقاب شناسایی شد که از بین QTL۳، ۲ مکان روی کروموزوم ۷ و ۱ مکان روی کروموزوم ۱۲ قرار دارد. بیشترین مکان شناسایی شده روی کروموزوم ۵ با QTL۳ در شرایط غرقاب و QTL۱ در شرایط تنش خشکی و کروموزوم ۷ با QTL۴ در شرایط غرقاب بود.




4
0.0 RM551
36.2 RM5642
38.2 iPBS2238-4
55.3 ISSR2-3
59.0 ISSR7-3
60.3 RM6589
63.8 ISSR13-2
69.3 iPBS2224-1
71.4 RM5709
5
0.0 RM5140
43.3 IRAP30-1
50.8 ISSR2-1
61.3 RM480
63.3 ISSR13-3
69.3 iPBS2238-3
73.3 iPBS2238-6
83.3 RM421
6
0.0 RM3827
36.3 ISSR55-3
55.3 ISSR58-2
63.7 RM440
73.0 RM5371
78.9 IPBS2081-3
81.3 ISSR22-2
7
0.0 RM1048
32.7 IRAP30-4
41.3 iPBS2224-2
52.4 RM134
65.8 RM5481
74.0 RM11
75.3 iPBS2080-3
84.2 ISSR21-1
89.7 ISSR7-6
90.3 RM478
106.3 ISSR31-1
8
0.0 RM6208
14.3 RM4955
35.7 RM447
58.1 ISSR21-3
62.5 RM3342
79.3 RM5720
9
0.0 RM7424
35.3 RM1553
44.3 ISSR13-5
55.4 ISSR16-2
61.8 ISSR55-2
63.3 IRAP50-3



شکل ٦- QTLهای کنترل‌کننده صفات زراعی نسل F8 حاصل از تلاقی طارم محلی × خزر در برنج

جدول۵- جایگاه ژنومی صفات گیاهی مورد ارزیابی و نشانگرهای مولکولی پیوسته با آن‌ها در ژنوتیپ‌های نسل F_8 حاصل از تلاقی طارم محلی × خزر، در شرایط تنش خشکی و غرقاب

تعداد خوشه نابارور در تنش	وزن خوشه در تنش	طول خوشه در تنش	وزن دانه پر در نرمال	تعداد خوشه‌چه اولیه در نرمال
تعداد خوشه بارور در نرمال	تعداد خوشه نابارور در نرمال	وزن خوشه در نرمال	طول خوشه N	تعداد روزنه در تنش
طول روزنه در نرمال	عرض روزنه در تنش	ارتفاع کل در تنش	وزن کل در تنش	وزن ریشه در نرمال
حجم ریشه در نرمال				

صفت	QTL	شماره کروموزوم	موقعیت	مارکر	LOD	اثر افزایشی	R2	جهت الل‌ها
تعداد خوشه نابارور NFTD	qSPD-1	۱	۱۲	ISSR57-6 - ISSR58-2	۲/۰۱۷	۳/۵۲۵	۹	KHZ
وزن خوشه PDW	qPWD-1	۱	۱۲	ISSR57-6 - ISSR58-2	۲/۱۱۷	۱۰۵/۷۲	۹/۴	TAM
طول خوشه PLD	qPLD-8	۸	۱۶	RM4955-RM447	۲/۴۰۶	−۱/۷	۱۰/۶	KHZ
ارتفاع کل TH	qtlTHD-3	۵	۶۲	RM480-ISSR13-3	۲/۵۷۳	۷,۸۸۹	۱۱/۳	TAM
وزن کل TW	qtlTWD-2	۱	۱۱۸	RM259-iPBS2238-5	۲/۳۸۶	۵,۳۳۶	۱۰/۵	TAM
عرض روزنه DS	qSWD-5	۵	۴۲	RM5140-IRAP30-1	۲/۶۰۳	−۱/۶۹۴	۱۱/۴	KHZ
تعداد روزنه NS	qSND-10	۱۰	۳۸	RM3152-RM184	۲/۲۲	۲/۲۲۲	۹/۸	TAM
وزن دانه پر GWF	qFGW-5	۵	۵۶	ISSR2-1 - RM480	۲/۶۰۹	۰/۷۱۹	۱۱/۴	KHZ
تعداد خوشه‌چه اولیه PBF	qPB-5	۵	۵۰	IRAP30-1 - ISSR2-1	۲/۷۲۶	−۱/۳۷۶	۱۱/۹	TAM
تعداد خوشه بارور FTF	qFCN-3	۳	۰	RM6832	۲/۴۳۶	۱/۲۷۱	۱۰/۷	TAM
تعداد خوشه نابارور NFTF	qSP-7a qSP-7b	۷	۷۰ ۴۲	RM5481-RM11 iPBS2224-2 - RM134	۲/۴۷ ۲/۱۲۹	−۲/۷۷۱ −۱۸/۳۴۴	۱۰/۹ ۹/۴	TAM TAM
وزن خوشه PWF	qPW-7	۷	۷۲	RM5481-RM11	۲/۱۷۲	۹/۶	۲	TAM
طول خوشه PLF	qPL-5	۵	۵۰	IRAP30-1 - ISSR2-1	۲/۱۵۶	۹/۵	۲/۳۱۵	KHZ
وزن ریشه RW	qtlRW-2	۱	۱۸	RM3148-iPBS2081-4	۲/۳۱۷	۱۶/۱۲	۰/۱۰۲	TAM
حجم ریشه RV	qtlRV-2	۱	۱۸	RM3148-iPBS2081-4	۲/۳۸۳	۱۵/۸۸۷	۰/۱۰۵	TAM
طول روزنه LS	qSL-12 qSL-7a qSL-7b	۱۲ ۷ ۷	۶۰ ۹۰ ۱۰۴	ISSR58-1-RM276 ISSR7-6-RM478 RM478-ISSR31-1	۳/۴۶۳ ۳/۰۸۴ ۳/۰۲۱	۷/۰۰۳ ۱/۶۴۲ ۱/۶۴۸	۰/۱۴۹ ۰/۱۳۴ ۰/۱۳۱	TAM TAM TAM

زیرِ نشانگرهایی که به QTL نزدیک هستند، خط کشیده شده است.

References

1. Lu C, Shen L, Tan Z, Xu Y, Chen Y, & et al. Comparative mapping of QTLs for agronomic traits of rice across environments using a doubled-haploid population. *Theoretical and Applied Genetics*. 2002; 93: 1211-1217.
2. Moradi A, Younesi O. Effects of osmo- and hydro- priming on seed parameters of grain sorghum (Sorghum bicolor L.). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2009; 3:1696-1700.
3. FAO. FAOstat. *Agriculture database*. Rome: Food and Agriculture Organization; 2006. Available at: http://www.fao.org/faostat.
4. Pospisilova J, Synkova H & Rulcova J. Cytokinins and water stress. *BiologiaPlantarum.* 2000; 43: 321-328.
5. Haq TU, Akhtar J, Gorham J, Steele KA & Khalid M. Genetic mapping of QTLs, controlling shoot fresh and dry weight under salt stress in rice (Oryza sativa L.) Cross between CO39×Moroberekan. *Pakistan Journal of Botany*. 2008; 40(6): 2369-2381.
6. Gregorio GB, Senadhira D & Mendoza RD. Screening rice for salinity tolerance. *IRRI Discussion Paper Series*.1997; No. 22. Manila (Philippines): ln1erna1ional Rice Research Institute.
7. Gorantla M, Babu PR, Reddy Lachagari VB, Reddy AMM, Wusirika R, Bennetzen JL & Reddy AR. Identification of stress-responsive genes in an indica rice (Oryza sativa L.) Using ESTs generated from drought- stressed seedlings. *Journal of Experimental Botany*. 2007; 58: 253-265.
8. Voorrips RE. Map Chart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*. 2002; 93(1): 77-78.
9. Sabouri H, Sabouri A & Khatami-Nejad R. Determination of QTLs of some traits related to drought tolerance in rice. *Journal of Production and Processing of Crop and Gardening*. 2011; 2(4): 1-12.
10. Cardinal AJ, Lee M & Moore KJ. Genetic mapping and analysis of quantitative trait loci affecting fiber and lignin content in maize. *Theoritical and Appllied Genetics.* 2003; 106: 866-874.
11. Collard BC & Mackill DJ. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B:Biological Sciences*. 2008; 363: 557-572.
12. Sabouri H & Mohammadalegh Sh. Dadras AIdentification of knowledgeable markers related to rice root characteristics in early stages of growth under drought stress conditions using relationship analysis. *Iranian Crop Science*. 2016; 48(1): 182-171.
13. Mei HW, Luo LJ, Ying CS & Wang YO. Gene actions of QTLs affecting several agronomic traits resolved in a recombinant inbred population and two testcross populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003; 107: 89-101.
14. MacMillan K, Emrich K, Piepho HP, Mullins CE & Price AH. Assessing the importance

of genotype × environment interaction for root traits in rice using a mapping population. II: Conventional QTL analysis. *Theoretical and Applied Genetics*. 2006; 113: 953-964.

15. Ahmadi J, Photokian MH & Fabrici Orang P. Investigation of the Relationship between Microsatellite Markers (SSR) and Functional Components QTLs in Rice (*Oriza Sativa*). *Modern Genetic*. 2008; 3(4): 55-45.
16. Sabouri H & Mohammadinejad Gh. *Genetic Analysis of Rice Yield Components and Agronomic Traits Using QTL Mapping*. 11th Iranian Congress of Agronomy and Plant Breeding. Tehran: Shahid Beheshti University; 2010.
17. Sabouri H, Mohammadalegh Sh, Karim Koshteh R & Najar Ajam M. Detection of genes controlling the morphological traits of rice root in Iranian rice recombinant inbred lines population caused Amberbo and Sepidrood cross. *Cell and Molecular Research*. 2016; 2(3): 233-218.
18. Price AH, Steele KA, Moo BJ & Jones RGW. Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water deficit regimes. II. Mapping quantitative trait loci for root morphology and distribution. *Field Crops Research*. 2002; 76: 25-43.
19. Srividhya A, Vemireddy LR, Ramanarao PV, Sridhar S, Jayaprada M, Anuradha G, Srilakshmi B, Reddy HK, Hariprasad AS & ESiddiq A. Molecular Mapping of QTLs for Drought Related Traits at Seedling Stage under PEG Induced Stress Conditions in Rice. *American Journal of Plant Sciences*. 2011; 2: 190-201.
20. Miskin KE, Rasmusson DC, Moss DN. Inheritance and physiological effects of stomatal frequency in barley. *Crop Science.* 1972; 12: 780-783.
21. SaghiMaroof MA, Biyashev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW. Extraordinarily polymorphic microsatellites DNA in barely species diversity, choromosomal location, and population dynamics. *Proceeding of the Academy of Sciences, USA*. 1994; 91: 5466-5570 .
22. Manly KF & Olson JM. Overview of QTL mappingintroduction to Map Manager QTX. *Mammalian Genome*. 1999; 10: 327-334.
23. Takehisa H, Shimodate T, Fukuta Y, Ueda T, Yano M, Yamaya T, Kameya T & Sato T. Identification of quantitative trait loci for plant growth of rice in paddy field flooded with salt water. *Field Crops Research.* 2004; 89: 85-95.
24. Nelson JC. QGENE: Software for marker-based genomic analysis and breeding. *Molecular Breeding.* 1997; 3(3): 239-245.

استناد به این مقاله

امیرکلائی، فاطمه؛ صبوری، حسین؛ آهنگر، لیلا؛ زارعی، مهدی، حسینی‌مقدم، حسین (۱۳۹۹). شناسایی مکان‌های ژنی مرتبط با تحمّل به تنش خشکی در لاین‌های نوترکیب برنج ایرانی. *بیولوژی کاربردی*، ۱۰(۴۰)، ص ۵۳-۷۰.