



کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و
نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه رازی است.



پردیس کشاورزی و منابع طبیعی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری رشته‌ی اصلاح نباتات

عنوان پایان نامه

نقشه‌یابی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی (QTLs) مرتبط با کیفیت پخت و

خوراک برنج (*Oryza sativa* L.)

استاد راهنما:

دکتر عزت الله فرشادفر

استاد مشاور:

دکتر بابک ربیعی

نگارش:

علی اکبر عبادی

خرداد ماه ۱۳۹۲



دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری رشته مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات

نگارش: علی اکبر عبادی

تحت عنوان

نقشه‌یابی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی (QTLs) مرتبط با کیفیت پخت و خوراک
برنج (*Oryza sativa* L.)

در تاریخ ۱۳۹۲/۳/۲۹ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

استاد راهنما

دکتر عزت اله فرشادفر

با مرتبه علمی استاد

امضاء

استاد مشاور

دکتر بابک ربیعی

با مرتبه علمی دانشیار

امضاء

استاد داور خارج گروه

دکتر مصطفی آقایی سربرزه

با مرتبه علمی دانشیار

امضاء

استاد داور خارج گروه

دکتر عباس رضایی زاد

با مرتبه علمی استادیار

امضاء

استاد داور داخل گروه

دکتر علیرضا زبرجدی

با مرتبه علمی دانشیار

امضاء

استاد داور داخل گروه

دکتر عبدالله نجفی

با مرتبه علمی استادیار

امضاء

به مصداق «من لم يشكر المخلوق لم يشكر الخالق»

از استاد راهنمای فرهیخته و فرزانه جناب آقای دکتر فرشادفر و استا مشاور گرانقدر جناب آقای دکتر ربیعی که با کرامتی چون خورشید، سرزمین دل را روشنی بخشیدند و گلشن سرای علم و دانش را با راهنمایی‌های کار ساز و سازنده‌شان بارور ساختند،

از آقایان دکتر مصطفی آقایی، دکتر عباس رضایی زاد، دکتر عبدالله نجفی و دکتر علیرضا زبرجدی که با داوری دقیق و نظرات ارزشمندشان به غنای این تحقیق افزودند،

از آقایان دکتر کهریزی، دکتر چقامیرزا، دکتر بهرامی نژاد، دکتر سالاری، دکتر قبادی و سایر اساتید محترم گروه زراعت و اصلاح نباتات که از رهنمودهایشان طی دوره تحصیل بهره‌مند شدم،

از تمامی مسئولین و همکاران خوب و زحمت‌کش خودم در موسسه تحقیقات برنج کشور از جمله آقای دکتر مهرزاد اله‌قلی‌پور، آقای مهندس محمد محمدی و سر کار خانم مهندس الهام محمدی که مرا در اجرای این تحقیق یاری کردند،

از همکلاسی‌ها و هم دانشگاهی‌های خوبم خصوصا خانم دکتر زارعی،

صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

تقدیم بہ:

ہمسسر عزیزم

فرزند دلہندم آریو

وہر دو خانوادہ کرامیم

چکیده

به منظور تجزیه ژنتیکی و شناسایی QTL های کنترل کننده شاخص های مرتبط با کیفیت پخت و خوراک در برنج، از ۱۴۴ لاین خویش آمیخته نوترکیب (F8، F9، F10) حاصل از تلاقی دو رقم هاشمی (یک واریته محلی با کیفیت پخت و خوراک خوب) و نعمت (یک واریته اصلاح شده با کیفیت پخت و خوراک نامطلوب) در طی سال های ۱۳۸۸، ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ استفاده شد. برای بررسی چند شکلی بین والدین از تعداد ۵۰۰ نشانگر ریزماهواره استفاده شد که از این تعداد، ۱۷۸ نشانگر چند شکل بودند که برای تهیه نقشه پیوستگی جمعیت روی لاین های خویش آمیخته نوترکیب مورد بررسی قرار گرفتند. نقشه پیوستگی بر اساس ۱۷۱ نشانگر ریزماهواره ترسیم شد که طول آن در حدود ۱۵۹۰ سانتی مورگان با میانگین فاصله ۹/۳ سانتی مورگان بین هر جفت نشانگر بود. در مجموع پنجاه و چهار QTL برای صفات مورد بررسی در طی سه سال با استفاده از روش مکان یابی فاصله ای مرکب فراگیر (ICIM) شناسایی گردید که از حداقل سه تا حداکثر هشت QTL کنترل هر صفت را بر عهده داشتند و برای هر کدام از صفات یک QTL در هر سه سال تکرار شد. علاوه بر آن ۶ خوشه QTL برای صفات مورد بررسی مشاهده شد که دو خوشه QTL نزدیک به جایگاه ژن واکسی روی کروموزوم ۶ قرار داشتند که شامل هفت QTL *qAC6a* ، *qHPV6b* ، *qHPV6d* ، *qBDV6a* ، *qCSV6b* ، *qCPV6b* و *qPeT6b* بودند و به ترتیب صفات میزان آمیلوز، حداقل چسبندگی، فروریختگی چسبندگی، قوام چسبندگی، چسبندگی نهایی و مدت زمان تا حداکثر چسبندگی را کنترل کردند. یک خوشه QTL دیگر در نزدیکی جایگاه ژن آلکالین روی کروموزوم ۶ شناسایی شد که شامل چهار QTL *qGT6a* ، *qCPV6a* ، *qCSV6a* و *qSBV6* بودند و به ترتیب صفات درجه حرارت ژلاتینی شدن، چسبندگی نهایی، قوام چسبندگی و پس روی چسبندگی را کنترل کردند. QTL های دارای اثر افزایشی اصلی و ایستازی با تجزیه QTL با مدل ترکیبی بر اساس مکان یابی فاصله ای مرکب (MCIM) شناسایی شدند. در مجموع هیجده QTL دارای اثر افزایشی اصلی برای ۱۰ صفت مورد بررسی بوسیله این روش شناسایی گردید که اغلب آنها روی کروموزوم ۶ قرار داشتند و توسط روش ICIM در دو یا سه سال نیز شناسایی شده بودند. در برخی از QTL های شناسایی شده اثر متقابل QTL × محیط معنی دار بود. به طوری که تنوع فنوتیپی توجیه شده بوسیله این اثر متقابل برای هر صفت از ۰/۰۹ تا ۸/۱۴ متغیر بود. QTL های دارای اثرات ایستازی نیز در تمامی صفات مورد بررسی شناسایی گردید. بیشترین QTL های دارای اثرات ایستازی در صفت پس روی چسبندگی شناسایی شد که توانستند ۲۳/۸۶ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت را کنترل کنند. به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اغلب صفات موثر در کیفیت پخت و خوراک برنج توسط نواحی ژن های واکسی و آلکالین روی کروموزوم ۶ کنترل می شوند و از اینرو نشانگرهای همبسته با این دو جایگاه ژنی می توانند در برنامه های انتخاب به کمک نشانگرهای ملکولی (MAS) مورد استفاده قرار گیرند. برای هر صفت حداقل یک QTL جدید که قبلاً گزارش نشده بود، برای اولین بار در این تحقیق شناسایی شد.

کلمات کلیدی: برنج، صفات کیفیت پخت و خوراک برنج، مکان یابی QTL، گروه QTL، QTL های دارای اثرات ایستازی

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول : مقدمه	
مقدمه	۲
فصل دوم : بررسی منابع	
۱-۲- گیاهشناسی برنج	۶
۲-۲- اهمیت اقتصادی گیاه برنج	۷
۳-۲- برنج یک گیاه مدل برای مطالعات ملکولی	۸
۴-۲- نشانگرهای ژنتیکی	۹
۱-۴-۲- نشانگرهای DNA	۱۰
۱-۱-۴-۲- تفاوت طول قطعات حاصل از برش ((آرال اف پی))	۱۱
۲-۱-۴-۲- چندشکلی حاصل از تکثیر تصادفی (ریپید)	۱۱
۳-۱-۴-۲- تفاوت طول قطعات حاصل از تکثیر (ای ال اف پی)	۱۱
۴-۱-۴-۲- ریزماهورها یا توالی های تکراری ساده	۱۲
۵-۲- صفات کمی	۱۳
۶-۲- جایگاه ژنی صفات کمی (QTL)	۱۳
۷-۲- اصول تجزیه QTL	۱۴
۸-۲- جمعیت های نقشه یابی برای مطالعات QTL	۱۵
۱-۸-۲- جمعیت F2	۱۶
۲-۸-۲- تلاقی برگشتی (BC)	۱۶
۳-۸-۲- لاین های خویش آمیخته نوترکیب (RILs)	۱۶
۴-۸-۲- هاپلوئیدهای مضاعف (DH)	۱۷
۵-۸-۲- لاین های نسبی هم ژن (NILs)	۱۸
۶-۸-۲- جمعیت Fx:y	۱۸

- ۱۸ ۷-۸-۲- جمعیت‌های طبیعی
- ۱۸ ۹-۲- عوامل موثر در مکان یابی QTL
- ۱۹ ۱۰-۲- تهیه یک نقشه پیوستگی اشباع مبتنی بر نشانگرهای مولکولی
- ۲۰ ۱۱-۲- ارزیابی فنوتیپی جمعیت نقشه یابی
- ۲۰ ۱۲-۲- روش‌های آماری مکان‌یابی QTL
- ۲۰ ۱-۱۲-۲- روش‌های مبتنی بر صفت
- ۲۰ ۲-۱۲-۲- روش‌های مبتنی بر نشانگر
- ۲۱ ۱-۲-۱۲-۲- تجزیه تک‌نشانگر
- ۲۲ ۲-۲-۱۲-۲- مکان‌یابی فاصله‌ای
- ۲۳ ۳-۲-۱۲-۲- مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب
- ۲۴ ۴-۲-۱۲-۲- مکان‌یابی فاصله‌ای چندگانه (MIM)
- ۲۵ ۵-۲-۱۲-۲- مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب فراگیر (ICIM)
- ۲۵ ۶-۲-۱۲-۲- مکان‌یابی به‌روش (MCMC) با استفاده از مدل بی‌زین
- ۲۶ ۷-۲-۱۲-۲- روش‌های تجزیه QTL جهت برآورد اثرات اپیستازی و اثر متقابل محیط \times QTL
- ۲۸ ۱۳-۲- انتخاب به‌کمک نشانگر (MAS)
- ۲۹ ۱۴-۲- مروری بر تحقیقات انجام شده

فصل سوم : مواد و روش‌ها

- ۵۰ ۱-۳- مواد ژنتیکی
- ۵۰ ۲-۳- ارزیابی مزرعه‌ای
- ۵۴ ۳-۳- اندازه‌گیری صفات
- ۵۴ ۱-۳-۳- میزان آمیلاز
- ۵۶ ۲-۳-۳- درجه حرارت ژلاتینی شدن
- ۵۷ ۳-۳-۳- خصوصیات مرتبط با چسبندگی

۴-۳	ارزیابی مولکولی (تعیین ژنوتیپ)	۵۹
۳-۴-۱	استخراج DNA	۵۹
۳-۴-۲	تعیین کمیت و کیفیت DNA	۶۰
۳-۴-۳	رقیق سازی DNA ژنومی استخراج شده	۶۱
۳-۴-۴	نشانگرهای ریزماهواره یا SSR	۶۳
۳-۴-۵	واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR)	۶۴
۳-۴-۶	الکتروفورز فرآورده‌های PCR	۶۶
۳-۴-۶-۱	تهیه ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۰ درصد	۶۶
۳-۴-۶-۲	تزریق ژل داخل دستگاه الکتروفورز عمودی	۶۷
۳-۴-۶-۳	بارگذاری محصول PCR، رنگ‌آمیزی و عکس‌برداری از ژل	۶۸
۳-۴-۷	تعیین ژنوتیپ لاین‌های جمعیت	۷۱
۳-۵	تجزیه و تحلیل ژنتیکی و آماری	۷۱

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱	تجزیه واریانس	۷۷
۴-۲	میانگین و محدوده صفات در والدین و جمعیت RIL	۸۲
۴-۳	همبستگی بین صفات و توزیع فراوانی لاین‌ها برای هر کدام از صفات	۸۴
۴-۴	تهیه نقشه پیوستگی جمعیت	۹۲
۴-۵	مکان‌یابی QTL‌های کنترل کننده صفات مورد مطالعه به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب	۹۲
۴-۵-۱	صفت میزان آمیلوز	۹۸
۴-۵-۲	صفت درجه حرارت ژلاتینی شدن	۹۹
۴-۵-۳	صفت حداکثر چسبندگی	۱۰۰
۴-۵-۴	صفت حداقل چسبندگی	۱۰۱
۴-۵-۵	صفت چسبندگی نهایی	۱۰۳
۴-۵-۶	صفت فروریختگی چسبندگی	۱۰۴

- ۱۰۶ ۷-۵-۴ صفت پسرروی چسبندگی
- ۱۰۷ ۸-۵-۴ صفت قوام چسبندگی
- ۱۰۸ ۹-۵-۴ صفت زمان تا حداکثر چسبندگی
- ۱۰۹ ۱۰-۵-۴ صفت درجه حرارت چسبندگی
- ۱۱۰ ۱۱-۵-۴ خوشه‌های QTL
- ۱۱۲ ۶-۴ شناسایی مکان‌های ژنی به‌روش MCIM
- ۱۱۷ ۱-۶-۴ صفت میزان آمیلوز
- ۱۲۰ ۲-۶-۴ صفت درجه حرارت ژلاتینی شدن
- ۱۲۲ ۳-۶-۴ صفت حداکثر چسبندگی
- ۱۲۵ ۴-۶-۴ صفت حداقل چسبندگی
- ۱۲۸ ۵-۶-۴ صفت چسبندگی نهایی
- ۱۳۰ ۶-۶-۴ صفت فروریختگی چسبندگی
- ۱۳۲ ۷-۶-۴ صفت پسرروی چسبندگی
- ۱۳۵ ۸-۶-۴ صفت قوام چسبندگی
- ۱۳۸ ۹-۶-۴ صفت زمان تا حداکثر چسبندگی
- ۱۴۰ ۱۰-۶-۴ صفت درجه حرارت چسبندگی
- ۱۴۳ ۱۱-۶-۴ خوشه‌های QTL
- ۱۴۵ ۷-۴ نتیجه‌گیری کلی
- ۱۴۶ ۸-۴ پیشنهادات
- ۱۴۷ منابع و مأخذ
- ۱۶۰ چکیده انگلیسی

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۳-۱- بذر پاشی در خزانه جوی و پشت‌های	۵۳
شکل ۳-۲- گیاهچه‌های رشد کرده در خزانه و آماده برای انتقال به زمین اصلی	۵۳
شکل ۳-۳- لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب در مزرعه	۵۴
شکل ۳-۴- منحنی چسبندگی نشاسته بر اساس برنامه تنظیم شده در ۱۲ دقیقه در دستگاه RVA	۵۸
شکل ۳-۵- عکس DNA استخراج شده تعدادی از لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب	۶۳
شکل ۳-۶- چرخه حرارتی تکثیر DNA ژنومی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره	۶۶
شکل ۳-۷- دستگاه الکتروفورز عمودی Mini Vertical Polyacrylamide Gel	۶۸
شکل ۳-۸- نمونه‌ای از نوارهای مشاهده شده در لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب برای نشانگر RM225	۶۹
شکل ۳-۹- نمونه‌ای از نوارهای مشاهده شده در لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب برای نشانگر RM278	۶۹
شکل ۳-۱۰- نمونه‌ای از نوارهای مشاهده شده در لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب برای نشانگر RM324	۷۰
شکل ۳-۱۱- نمونه‌ای از نوارهای مشاهده شده در لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب برای نشانگر RM402	۷۰
شکل ۳-۱۲- منحنی پیمایش ژنوم به وسیله نرم‌افزار IciQTLmapping	۷۲
شکل ۳-۱۳- منحنی F حاصل از اسکن یک بعدی ژنوم در نرم‌افزار QTLNETWORK	۷۳
شکل ۳-۱۴- پروفایل F حاصل از اسکن دو بعدی ژنوم در نرم‌افزار QTLNETWORK	۷۴
شکل ۳-۱۵- پروفایل F حاصل از اسکن سه بعدی ژنوم در نرم‌افزار QTLNETWORK	۷۴
شکل ۳-۱۶- بیان گرافیکی QTLها و اثرات اپیستازی شناسایی شده در نرم‌افزار QTLNETWORK	۷۵
شکل ۴-۱- توزیع فراوانی لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب برای صفات کیفیت پخت و خوراک برنج	۹۱
شکل ۴-۲- نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهواره استفاده شده در این تحقیق و QTLهای شناسایی شده برای صفات کیفیت پخت و خوراک برنج در جمعیت RIL حاصل از تلاقی ارقام هاشمی و نعمت	۹۷
شکل ۴-۳- نمایش سه بعدی اثرات اپیستازی مربوط به میزان آمیلوز با نرم‌افزار QTLNetwork	۱۱۸
شکل ۴-۴- بیان گرافیکی QTLهای شناسایی شده که دارای اثرات اصلی افزایشی، اثر متقابل افزایشی «محیط و اثر اپیستازی برای صفت میزان آمیلوز هستند.	۱۱۹
شکل ۴-۵- نمایش سه بعدی اثرات اپیستازی مربوط به صفت درجه حرارت ژلاتینی شدن با استفاده از نرم‌افزار QTLNetwork	۱۲۱
شکل ۴-۶- بیان گرافیکی QTLهای شناسایی شده که دارای اثرات اصلی افزایشی، اثر متقابل افزایشی «محیط و اثر اپیستازی برای صفت درجه حرارت ژلاتینی شدن بودند.	۱۲۲
شکل ۴-۷- نمایش سه بعدی اثرات اپیستازی مربوط به صفت حداکثر چسبندگی با استفاده از نرم‌افزار QTLNetwork	۱۲۴
شکل ۴-۸- بیان گرافیکی QTLهای شناسایی شده که دارای اثرات اصلی افزایشی و اثر اپیستازی برای صفت حداکثر چسبندگی بودند.	۱۲۵
شکل ۴-۹- نمایش سه بعدی اثرات اپیستازی مربوط به صفت حداقل چسبندگی با استفاده از نرم‌افزار QTLNetwork	۱۲۶

- شکل ۱۰-۴- بیان گرافیکی QTL های شناسایی شده که دارای اثرات اصلی افزایشی و اثر اپیستازی برای صفت حداقل چسبندگی هستند. ۱۲۷
- شکل ۱۱-۴- نمایش سه بعدی اثرات اپیستازی مربوط به صفت چسبندگی نهایی با استفاده از نرم افزار QTLNetwork ۱۲۹
- شکل ۱۲-۴- بیان گرافیکی QTL های شناسایی شده که دارای اثرات اصلی افزایشی و اثر اپیستازی برای صفت چسبندگی نهایی هستند. ۱۳۰
- شکل ۱۳-۴- نمایش سه بعدی اثرات اپیستازی مربوط به صفت فروریختگی چسبندگی با استفاده از نرم افزار QTLNetwork ۱۳۱
- شکل ۱۴-۴- بیان گرافیکی QTL های شناسایی شده که دارای اثرات اصلی افزایشی و اثر اپیستازی برای صفت فروریختگی چسبندگی هستند. ۱۳۲
- شکل ۱۵-۴- نمایش سه بعدی اثرات اپیستازی مربوط به صفت پس روی چسبندگی با استفاده از نرم افزار QTLNetwork ۱۳۴
- شکل ۱۶-۴- بیان گرافیکی QTL های شناسایی شده که دارای اثرات اصلی افزایشی و اثر اپیستازی برای صفت پس روی چسبندگی هستند. ۱۳۵
- شکل ۱۷-۴- نمایش سه بعدی اثرات اپیستازی مربوط به صفت قوام چسبندگی با استفاده از نرم افزار QTLNetwork ۱۳۷
- شکل ۱۸-۴- بیان گرافیکی QTL های شناسایی شده که دارای اثرات اصلی افزایشی و اثر اپیستازی برای صفت قوام چسبندگی هستند. ۱۳۷
- شکل ۱۹-۴- نمایش سه بعدی اثرات اپیستازی مربوط به صفت زمان تا حداکثر چسبندگی با استفاده از نرم افزار QTLNetwork ۱۳۹
- شکل ۲۰-۴- بیان گرافیکی QTL های شناسایی شده که دارای اثرات اصلی افزایشی و اثر اپیستازی برای صفت زمان تا حداکثر چسبندگی هستند. ۱۴۰
- شکل ۲۱-۴- نمایش سه بعدی اثرات اپیستازی مربوط به صفت درجه حرارت چسبندگی با استفاده از نرم افزار QTLNetwork ۱۴۲
- شکل ۲۲-۴- بیان گرافیکی QTL های شناسایی شده که دارای اثرات اصلی افزایشی و اثر اپیستازی برای صفت درجه حرارت چسبندگی هستند. ۱۴۳

فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
۵۲	جدول ۱-۳- آمار هواشناسی در فصل زراعی سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۸۸.....
۶۲	جدول ۲-۳- محلول‌های مورد نیاز جهت استخراج DNA، تهیه و بارگذاری ژل
۶۵	جدول ۳-۳- مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز برای نشانگرهای ریزماهواره.....
۶۷	جدول ۳-۴- طرز تهیه ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۰٪.....
۷۸	جدول ۴-۱- تجزیه واریانس صفات در ۴ رقم شاهد در سال اول (۱۳۸۸).....
۷۸	جدول ۴-۲- تجزیه واریانس صفات در ۴ رقم شاهد در سال دوم (۱۳۸۹).....
۷۸	جدول ۴-۳- تجزیه واریانس صفات در ۴ رقم شاهد در سال سوم (۱۳۹۰).....
۷۹	جدول ۴-۴- مقایسه میانگین صفات در چهار رقم شاهد در سال اول (۱۳۸۸).....
۷۹	جدول ۴-۵- مقایسه میانگین صفات در چهار رقم شاهد در سال دوم (۱۳۸۹).....
۸۰	جدول ۴-۶- مقایسه میانگین صفات در چهار رقم شاهد در سال سوم (۱۳۹۰).....
۸۰	جدول ۴-۷- تجزیه واریانس مرکب صفات در ۴ رقم شاهد
۸۱	جدول ۴-۸- مقایسه میانگین صفات برای اثر متقابل سال در رقم
	جدول ۴-۹- میانگین، اشتباه استاندارد و دامنه تغییرات صفات در والدین و لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب
۸۳	حاصل از تلاقی ارقام هاشمی در نعمت.....
۸۳	جدول ۴-۱۰- ضرایب همبستگی پیرسیون بین صفات کیفیت پخت و خوراک برنج در جمعیت لاین‌های خویش
۸۶	آمیخته نو ترکیب در سال اول (۱۳۸۸).....
۸۶	جدول ۴-۱۱- ضرایب همبستگی پیرسیون بین صفات کیفیت پخت و خوراک برنج در جمعیت لاین‌های خویش
۸۷	آمیخته نو ترکیب در سال دوم (۱۳۸۹)
۸۷	جدول ۴-۱۲- ضرایب همبستگی پیرسیون بین صفات کیفیت پخت و خوراک برنج در جمعیت لاین‌های خویش
۸۸	آمیخته نو ترکیب در سال سوم (۱۳۹۰)
۸۸	جدول ۴-۱۳- ضرایب همبستگی پیرسیون بین صفات کیفیت پخت و خوراک برنج در جمعیت لاین‌های خویش
۸۹	آمیخته نو ترکیب در سه سال
۸۹	جدول ۴-۱۴- مشخصات QTL‌های شناسایی شده برای صفات کیفیت پخت و خوراک برنج به روش مکان‌یابی
۹۳	فاصله‌ای مرکب در جمعیت RIL حاصل از تلاقی ارقام هاشمی و نعمت
۹۳	جدول ۴-۱۵- برآورد اثرات افزایشی و افزایشی×محیط در QTL‌های اصلی شناسایی شده صفات تعیین کننده
۱۱۳	کیفیت پخت با نرم‌افزار QTLNETWORK در جمعیت RILs به مدت سه سال
۱۱۳	جدول ۴-۱۶- برآورد QTL‌های اپیستاتیک اثرات اپیستازی افزایشی× افزایشی (AA) و اپیستازی×محیط یا
۱۱۳	افزایشی×افزایشی×محیط (AAE) مکان‌های ژنی شناسایی شده برای صفات کیفیت پخت و خوراک برنج با
۱۱۵	نرم‌افزار QTLNETWORK در جمعیت RILs به مدت سه سال
۱۴۴	جدول ۴-۱۷- خوشه‌های QTL برای صفات مورد بررسی به روش MCIM.....

QTL: Quantitative trait loci
DNA: Deoxyribonucleic acid
RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA markers
ALP: Amplification Length Polymorphism
SSR: Simple Sequence Repeat
AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism
RILs: Recombinant Inbred Lines
BC: Backcross populations
DH: Double Haploid
NILs: Near Isogenic Lines
SIM: Simple Interval Mapping
CIM: Composite Interval Mapping
MIM: Multiple Interval Mapping
ICIM: Inclusive Composite Interval Mapping
MCMC: Markov Chain Monte Carlo
Q-E: QTL environment interaction
BLUP: Best linear unbiased prediction
MAS: Marker assisted Selection
MAB: Marker assisted backcrossing
GBSS: Granule bound starch synthase
CAPS: Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
BILs: Backcross Inbred Lines
CSSLs: Chromosome Segment Substitution Lines
PKV: Peak Viscosity
HPV: Hot Past Viscosity
MV: Minimum Viscosity
CPV: Cool Paste Viscosity
FV: Final Viscosity
BDV: Break Down Viscosity
SBV: Set Back Viscosity
CSV: Consistency Viscosity
PKT: Time to Peak Viscosity
PT: Pasting Temperature
RVU: Rapid Viscosity Unit
CTAB: Cetyltrimethyl Ammonium Bromide
EDTA: Ethylenediaminetetraacetic Acid
STS: Sequence Tagged Sites
PCR: polymerase chain reaction

فصل اول

مقدمه

مقدمه

برنج گیاه یک‌ساله متعلق به خانواده گرامینه می‌باشد و از حدود ۵۰۰۰ سال پیش به‌عنوان منبع غذایی توسط بشر مصرف می‌گردد. این غله غذای اصلی نیمی از مردم دنیا می‌باشد و ۷۵ درصد انرژی و پروتئین روزانه حدود ۲/۵ میلیارد نفر از مردم دنیا وابسته به آن است. برنج به‌طور کلی ۲۳ درصد از انرژی و ۱۶ درصد از پروتئین مردم را تامین می‌کند (ایری، ۱۹۹۷). کشورهای اصلی تولید کننده برنج در نواحی آسیا، آفریقا و آمریکا قرار دارند و کشورهای اصلی صادر کننده برنج تایلند، آمریکا، ویتنام، پاکستان و هند می‌باشند. در قاره آسیا که منبع غذایی عمده مردم آن برنج بوده و رشد جمعیت در آن زیاد است انتظار می‌رود که ظرف ۴۰ سال آینده نیاز به برنج دو برابر شود (فائو، ۲۰۱۰).

برنج به‌عنوان بهترین غذای اصلی در بین سایر غلات بخاطر کیفیت بالای عناصر غذایی موجود در آن محسوب می‌گردد. مواد معدنی شامل کلسیم، منیزیم و فسفر و همچنین مقادیر کمی از آهن، روی، مس و منگنز در دانه‌های برنج وجود دارد (یوسف، ۱۹۹۲). پروتئین موجود در برنج دارای ارزش بیولوژیکی و هضم غذایی بالایی است. پوسته برنج نیز دارای منبع بسیار عالی و غنی از پروتئین و اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد (شاهین و انجوم، ۲۰۰۵). برنج یک غذای نشاسته‌ای است که مقدار زیادی از انرژی رژیم غذایی را تامین می‌کند. خصوصیات پخت و خوراک برنج به‌طور اصولی به‌وسیله خصوصیات نشاسته تعیین می‌گردد. بنابراین نشاسته مهم‌ترین فاکتور در تعیین کیفیت پخت و خوراک دانه برنج می‌باشد. نشاسته دانه برنج معمولاً سریعتر از سایر نشاسته‌هایی مثل نودل هضم می‌گردد. درجه حرارت ژلاتینی شدن، میزان آمیلوز، قوام ژل و صفات مربوط به چسبندگی نشاسته دانه برنج از خصوصیات اصلی نشاسته برنج هستند که بر روی کیفیت پخت و خوراک دانه برنج موثر می‌باشند (سیدهو، ۱۹۸۹).

اصلاح‌گران به پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای در خصوص اصلاح عملکرد برنج دست یافته‌اند، اما امروزه اصلاح روی کیفیت برنج به‌خصوص کیفیت پخت و خوراک، امری ضروری محسوب می‌گردد. صفات میزان آمیلوز، غلظت ژلاتینی شدن، دمای ژلاتینی شدن و خصوصیات چسبندگی نشاسته برنج مهم‌ترین صفات کیفیت پخت می‌باشند. این صفات باید در اصلاح و معرفی ارقام جدید مد نظر قرار گیرند، چراکه ارقام معرفی شده با عملکرد بالا و کیفیت پخت پائین بدلیل بازار پسندی پائین در ایران مورد استقبال کشاورزان قرار نگرفته است. صفات کیفیت پخت بر اساس نظر بسیاری از محققین از جمله هی و همکاران (۱۹۹۹) و تیان و همکاران (۲۰۰۵) جزو صفات کمی بوده و توسط چندین ژن کنترل می‌گردند. یکی از

عوامل محدود کننده اصلاح نباتات نبود اطلاعات کافی در مورد ژن‌های کنترل کننده صفات کمی می‌باشد. مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی (QTL) یا نواحی ژنتیکی شامل ژن‌های مرتبط با یک صفت کمی خاص، یکی از روش‌هایی است که در دو دهه اخیر برای مطالعه ژنتیکی صفات کمی مورد استفاده قرار گرفته است (کولارد و مکیل، ۲۰۰۸). البته اصلاح گیاهان زراعی برای صفات کمی به دلیل کنترل ژنتیکی پیچیده‌تر آنها نسبت به صفات کیفی مشکل‌تر و نیازمند روش‌های ژنتیکی و آماری پیچیده‌تری می‌باشد (کارنا، ۲۰۰۹).

امروزه، دسترسی به نشانگرهای مولکولی DNA و روش‌های بیومتری قدرتمند، منجر به پیشرفت‌های چشم‌گیری در مکان‌یابی QTL‌ها در گیاهان زراعی شده است. به نظر می‌رسد که مهم‌ترین کاربرد تجزیه QTL، انتخاب به کمک نشانگر و همسانه‌سازی QTL‌ها می‌باشد. کاربردهای دیگر تجزیه QTL شامل درک بیشتر ما از وضعیت ژنتیکی صفات پیچیده و آگاهی از ژنومیکس گیاهی باشد. شایان ذکر است که QTL‌ها نواحی کروموزومی بزرگی را در بر می‌گیرند که اغلب باعث مشکل پیوستگی بین QTL‌های مطلوب و صفات نامطلوب می‌شود. بنابراین، یکی از اهداف اصلی تجزیه QTL محدود کردن ناحیه QTL مورد نظر به نواحی کروموزومی کوچک‌تر می‌باشد که موفقیت در انجام این عمل بستگی به نوع طرح آزمایشی به کار رفته، نوع و جمعیت در حال تفرق، میزان چندشکلی نشانگرهای به کار برده شده و روش‌های آماری مورد استفاده در تجزیه QTL دارد.

بنابراین برای اصلاح در جهت بهبود صفات مرتبط با کیفیت پخت و خوراک برنج بهتر است ابتدا ژن یا مکان‌های ژنی کنترل کننده این صفات با استفاده از نشانگرهای مولکولی تعیین گردد. که البته در کنار اثرات اصلی کنترل کننده این صفات، اثراتی مانند اپیستازی که نتیجه اثرات متقابل بین آلل‌ها در مکان‌های ژنی مختلف هستند، و همچنین نقش زمینه ژنتیکی در بسیاری از موارد برآورد نشده و نادیده گرفته می‌شود. این در حالی است که گاهی این اثرات سهم زیادی در کنترل یک صفت کمی به عهده دارند و هر چه سهم این اثرات بیشتر باشد، میزان اثرات اصلی که می‌توان انتخاب را بر اساس آنها انجام داد کاهش می‌یابد. لذا شناسایی این اثرات متقابل و کم کردن سهم آنها از اثرات اصلی در صفات کمی لازم و ضروری به نظر می‌رسد. در کنار این برآورد ها اثرات متقابل بین آللی نیز برای برنامه ریزی های به‌نژادی ضروری است. زیرا آگاهی از نحوه توارث صفت و برآورد دقیق سهم هر یک از اثرات سهم بسزایی در دقت مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی دارد. پس از تعیین دقیق QTL‌های صفات مرتبط با کیفیت پخت و خوراک برنج می‌توان از نشانگرهای همبسته با آنها در برنامه‌های اصلاحی به منظور افزایش کیفیت پخت و خوراک در ارقام اصلاح شده موجود و یا معرفی ارقام جدید با کیفیت پخت مطلوب و عملکرد بالا استفاده کرد. این تحقیق به منظور شناسایی QTL‌های صفات کیفیت پخت و خوراک دانه برنج با اهداف ذیل انجام گرفت:

- شناسایی نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با صفات مختلف کنترل کننده کیفیت پخت شامل میزان آمیلوز، درجه حرارت ژلاتینی شدن و خصوصیات مرتبط با چسبندگی نشاسته دانه برنج

- مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات مورد بررسی و برآورد سهم هر یک از QTL‌های شناسایی شده در توصیف این صفات
- بررسی اثر متقابل QTL \times محیط و نقش آن در کنترل تنوع فنوتیپی صفات مورد مطالعه
- بررسی اثر متقابل بین QTL‌ها و شناسایی QTL‌های با اثرات اپیستازی و ارزیابی سهم آنها در کنترل تنوع هر یک از صفات مورد نظر