



تحقیقات غلات

دوره هشتم / شماره چهارم / زمستان ۱۳۹۷ (۴۴۱-۴۲۳)

مکان‌یابی و بررسی برهمکنش بین جایگاه‌های ژنومی کنترل‌کننده صفات مهم زراعی در برنج (*Oryza sativa* L.)

حسین رحیم‌سروش^۱، فرهاد نظریان فیروزآبادی^{۲*}، مریم حسینی چالشتی^۳، احمد اسماعیلی^۴
و علی‌اکبر عبادی^۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۰۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۳

چکیده

به‌منظور شناسایی *QTL*‌های اصلی و اپیستاتیک و برهمکنش آن‌ها با محیط برای برخی صفات مهم زراعی برنج، تعداد ۲۴۲ لاین خالص نوترکیب از دو جمعیت نسل F₆ حاصل از تلاقی 2-1-180-2-IR67017 / علی‌کاظمی (جمعیت IRA) و صالح / علی‌کاظمی (جمعیت SA) در دو منطقه مورد ارزیابی قرار گرفتند. نقشه پیوستگی دو جمعیت با استفاده از ۸۷ نشانگر ریزماهواره (SSR)، ۱۳۵۶ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را با فاصله متوسط ۱۵/۵۸ سانتی‌مورگان بین نشانگرها پوشش داد. در مجموع بیست *QTL* اصلی و ۳۳ *QTL* اپیستاتیک با آثار مثبت و منفی شناسایی شدند. تعداد پنج *QTL* اصلی و پنج *QTL* اپیستاتیک دارای برهمکنش معنی‌دار با محیط بودند و هشت *QTL* اصلی و ده *QTL* اپیستاتیک کنترل‌کننده صفات زراعی مطلوب شناسایی شدند که هیچ‌گونه برهمکنش معنی‌داری با محیط نداشتند. این *QTL*‌ها شامل: دو *QTL* اصلی و دو *QTL* اپیستاتیک برای کاهش ارتفاع بوته، سه *QTL* اصلی و سه *QTL* اپیستاتیک برای کاهش تاریخ خوشه‌دهی، یک *QTL* اصلی و یک *QTL* اپیستاتیک برای افزایش طول خوشه و دو *QTL* اصلی و چهار *QTL* اپیستاتیک برای افزایش عملکرد دانه بودند که بین ۱۱/۱۲ درصد (*qHD6*) تا ۲۴/۵ درصد (*qGY1*) از تنوع فنوتیپی صفات مربوطه را توجیه کردند. بنابراین، از این *QTL*‌های مطلوب می‌توان در برنامه‌های هرمی کردن ژن‌ها برای بهبود صفات مورد مطالعه استفاده کرد. همچنین، شش نشانگر پیوسته (RM178، RM421، RM3441، RM5101، RM7551 و RM5302) با فاصله کم‌تر از پنج سانتی‌مورگان با این *QTL*‌ها شناسایی شدند که می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های انتخاب به‌کمک نشانگر به‌منظور به‌نژادی لاین‌های برنج برای صفات مطلوب در نسل‌های در حال تفکیک استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اپیستازی، عملکرد دانه، لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب، نقشه پیوستگی

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
- ۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
- ۳- استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران
- ۴- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
- ۵- استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

* نویسنده مسئول: nazarian.f@lu.ac.ir

مقدمه

Rabiei, 2007; Shen *et al.*, 2014; Chaudhari *et al.*, 2018). تعدادی از *QTL*‌های مهم بر اساس نتایج *QTL*‌های اولیه، کلون شده‌اند که می‌توانند مستقیماً در برنامه به‌نژادی برنج از طریق انتقال آن‌ها به ارقام مورد نظر با روش‌های انتقال ژن و یا به‌کارگیری انتخاب به‌کمک نشانگر (MAS) استفاده شوند (Wang *et al.*, 2013).

در مطالعه‌ای که برای مکان‌یابی *QTL*‌های صفات مرتبط با عملکرد دانه در لاین‌های خالص نوترکیب برنج انجام شد، چهار *QTL* برای عملکرد دانه طی دو سال متوالی با آلل‌های مفید از والد R998 شناسایی شد و مکان *qGY8* بیش از ۲۰ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را در هر دو سال توجیه کرد (Zhu *et al.*, 2017). شیخ‌پور و همکاران (Sheykhpour *et al.*, 2013) شناسایی *QTL*‌ها را برای ۱۸۸ لاین از جمعیت نسل سوم حاصل از دو رقم برنج محلی بینام و اصلاح شده کادوس با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب انجام دادند و برای ارتفاع بوته، پنج *QTL* روی کروموزوم‌های سه، هفت، نه، ده و یازده و برای زمان رسیدگی کامل نیز دو *QTL* روی کروموزوم‌های شش و هفت شناسایی کردند. از میان آن‌ها، مکان‌های ژنی *qPH3* و *qPH10* برای ارتفاع بوته و مکان ژنی *qMD6* برای روز تا رسیدگی کامل به‌ترتیب با تبیین ۱۷/۱۶، ۱۵/۴۵ و ۱۵/۷۱ درصد از تنوع فنوتیپی به‌عنوان *QTL*‌های مؤثر و نسبتاً بزرگ اثر معرفی شدند. مکان‌یابی *QTL* روی کروموزوم‌های مختلف در کنترل این صفات است (Nonoue *et al.*, 2008).

مطالعات در مورد مکان‌یابی *QTL*‌ها در محیط‌ها و جمعیت‌های مختلف با استفاده از نشانگرهای مولکولی نشان داده است که برهمکنش بین آلل‌های مکان‌های ژنی (*QTL*‌های) مختلف نقش مهمی در اساس ژنتیکی صفات زراعی ایفا می‌کند. برهمکنش *QTL* با محیط یکی دیگر از مؤلفه‌های مهم کنترل ژنتیکی صفات کمی است. این برهمکنش را می‌توان به دو بخش برهمکنش اثر افزایشی با محیط (AE) و برهمکنش اپیستاتیک افزایشی × افزایشی با محیط (AAE) تقسیم کرد (Zhao *et al.*, 2010). به هر حال، اپیستازی (برهمکنش بین جایگاه‌های ژنی مختلف) یکی از اجزای مهم ژنتیکی در تعیین فنوتیپ صفات کمی پیچیده است (Wang *et al.*, 2018).

برنج از مهم‌ترین محصولات زراعی و غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت جهان است که در حدود ۳۵ تا ۷۵ درصد کالری مصرفی بیش از سه میلیارد نفر از مردم آسیا را تأمین می‌کند (Zhang and Wing, 2013). برآورد شده است که برای تأمین تقاضای جمعیت رو به رشد جهان، ۴۰ درصد افزایش تولید برنج تا سال ۲۰۳۰ مورد نیاز خواهد بود (Khush, 2005). به‌نژادگران برنج برای توسعه ارقام اصلاح شده با عملکرد دانه بیشتر، مقاومت بیشتر در برابر بیماری‌ها، تحمل بیشتر تنش‌های غیرزنده و با ویژگی‌های زراعی مناسب تلاش می‌کنند. این صفات عمدتاً کمی هستند و توسط چندین ژن کنترل می‌شوند که هر یک از آن‌ها آثار نسبتاً کوچکی بر فنوتیپ دارند (Chaudhari *et al.*, 2018).

ارقام بومی برنج ایرانی علی‌رغم محصول کم، به خاطر برخورداری از کیفیت دانه عالی، هنوز بیش‌ترین سطح زیرکشت را در ایران به‌خود اختصاص داده‌اند (Singh *et al.*, 2005; Soroush *et al.*, 2000). انتخاب و معرفی ارقام خالص زودرس یکی از اهداف مهم به‌نژادی برنج در ایران به‌ویژه در شمال کشور است، زیرا وجود بارندگی‌های اواخر مرداد و شهریور ماه باعث خوابیدگی بوته و کاهش عملکرد و کیفیت دانه می‌شود. همچنین استفاده از ارقام برنج زودرس، علاوه بر فرار از برخورد با نسل سوم کرم ساقه‌خوار برنج، کاهش مصرف آب را نیز به‌همراه خواهد داشت. بنابراین، تحقیقات در جهت به‌نژادی ارقام بومی زودرس، پاکوتاه و مقاوم به ورس و با عملکرد بیشتر جهت رفع معایب آن‌ها از اهمیت زیادی در برنامه‌های به‌نژادی برنج ایران برخوردار است.

ژنتیک صفات مهم در برنج برای بهبود عملکرد همیشه یک هدف بزرگ به‌نژادی بوده است. بیش‌تر صفات زراعی دارای قابلیت توارث کمی هستند، بنابراین نقشه‌یابی مکان‌های ژنی صفات کمی (*QTL*) توسط به‌نژادگران به منظور توسعه ارقام جدید برنج بسیار مفید خواهد بود (Zhang *et al.*, 2018). *QTL* در حقیقت قطعه یا ناحیه‌ای از کروموزوم است که ژن یا ژن‌های کنترل کننده یک صفت کمی را حمل می‌کند (Rabiei and Sabouri, 2008). محققان، تا کنون *QTL*‌های زیادی را با استفاده از جمعیت‌های مختلف برای صفات مرتبط با عملکرد و تحمل به تنش‌ها در برنج شناسایی کرده‌اند (Mei *et al.*, 2005).

تعداد ۲۴۲ لاین خالص نوترکیب F₆ از این دو جمعیت همراه با پنج ژنوتیپ شاهد شامل والد IR، خزر، صالح، والد علی‌کاظمی و هاشمی، در قالب طرح آگمنت بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تکرار در دو منطقه رشت و ایستگاه تحقیقات برنج چپرسر تنکابن به صورت تک‌بوته کشت شد. مساحت واحدهای آزمایشی دو متر مربع و فاصله نشاها از یکدیگر ۲۵×۲۵ سانتی‌متر بود. در مرحله رسیدگی کامل، ارتفاع بوته و طول خوشه در ده نمونه تصادفی از هر واحد آزمایشی به روش ارزیابی استاندارد مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (Chaudhary, 1996) اندازه‌گیری شد. صفت روز تا ۵۰ درصد گلدهی (تاریخ خوشه‌دهی) با محاسبه تعداد روز از زمان بذرپاشی تا زمانی که در هر واحد آزمایش حدود ۵۰ درصد خوشه‌ها از غلاف برگ پرچم خارج شدند، برحسب روز ارزیابی شد. پس از برداشت بذر از بوته‌ها و رساندن رطوبت آن‌ها به ۱۴ درصد، شلتوک حاصل از هر ژنوتیپ توزین و عملکرد هر ژنوتیپ محاسبه شد. سپس میانگین مشاهدات برای هر صفت برای محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای EXCEL و SAS استفاده شد.

برای انجام آزمایش‌های مولکولی، نمونه‌های برگ‌ها از مخلوط ده بوته از هر واحد آزمایشی در مرحله پنجه‌زنی تهیه و استخراج DNA از آن‌ها به روش CTAB انجام شد (Murray and Thompson, 1980). کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد و اسپکتروفوتومتری تعیین شد. تعداد ۳۰۰ جفت آغازگر ریز ماهواره بر اساس نقشه فیزیکی تمنیخ و همکاران (Temnykh *et al.*, 2000) و مک‌کوش و همکاران (McCouch *et al.*, 2002) با توزیع مناسب روی کلیه کروموزم‌ها انتخاب و با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز روی والدین دو جمعیت آزمون شدند. از بین جفت آغازگرهای ریزماهواره آزمون شده روی والدین، تعداد ۸۷ جفت با بیش‌ترین چند شکلی قابل امتیازدهی در هر دو جمعیت انتخاب شدند. نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهواره در دو جمعیت مورد مطالعه با استفاده از داده‌های ژنوتیپی ۸۷ نشانگر چندشکل در والدین و افراد F₆ و با به‌کارگیری نرم‌افزار Map Manager (Manly *et al.*, 2001) تهیه و فواصل نشانگری در این نقشه بر اساس تابع کوزمبای محاسبه شد. به دلیل این‌که نسل ششم تقریباً نسل خالصی است، قبل از تهیه نقشه پیوستگی، به منظور بررسی وجود یا عدم وجود انحراف فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی مشاهده

تا کنون QTL‌های اپیستاتیک معنی‌دار برای عملکرد، ارتفاع بوته، طول خوشه و تاریخ خوشه‌دهی برنج در جمعیت‌های مختلف ژنتیکی شناسایی شده است (Mei *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2007; Qu *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2014). در یک مطالعه، وجود آثار اپیستازی بین ژن‌های *Hd3* و *Hd1* برای زمان خوشه‌دهی برنج گزارش شد (Lin *et al.*, 2003). در مطالعه دیگری، برهمکنش اپیستازی افزایشی × افزایشی معنی‌دار، ولی برهمکنش اپیستازی افزایشی × افزایشی با محیط برای ارتفاع بوته در برنج معنی‌دار نبود (Zhao *et al.*, 2013).

در این تحقیق، صفات مهم زراعی مانند تاریخ خوشه‌دهی، ارتفاع بوته، طول خوشه، تاریخ خوشه‌دهی و عملکرد دانه در لاین‌های خالص نوترکیب دو جمعیت پیشرفته حاصل از تلاقی رقم محلی علی‌کاظمی با رقم اصلاح شده صالح و تلاقی رقم علی‌کاظمی با لاین IR67017-180-2-1-2 در دو محیط رشت و چپرسر (تنکابن) ارزیابی شدند و ضمن مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده این صفات، آثار اپیستازی مکان‌های ژنی و برهمکنش آن‌ها با محیط برآورد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از دو جمعیت لاین‌های خالص نوترکیب (RIL) مربوط به نسل ششم (F₆) حاصل از تلاقی IR67017-180-2-1-2 / علی‌کاظمی (جمعیت IRA) و صالح / علی‌کاظمی (جمعیت SA) استفاده شد. تعداد لاین‌ها در این دو جمعیت به ترتیب ۱۲۹ و ۱۱۳ لاین بود. این تلاقی‌ها در مؤسسه تحقیقات برنج کشور در رشت در سال زراعی ۱۳۹۱ انجام شد و جمعیت‌های حاصل تا نسل F₆ به صورت بالک تک‌بذر و از طریق تولید سریع نسل‌های پیشرفته (RGA) در گلخانه توسعه یافتند. والدهای پدری شامل لاین یا والد IR و رقم صالح (والد S) از ژنوتیپ‌های برنج پاکوتاه، مقاوم به ورس با خاصیت کودپذیری مناسب همراه با افزایش محصول در شرایط مناسب و به‌ترتیب با دوره رشد ۱۲۵ و ۱۱۳ روزه بودند، هر چند که از لحاظ کیفیت پخت دانه زیاد مورد توجه نیستند. در مقابل، رقم علی‌کاظمی (A) به‌عنوان والد مادری مشترک هر دو تلاقی، دارای عملکرد پایین، پابلند، حساس به ورس، کم‌پنجه و با دوره رشد ۱۱۷ روزه بود و یکی از بهترین ارقام محلی ایران از لحاظ کیفیت پخت، خوراک و عطر و طعم است.

در جمعیت IRA بیش‌تر از جمعیت SA بود. در حالی‌که میانگین صفات دیگر در جمعیت SA بیش‌تر از جمعیت IRA بود. با این حال اختلاف میانگین هر یک از صفات بین دو جمعیت کم بود. به‌علاوه تنوع و دامنه تغییرات تمام صفات در جمعیت IRA بیش‌تر از جمعیت SA بود.

نتایج آزمون کای‌اسکور (χ^2) نشان داد که فراوانی ژنوتیپی نشانگرها برای لاین‌های خالص نوترکیب (F₆) دو جمعیت، مطابقت خوبی با فراوانی مورد انتظار مندلی داشتند. بنابراین از همه نشانگرهای چندشکل جهت تهیه نقشه پیوستگی و تجزیه QTL استفاده شد. نقشه پیوستگی هر جمعیت ۱۳۵۶ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را با فاصله متوسط ۱۵/۵۸ سانتی‌مورگان بین نشانگرهای ریزماهواره پوشش داد (شکل ۲). معمولاً نقشه پیوستگی در مطالعات مختلف، به‌دلیل نوع، میزان خلوص، انداز جمعیت‌ها و نیز نوع و تعداد نشانگرها، متفاوت است. در یک تحقیق، طول کل نقشه پیوستگی ۱۴۴۵/۷ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد و فاصله نشانگرهای مجاور از یکدیگر به‌طور متوسط ۲۱/۵۷ سانتی‌مورگان بود (Rabiei et al., 2013).

مکان‌های ژنی شناسایی شده برای صفات مورد مطالعه به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب با استفاده از نرم‌افزار QTLNETWORK v.2 در جدول ۳ ارائه شده است. برای ارتفاع بوته، سه QTL روی کروموزم‌های دو، پنج و شش در جمعیت IRA به‌ترتیب ۱۹/۶، ۱۱/۶ و ۲۱/۵ درصد از تنوع فنوتیپی ارتفاع بوته را توجیه کردند. *qPH2* و *qPH6*، آللهایی از والد علی‌کاملی برای افزایش ارتفاع بوته به‌ترتیب به‌میزان ۴/۹ و ۵/۲ سانتی‌متر داشتند، در حالی‌که *qPH5*، آللهایی از والد IR برای کاهش ارتفاع بوته به‌میزان ۳/۶ سانتی‌متر داشت. فقط مکان ژنی *qPH6* دارای برهمکنش معنی‌دار با محیط بود.

برای ارتفاع بوته یک QTL در جمعیت SA روی کروموزوم پنج شناسایی شد. این مکان ژنی (*qPH5*) آللهایی از والد صالح برای کاهش ارتفاع بوته به میزان ۳/۷۶ سانتی‌متر داشت که ۱۷/۶ درصد از تنوع فنوتیپی ارتفاع بوته را توجیه کرد. در یک مطالعه، دو QTL از هشت ارتفاع بوته همانند تحقیق حاضر روی کروموزوم‌های دو و شش قرار داشتند (Mei et al., 2003). همچنین وانگ و همکاران (Wang et al., 2011)، *qPH-2* را با واریانس فنوتیپی ۱۱/۹ درصد و اثر افزایشی ۷/۹ در ناحیه کروموزومی نزدیک به *qPH2* تحقیق حاضر گزارش کردند.

شده نشانگرهای ریزماهواره از فراوانی‌های مورد انتظار مندلی (نسبت ۱:۱)، از آزمون کای‌اسکور (χ^2) استفاده شد. جهت برآورد بهتر و دقیق‌تر مکان‌های ژنی پایدار به‌طور هم‌زمان برای هر دو مکان و شناسایی QTL‌های دارای برهمکنش با محیط، تجزیه QTL با استفاده از نرم‌افزار QTLNETWORK v.2 (Yang and Zhu, 2005) انجام شد. تجزیه هم‌زمان داده‌ها، به روش الگوریتم MCMC با استفاده از مدل Bayesian انجام شد (Wang et al., 1994; Satagopan et al., 1996). در این روش با استفاده از مدل ترکیبی مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب و آزمون F، نزدیک‌ترین نقطه به QTL واقعی به‌عنوان مکان ژنی با اثر معنی‌دار شناسایی شده و هم‌زمان برهمکنش بین مکان‌های ژنی با اپیستازی (AA) و برهمکنش اپیستازی با محیط (AAE) برآورد شد (Wang et al., 1999; Yang et al., 2008).

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین تیمارها اعم از لاین‌ها و شاهد‌ها (شامل والدهای پدری و مادری) وجود دارد و به علت معنی‌دار نبودن بلوک، تصحیح تیمارها انجام نشد (جدول ۱). صفات مورد مطالعه، توزیع فراوانی تقریباً نرمال با تفکیک متجاوز در هر یک از دو جمعیت نشان دادند (شکل ۱)، بدین معنی که صفات اندازه‌گیری شده توسط ژن‌های متعدد کنترل می‌شوند که با گزارشات قبلی محققین دیگر در این زمینه مطابقت دارد (Rabiei, 2007; Fu et al., 2010; Wang et al., 2014). بنابراین انتظار می‌رود که جمعیت‌های RIL حاصل از تلاقی دو والد برای نقشه‌یابی QTL برای این صفات مناسب باشد.

میانگین و دامنه تغییرات ارزش‌های فنوتیپی صفات والدین و دو جمعیت IRA و SA برای دو مکان در جدول ۲ ارائه شده است. ارقام والدینی از نظر تمام صفات اختلاف معنی‌داری داشتند. به طوری‌که عملکرد دانه رقم محلی علی‌کاملی به‌عنوان والد مادری به‌طور قابل توجهی کم‌تر از دو والد پدری، یکی IR به‌عنوان رقم اصلاح شده از IRRI و دیگری رقم اصلاح شده ایرانی صالح بود. در حالی‌که ارتفاع بوته علی‌کاملی به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیش‌تر از دو والد پدری بود. از نظر زودرسی و طول خوشه رقم محلی در حدواسط دو والد پدری قرار داشت. میانگین عملکرد دانه

برای صفات متفاوت می‌تواند در تعیین چند اثره بودن (پلیوتروپی) یا نبودن *QTL* یا ناحیه کروموزومی بر صفات مورد بررسی کمک کند.

برای صفت ارتفاع بوته در جمعیت *IRA*، پنج اپیستازی افزایشی × افزایشی (*AA*) معنی‌دار بین مکان‌های ژنی روی کروموزوم‌های یک، دو، سه، شش و هفت (هر کدام یک مکان ژنی) و روی کروموزوم‌های چهار و پنج (به ترتیب سه و دو مکان ژنی) شناسایی شد (جدول ۴). سه جفت از این اپیستازی‌ها مثبت بودند و اثر افزایشی بر ارتفاع بوته داشتند که با توجه به اهداف اصلاح برنج مینی بر تولید واریته‌های پاکوتاه و نیمه پاکوتاه، مطلوب نبودند. دو جفت دیگر از این آثار اپیستازی بین مکان‌های ژنی روی کروموزوم‌های چهار و پنج منفی بودند و دارای توجیه تنوع فنوتیپی بین ۴/۱ تا ۶/۴ درصد بودند که باعث کاهش ارتفاع بوته از ۲/۷ تا ۳/۶ سانتی‌متر شدند. حسینی چالشتری و همکاران (*Hosseini Chaloshitari et al., 2012*) در جمعیت *IR-22* / هاشمی، یک اثر اپیستازی بین مکان‌های ژنی *Ph2* و *Ph7* گزارش کردند که مانند اپیستازی جمعیت *IRA* تحقیق حاضر، بین *qPH2* و *qPH7-1* به ترتیب روی کروموزوم‌های دو و هفت شناسایی شد.

در جمعیت *SA*، شش جفت اپیستازی *AA* معنی‌دار بین مکان‌های ژنی روی کروموزوم‌های دو و سه هر کدام سه مکان ژنی و روی کروموزوم‌های چهار، پنج و هفت هر کدام دو مکان ژنی شناسایی شد. سه جفت از این آثار اپیستازی بین مکان‌های ژنی، مثبت بودند و اثر افزایشی بر ارتفاع بوته داشتند و سه جفت دیگر از آن‌ها روی کروموزوم‌های دو، سه، پنج و هفت، منفی و دارای دامنه تنوع فنوتیپی تبیین شده بین ۱/۸ تا ۶/۱ درصد بودند که باعث کاهش ارتفاع بوته از ۳/۹۶ تا ۵/۸۵ سانتی‌متر شدند. برهمکنش اپیستازی افزایشی × افزایشی در محیط (*AAE*) برای ارتفاع بوته در جمعیت *IRA*، فقط بین *QTL*‌های *qPH4-1* و *qPH4-2* روی کروموزوم چهار و در جمعیت *SA*، فقط بین *QTL*‌های *qPH5-1* و *qPH7-1* معنی‌دار بود که با توجیه ۱/۲۱ و ۱/۲۳ درصد از تنوع فنوتیپی، باعث کاهش ارتفاع بوته در منطقه تنکابن و افزایش ارتفاع بوته در منطقه رشت شدند. آثار اپیستازی و برهمکنش *QTL* با محیط معنی‌دار برای ارتفاع بوته توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (*Li-Jun et al., 2009*).

دو مکان ژنی *qPH5* با موقعیت *QTL*ی متفاوت در دو جمعیت *IRA* و *SA* شناسایی شدند که در کاهش ارتفاع بوته از طریق انتقال آلل‌هایی از والد پدری پرمحصول نقش داشتند. این *QTL*‌ها که برهمکنش معنی‌دار با محیط (*AE*) نداشتند، به‌عنوان *QTL*‌های پایدار و مطلوب با اثر ژنی متوسط یا نسبتاً بزرگ‌اثر شناسایی شدند و با توجه به اهمیت و مزایای کاهش ارتفاع بوته، از این *QTL*‌ها می‌توان در برنامه به‌نژادی برنج استفاده کرد. دشموخ و همکاران (*Deshmukh et al., 2010*) اعلام کردند که *QTL*‌هایی که در چند مکان و یا چند سال برای یک صفت تکرار می‌شوند، دارای پایداری هستند. وانگ و همکاران (*Wang et al., 2012*) تعداد سه *QTL* برای ارتفاع بوته روی کروموزوم‌های پنج و شش شناسایی کردند که *qPH5* همانند تحقیق حاضر در هر دو منطقه هاینان و وهان چین در بین نشانگرهای *RM3295* و *RM7081* به ترتیب با توجیه واریانس فنوتیپی ۴/۱ و ۵ درصد و اثر افزایشی کاهنده ارتفاع بوته، در نزدیکی *qPH5* جمعیت *SA* ما مکان‌یابی شد.

نشانگرهای *RM421* و *RM178* که فاصله ژنتیکی به ترتیب یک و دو سانتی‌مورگان با *qPH5* در جمعیت *SA* داشتند، به‌عنوان نشانگرهای پیوسته با آن شناسایی شدند (جدول ۳) و در برنامه به‌نژادی برنج یا انتخاب به کمک نشانگر (*MAS*) می‌توانند برای کاهش ارتفاع بوته استفاده شوند. در یک تحقیق آغازگرهای *RM17377* و *RM24117* به ترتیب با فاصله ۳/۹۴ و ۲/۷ سانتی‌مورگان در مجاورت *QTL*‌های ارتفاع گیاهچه برنج (*qSEH-4*) و (*qSEH-9*) شناسایی شدند. از فواصل ژنتیکی بین نشانگرها و این *QTL*‌ها به‌عنوان فواصل بسیار مناسب جهت استفاده از این آغازگرها در جهت انتخاب برای ارتفاع گیاهچه یاد شد (*Amiri Fahliani et al., 2014*).

مقایسه *QTL*‌های صفات مختلف در جمعیت *IRA* (جدول ۳) نشان داد که یک *QTL* مشابه روی کروموزوم شش در بین نشانگرهای *RM7551* و *RM8239* در کنترل دو صفت ارتفاع بوته و عملکرد دانه موثر است، ولی موقعیت این *QTL*‌ها به ترتیب ۷۵/۶ و ۷۵/۸ سانتی‌مورگان بسیار به هم نزدیک بود. در این موارد بر اساس نظریه لو و همکاران (*Lu et al., 2007*)، زمانی که یک *QTL* یا یک ناحیه کروموزومی مشابه روی دو یا چند صفت موثر است، مقایسه مکان مربوط به حداکثر *LOD* آن‌ها و شکل منحنی مربوطه

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مهم زراعی در دو جمعیت لاین‌های خالص نوترکیب برنج در مناطق تنکابن و رشت

Table 1. Analysis of variance for rice important agronomic traits in two RIL populations in Tonkabon and Rasht regions

Source of variations	df	Mean squares in Ali Kazemi/IR population							
		Tonkabon region				Rasht region			
		Plant height	Headinh date	Panicle length	Grain yield	Plant height	Headinh date	Panicle length	Grain yield
Treatment	133	374.9**	73.26**	6.25**	2054739**	482.9**	49.26**	4.73**	734680**
Among lines	128	276.2**	42.37**	5.57**	1951700**	398.2**	31.47**	3.70**	551166**
Among controls	4	1628**	112.7**	25.64**	5355191**	1875**	170.1**	17.14**	5092831**
Control vs treatment	1	7987**	3871**	15.32**	2.36**	5798**	1841**	85.44**	6844423**
Block	4	1.26 ^{ns}	2.90 ^{ns}	2.64 ^{ns}	7919 ^{ns}	4.46 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.44 ^{ns}	3694.00 ^{ns}
Error	16	5.06	2.48	1.12	12368.5	3.51	2.21	0.89	17243.4
CV (%)	-	1.96	1.99	3.60	2.43	1.57	1.80	3.42	3.29

Table 1. Continued.

جدول ۱- ادامه

Source of variations	df	Mean squares in Ali Kazemi/IR population							
		Tonkabon region				Rasht region			
		Plant height	Headinh date	Panicle length	Grain yield	Plant height	Headinh date	Panicle length	Grain yield
Treatment	117	342.6**	86.1**	5.98**	8553289**	359.2**	59.48**	3.25**	6974746**
Among lines	112	298.1**	49.7**	5.30**	6958469**	288.9**	42.60**	2.58**	4902066**
Among controls	4	1639**	112.7**	25.64**	53551919**	1875**	170.1**	17.1**	5092832**
Control vs treatment	1	146**	4044**	2.52 ^{ns}	6873709**	2159**	1507**	23**	6351055**
Block	4	1.26 ^{ns}	2.9 ^{ns}	2.64 ^{ns}	7919 ^{ns}	4.46 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.44 ^{ns}	36946 ^{ns}
Error	16	5.06	2.48	1.12	123699	3.51	2.21	0.89	172436
CV (%)	-	1.74	1.99	3.48	2.49	1.50	1.78	3.33	3.28

جدول ۲- میانگین، انحراف معیار و دامنه تغییرات صفات مهم زراعی در والدین و دو جمعیت برنج در دو منطقه مورد مطالعه
Table 2. Means \pm standard deviation (SD) and range of important agronomic traits in parents and two rice populations in two studied regions

Trait	Parents			IRA population		SA population	
	IR	Saleh	Alikazemi	Range	Means \pm SD	Range	Means \pm SD
Plant height	114.8	117.1	154.1	93.6-163.8	125.9 \pm 16.7	81.5 \pm 170.2	114.3 \pm 17.5
Heading date	92.8	83.0	88.3	66.0-93.5	79.0 \pm 6.9	66.0 \pm 97.5	78.9 \pm 5.9
Panicle length	27.1	32.6	29.9	24.2-33.1	29.3 \pm 1.8	23.4 \pm 33.7	28.2 \pm 1.9
Grain yield	5471	4960.5	3069.5	2513-5979	4199 \pm 739	2394 \pm 6866	4256 \pm 992

کردند، دارای آثار افزایشی منفی بودند و آل‌هایی را از والد علی‌کاظمی برای کاهش طول دوره رشد داشتند. ربیعی (2007) با استفاده از ۸۸ نشانگر SSR، تعداد ۱۹۲ بوته F₂ حاصل از تلاقی ارقام بومی دم‌سفید و گرده را ارزیابی و شش *QTL* برای کنترل تاریخ گلدهی شناسایی کرد که سه *QTL* همانند این تحقیق روی کروموزوم‌های یک، سه و شش بودند که به لحاظ اثر افزایشی کاهنده این صفت نیز با تحقیق حاضر مطابقت داشتند. همچنین *hd3* بین نشانگرهای RM545-RM7 با واریانس فنوتیپی ۱۱/۷ درصد در ناحیه کروموزومی نزدیک به *qHD3* تحقیق حاضر مکان‌یابی شد. وی *QTL*‌های *hd6*، *hd7* و *hd8* با

برای صفت روز تا ۵۰ درصد گلدهی (تاریخ خوشه‌دهی) در جمعیت IRA، یک *QTL* روی کروموزوم شش بین نشانگرهای RM814-RM103 شناسایی شد (جدول ۳). *qPH6* با پوشش تنوع فنوتیپی ۲۷/۱ درصد و انتقال آل‌هایی از والد IR موجب افزایش ۱/۴ روز تاریخ بذریابی تا ۵۰ درصد گلدهی و به عبارت دیگر افزایش دوره رشد شد و بنابراین برای برنامه به‌نژادی برنج در ایران مطلوب نیست. بعلاوه برای تاریخ خوشه‌دهی در جمعیت SA، سه *QTL* (*qHD1* و *qHD3*، *qHD6*) روی کروموزوم‌های یک، سه و شش شناسایی شدند. این مکان‌های ژنی به ترتیب ۲۲/۲۳، ۱۸/۱۴ و ۱۱/۱۲ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه

است. بنابراین، می‌توان از این *QTL* با اطمینان بیشتری در برنامه‌های به‌نژادی جهت بهبود این صفت استفاده کرد. در یک مطالعه فقط یک *QTL* روی کروموزوم یک (*dth1.1*) برای تاریخ خوشه‌دهی در یک جمعیت RIL شناسایی شد که یک درصد از واریانس فنوتیپی را تبیین کرد و با آل‌هایی از والد Samgang، همانند *qHD1* این تحقیق دارای اثر افزایشی منفی و کاهشنده تاریخ گلدهی به مدت ۲/۷۶ روز بود. *dth1.1* برهمکنش *QTL* × محیط معنی‌داری نداشت که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت (Zhao *et al.*, 2010). نشانگر RM3441 با فاصله ۴/۶ سانتی‌مورگان در مجاورت *qHD3* روی کروموزوم سه برای تاریخ خوشه‌دهی وجود داشت (جدول ۳) که به‌عنوان نشانگر پیوسته با این *QTL* می‌تواند در برنامه انتخاب به کمک نشانگر (MAS) مورد توجه قرار گیرد. تامسون و همکاران (Thomson *et al.*, 2003) تعداد یازده *QTL* برای صفت روز تا گلدهی روی کروموزوم‌های یک (دو مورد)، دو، سه (چهار مورد)، چهار (دو مورد)، هفت و ده مکان‌یابی کردند که *qDth1.2* روی کروموزوم یک نزدیک به *qHD1* شناسایی شده در این تحقیق قرار داشت.

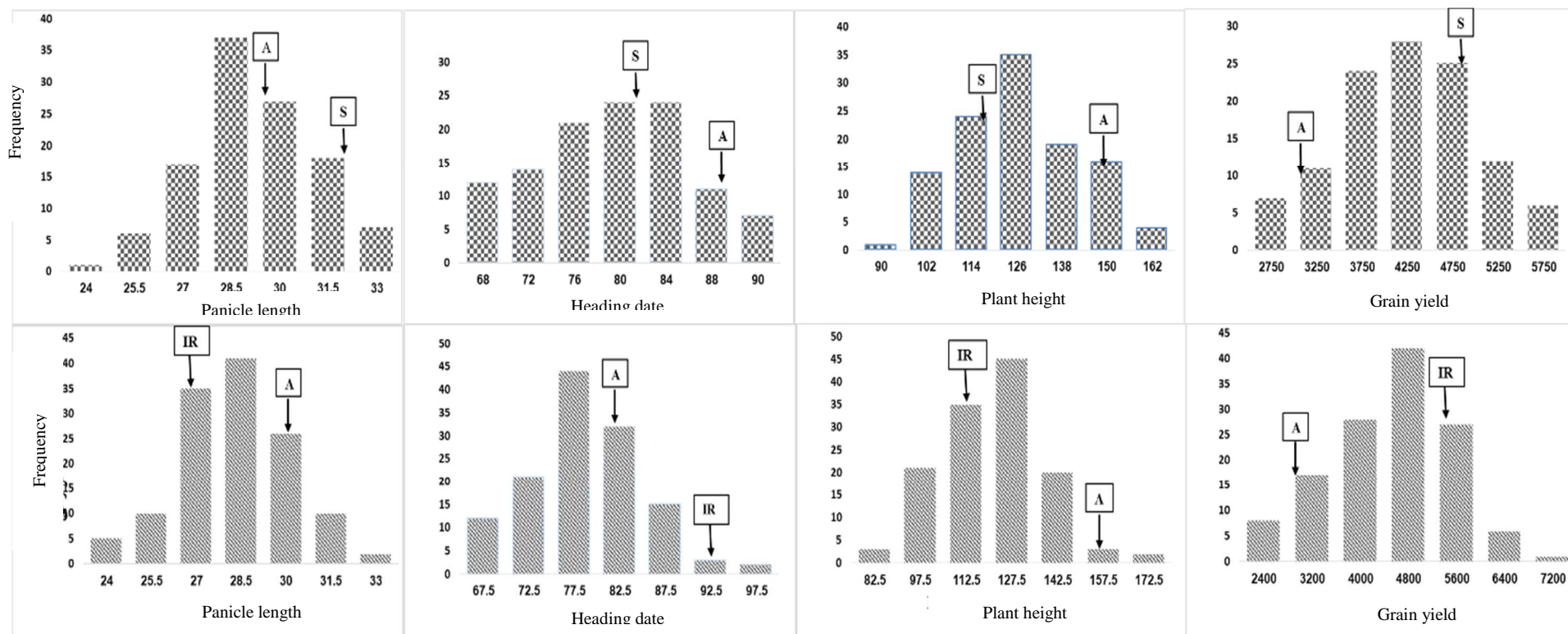
توجیه بیش از ۱۹ درصد از تنوع فنوتیپی را به‌عنوان *QTL* های بزرگ اثر معرفی کرد. لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2014) دو مکان‌ژنی کنترل‌کننده تاریخ خوشه‌دهی را روی کروموزوم شش و هفت در یک جمعیت RIL شناسایی کردند که *qHD-6* با واریانس فنوتیپی ۵/۳۷ درصد باعث تاخیر در گلدهی شد. این *QTL* در نزدیکی ناحیه کروموزومی *qHD6* در جمعیت SA این تحقیق، با اثر افزایشی منتج به زودرسی مکان‌یابی شد.

QTL بزرگ اثر (*qHD1*) در هر دو جمعیت دارای بیش‌ترین اثر افزایشی (۲/۶۰- روز) و توجیه‌کننده بالاترین تنوع فنوتیپی (۲۲/۲۳ درصد) بود. در یک مطالعه تعداد هفت *QTL* روی پنج کروموزوم توسط می و همکاران (Mei *et al.*, 2005) شناسایی شد که چهار *QTL* روی کروموزوم‌های یک و سه بودند. جایگاه *QHD1a* که در جمعیت RIL با واریانس فنوتیپی ۹/۲ درصد مکان‌یابی شد، تقریباً در نزدیکی ناحیه کروموزومی *qHD1* تحقیق حاضر قرار داشت و با اثر افزایشی مثبت، باعث ۲/۵ روز تاخیر در گلدهی شد. در تحقیق حاضر، برهمکنش *qHD1* با محیط (AE) نیز معنی‌دار نبود که بیانگر پایداری آن

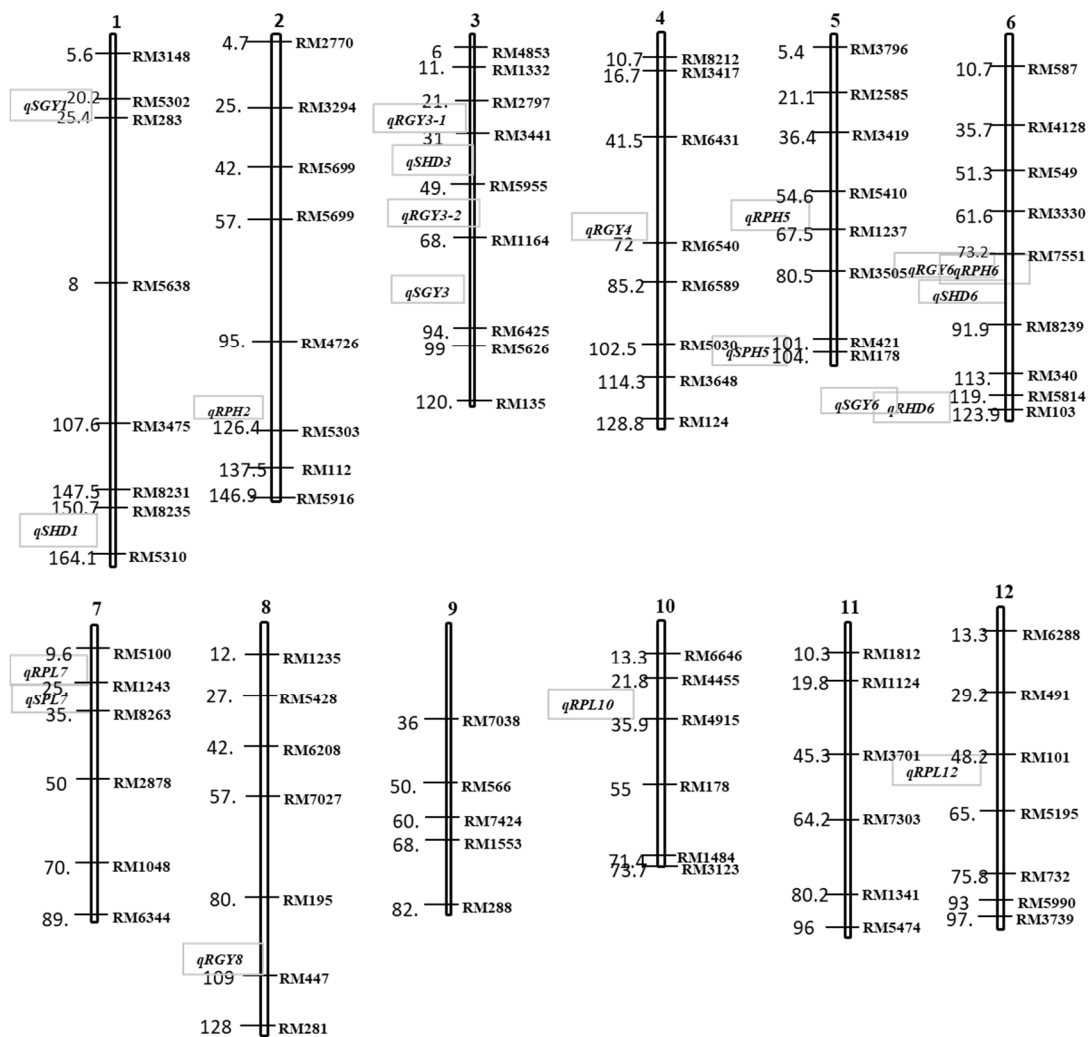
جدول ۳- آثار افزایشی و برهمکنش افزایشی × محیط برای *QTL* های شناسایی شده صفات برنج در دو جمعیت RIL در دو منطقه

Table 3. Additive (A) and additive × environment (AE) interaction effects of QTLs detected for rice agronomic traits measured in two RIL populations under two regions

Trait	<i>QTL</i>	Marker interval	Position (cM)	Parent	A _i	R ² _a	AE ₁	AE ₂	R ² _{ae}
Alikazemi/IR RIL population									
Plant height	<i>qPH2</i>	RM3355-RM5303	120.4	A	4.9	19.6	-	-	-
	<i>qPH5</i>	RM5410-RM1237	60.5	IR	-3.6	11.6	-	-	-
	<i>qPH6</i>	RM7551-RM8239	75.6	A	5.2	21.5	1.02	-1.3	1.1
Heading date	<i>qHD6</i>	RM5814-RM103	120.8	IR	1.4	27.7	-	-	-
	<i>qPL7</i>	RM5100-RM1243	22.3	A	2.6	8.7	-	-	-
Panicle length	<i>qPL10</i>	RM4455-RM4915	37.8	IR	-13.5	12.6	0.24	-0.15	2.11
	<i>qPL12</i>	RM5101-RM5195	49.5	A	18.9	19.9	-	-	-
	<i>qGY3-1</i>	RM2791-RM3441	30.0	A	-487.5	21.3	-	-	-
Grain yield	<i>qGY3-2</i>	RM5955-RM1164	60.3	A	-291.1	16.6	-	-	-
	<i>qGY4</i>	RM6431-RM6540	70.2	A	-207.1	14.5	11.12	-10.30	5.80
	<i>qGY6</i>	RM7551-RM8239	75.8	IR	182.9	15.6	-	-	-
	<i>qGY8</i>	RM195-RM447	108.5	A	-338.4	18.5	-	-	-
Alikazemi/Saleh RIL population									
Plant height	<i>qPH5</i>	RM421-RM178	102.5	S	-3.76	17.6	-	-	-
	<i>qHD1</i>	RM8235-RM5310	155.7	A	-2.60	22.23	-	-	-
Heading	<i>qHD3</i>	RM3441-RM5955	35.6	A	-1.26	18.14	-	-	-
	<i>qHD6</i>	RM7551-RM8239	78.6	A	-1.39	11.12	-	-	-
	<i>qPL7</i>	RM1243-RM8263	26.4	S	-7.43	16.7	0.38	-0.29	1.23
Panicle length	<i>qGY1</i>	RM5302-RM283	20.2	S	217.11	24.5	-	-	-
	<i>qGY3</i>	RM1164-RM6425	74.2	A	-167.3	18.12	-	-	-
	<i>qGY6</i>	RM5814-RM103	120.3	S	50.95	10.13	-14.21	12.1	3.21



شکل ۱- توزیع فراوانی چهار صفت زراعی در لاین‌های خالص نوترکیب جمعیت‌های IRA و SA. میانگین والدین با پیکان نشان داده شده است. A، علی‌کاظمی؛ S، صالح؛ IR، IR67017-180-2-1-2. Figure 1. Frequency distribution of four rice agronomic traits in IRA and SA RIL populations. The average of parental lines are indicated by arrows. A, Alikazemi; S, Saleh; IR, IR67017-180-2-1-2.



شکل ۲- نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهوره و موقعیت QTL‌های شناسایی شده برای صفات زراعی برنج در دو جمعیت لاین‌های خالص نوترکیب. R و S بعد از q به ترتیب نشان‌دهنده QTL مرتبط با جمعیت IRA و SA هستند.

Figure 2. Molecular linkage map of SSR markers and position of the QTLs identified for agronomic traits of rice in two RIL populations. R and S after q indicate the QTL of IRA and SA populations, respectively.

بلکه شرایط را برای شناسایی موثر ژن‌ها برای همسانه‌سازی مبتنی بر نقشه فراهم می‌کند (Rabiei *et al.*, 2015). سه اپیستازی افزایشی × افزایشی معنی‌دار روی کروموزوم‌های دو، هفت و چهار برای تاریخ خوشه‌دهی در جمعیت IRA شناسایی شد (جدول ۴). از میان آن‌ها، یک اثر اپیستازی بین مکان‌های ژنی *qHD2-1* و *qHD7-1* با توجه تنوع فنوتیپی ۲/۴ درصد شناسایی شد که باعث افزایش این صفت شد. دو اثر اپیستازی دیگر بین مکان‌های ژنی *qHD2-2* و *qHD4* و مکان‌های ژنی *qHD7-2* منفی بودند و تنوع فنوتیپی توجیه شده آن‌ها به ترتیب ۳/۹ و ۱/۲ درصد بود. این آثار منفی باعث کاهش دوره رشد و یا زودرسی می‌شوند که از اهداف مهم به‌نژادی برنج می‌باشد. در جمعیت SA، پنج اپیستازی AA معنی‌دار

محققین دیگر ژن‌های *Hd1* تا *Hd5* را مسئول گلدهی و طول دوره رشد گیاه معرفی کردند (Yano and Sasaki, 1997). صبوری و همکاران (Sabouri *et al.*, 2009) یک *QTL* بزرگ‌اثر را برای این صفت روی کروموزوم یک مکان‌یابی کردند. مقایسه نتایج نقشه‌یابی *QTL* برای تاریخ گلدهی در مطالعات مختلف نشان داد که در موقعیت‌های *QTL* این صفت تنوع زیادی وجود دارد. لین و همکاران (Lin *et al.*, 2011) معتقد بودند که این تنوع از تغییرات آلی ناشی می‌شود که در بسیاری از ارقام در اثر انتخاب مصنوعی یا طبیعی وجود دارد. بنابراین تلاش برای تعیین *QTL*‌های مرتبط با این صفت با استفاده از جمعیت‌های مختلف نه تنها منجر به شناسایی ژن‌های جدید می‌شود،

با محیط (AE) بود که با پوشش تنوع فنوتیپی ۲/۱۱ درصد در محیط یک (تنکابن) باعث افزایش و در محیط دو (رشت) باعث کاهش طول خوشه شد. این مکان‌های ژنی از ۸/۷ تا ۱۹/۹ درصد از تنوع فنوتیپی طول خوشه را پوشش دادند. بیش‌ترین اثر افزایشی مثبت و پوشش تنوع فنوتیپی، به جایگاه *qPL12* اختصاص داشت که می‌تواند به‌عنوان *QTL* بزرگ‌اثر برای افزایش طول خوشه استفاده شود. نشانگر RM5101 نیز با فاصله ۱/۳ سانتی‌مورگان با این *QTL* به عنوان نشانگر پیوسته با آن شناسایی شد که می‌تواند در برنامه انتخاب به کمک نشانگر مورد توجه قرارگیرد. برای طول خوشه در جمعیت SA یک *QTL* روی کروموزوم هفت حد فاصل RM1243-RM8263 با اثر افزایشی منفی شناسایی شد که ۱۶/۷ درصد از تنوع فنوتیپی توسط این مکان توجیه شد. این مکان ژنی دارای برهمکنش معنی‌دار با محیط بود و آللهایی از والد صالح را برای کاهش طول خوشه داشت. در هر دو جمعیت IRA، SA، *QTL*‌هایی روی کروموزوم هفت برای طول خوشه شناسایی شدند و هر چند که با داشتن یک نشانگر مشترک RM1243 در ناحیه کروموزومی نزدیک به هم بودند، ولی دارای بیان ژنی متفاوت بودند که متاثر از اختلاف جمعیت‌ها و محیط‌های گوناگون است. وانگ و همکاران (Wang et al., 2012) شش *QTL* روی پنج کروموزوم شناسایی کردند که دو *QTL* مشابه این تحقیق روی کروموزوم‌های هفت و ده مکان‌یابی شدند که به‌ترتیب دارای ۱۷/۳ و ۶/۱ درصد از واریانس فنوتیپی با اثر افزایشی کاهنده و افزایش‌دهنده طول خوشه بودند.

qPL10 نزدیک به ناحیه کروموزومی مکان‌ژنی تحقیق ما روی کروموزوم ده قرار داشت. در یک مطالعه از پنج *QTL* شناسایی شده، دو تا روی کروموزوم ۱۲ جمعاً با توجیه ۱۲ درصد از واریانس فنوتیپی، باعث افزایش طول خوشه شدند و *qPL-12b* با ۴/۹ درصد واریانس در ناحیه کروموزومی تقریباً نزدیک به *QTL* مشابه این تحقیق مکان‌یابی شد (Wang et al., 2011). سه اثر متقابل اپیستازی افزایشی × افزایشی (AA) روی کروموزوم‌های هفت، ده و ۱۲ برای طول خوشه در جمعیت IRA شناسایی شد. هیچ یک از این اپیستازی‌ها دارای برهمکنش معنی‌دار با محیط (AAE) نبودند (جدول ۴). اثرات متقابل اپیستازی بین *qPL12* با *qPL7* و بین *qPL12* با *qPL10* موجب کاهش طول خوشه و اپیستازی بین *qPL7* و *qPL10* موجب افزایش طول خوشه شدند. هیچکدام از آثار اپیستازی و برهمکنش اپیستازی در محیط برای این صفت در جمعیت SA

روی کروموزوم‌های یک، سه، پنج و ده شناسایی شد که سه اثر اپیستازی مثبت بودند و تنوع فنوتیپی توجیه شده آن‌ها ۱/۷، ۲/۱ و ۳/۲ درصد بود (جدول ۴). این آثار مثبت باعث افزایش یا تاخیر دوره رشد می‌شوند و بنابراین برای برنامه به‌نژادی برنج در ایران مطلوب نیستند. یک اثر اپیستازی بین مکان‌های ژنی *qHD1-1* روی کروموزوم یک با انتقال آللهایی از والد صالح و *qHD5-2* روی کروموزوم پنج با انتقال آللهایی از والد علی‌کاظمی با پوشش تنوع فنوتیپی ۲/۳ درصد باعث کاهش ۱/۵۴ روز در تاریخ خوشه‌دهی شد. یک اثر اپیستازی دیگر نیز روی کروموزوم یک بین مکان ژنی *qHD1-3* با انتقال آللهایی از والد علی‌کاظمی و مکان ژنی *qHD1-4* با انتقال آللهایی از والد صالح موجب کاهش ۲/۲۶ روز در تاریخ خوشه‌دهی شد. وجود آثار اپیستازی برای زمان خوشه‌دهی برنج قبلاً نیز بین ژن‌های *Hd1* و *Hd3* روی کروموزوم شش و *Hd2* روی کروموزوم هفت (Lin et al., 2003)، گزارش شده است. لی و همکاران (Li et al., 2003) آثار اپیستازی متعددی را برای تاریخ خوشه‌دهی و ارتفاع گیاه روی کروموزوم‌های مختلف برنج با استفاده از ۱۳۵ لاین دابل‌هاپلوئید حاصل از تلاقی بین IR64 و Azucena در نه محیط شناسایی کردند. دو برهمکنش معنی‌دار اپیستازی با محیط (AAE) برای این صفت مشاهده شد. در جمعیت IRA، اثر اپیستازی بین مکان ژنی *qHD2-1* و *qHD4* با انتقال آللهایی از والد IR از هر دو مکان ژنی، دارای AAE با تنوع فنوتیپی تبیین شده ۱/۳۱ درصد بوده است. در جمعیت SA نیز فقط یکی از آثار اپیستازی بین *qHD3* و *qHD5-1* با انتقال آللهایی از والد صالح از هر دو مکان ژنی دارای AAE با تنوع فنوتیپی تبیین شده ۱/۲۱ درصد بوده است. در یک تحقیق از چهارده *QTL* شناسایی شده برای طول دوره رشد برنج، تعداد پنج جفت ژن دارای اپیستازی و یک جفت ژن دارای برهمکنش *QTL* با محیط بودند (Liu et al., 2007).

نتایج حاصل از مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب برای صفت طول خوشه در جمعیت IRA در دو منطقه (جدول ۳) نشان داد که سه مکان ژنی *qPL7*، *qPL10* و *qPL12* روی کروموزوم‌های هفت، ده و ۱۲ شناسایی شدند. میزان اثر افزایشی برای این مکان‌های ژنی به‌ترتیب ۲/۶، ۱۳/۵- و ۱۸/۹ سانتی‌متر بود. مکان‌های ژنی *qPL7* و *qPL12* آللهایی از والد علی‌کاظمی برای افزایش طول خوشه داشتند ولی مکان ژنی *qPL10* آللهایی از والد IR برای کاهش طول خوشه داشت و فقط دارای برهمکنش افزایشی

معنی‌دار نشد، هر چند که در این جمعیت برای طول خوشه یک *QTL* روی کروموزوم هفت با اثر افزایشی منفی و برهمکنش معنی‌دار با محیط شناسایی شد. یی و همکاران (Ye *et al.*, 2009) نوزده جفت برهمکنش اپیستازی و یا اپیستازی در محیط معنی‌دار را برای طول خوشه در یک جمعیت RIL در دو سال مکان‌یابی کردند که در مجموع ۴۹/۰۵ درصد از تغییرات این صفت را در جمعیت لاین‌های خالص نوترکیب کنترل کردند.

برای صفت عملکرد دانه در جمعیت IRA پنج *QTL* روی کروموزوم‌های سه (دو مورد)، چهار، شش و هشت شناسایی شد (جدول ۳). *QTL* روی کروموزوم شش (*qGY6*) دارای آثار افزایشی مثبت به مقدار ۱۸۲/۹ کیلوگرم در هکتار با آللهایی از والد IR با پوشش تنوع فنوتیپی ۱۵/۶ درصد بود. سایر *QTL*ها دارای اثر اصلی افزایشی منفی با آللهای کاهنده عملکرد از والد علی‌کاظمی بودند. بیش‌ترین پوشش تنوع فنوتیپی به مقدار ۲۱/۳ درصد به مکان ژنی *qGY3-1* و کم‌ترین آن به مقدار ۱۴/۵ درصد به مکان ژنی *qGY4* تعلق داشت. وجود مکان‌های ژنی کنترل‌کننده عملکرد دانه قبلاً نیز توسط محققین دیگر روی کروموزوم سه (Guo *et al.*, 2005; Kwon *et al.*, 2008) کروموزوم چهار (Benmoussa *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2008) کروموزوم شش (Xing *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2013) و کروموزوم هشت (You *et al.*, 2006; Xie *et al.*, 2008; Yan *et al.*, 2011) گزارش شده است. برهمکنش افزایشی در محیط برای مکان ژنی *qGY4* معنی‌دار و برای سایر *QTL*های عملکرد دانه معنی‌دار نبود که حاکی از پایداری این مکان‌های ژنی و استقلال آن‌ها از تاثیر محیط می‌باشد. وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2014) هفت *QTL* دارای برهمکنش افزایشی با محیط در هر یک از دو جمعیت لاین‌های ایزوژنیک شناسایی کردند و یک *QTL* روی کروموزوم سه در یک جمعیت فاقد اثر متقابل معنی‌دار با محیط بود.

مکان ژنی *qGY6* با توجه به اثر افزایشی مثبت و با تبیین تنوع فنوتیپی ۱۵/۶ درصد، به‌عنوان *QTL* پایدار و بزرگ اثر شناسایی شد که می‌توان از این مکان ژنی با اطمینان بیش‌تری در برنامه‌های به‌نژادی در جهت بهبود صفت عملکرد استفاده کرد و نشانگر RM7551 با فاصله ۲/۶ سانتی‌مورگان با آن به‌عنوان نشانگر پیوسته با آن شناسایی شد. رحیمی و همکاران (Rahimi *et al.*, 2013) گزارش کردند که در بیش‌تر مطالعات به‌دلیل پیچیدگی

صفت عملکرد دانه، *QTL*های شناسایی شده دارای آثار فنوتیپی بسیار کمی هستند و از این‌رو دو *QTL*، *qGys1* و *qGys7* را به‌ترتیب با ۱۰/۸۰ و ۱۱/۸۱ درصد از تبیین تنوع فنوتیپی به‌عنوان *QTL*های بزرگ اثر شناسایی کردند و نشانگرهایی را که در فاصله کم‌تر از پنج سانتی‌مورگان از این *QTL*ها قرار داشتند، به‌عنوان نشانگرهای نزدیک به آن معرفی کردند تا احتمالاً بتوان از آن‌ها در برنامه هرمی کردن ژن‌های مثبت از منابع مختلف و یا انتخاب به کمک نشانگرها در افزایش عملکرد دانه استفاده کرد.

در جمعیت SA، سه *QTL* روی کروموزوم‌های یک، سه و شش شناسایی شدند. دو *QTL*، *qGY1* و *qGY6* با آثار افزایشی مثبت و آللهایی از والد صالح باعث افزایش عملکرد دانه شدند. جایگاه *qGY1* دارای بیش‌ترین پوشش تنوع فنوتیپی به مقدار ۲۴/۵ درصد و بیش‌ترین اثر افزایشی مثبت به مقدار ۲۱۷/۱۱ کیلوگرم بود و می‌تواند به‌عنوان یک *QTL* بزرگ‌اثر و مهم برای بهبود عملکرد برنج مورد توجه قرار گیرد. نشانگر RM5302 نیز که بدون فاصله و منطبق با آن شناسایی شد، می‌تواند به‌عنوان نشانگر پیوسته در برنامه انتخاب به‌کمک نشانگر مورد توجه باشد. کم‌ترین اثر افزایشی به مقدار ۵۰/۹۵ کیلوگرم با تبیین تنوع فنوتیپی ۱۰/۱۳ درصد مربوط به جایگاه *qGY6* بود. اثر افزایشی *qGY3* منفی و آللهایی را از والد علی‌کاظمی برای کاهش عملکرد دانه داشت. قابل توجه اینکه برخی از *QTL*های عملکرد دانه که در این مطالعه شناسایی شدند، قبلاً به‌عنوان *QTL*های عملکرد، در محیط‌ها و جمعیت‌های مختلف گزارش شده‌اند. از این‌رو، نقشه‌یابی دقیق و همسانه‌سازی این *QTL*ها درک مفاهیم ژنتیکی از عملکرد دانه را تسهیل خواهد کرد (Zhang *et al.*, 2018).

جدول ۴- اپیستازی افزایشی × افزایشی (AA) و برهمکنش اپیستازی با محیط (AAE) در *QTL* های شناسایی شده برای صفات مهم زراعی برنج در دو جمعیت RIL در دو منطقه

Table 4. Epistasis effect (AA) and epistasis × environment interaction (AAE) of detected *QTLs* in two RIL populations for rice important agronomic traits in two environments

Trait	<i>QTL_i</i>	Marker interval	<i>QTL</i> position	Parent	<i>QTL_j</i>	Marker interval	<i>QTL</i> position	Parent	AA	R ² _{aa}	AAE ₁	AAE ₂	R ² _{aae}
Alikazemi/IR RIL population													
Plant height	<i>qPH1</i>	RM8235-RM5310	153.4	A	<i>qPH6</i>	RM7551-RM8239	75.6	A	4.97	3.4	-	-	-
	<i>qPH2</i>	RM3355-RM5303	120.4	A	<i>qPH7-1</i>	RM5100-RM1243	22.0	A	1.2	1.9	-	-	-
	<i>qPH3</i>	RM1332-RM2791	11.80	IR	<i>qPH5-1</i>	RM421-RM178	103.5	IR	2.6	2.1	-	-	-
	<i>qPH4-1</i>	RM6540-RM6589	73.20	IR	<i>qPH4-2</i>	RM5030-RM3648	112.8	A	-2.7	6.4	1.22	-1.09	1.21
	<i>qPH4-2</i>	RM5030-RM3648	112.8	A	<i>qPH5-2</i>	RM421-RM178	103.5	IR	-3.6	4.1	-	-	-
Heading date	<i>qHD2-1</i>	RM2770-RM3294	25.0	A	<i>qHD7-1</i>	RM2878-RM1048	53.1	IR	1.4	2.4	-	-	-
	<i>qHD2-2</i>	RM3355-RM5303	96.6	IR	<i>qHD4</i>	RM6589-RM5030	95.4	IR	-2.7	3.9	0.21	-0.13	1.31
	<i>qHD2-1</i>	RM2770-RM3294	25.0	IR	<i>qHD7-2</i>	RM1048-RM6344	75.9	IR	-0.8	1.2	-	-	-
Panicle length	<i>qPL7</i>	RM5100-RM1243	12.2	IR	<i>qPL10</i>	RM4455-RM4915	27.8	IR	4.1	3.4	-	-	-
	<i>qPL7</i>	RM5100-RM1243	12.2	IR	<i>qPL12</i>	RM5101-RM5195	55.4	A	-2.9	1.9	-	-	-
	<i>qPL10</i>	RM4455-RM4915	27.8	IR	<i>qPL12</i>	RM5101-RM5195	55.4	A	-3.95	2.1	-	-	-
Grain yield	<i>qGY3-2</i>	RM2791-RM3441	30.0	IR	<i>qGY3-3</i>	RM5955-RM1164	65.3	A	-261.0	8.4	-	-	-
	<i>qGY3-2</i>	RM2791-RM3441	30.0	IR	<i>qGY8</i>	RM195-RM447	108.5	IR	263.9	7.9	-	-	-
	<i>qGY3-3</i>	RM5955-RM1164	65.3	IR	<i>qGY4</i>	RM6431-RM6540	58.2	IR	141.1	4.1	-	-	-
	<i>qGY3-3</i>	RM5955-RM1164	65.3	IR	<i>qGY6</i>	RM7551-RM8239	90.8	IR	175.6	5.4	-	-	-
	<i>qGY2</i>	RM3294-RM5699	25.5	A	<i>qGY4</i>	RM6431-RM6540	58.2	IR	-390.0	1.2	-	-	-
	<i>qGY3-1</i>	RM4853-RM1332	8.5	IR	<i>qGY4</i>	RM6431-RM6540	58.2	IR	193.6	6.1	-	-	-
Alikazemi/Saleh RIL population													
Plant height	<i>qPH2-1</i>	RM3294-RM5699	26.5	A	<i>qPH4-1</i>	RM6431-RM6540	70.2	A	4.93	2.3	-	-	-
	<i>qPH2-2</i>	RM5699-RM7426	55.3	A	<i>qPH3-1</i>	RM4853-RM1332	7.00	A	7.24	7.2	-	-	-
	<i>qPH2-3</i>	RM3355-RM5303	120.4	A	<i>qPH3-2</i>	RM2791-RM3441	31.0	S	-5.85	6.1	-	-	-
	<i>qPH3-3</i>	RM6425-RM5626	98.9	S	<i>qPH4-2</i>	RM3648-RM124	121.5	S	12.26	9.2	-	-	-
	<i>qPH5-1</i>	RM3505-RM421	90.2	S	<i>qPH7-1</i>	RM8263-RM2878	61.5	A	-4.04	2.2	1.34	-2.11	1.23
	<i>qPH5-2</i>	RM421-RM178	103.5	S	<i>qPH7-2</i>	RM1243-RM8263	25.4	A	-3.96	1.8	-	-	-
Heading	<i>qHD1-4</i>	RM8235-RM5310	160.4	S	<i>qHD10</i>	RM4455-RM4915	21.8	S	0.87	1.7	-	-	-
	<i>qHD1-1</i>	RM3148-RM5302	11.12	S	<i>qHD5-2</i>	RM3505-RM421	85.1	A	-1.58	2.3	-	-	-
	<i>qHD1-2</i>	RM283-RM5638	45.6	S	<i>qHD1-4</i>	RM8235-RM5310	155.4	S	1.57	2.1	-	-	-
	<i>qHD1-3</i>	RM5638-RM3475	101.6	A	<i>qHD1-4</i>	RM8235-RM5310	155.4	S	-2.26	2.9	-	-	-
	<i>qHD3</i>	RM4853-RM1332	8.1	A	<i>qHD5-1</i>	RM1237-RM3505	79.6	A	2.73	3.2	0.31	-0.28	1.21
Grain yield	<i>qGY1-1</i>	RM5302-RM283	20.2	S	<i>qGY3</i>	RM5955-RM1164	60.0	A	-135.7	6.3	-	-	-
	<i>qGY1-1</i>	RM5302-RM283	20.2	S	<i>qGY6-2</i>	RM5814-RM103	120.8	S	34.56	1.1	-	-	-
	<i>qGY1-2</i>	RM3475-RM8231	145.2	S	<i>qGY5-1</i>	RM5410-RM1237	60.1	A	-102.09	4.2	-	-	-
	<i>qGY1-3</i>	RM8235-RM5310	155.5	S	<i>qGY5-2</i>	RM3505-RM421	100.1	A	-284.37	8.2	-9.23	8.4	2.21
	<i>qGY6-1</i>	RM4128-RM549	20.5	S	<i>qGY6-2</i>	RM5814-RM103	120.3	S	205.46	7.8	-	-	-

QTL_i: Gene locus at position i, *QTL_j*: Gene locus at position j, AA: Epistatic Interactions, R²_{aa}: Diversity explained by epistatic effects, AAE₁: Epistasis Interaction with Environment 1, AAE₂: Epistasis Interaction with Environment 2, R²_{aae}: Diversity explained by epistatic interactions with the environment.

افزاینده عملکرد از والد صالح باعث افزایش محصول به مقدار ۲۰۵/۴۶ کیلوگرم در هکتار شد. وجود آثار اپیستازی در کنترل عملکرد توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (Xing *et al.*, 2002; You *et al.*, 2006; Fu *et al.*, 2010)، به طوری که چنگ و همکاران (Cheng *et al.*, 2013) در تحقیق خود دو جفت *QTL* اپیستاتیک افزایش‌دهنده عملکرد دانه مکان‌یابی و گزارش کردند.

هیچ‌یک از برهمکنش‌های اپیستازی با محیط (AAE) برای عملکرد دانه در جمعیت IRA معنی‌دار نبودند. در حالی که در جمعیت SA از پنج اثر اپیستازی، یک مورد که حاصل برهمکنش بین *QTL* های *qGY5-2* و *qGY1-3* بود، در محیط‌های متفاوت معنی‌دار بود و با توجه به تنوع فنوتیپی ۲/۲ درصد، برهمکنش AAE کاهنده عملکرد در منطقه تنکابن و افزایش‌دهنده عملکرد در منطقه رشت داشت. نتایج تجزیه همزمان داده‌ها در یک جمعیت RIL شامل ۱۸۸ لاین در دو منطقه نشان داد که اثر اپیستازی افزایشی × افزایشی که در کنترل عملکرد برنج نقش داشتند، فاقد برهمکنش معنی‌دار با محیط بودند (Zhao *et al.*, 2013). در تحقیقی برهمکنش اپیستازی معنی‌دار با محیط (AAE) برای عملکرد دانه گزارش شد (Hosseini *et al.*, 2014). در تحقیق دیگری که در جمعیت RIL حاصل از تلاقی MY46 و ZS97B انجام شد، برهمکنش اپیستازی با محیط (AAE) معنی‌دار برای عملکرد دانه شناسایی شد (Zhuang *et al.*, 2002).

مقایسه *QTL* های اصلی در بین دو جمعیت RIL در دو مکان (جدول ۳) نشان داد که از مجموع بیست *QTL* شناسایی شده، هیچ *QTL* مشترکی برای یک صفت مشخص، مشاهده نشد که به وضوح نشان‌دهنده تاثیر زیاد زمینه ژنتیکی بر بیان *QTL* ها است. به‌رحال در این مطالعه، *QTL* های دو صفت ارتفاع بوته (*qPH6*) و عملکرد دانه (*qGY6*) از جمعیت IRA و تاریخ خوشه‌دهی (*qHD6*) از جمعیت SA در هر دو جمعیت در فاصله نشانگری RM7551-RM8239 روی کروموزوم شش شناسایی شدند که علاوه بر ثبات و پایداری این *QTL* ها، بیانگر اثر پلیوتروپی این ناحیه ژنومی بر هر سه صفت نیز می‌باشد. در این موارد چنانچه این *QTL* ها دارای اثر مطلوب برای صفات مورد نظر باشند، می‌توان از آن‌ها برای هرمی کردن *QTL* ها در برنامه به‌نژادی به‌کمک نشانگر استفاده کرد. چنین نتیجه‌ای برای برخی صفات از جمله ارتفاع بوته و زیست‌توده برنج در دو جمعیت در بین

در جمعیت IRA، شش اپیستازی افزایشی × افزایشی (AA) معنی‌دار روی کروموزوم‌های دو، سه، چهار، شش و هشت برای عملکرد دانه شناسایی شد (جدول ۴). چهار اثر اپیستازی بین *QTL* های کروموزوم سه و *QTL* های کروموزوم‌های هشت، چهار و شش مثبت بود و آل‌هایی را از والد IR برای افزایش عملکرد از ۱۴۱/۱ تا ۲۶۳/۹ کیلوگرم در هکتار دارا بودند. بیش‌ترین تنوع فنوتیپی بین *QTL* های با آل‌های افزایش‌دهنده عملکرد ۷/۹ درصد بود. دو اپیستازی دیگر منفی بودند و آل‌های والد علی‌کاملی را برای کاهش عملکرد دانه داشتند. قابل توجه این‌که، اگرچه *QTL* های *qGY3-2* و *qGY8* و *QTL* های *qGY3-1* و *qGY4* هر یک با اثر افزایشی منفی و کاهنده عملکرد با آل‌هایی از والد علی‌کاملی بودند، ولی اثر اپیستازی این جفت *QTL* ها مثبت بود و باعث افزایش عملکرد دانه با آل‌هایی از والد IR شدند. بعلاوه جایگاه *qGY3-3* فاقد اثر افزایشی معنی‌دار و جایگاه *qGY4* با اثر افزایشی منفی و کاهنده عملکرد به مقدار ۲۰۷/۱ کیلوگرم در هکتار با هم اپیستازی مثبت داشتند که باعث افزایش عملکرد دانه به مقدار ۱۹۳/۶ کیلوگرم در هکتار شد. در مقابل، *qGY2* فاقد اثر افزایشی معنی‌دار با *qGY4* با اثر افزایشی منفی و کاهنده عملکرد، دارای اپیستازی منفی و کاهنده عملکرد به مقدار ۳۹۰ کیلوگرم در هکتار بود. به‌این ترتیب، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که ممکن است هر یک از *QTL* های فاقد اثر اصلی و یا با اثر اصلی افزایشی منفی و یا مثبت از طریق برهمکنش با سایر *QTL* ها دارای اپیستازی معنی‌دار و موثر در کاهش یا افزایش صفت به‌ویژه عملکرد دانه باشند و شاید به‌همین دلیل کنترل ژنتیکی عملکرد پیچیده است. در نتیجه نه تنها آثار اپیستازی، بلکه برهمکنش *QTL* با محیط نیز نقش مهمی در کنترل این صفت دارند و در صورت برآورد آن‌ها، می‌توان آثار افزایشی را با دقت بیش‌تر برآورد و برنامه‌های به‌نژادی برنج برای افزایش عملکرد دانه را با هدف‌مندی دقیق‌تری تهیه و اجرا کرد.

در جمعیت SA، پنج اثر اپیستازی معنی‌دار برای عملکرد دانه بین *QTL* های کروموزوم‌های یک، سه، پنج و شش شناسایی شد که از میان آن‌ها، سه اثر اپیستازی منفی و دو اثر مثبت بودند (جدول ۴). بیش‌ترین اثر اپیستازی مثبت بین مکان *qGY6-1* حد فاصل نشانگرهای RM4128-RM549 و مکان *qGY6-2* حد فاصل نشانگرهای RM5814-RM103 وجود داشت که ۷/۸ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه کرد و با انتقال آل‌های

نشان می‌دهد که سهم *QTL* های اصلی و *QTL* های غیرمعنی‌دار در اثر اپیستازی صفات به نوع جمعیت و صفت مورد مطالعه بستگی دارد. برای مثال، آثار اپیستازی در برخی جمعیت‌ها مانند SA به دلیل القای *QTL* های با اثر افزایشی غیرمعنی‌دار یا غیرقابل شناسایی بیان می‌شوند که ممکن است به‌عنوان عوامل تعدیل‌کننده عمل کنند (Cao *et al.*, 2001). در این مطالعه، برخی از *QTL* ها مانند *qPH4-2*، *qHD1-4*، *qPL7*، *qPL10*، *qPL12*، *qGy3-2*، *qGy3-3* و *qGy4* در بیش از یک برهمکنش اپیستازی نقش داشتند که نشان‌دهنده امکان ارتباط و تعامل بین چند ژن در کنترل ژنتیکی یک صفت است که با نتایج یی و همکاران (Ye *et al.*, 2009) مطابقت داشت. در این مطالعه دامنه تغییرات واریانس فنوتیپی توجیه شده صفات برای *QTL* های اصلی ۲۷/۷-۸/۷ درصد و برای *QTL* های اپیستاتیک ۲/۹-۱/۱ درصد بود که نشان داد سهم *QTL* های اصلی در کنترل ژنتیکی صفات مورد مطالعه بیش‌تر از اپیستاتیک بوده است. همچنین پنج مورد از برهمکنش *QTL* های اصلی با محیط (AE) و پنج مورد از برهمکنش *QTL* های اپیستاتیک با محیط (AAE) معنی‌دار بود. در مطالعات دیگران نیز سهم اثر *QTL* های اصلی غالباً بیش‌تر از اپیستاتیک گزارش و بر اهمیت برهمکنش اپیستازی و محیط در کنترل ژنتیکی صفات زراعی تاکید شد (Liao *et al.*, 2001; Xing *et al.*, 2002; You *et al.*, 2006; Ye *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012). وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2018) نیز آثار اپیستازی را یکی از اجزای ژنتیکی حائز اهمیت در تعیین فنوتیپ صفات پیچیده کمی گزارش کردند.

نتیجه‌گیری کلی

توجه به تحقیقات در جهت به‌نژادی ارقام بومی زودرس، پاکوتاه و مقاوم به خوابیدگی و با عملکرد بیش‌تر به‌منظور رفع نواقص آن‌ها از اهمیت زیادی در برنامه‌های به‌نژادی برنج کشور برخوردار است. تجزیه *QTL* ها و مقایسه آن‌ها در بین دو جمعیت در محیط‌های مختلف به به‌نژادگران برنج کمک خواهد کرد تا ساختار ژنتیکی صفات کمی را درک کنند و برنامه‌های به‌نژادی را با به‌کارگیری انتخاب به‌کمک نشانگرها بهبود بخشند (Zhao *et al.*, 2010). در تحقیق حاضر، در مجموع بیست *QTL* اصلی و سی و سه *QTL* اپیستاتیک با آثار مثبت و منفی در دو جمعیت IRA و SA شناسایی شد. تعداد هشت *QTL*

نشانگرهای RM440-RM3345 روی کروموزوم پنجم توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (Sabouri *et al.*, 2009). با این حال چون در تحقیق حاضر، این *QTL* ها که اثر افزایشی مناسب بر تاریخ خوشه‌دهی (زودرسی) ولی اثر نامطلوب بر ارتفاع بوته (افزایش ارتفاع) و عملکرد داشتند، برای هرمی کردن صفات مرتبط مناسب نبودند. همچنین یک *QTL* اصلی مشترک در فاصله نشانگری RM5814-RM103 در بین دو جمعیت مشاهده شد که در کنترل دو صفت تاریخ خوشه‌دهی (*qHD6*) از IRA و عملکرد دانه (*qGY6*) از SA نقش داشت.

مقایسه *QTL* های اپیستاتیک صفات مختلف در بین دو جمعیت (جدول ۴) نشان داد که یک اثر اپیستازی مشابه و پایدار برای برهمکنش دو *QTL* روی کروموزوم‌های دو و چهار به‌ترتیب در بین نشانگرهای RM3294-RM5699 و RM6431-RM640 شناسایی شد که در کنترل دو صفت عملکرد دانه در جمعیت IRA و ارتفاع بوته در SA نقش داشت. مقایسه *QTL* های مشارکت‌کننده در بروز آثار اپیستازی هر صفت در بین دو جمعیت نشان داد که برای صفت ارتفاع بوته *QTL* های اصلی، *qPH2* بین نشانگرهای RM3355-RM5303 و *qPH5* بین نشانگرهای RM421-RM178 و برای عملکرد دانه، *qGY3* بین نشانگرهای RM5955-RM1164 به‌طور مشترک در هر دو جمعیت در بیان آثار اپیستازی همان صفت نقش داشتند که احتمالاً بر ثبات و پایداری این اپیستازی در دو جمعیت دلالت دارد. لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2014) گزارش کردند که *QTL* هایی که در جمعیت‌ها و محیط‌های مختلف شناسایی می‌شوند، می‌توانند ارزش‌های عملی در برنامه‌های به‌نژادی برنج با هدف توسعه ارقام مقاوم به تنش از طریق انتخاب به‌کمک نشانگر داشته باشند. در این مطالعه هیچ جفت *QTL* اپیستاتیک مشترکی برای هیچ صفت منفردی در دو جمعیت یافت نشد.

مقایسه *QTL* های اصلی با اپیستاتیک نشان داد که از مجموع ۱۷ جفت *QTL* اپیستاتیک در جمعیت IRA، تعداد ۱۸ *QTL* اصلی (۵۳ درصد) در بیان برهمکنش اپیستازی صفات نقش داشتند. به‌علاوه نقش *QTL* های اصلی در بروز آثار اپیستازی برای صفاتی مانند طول خوشه و عملکرد دانه بسیار زیاد و برای صفات ارتفاع بوته و تاریخ خوشه‌دهی بسیار کم بود. در جمعیت SA، از مجموع ۱۶ جفت *QTL* اپیستاتیک، تعداد هشت *QTL* اصلی (۲۵ درصد) در برهمکنش اپیستازی موثر بودند. این موضوع

اپیستاتیک برای ارتفاع بوته، سه *QTL* اپیستاتیک برای تاریخ خوشه‌دهی، یک *QTL* اپیستاتیک برای طول خوشه و چهار *QTL* اپیستاتیک برای عملکرد دانه، در راستای بهبود صفات مورد مطالعه عمل کردند و فاقد برهمکنش معنی‌دار با محیط بودند. بنابراین، می‌توانند برای بهره‌گیری در برنامه‌های به‌نژادی برنج مورد توجه قرار گیرند.

سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله، صمیمانه از همکاران محترم موسسه تحقیقات برنج کشور به‌ویژه بخش تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و ایستگاه تحقیقات برنج چپر سر تنکابن و نیز از همکاران محترم دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان تقدیر و تشکر می‌کنند.

اصلی با توجیه تنوع فنوتیپی ۱۱/۱۲ تا ۲۴/۵ درصد، دارای آثار افزایشی مطلوب بر صفات مورد مطالعه و فاقد برهمکنش معنی‌دار با محیط بودند و بنابراین هر می‌کردن آل‌های مثبت می‌تواند در بهبود صفات مرتبط موثر باشد. همچنین، در این تحقیق شش نشانگر پیوسته شامل RM7551، RM5101، RM3441، RM178، RM421 و RM5302 با داشتن فاصله کم‌تر از پنج سانتی‌مورگان به‌ترتیب با *QTL*های *qSHD3*، *qSPH5*، *qSPH5* و *qSGY1* و *qRGY6*، *qRPL12* (شکل ۲، جدول ۳) که پس از اعتبارسنجی و تایید پیوستگی این نشانگرها، می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های انتخاب به‌کمک نشانگر برای به‌نژادی لاین‌های برنج در نسل‌های در حال تفکیک استفاده کرد. در این پژوهش، از مجموع سی و سه *QTL* اپیستاتیک شناسایی شده، تعداد دو *QTL*

References

- Amiri Fahliani, R., Khodambashi, M., Hoshmand, S. and Maesomiasl, A. 2014. Heritability of some morphological and qualitative traits of rice and identification of their related quantitative trait loci (*QTLs*) using microsatellite marker. *Journal of Plant and Seed Breeding* 30: 419-440. (In Persian with English Abstract).
- Benmoussa, M., Achouch, A. and Zhu, J. 2006. *QTL* analysis for yield components in rice (*Oryza sativa* L.) under different environments. *Journal of Central European Agriculture* 6: 317-322.
- Cao, G., Zhu, J., He, C., Gao, Y., Yan, J. and Wu, P. 2001. Impact of epistasis and *QTL*× environment interaction on the developmental behavior of plant height in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 103: 153-160.
- Chaudhari, P. R., Mishra, D., Koutu, G., Xalxo, S. S., Saxena, R. R., Singh, L. and Verulkar, S. 2018. Identification and mapping of *QTLs* for agronomic traits in recombinant inbred line population derived from Japonica X Indica sub-species in Rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Pharmacognosy Phytochemistry* 7: 2701-2704.
- Chaudhary, R. C. 1996. Standard evaluation system for rice. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Chen, J., Li, X., Cheng, C., Wang, Y., Qin, M., Zhu, H., Zeng, R., Fu, X., Liu, Z. and Zhang, G. 2014. Characterization of epistatic interaction of *QTLs* LH8 and EH3 controlling heading date in rice. *Scientific Reports* 4: 4263.
- Cheng, L., Xu, Q., Zheng, T., Ye, G., Luo, C., Xu, J. and Li, Z. 2013. Identification of stably expressed quantitative trait loci for grain yield and protein content using recombinant inbred line and reciprocal introgression line populations in rice. *Crop Science* 53: 1437-1446.
- Deshmukh, R., Singh, A., Jain, N., Anand, S., Gacche, R., Singh, A., Gaikwad, K., Sharma, T., Mohapatra, T. and Singh, N. 2010. Identification of candidate genes for grain number in rice (*Oryza sativa* L.). *Functional and Integrative Genomics* 10: 339-347.
- Fu, Q., Zhang, P., Tan, L., Zhu, Z., Ma, D., Fu, Y., Zhan, X., Cai, H. and Sun, C. 2010. Analysis of *QTLs* for yield-related traits in Yuanjiang common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *Journal of Genetics and Genomics* 37: 147-157.
- Guo, L., Xing, Y. Z., Mei, H., Xu, C., Shi, C., Wu, P. and Luo, L. 2005. Dissection of component *QTL* expression in yield formation in rice. *Plant Breeding* 124: 127-132.
- Hosseini Chaloshari, M., Houshmand, S., Mohammadi, S., Tarang, A., Khoddambashi, M. and Soroush, H. R. 2012. Mapping quantitative trait loci for plant height, heading time, growth duration

- and grain yield in two advanced back cross populations of rice. **Iranian Journal of Crop Sciences** 14 (3): 235-249.
- Hosseini Chaleshtari, M., Rahimsourosh, H. and Houshmand, S. 2014.** Estimation of epistasis and environmental effects to control of rice yield over four years. 13th Iranian Crop Science Congress and 3rd Iranian Seed Science Conference, August 26-28, Karaj, Iran.
- Khush, G. S. 2005.** What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030. **Plant Molecular Biology** 59: 1-6.
- Kwon, S.-J., Cho, Y.-C., Kwon, S.-W., Oh, C.-S., Suh, J.-P., Shin, Y.-S., Kim, Y.-G., Holligan, D., Wessler, S. R. and Hwang, H.-G. 2008.** QTL mapping of agronomic traits using an RIL population derived from a cross between temperate japonica cultivars in rice (*Oryza sativa* L.). **Breeding Science** 58: 271-279.
- Li-Jun, Z., Jiang, L., Xi, L., Hong, C., Liang-Ming, C., Shi-Jia, L. and Jian-Min, W. 2009.** Mapping and interaction of QTLs for thousand-grain weight and percentage of grains with chalkiness in rice. **Acta Agronomica Sinica** 35: 255-261.
- Li, Z.-K., Yu, S.-B., Lafitte, H., Huang, N., Courtois, B., Hittalmani, S., Vijayakumar, C., Liu, G., Wang, G. and Shashidhar, H. 2003.** QTL× environment interactions in rice. I. Heading date and plant height. **Theoretical and Applied Genetics** 108: 141-153.
- Liao, C., Wu, P., Hu, B. and Yi, K. 2001.** Effects of genetic background and environment on QTLs and epistasis for rice (*Oryza sativa* L.) panicle number. **Theoretical and Applied Genetics** 103: 104-111.
- Lin, H., Liang, Z.-W., Sasaki, T. and Yano, M. 2003.** Fine mapping and characterization of quantitative trait loci Hd4 and Hd5 controlling heading date in rice. **Breeding Science** 53: 51-59.
- Lin, Y.-R., Wu, S.-C., Chen, S.-E., Tseng, T.-H., Chen, C.-S., Kuo, S.-C., Wu, H.-P. and Hsing, Y.-I. C. 2011.** Mapping of quantitative trait loci for plant height and heading date in two inter-subspecific crosses of rice and comparison across *Oryza* genus. **Bot Stud** 52: 1-14.
- Liu, G., Yang, J., Xu, H. and Zhu, J. 2007.** Influence of epistasis and QTL× environment interaction on heading date of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Genetics and Genomics** 34: 608-615.
- Liu, L., Yan, X., Jiang, L., Zhang, W., Wang, M., Zhou, S., Shen, Y., Shen, Y., Liu, S. and Chen, L. 2008.** Identification of stably expressed quantitative trait loci for cooked rice elongation in non-Basmati varieties. **Genome** 51: 104-112.
- Liu, T., Yu, T. and Xing, Y. 2013.** Identification and validation of a yield-enhancing QTL cluster in rice (*Oryza sativa* L.). **Euphytica** 192: 145-153.
- Liu, Y., Chen, L., Fu, D., Lou, Q., Mei, H., Xiong, L., Li, M., Xu, X., Mei, X. and Luo, L. 2014.** Dissection of additive, epistatic effect and QTL× environment interaction of quantitative trait loci for sheath blight resistance in rice. **Hereditas** 151: 28-37.
- Lu, X.-L., Niu, A.-L., Cai, H.-Y., Zhao, Y., Liu, J.-W., Zhu, Y.-G. and Zhang, Z.-H. 2007.** Genetic dissection of seedling and early vigor in a recombinant inbred line population of rice. **Plant Science** 172: 212-220.
- Manly, K. F., Cudmore Jr, R. H. and Meer, J. M. 2001.** Map Manager QTX. Cross-platform software for genetic mapping. **Mammalian Genome** 12: 930-932.
- McCouch, S. R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K. B., Clare, K., Walton, M., Fu, B., Maghirang, R., Li, Z. and Xing, Y. 2002.** Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). **DNA Research** 9: 199-207.
- Mei, H., Li, Z., Shu, Q., Guo, L., Wang, Y., Yu, X., Ying, C. and Luo, L. 2005.** Gene actions of QTLs affecting several agronomic traits resolved in a recombinant inbred rice population and two backcross populations. **Theoretical and Applied Genetics** 110: 649-659.
- Mei, H. W., Luo, L. J., Ying, C. S., Wang, Y. P., Yu, X. Q., Guo, L. B., Paterson, A. H. and Li, Z. K. 2003.** Gene actions of QTLs affecting several agronomic traits resolved in a recombinant inbred rice population and two testcross populations. **Theoretical and Applied Genetics** 107: 89-101.
- Murray, M. G. and Thompson, W. F. 1980.** Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research** 8: 4321-4326.
- Nonoue, Y., Fujino, K., Hirayama, Y., Yamanouchi, U., Lin, S. and Yano, M. 2008.** Detection of quantitative trait loci controlling extremely early heading in rice. **Theoretical and Applied Genetics** 116: 715-722.
- Qu, Y., Mu, P., Zhang, H., Chen, C. Y., Gao, Y., Tian, Y., Wen, F. and Li, Z. 2008.** Mapping QTLs of root morphological traits at different growth stages in rice. **Genetica** 133: 187-200.

- Rabiei, B. 2007.** Linkage map of SSR markers and QTLs detection for heading date of Iranian rice cultivars. *Journal of Agricultural Science and Technology* 9: 235-242.
- Rabiei, B., Kordrostami, M., Sabouri, A. and Sabouri, H. 2015.** Identification of QTLs for yield related traits in Indica type rice using SSR and AFLP markers. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 80: 91-99.
- Rabiei, B., Masaeli, M. and Tarang, A. L. 2013.** Identification of QTLs for grain yield and yield component in rice (*Oryza sativa* L.). *Iranian Journal of Crop Sciences* 44: 293-304 (In Persian with English Abstract).
- Rabiei, B. and Sabouri, H. 2008.** Mapping genes controlling quantitative traits. University of Guilan Press. (In Persian).
- Rahimi, M., Rabiei, B., Dehghani, H. and Tarang, A. R. 2013.** Mapping main and epistatic QTLs for drought tolerance indices in F5 population of rice. *New Genetic Journal* 4: 435-448. (In Persian with English Abstract).
- Sabouri, H., Sabouri, A. and Dadras, A. R. 2009.** Genetic dissection of biomass production, harvest index and panicle characteristics in indica-indica crosses of Iranian rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Australian Journal of Crop Science* 3 (3): 155-166.
- Satagopan, J. M., Yandell, B. S., Newton, M. A. and Osborn, T. C. 1996.** A bayesian approach to detect quantitative trait loci using Markov Chain Monte Carlo. *Genetics* 144: 805-816.
- Shen, G., Zhan, W., Chen, H. and Xing, Y. 2014.** Dominance and epistasis are the main contributors to heterosis for plant height in rice. *Plant Science* 215: 11-18.
- Sheykhpour, A. M., Rabiei, B. and Shirzadian, K. R. 2013.** Identification of QTLs linked to plant height and maturity time in rice. *Iranian Journal of Crop Sciences* 15: 107-120. (In Persian with English Abstract).
- Singh, R., Gautam, P., Saxena, S. and Singh, S. 2000.** Scented rice germplasm: Conservation, evaluation and utilization. In: Singh, U. S. (Ed.). *Aromatic rices*. Oxford IBH, New Delhi. pp: 107-133.
- Soroush, H., Eshraghi, A., Salehi, M. M., Ali, A. J., Nahvi, M., Allahgholipour, M., Erfani, A., Tarang, A. R., Eghlidi, A. and Padasht, F. 2005.** Kadous: An aromatic, high-yielding variety with good cooking quality. *International Rice Research Notes* 30: 16.
- Temnykh, S., Park, W. D., Ayres, N., Cartinhour, S., Hauck, N., Lipovich, L., Cho, Y. G., Ishii, T. and McCouch, S. R. 2000.** Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 100: 697-712.
- Thomson, M., Tai, T., McClung, A., Lai, X., Hinga, M., Lobos, K., Xu, Y., Martinez, C. and McCouch, S. R. 2003.** Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 479-493.
- Wang, C., Rutledge, J. and Gianola, D. 1994.** Bayesian analysis of mixed linear models via Gibbs sampling with an application to litter size in Iberian pigs. *Genetics Selection Evolution* 26: 91-115.
- Wang, D., Zhu, J., Li, Z. and Paterson, A. 1999.** Mapping QTLs with epistatic effects and QTL× environment interactions by mixed linear model approaches. *Theoretical and Applied Genetics* 99: 1255-1264.
- Wang, L., Wang, A., Huang, X., Zhao, Q., Dong, G., Qian, Q., Sang, T. and Han, B. 2011.** Mapping 49 quantitative trait loci at high resolution through sequencing-based genotyping of rice recombinant inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics* 122: 327-340.
- Wang, P., Zhou, G., Cui, K., Li, Z. and Yu, S. 2012.** Clustered QTL for source leaf size and yield traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Breeding* 29: 99-113.
- Wang, X., Jin, L., Zhu, H., Wang, S., Zhang, G. and Liu, G. 2018.** QTL epistatic analysis for yield components with single-segment substitution lines in rice. *Plant Breeding* 137: 346-354.
- Wang, X., Pang, Y., Zhang, J., Zhang, Q., Tao, Y., Feng, B., Zheng, T., Xu, J. and Li, Z. 2014.** Genetic background effects on QTL and QTL× environment interaction for yield and its component traits as revealed by reciprocal introgression lines in rice. *The Crop Journal* 2: 345-357.
- Wang, Y., Zang, J., Sun, Y., Ali, J., Xu, J. and Li, Z. 2013.** Background-independent quantitative trait loci for drought tolerance identified using advanced backcross introgression lines in rice. *Crop Science* 53: 430-441.
- Xie, X., Jin, F., Song, M.-H., Suh, J.-P., Hwang, H.-G., Kim, Y.-G., McCouch, S. R. and Ahn, S.-N. 2008.** Fine mapping of a yield-enhancing QTL cluster associated with transgressive variation in an *Oryza sativa*× *O. rufipogon* cross. *Theoretical and Applied Genetics* 116: 613-622.

- Xing, Y., Tan, Y., Hua, J., Sun, X., Xu, C. and Zhang, Q. 2002.** Characterization of the main effects, epistatic effects and their environmental interactions of QTLs on the genetic basis of yield traits in rice. **Theoretical and Applied Genetics** 105: 248-257.
- Yan, W.-H., Wang, P., Chen, H.-X., Zhou, H.-J., Li, Q.-P., Wang, C.-R., Ding, Z.-H., Zhang, Y.-S., Yu, S.-B. and Xing, Y.-Z. 2011.** A major QTL, *Ghd8*, plays pleiotropic roles in regulating grain productivity, plant height, and heading date in rice. **Molecular Plant** 4: 319-330.
- Yang, J., Hu, C., Hu, H., Yu, R., Xia, Z., Ye, X. and Zhu, J. 2008.** QTL Network: Mapping and visualizing genetic architecture of complex traits in experimental populations. **Bioinformatics** 24: 721-723.
- Yang, J. and Zhu, J. 2005.** Methods for predicting superior genotypes under multiple environments based on QTL effects. **Theoretical and Applied Genetics** 110: 1268-1274.
- Yano, M. and Sasaki, T. 1997.** Genetic and molecular dissection of quantitative traits in rice. In: Sasaki, T. and Moore, G. (Eds.). *Oryza: From molecule to plant*. Springer, Dordrecht. pp: 145-153.
- Ye, Z., Wang, J., Liu, Q., Zhang, M., Zou, K. and Fu, X. 2009.** Genetic relationships among panicle characteristics of rice (*Oryza sativa* L.) using unconditional and conditional QTL analyses. **Journal of Plant Biology** 52: 259-267.
- You, A., Lu, X., Jin, H., Ren, X., Liu, K., Yang, G., Yang, H., Zhu, L. and He, G. 2006.** Identification of quantitative trait loci across recombinant inbred lines and testcross populations for traits of agronomic importance in rice. **Genetics** 172: 1287-1300.
- Zhang, J., Ou, X., Hu, H., Du, B., Lv, W., Yang, L., Xing, D., Xu, J., Qiu, X. and Zheng, T. 2018.** Identification of QTLs for yield-related traits using two sets of introgression lines with a common donor parent in rice. **International Journal of Agriculture and Biology** 20: 15-24.
- Zhang, Q. and Wing, R. A. 2013.** Genetics and genomics of rice. Vol. 5. Springer Science and Business Media.
- Zhao, J., Jiang, K., Yang, L., Yang, Q., Wan, X., Cao, Y., You, S., Luo, J., Zhang, T. and Zheng, J. 2013.** QTL mapping for yield related components in a RIL population of rice. **Chinese Journal of Rice Science** 27: 344-352.
- Zhao, X., Qin, Y., Jia, B., Kim, S.-M., Lee, H.-S., Eun, M.-Y., Kim, K.-M. and Sohn, J.-K. 2010.** Comparison and analysis of main effects, epistatic effects, and QTL × environment interactions of QTLs for agronomic traits using DH and RILs populations in rice. **Journal of Crop Science and Biotechnology** 13: 235-241.
- Zhu, M., Liu, D., Liu, W., Li, D., Liao, Y., Li, J., Fu, C., Fu, F., Huang, H. and Zeng, X. 2017.** QTL mapping using an ultra-high-density SNP map reveals a major locus for grain yield in an elite rice restorer R998. **Scientific Reports** 7: 10914.
- Zhuang, J.-Y., Fan, Y.-Y., Rao, Z.-M., Wu, J.-L., Xia, Y.-W. and Zheng, K.-L. 2002.** Analysis on additive effects and additive-by-additive epistatic effects of QTLs for yield traits in a recombinant inbred line population of rice. **Theoretical and Applied Genetics** 105: 1137-1145.



University of Guilan
Faculty of Agricultural
Sciences

Cereal Research
Vol. 8, No. 4, Winter 2019 (423-441)

Mapping and evaluating interaction effects between genomic regions controlling important agronomic traits in rice (*Oryza sativa* L.)

Hossein Rahim-Soroush¹, Farhad Nazarian Firouzabadi^{2*}, Maryam Hosseini Chaleshtori³, Ahmad Esmaeili⁴ and Ali Akbar Ebadi⁵

Received: December 24, 2018

Accepted: February 27, 2019

Abstract

To detect main and epistatic *QTLs* and their environmental interactions for rice important agronomic traits, 242 recombinant inbred lines (RIL) from two F₆ rice populations derived from crosses between Alikazemi / IR67017-180-2-1-2 (IRA population) and Ali Kakami / Saleh (SA) cultivars were evaluated in two locations. Results of the present experiment showed that the linkage map of the two populations using 87 polymorph microsatellite markers (SSR) covered 1356.0 cM of rice genome with an average distance of 15.58 cM between two markers. A total of 20 main *QTLs* (M-*QTLs*) and 33 epistatic *QTLs* (E-*QTLs*) were identified with positive and negative effects. Five M-*QTLs* and five E-*QTLs* had a significant interaction with the environment. Eight M-*QTLs* and ten E-*QTLs* with significant effect on agronomic traits were stable and did not have any significant interaction with the environment. These *QTLs* include two M-*QTLs* and two E-*QTLs* for reducing plant height, three M-*QTLs* and three E-*QTLs* for decreasing heading date, an M-*QTL* and an E-*QTL* for increasing panicle length and two M-*QTLs* and four E-*QTLs* to increase grain yield. These main *QTLs* explained 11.12% (*qHD6*) and 24.5% (*qGY1*) phenotypic variation, respectively. Therefore, such useful *QTLs* can be used for gene pyramiding programs to improve rice agronomical traits. Furthermore, six linked SSR markers (RM421, RM178, RM3441, RM5101, RM7551 and RM5302) were identified with less than 5 cM distance from important *QTLs*, suggesting that such SSR markers can be used in marker-assisted selection to select rice lines with desirable traits in segregation generations.

Keywords: Epistasis, Grain yield, Linkage map, Recombinant inbred lines

1. Ph. D. Student, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

3. Research Assist. Prof., Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

4. Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

5. Research Assist. Prof., Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

* Corresponding author: nazarian.f@lu.ac.ir