جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

سال سیزدهم، شماره (۲) ۱۳۸۶

تجزیه ژنتیکی کیفیت دانه در برنج با استفاده از آغازگرهای ریزماهواره*

محمد حسین فتوکیان
استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد
علیرضا طالعی
استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
بهزاد قره یاضی
عضو هیات علمی موسسه بیوتکنولوژی کشاورزی-کرج

چکیده:
کیفیت دانه در برنج به صفات متعددی مثل طول و قطر دانه خام و دانه پخته و شکل دانه بستگی دارد. توارث کیفیت دانه در غلات بدلیل اثر اپیستازی، اثر مادری و سیتوپلاسمی و خاصیت تریپلوئید بودن آندوسپرم پیچیده است. گزینش برای کیفیت دانه به کمک آغازگرهای مولکولی، پیشرفت اصلاح را از طریق افزایش کارآئی گزینش، سرعت می‌بخشد. به منظور مکان‌یابی QTLهای مرتبط با کیفیت دانه برنج و تعیین سهم هر QTL در تنوع فنوتیپی صفت مربوطه، ۶۳ لاین تلاقی برگشتی پیشرفته BC_2F_5 حاصل از تلاقی IR64 بعنوان والد دوره‌ای و طارم مولایی بعنوان والد دهنده در موسسه بین المللی تحقیقات برنج-فیلیپین مورد مطالعه قرار گرفتند. صفات مورد مطالعه برای بررسی فنوتیپی عبارت بودند از: طول دانه خام، قطر دانه خام، نسبت طول به قطر دانه خام، طول دانه پخته، قطر دانه پخته، نسبت طول به قطر دانه پخته. بررسی چندشکلی در والدین با ۲۳۵ آغازگر ریزماهواره در ژل‌های آگارز و پلی آکریل آمید انجام گرفت که در نهایت ۱۱۴ آغازگر چندشکل برای مطالعه ژنوتیپی مورد استفاده قرار گرفتند. برای همه صفات تفرق فرارونده مثبت و یا منفی مشاهده گردید. طول دانه خام با قطر دانه خام، نسبت طول به قطر دانه خام، و طول دانه پخته دارای همبستگی معنی‌دار بود. برای هر یک از صفات قطر دانه پخته و نسبت طول به قطر دانه پخته یک QTL، برای طول دانه پخته دو QTL، برای طول دانه خام سه QTL، برای قطر دانه خام پنج QTL، و برای نسبت طول به قطر دانه خام هفت QTL مکان‌یابی شد.

واژه‌های کلیدی: برنج، ریزماهواره، کیفیت دانه، مکان‌های ژنی صفات کمی

مقدمه
برنج با سطح زیر کشت ۱۴۸ میلیون هکتار غذای اصلی بیش از نیمی از مردم دنیا را تشکیل می‌دهد. عملکرد بالا و کیفیت دانه مطلوب دو موضوع اصلی بیشتر برنامه‌های اصلاحی و ژنتیکی برنج می‌باشد(۹). کیفیت دانه در برنج به اندازه و شکل دانه، کیفیت آسیاب کردن، عدم وجود شکم سفیدی، مقدار آمیلوز، قوام ژل، درجه حرارت ژلاتینه، عطر و طعم، کیفیت پخت، کیفیت خوراکی و

* این تحقیق در مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (IRR) در کشور فیلیپین انجام گرفته است.

تاریخ دریافت مقاله ۸۳/۹/۷
تاریخ دریافت نسخه نهایی ۸۴/۱۰/۱۹

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

غیره بستگی دارد(۱). برنج‌های با کیفیت بالا مثل صدری ایران و باسماتی هند و پاکستان دارای دانه‌های استخوانی و قدرت قدکشیدن بالا می‌باشند.کیفیت دانه همیشه بعد از عملکرد مورد توجه محققین برنج بوده است. توارث کیفیت دانه در غلات بدلیل اثر اپیستازی، اثر مادری و سیتوپلاسمی و خاصیت تریپلوئید بودن آندوسپرم حتی پیچیده‌تر از صفات زراعی است(۹).

شکل دانه به نسبت طول به قطر دانه بستگی دارد و دارای توارث کمی است. بیشتر مطالعات نشان دادند که طول و قطر دانه تحت کنترل عوامل چندگانه هستند(۲)، گرچه گزارشاتی از توارث تک ژنی، دو ژنی، سه ژنی تا چند ژنی (۵،۲۱،۲۹) وجود دارند. رائو و سنگ(۲۶) مشاهده کردند که توارث طول و قطر دانه مستقل از یکدیگر بوده و بوسیله ژن‌های متفاوت کنترل می‌شوند. نسبت طول به قطر دانه نیز دارای توارث پلی‌ژن(۲۱،۲۹) و یا توارث چندگانه (۲۰) می‌باشد.

شناسایی آغازگرهای ملکولی کاملاً پیوسته با ژن مورد نظر و مکان‌یابی آن در روی کروموزم یک هدف مهم در اصلاح نباتات برای همسانه کردن[1] ژن‌ها و گزینش به کمک آغازگر است(۲). مطالعه پیرامون مکان‌یابی و یا نشانمند کردن[2]، اطلاعاتی در مورد تعداد ژن‌های کنترل کننده صفات و محل این ژن‌ها در نقشه پیوستگی ارائه می‌دهد.

ریزماهواره‌ها یا میکروساتلیت ها که به آنها توالی تکراری ساده[3] نیز می‌گویند، دارای ۶-۱ جفت باز بوده و در ژنوم یوکاریوت‌ها وجود دارند(۱۸). این آغازگر ملکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز[4] است و کاربرد گسترده‌ای در مطالعات ملکولی دارند. در برنج تعدادی از ژن‌های کیفیت دانه مکان‌یابی شده‌اند. تان و همکاران(۳۴) با استفاده از آغازگرهای ملکولی RFLP[5] و ریزماهواره در دو جمعیت F_2 و لاین‌های اینبرد نوترکیب توانستند مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی (QTL)[6] را برای طول و قطر دانه و نسبت این دو صفت مکان‌یابی نمایند که در آن طول و قطر دانه هر یک بوسیله یک QTL بزرگ‌اثر و یک الی دو QTL کوچک‌اثر کنترل می‌شدند. عارف (۲۰۰۲) با استفاده از آغازگرهای ریزماهواره و جمعیت‌های BC_2F_2 برای شکل و اندازه دانه خام هفت QTL شناسایی نمود(۲). لی(۱۷) با استفاده از آغازگرهای ریزماهواره و AFLP[7] و جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب توانست برای قطر دانه دو QTL در کروموزم‌های یک و ۸، برای نسبت طول به قطر دانه دو QTL در کروموزم‌های ۵ و ۱۰ شناسایی نماید.

هدف از اجرای این تحقیق، مکان‌یابی QTLهای صفات مرتبط با کیفیت دانه، مشخص کردن نوع و اندازه اثر ژنتیکی هر QTL، و تعیین سهم هر QTL در تنوع فنوتیپی صفت مربوطه به کمک آغازگرهای ریزماهواره بوده است.

مواد و روش‌ها

۱- بررسی فنوتیپی[8]

در این تحقیق از ۶۳ لاین تلاقی برگشتی پیشرفته BC_2F_5 که از تلاقی دو رقم زراعی برنج IR64 به عنوان والد دوره‌ای و رقم طارم مولایی به عنوان والد دهنده بدست آمده بود استفاده شد. رقم IR64 دارای سطح کشت گسترده در جنوب و جنوب شرقی آسیا است و دارای کیفیت دانه متوسط می‌باشد. رقم طارم مولایی که از ارقام بومی شمال کشور است، دارای کیفیت دانه عالی بویژه در کیفیت پخت است.

صفات مورد مطالعه در این تحقیق عبارتند از: طول دانه خام (UKL)، قطر دانه خام (UKW)، نسبت طول به قطر دانه خام (ULWR)، طول دانه پخته (CKL)، قطر دانه پخته(CKW)، و نسبت طول به قطر دانه پخته (CLWR). اندازه‌گیری صفات بر اساس روش دلاکروز (۶، ۷) و سیستم ارزیابی استاندارد (۱۱) انجام گرفت.

1- Cloning
2- Tagging
3- Simple Sequence Repeat (SSR)
4- Polymerase Chain Reaction (PCR)
5- Restriction Fragment Length Polymorphism
6- Quantitative Trait Loci(QTL)
7- Amplified Fragment Length Polymorphism
8- Phenotyping

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۲- بررسی ژنوتیپی[1]

۲-۱ -استخراج DNA

برای استخراج DNA، چهار میلی‌گرم از نوک برگ گیاهچه‌های ۳ برگی در ۸۰۰ میکرولیتر محلول CTAB کاملاً له گردید. هفتصد میکرولیتر از مخلوط حاصل بمدت ۱۵ دقیقه در حمام آب ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. هفتصد میکرولیتر کلروفورم پس از خنک شدن به آن اضافه و بمدت ۱۵ دقیقه با شیکر مخلوط شد. پس از سانتریفوژ بمدت ۴ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، ۵۰۰ میکرولیتر از محلول روئی[2] با ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول خالص مخلوط و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد. عمل سانتریفوژ به شرح فوق مجدداً انجام گرفت. توده DNA بدست آمده با اتانول ۷۰ درصد شسته و در ۵۰ میکرولیتر محلول TE حل گردید. محلول حاصل برای استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ۱۰۰ برابر با TE رقیق گردید.

۲-۲. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و الکتروفورز DNA

برای تهیه محصول PCR به حجم ۱۰ میکرولیتر، از دو میکرولیتر محلول DNA، ۴/۷۵ میکرولیتر آب مقطر یون‌زدایی شده، یک میکرولیتر بافر PCR 10x، یک میکرولیتر dNTP، نیم میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای جلوبر[3] و پس‌بر[4]، و ۲۵/. میکرولیتر آنزیم تک‌پلی‌مراز[5] استفاده شد. برنامه ماشین PCR به شرح زیر تنظیم گردید: یک چرخه بمدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه و هر چرخه شامل دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد بمدت یک دقیقه- دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد بمدت یک دقیقه- دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بمدت دو دقیقه، یک چرخه بمدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد(۲). دمای اتصال[6] برای تعداد محدودی از آغازگرها بجای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، ۶۱ و یا ۶۷ درجه‌سانتی‌گراد بوده است.

مطالعه چندشکلی در والدین با استفاده از ۲۳۵ آغازگر ریزماهواره و در ژل‌های پلی آکریل آمید ٪۵ و آگارز ٪۳ انجام گرفت که فقط ۱۱۴ آغازگر چندشکلی نشان دادند. تعداد ۷۲ آغازگر با ژل پلی آکریل آمید ٪۴ و ۴۲ آغازگر با ژل آگارز ٪۲ برای بررسی ژنوتیپی مورد استفاده قرار گرفتند. رنگ آمیزی ژل پلی آکریل آمید با نیترات نقره(۲۱) ورنگ آمیزی ژل آگارز با اتیدیوم بروماید انجام گرفت(۲). انتخاب آغازگر برای مطالعه چندشکلی در والدین بر اساس توزیع یکنواخت در سطح ژنوم و بررسی منابع انجام گرفت (۱۴،۱۵،۱۶).

۳- تجزیه‌های آماری و مکان‌یابی QTL

محاسبه توزیع فراوانی صفات با نرم‌افزار Excel، محاسبه ضریب همبستگی فنوتیپی پیرسون با نرم‌افزار SPSS، تهیه نقشه پیوستگی با نرم‌افزار Mapmaker، و تجزیه QTL با نرم‌افزار QTL Cartographer V.2(۳) انجام گرفت. شناسایی ژن‌ها یا QTLهای صفات کیفیت دانه به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM)[7] انجام گرفت. سرعت پیمایش[8] بر روی کروموزم‌ها برای برآورد پیوستگی نیم سانتی مورگان بود. برای تجزیه به روش CIM از رگرسیون جلوبر و مدل ۶ استفاده شد(۳).

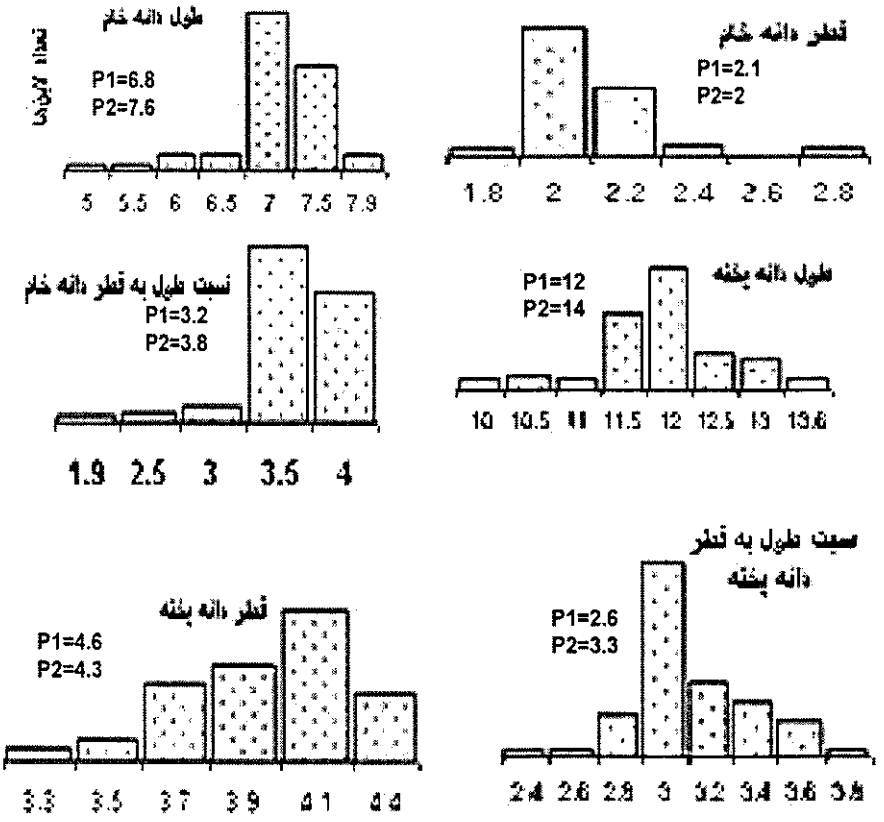
نسبت کل واریانس فنوتیپی قابل توجیه بوسیله هر QTL با معیار R^2 برآورد گردید که از نسبت مجموع مربعات قابل توجیه بوسیله هر QTL به کل مجموع مربعات بدست می‌آید (۳). نام‌گذاری QTLها بر اساس روش مک‌کوچ و همکاران (۱۹) انجام گرفت.

1- Genotyping
2- Supernatant
3- Forward
4- Backward
5- Taq Polymerase
6- Annealing
7- Composite Interval Mapping
8- Walk Speed

نتایج و بحث

۱- توزیع فراوانی صفات

شکل یک توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه را در لاین‌های BC_2F_5 به همراه میانگین والدین نشان می‌دهد. برای همه صفات تفرق فراونده[1] مثبت و یا منفی در نتاج مشاهده گردید. برای طول دانه خام چولگی قابل توجه به سمت والد دوره‌ای یعنی IR64 مشاهده شد. برای همه صفات به استثنای قطر دانه خام و نسبت طول به قطر دانه خام چولگی معنی‌دار به سمت والد دهنده (طارم مولایی) مشاهده نگردید. والد دهنده نسبت به والد دوره‌ای از نظر همه صفات مورد مطالعه دارای کیفیت دانه برتر بوده است. در مکان‌یابی QTL تاکید بر این است که به منظور حصول حداکثر تفرق آللی، والدین از نظر صفت یا صفات مورد مطالعه دارای حداکثر اختلاف ژنتیکی با یکدیگر باشند (۲). در این تحقیق برای صفاتی مثل قطر دانه خام و قطر دانه پخته ثابت شد که در صورت قابل توجه نبودن اختلاف ژنتیکی بین والدین، هنوز می‌توان در نتاج تفرق آللی مناسب مشاهده کرد (شکل ۱). با توجه به وجود تفرق فراونده در صفات مورد مطالعه می‌توان نسبت به گزینش لاین‌های امیدبخش از نظر کیفیت دانه و در نتیجه به انتقال و هرمی کردن[2] ژن‌های مربوطه در زمینه ژنتیکی مناسب اقدام کرد.



شکل ۱. توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در جمعیت BC_2F_5 حاصل از تلاقی والد دوره ای IR64 (P1) با والد دهنده طارم مولایی(P2).

1- Transgressive Segregation
2- Pyramiding

۲- همبستگی بین صفات

جدول یک نتایج همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد مطالعه را نشان می‌دهد. طول دانه خام با قطر دانه خام، نسبت طول به قطر دانه خام و طول دانه پخته دارای همبستگی معنی‌دار بود. حداکثر همبستگی بین نسبت طول به قطر دانه خام با طول دانه خام (r =./۸۹**) و با قطر دانه خام (r = -./۸۹**) مشاهده گردید. طول دانه خام و پخته دارای رابطه معنی‌دار مثبت با یکدیگر بودند ولی در قطر دانه این رابطه معنی‌دار نبود. قطر دانه پخته با قطر دانه خام همبستگی معنی‌دار نداشت و این نشان می‌دهد که قطر دانه پخته و قطر دانه خام تحت کنترل ژن‌های متفاوتی هستند

همبستگی بین صفات می‌تواند ناشی از اثر پلیوتروپی ژن، پیوستگی بین ژن‌ها، اثر اپیستازی و یا ناشی از شانس و تصادف باشد.

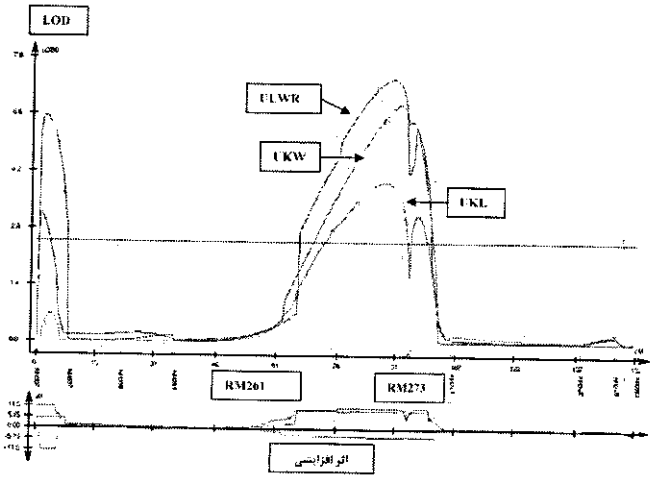
جدول ۱- ضرایب همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد مطالعه در جمعیت BC_2F_5 حاصل از تلاقی والد دوره‌ای IR64 (P1) با والد دهنده طارم مولایی(P2).

	طول دانه خام (UKL)	UKW	ULWR	CKL	CKW
قطر دانه خام(UKW)	-.62**				
نسبت طول به قطر دانه خام (ULWR)	.89**	-.89**			
طول دانه پخته(CKL)	.56**	-.26*	.41**		
قطر دانه پخته(CKW)	.08	.08	.02	.11	
نسبت طول به قطر دانه پخته (CLWR)	.34**	-.23	.27*	.65**	-.68**

*,** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ .

۳- تجزیه مکان‌یابی QTL

در جدول ۲ مشخصات QTLهای بزرگ اثر برای صفات کیفیت دانه در جمعیت مورد مطالعه ارایه شده است. QTLهای شناسایی شده در همه ۱۲ کروموزم برنج به استثنای کروموزم‌های ۵، ۹ و ۱۱ حضور داشتند و بخش قابل توجه‌ای از واریانس فنوتیپی صفات اندازه‌گیری شده در جمعیت مورد مطالعه را به خود نسبت دادند.



شکل ۲- موقعیت QTL مشترک مربوط به صفات طول و قطر دانه خام و نسبت طول به قطر دانه خام که در کروموزم ۴ برنج واقع است. این QTL توسط آغازگرهای RM261-RM273 مکان‌یابی شد. نمودار اثر افزایشی در پایین منحنی LOD نشان داده شده است.

جدول ۲. QTLهای بزرگ اثر برای صفات کیفیت دانه در جمعیت BC_2F_5 حاصل از تلاقی والد دوره‌ای IR64 (P1) با والد دهنده طارم مولایی(P2).

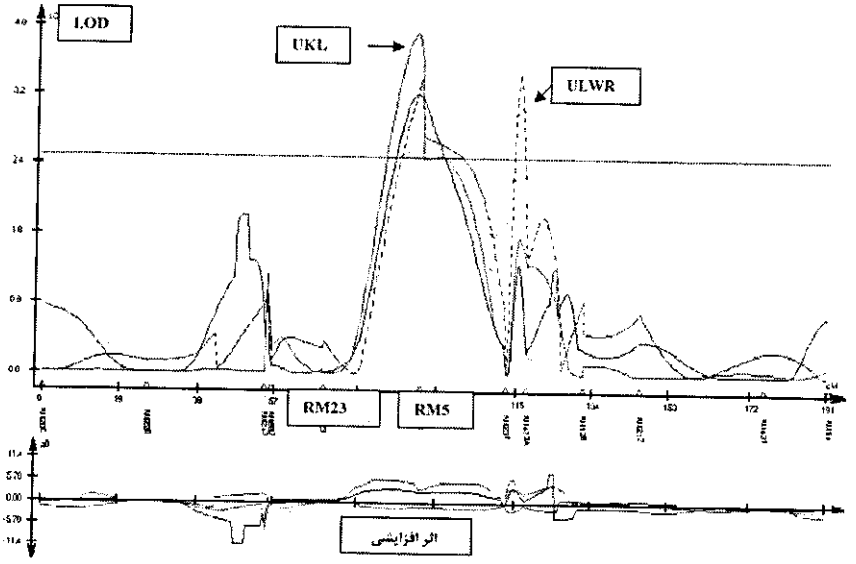
صفات	کروموزم	فواصل آغازگر Marker Interval a	QTL	LOD	R^2 b	اثر افزایشی
طول دانه خام(UKL)	1	RM23-RM5	QUkl1	3.93	16	5.3
	2	RM555-RM71	QUkl2	4	20.2	12
	4	RM261-RM273	QUkl4	3.98	19.9	9.8
قطر دانه خام (UKW)	2	RM555-RM71	QUkw2	5.3	13.2	4.9
	3	RM16-RM203	QUkw3	4.5	16.4	2.7
	4	RM261-RM273	QUkw4	5.8	22.7	-3.8
	6	OSR19-RM510	QUkw6	8.7	30	-5.6
	12	RM4A-RM19	QUkw12	5.5	13	5
نسبت طول به قطر دانه خام (ULWR)	1	RM23-RM5	QUlwr1	3.2	9.8	3
	2	RM555-RM71	QUlwr2	3.1	8	11.4
	4	RM261-RM273	QUlwr4	6.5	21.8	11.4
	6	OSR19-RM510	QUlwr6	8	23.4	12.3
	7	RM180-RM214	QUlwr7	3	10.4	10
	8	RM149-RM264	QUlwr8	2.5	8	-11.4
	12	RM4A-RM19	QUlwr12	3.2	8	11.3
طول دانه پخته (CKL)	8	RM38-RM25	QCkl8	2.8	16	-8.56
	12	RM313-RM235	QCkl12	2.65	8	11.7
قطر دانه پخته (CKW)	8	RM339-RM223	QCkw8	2.6	17	3.3
نسبت طول به قطر دانه پخته (CLWR)	2	RM71-RM300	QClwr2	3.8	16.5	4.4

a: آغازگرهائی که زیرشان خط کشیده شده به QTL مربوطه نزدیکتر هستند.

b: واریانس فنوتیپی قابل توجیه بوسیله هر QTL

برای طول و قطر دانه خام و نسبت طول به قطر دانه خام، دو QTL مشترک بدست آمد که که در کروموزم‌های ۲ و ۴ قرار داشتند. شکل ۲ موقعیت QTLهای مربوط به صفات فوق را در کروموزم ۴ نشان می‌دهد. این QTLها بوسیله آغازگرهای RM555-RM71 و RM261-RM273 مکان‌یابی شدند. عارف (۲۰۰۲) برای طول دانه خام و نسبت طول به قطر دانه خام، QTL مربوط به کروموزم ۴ را قبلا گزارش کرده بود(۲). وجود همبستگی معنی‌دار بین صفات مرتبط با دانه خام یعنی طول و قطر دانه خام و نسبت طول به قطر دانه خام، می‌تواند مقداری از طریق اثر پلیوتروپی QTLهای فوق توجیه گردد. علی‌رغم همبستگی معنی‌دار بین طول و قطر دانه پخته با نسبت طول به قطر دانه پخته، هیچ QTL مشترک بین آنها شناسایی نشد و این نشان می‌دهد که پلیوتروپی علت همبستگی معنی‌دار بین صفات مرتبط با دانه پخته نیست. برای طول دانه پخته در کروموزم ۱۲ یک QTL در فواصل آغازگرهای RM313-RM235 با اثر افزایشی ۱۱/۷ شناسایی شد. این QTL در جمعیت دیگری بوسیله پالبا موجیکا(۲۰۰۲) از طریق آغازگرهای ریزماهواره شناسایی شدند(۲۳). این QTL در جمعیت مورد مطالعه حدود ۸ درصد واریانس طول دانه پخته را به خود اختصاص داد. در کروموزم یک در فواصل آغازگرهای RM23-RM5 یک QTL شناسایی شد که این QTL برای طول دانه خام و نسبت طول به قطر دانه خام دارای اثر پلیوتروپی بود. شکل ۳ موقعیت QTL فوق را در کروموزم یک نشان می‌دهد. همبستگی بین صفات فوق معنی‌دار بود (جدول ۱). در همبستگی بین طول دانه خام و نسبت طول به قطر دانه خام، اثر پلیوتروپی

موثر بوده است. مکان‌های ژنی شناسایی شده بوسیله پالبا موجیکا (۲۰۰۲) در کروموزم ۳ برای قطر دانه خام و در کروموزم ۱۲ برای طول دانه پخته در این تحقیق نیز بوسیله آغازگرهای مشابه مورد تایید مجدد قرار گرفتند (۲۳). با توجه به اینکه همبستگی بین قطر دانه پخته و قطر دانه خام معنی‌دار نبود انتظار می‌رفت که نتوانیم QTL مشترک برای این دو صفت مکان‌یابی نماییم. این انتظار در این تحقیق محقق گردید.



شکل ۳. موقعیت QTLهای مربوط به طول دانه خام (UKL) و نسبت طول به قطر دانه خام (ULWR) در کروموزم یک برنج. این QTLها بوسیله آغازگرهای RM23-RM5 شناسایی شده‌اند. نمودار اثر افزایشی در پایین منحنی LOD نشان داده شده است.

در فواصل آغازگرهای OSR19-RM510 دو QTL برای صفات قطر دانه خام و نسبت طول به قطر خام شناسایی شد که اثر افزایشی QTL مربوط به قطر دانه خام منفی، و برای دیگری مثبت بوده است. هر دو QTL سهم قابل توجه‌ای از واریانس فنوتیپی صفات مربوطه را به خود اختصاص دادند طوریکه حداکثر واریانس فنوتیپی در بین QTLهای شناسایی شده در این تحقیق توسط QTL مربوط به قطر دانه خام (۳۰ درصد) بوده است. در همبستگی معنی‌دار بین طول دانه خام و نسبت طول به قطر دانه خام احتمالا اثر پیوستگی این دو QTL موثر بوده است. آغازگرهای RM71 و RM273 که در کروموزم‌های ۲ و ۴ قرار دارند توانستند برای هر یک از صفات مرتبط با دانهٔ خام یعنی طول و قطر دانه خام و نسبت طول به قطر دانه خام، QTL مکان‌یابی نمایند. این QTLها در نزدیکی یکدیگر قرار داشتند و شاید علت اصلی این همبستگی معنی‌دار بین صفات فوق ناشی از اثر پلیوتروپی و یا پیوستگی بین QTLهای کنترل کننده صفات فوق باشد. برای طول دانه خام ، طول دانه پخته و همچنین برای قطر دانه خام و قطر دانه پخته، QTL مشترک شناسایی نشد. این موضوع نشان می‌دهد که صفات مرتبط با دانه خام و دانه پخته احتمالا متفاوت از یکدیگر هستند و تحت کنترل ژن‌های متفاوت می‌باشند. عدم وجود همبستگی معنی‌دار بین قطر دانه خام و قطر دانه پخته نیز موید مطلب فوق است. طول دانه خام و طول دانه پخته گرچه دارای همبستگی معنی‌دار بودند ولی مقدار این همبستگی از نظر بیولوژیکی چندان قابل توجه نبوده است و همچنین عدم شناسایی QTL مشترک بین آنها نشان می‌دهد که پلیوتروپی و پیوستگی عامل همبستگی ضعیف بین آنها نیست. بنظر می‌رسد سایر عوامل موثر در همبستگی مثل اثرات اپیستازی، اثرات محیطی و شانس یا تصادف در بوجود آوردن همبستگی نقش داشته‌اند.

گرچه در جمعیت مورد مطالعهٔ آغازگرهای بکار رفته کل ژنوم برنج را پوشش دادند ولی در بعضی نقاط و در بعضی از کروموزم‌ها

مثل کروموزم‌های ۱، ۶، ۷ و۱۲ در مناطقی بدلیل فقدان چندشکلی بین والدین از نظر آغازگرهای این نواحی، این پوشش کامل نبوده است. عارف(۲۰۰۲) در کروموزم‌های ۱، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۱۰ چندشکلی کمتر از میزان مورد انتظار مشاهده کردند. در این تحقیق در کروموزم‌های ۵، ۷، ۸ ، ۹ و ۱۲ چند شکلی کمتر از میزان انتظار مشاهده شد. تولید و تکثیر آغازگرهای ریزماهواره بیشتر (۱۹،۳۶) برای افزایش تعداد آغازگرهای مکان‌یابی شده در همه کروموزم‌ها مفید خواهد بود و همچنین دقت مکان‌یابی QTL را باعث خواهد شد.

انتقال QTLهای موثر به درون یک زمینه ژنتیکی مناسب به کمک آغازگر[1] می‌تواند روش مناسبی در اصلاح کیفت دانه در برنج باشد. باید توجه داشت که در اصلاح برنج، کیفیت دانه همراه با عملکرد قابل قبول مورد توجه فراوان محققین برنج کشور است. لاین‌های برنج حاصل از دورگ‌گیری که از نظر عملکرد مناسب هستند لازم است از نظر کیفیت دانه نیز مطالعه شوند. انجام ازمایشات کیفیت دانه با صرف هزینه زیاد همراه است. شناسایی آغازگرهای پیوسته با صفات کیفیت دانه می‌تواند در کاهش زمان و هزینه با صرفه‌جویی موثر همراه باشد.

سپاسگزاری

از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری و دانشگاه شاهد که در اعزام اینجانب به موسسه بین المللی تحقیقات برنج-فیلیپین همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع و مآخذ:

1. Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki, and T. Fujimura. 1996. Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. Theor. Appl. Genet. 93:1071-1077.
2. Arif, M. 2002. Molecular mapping of genes/qtls affecting resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and grain quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). PhD thesis. University of Philippines in Los Banos. Philippines.
3. Basten, C. J., B.S. Weir., and Z-B.Zeng. 2001. QTL cartographer,ver.2. Department of statistics,North carolina state university.Raleigh,NC.USA.
4. Beachell, H.M. and J.V. Hallick. 1957. Processing and cooking qualities of rice and method for their determination. Presented at 6th meeting on the working group on rice breeding. Italy. Pp 19.
5. Chang, T.M. 1974. Studies on the inheritance of grain shape of rice. Taiwan Agric. Res. Inst. 23:9-15.
6. Dela Cruz, N., I. Kumar, R.P. Kaushik and G.S. Khush. 1989. Effect of temperature during grain development on the performance and stability of cooking quality components of rice. Jpn. J. Breed.39:299-306.
7. Dela Cruz, N. 2002. Rice grain quality evaluation procedures. In: Graham, R. A Proposal for IRRI to Establish a Grain Quality and Nutrition Research Center. Discussion Paper Series No. 44. IRRI. Philippines.
8. Geetha, S. 1994. Inheritance of aroma in two rice crosses. Intl. Rice Res. Notes. 19(2).5.
9. He, P., S.G.Li, Q. Qian, Y.Q. Ma, J.Z. Li, W.M. Wang, Y. Chen, and L.H. Zhu. 1999. Genetic analysis of rice grain quality. Theor. Appl. Genet. 98:502-508.
10. He, P., J.Z. Li, X.W. Zheng, L.S. Shen, C.F. Lu, Y. Chen, and L.H. Zhu. 2001. Comparison of molecular linkage maps and agronomic trait loci between DH and RIL population derived from the same rice cross. Crop Science 41:1240-1246.
11. International Rice Research Institute. 2002. Standard Evaluation System for rice (SES). International Rice Research Institute. Philippines. P 56.

1 - Marker-Aided Introgression

12. Juliano, B.O.,g.m. Bautsta, J.C. Lugay, and A.C. Reyes. 1964. Studies on the physiochemical properties of rice. J. Agric. Food Chem. 12:131-138.
13. Khush, G.S., C.M.Paule, and N.Delacruz. 1979. Rice grain quality evaluation and improvment at IRRI..In: Chemical aspects of rice grain quality. IRRI. Los Banos, Phlippines. PP.21-31.
14. Koyama M.L., A. Levesley, R.M.D. Koebner, T.J. Flowers and A.R. Yeo. 2001. Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. Plant Physiology 125 :406-422.
15. Lang N.T., S. Yanagihara, and B.C. Buu. 2001a. A microsatellite marker for a gene contributing salt tolerance on rice at the vegetative and reproductive stages. SABRAO Journal of Breeding and Genetics 33(1):1-10.
16. Lang N.T., S. Yanagihara, and B.C. Buu. 2001b. QTL analysis of salt tolerance in rice (*Oryza sativa L.*). SABRAO Journal of Breeding and Genetics. 33(1):11-20.
17. Lee, J.H. 2000. Molecular genetic analysis of quantitative trait loci related to rice yield, yield component and grain quality. PhD thesis. Kwangwon National University. China.
18. McCouch S.R., L.Teytelman, Y. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z-K. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware and L. Stein. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Research 9:199-207 and 257-279(supplement).
19. McCouch S.R.,Y.G. Cho, M. Yano, E. Paul, and M. Blinstrub. 1997. Report on QTL nomenclature. Rice Genetic Newsletter. 14:11-13.
20. Mckenzie, K.S. and J.N. Rutger. 1983. Genetic analysis of amylose content, alkali spreading score, and grain dimensions in rice. Crop Science 23:306-313.
21. Murthy, P.S.N. and S. Govindaswami. 1967. Inheritance of grain size and its correlation with hulling and cooking quality. Oryza 4:12-21.
22. Panaud, O., X. Chen, and S.R. McCouch. 1996. Development microsatellite markers and charactrization of Simple Sequence Length Polymorphism(SSR) in rice. Mol. Gen. Genet. 252:597-607.
23. Pealba Mojica J. 2002. Molecular mapping of grain quality QTLs (Quantitative Trait Loci) in Rice (*Oryza sativa* L.) by selective genotyping using SSR (Simple Sequence Repeats). B.S. thesis in Genetic. University of the Philippines Los Baos. Philippines.
24. Pooni, H.S., I. Kumar, and G.S. Khush.. 1993. Genetic control of amylose content in selected crosses of indica rice. Heredity 70:269-280.
25. Rao, B. 1952. The amylose and amylopectin contents of rice and their influence on cooking quality of cereals. Proc. Indian Acad. Science Sect. 8(36):70.
26. Rao, M.J.B.K. and L.V. Sang. 1989. Inheritance of grain length, width, thickness, and weight in pakistan Basmati/IR1469 and pakistan Basmati/Paizam 242. Intl. Rice Res. Newsl. 14(50:10-11.
27. Shekhar, B.P.S. and G.M. Reddy. 1981. Genetic basis of aroma and flavor components studies in certain scented cultivars of rice. IV International SABRO congress, May 4-8, 1981.
28. Siddiq, E.A. 1983. Breeding for quality improvement in rice-present state and strategy for future. In: Rice in west Bengal IV. Directorate of agriculture, West Bengal. PP:73-95.
29. Smorith, B. 1974. Genetic analysis of traits related to grain yield and quality in two crosses of rice. PhD thesis. IARI. New Delhi.p. 134.
30. Sood, B.C. and E.A. Siddiq. 1978. A rapid technique for scent determination in rice. Indian J. Genet. Plant Breed. 38:268-271.
31. Sood, B.C., E.A. Seddiq, and F.U. Zaman. 1983. Genetic analysis of kernel elongation in rice. Indian J. Genet. 43:40-43.
32. Stansel, J.W. 1966. The influence of heredity and environment on endosperm characteristics of rice. Diss. Abstr.27:48.
33. Tan, Y.F. 1999. The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, shanyou 63. Theor. Appl. Genet. 99:642-648.
34. Tan, Y.F., Y.Z. Xing, J.X. Li, S.B. Yu, C.G. Xu, and Q. Zhang. 2000. Genetic bases of appearance

quality of rice grain in shanyou 63 an elite rice hybrid. Theor. Appl. Genet. 101:823-829.
35. Tang, S.X., G.S. Khush, and B.O. Juliano. 1991. Genetics of gel consistency in rice(*Oryza sativa* L.). J. of Genet. 70:69-78.
36. Temnykh, S., G. DeClerck, A. Lukashova, L. Lipovich, S. Cartinhour, and S.R. McCouch. 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice(*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic. Genome Research 11(8):1441-1452.
37. Williams, V., W.T. Wu, H.Y. Tsai and H.G. Bata. 1958. Varietal differences in amylose content of rice starch. J. Agric. Food Chem. 6:47.
38. Zaman, F.U., A.B. Prasad and E.A. Siddiq. 1985. Genetical analysis of gel consistency in rice (*Oryza sativa* L.). Indian J. Genet. Plant Breed. 45(1):111-118.

JOURNAL OF
AGRICULTURAL
SCIENCES
Islamic Azad University

Genetic Analysis of Grain Quality in Rice (*Oryza sativa* L.) using Microsatellite Markers

M. Fotokian
Assist. professor, Shahed university, College of Agriculture
A. Taleei
Professor, Tehran University, College of Agriculture
B. Ghareyazie
Scientific member of Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII)

Abstract
Grain quality is dependent on cooked and uncooked grain size and grain wide and also grain shape. As rice grain quality is an endosperm trait, its inheritance can be more complicated because the genetic expression of an endosperm trait in cereal seeds is conditioned not only by the triploid endosperm genotype, but also by the diploid maternal and cytoplasmic genotype and epistasis effects. Molecular-marker aided selection technique for grain quality would accelerate breeding progress by increasing selection efficiency. In order to map the QTLs for grain quality in rice and estimate the effect of each QTL in phenotypic variation, 63 advanced backcross lines (BC_2F_5) derived from cross between IR64 as recurrent parent and Tarom molaei as donor parent, investigated in International Rice Research Institute (IRRI). The phenotypic traits under study included: Uncooked kernel length (UKL), Uncooked kernel width (UKW), UKL/UKW, Cooked kernel length (CKL), Cooked kernel width (CKW), CKL/CKW, Kernel elongation ratio (KER), Kernel length difference (KLD). We analyzed 235 SSR markers for parental survey by agarose and polyacrylamide gels, through them 114 markers showed polymorphism and assigned for genotyping. Transgressive segregation was observed in all traits. UKL showed significant correlation with UKW, UKL/UKW, CKL/CKW . We identified one QTL for each of traits including KLD ,CKW, CKL/CKW, two QTLs for CKL and KER, three QTLs for UKL, five QTLs for UKW, and seven QTLs for UKL/UKW.

Keywords: Grain quality, Microsatellite, Quantitative Trait Loci (QTL), Rice (*Oryza sativa* L.).