



تجزیه ژنتیکی-مولکولی ابعاد دانه برنج در جمعیت لاین‌های نوترکیب تلاقی عنبربو × سپیدرود

با استفاده از نشانگرهای AFLP و SSR

حسین صبوری^{۱*}، احمدرضا دادرس^۲، عاطفه صبوری^۳، مهناز کاتوزی^۴

^۱دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

^۲دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

^۳استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

^۴کارشناس ارشد زراعت و دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۰۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۰۷

چکیده

در ایران کیفیت برنج عموماً اهمیت بیشتری نسبت به عملکرد دارد، بنابراین اصلاح ارقام برنج از لحاظ کیفیت جایگاه مهمی را دارا می‌باشد. در پژوهش حاضر به منظور بررسی ساختار ژنتیکی و مکان‌یابی ژن-های کنترل کننده خصوصیات ظاهری دانه برنج، از ۹۶ لاین اینبرد نوترکیب (نسل هشتم) حاصل از تلاقی ارقام عنبربو × سپیدرود استفاده شد. برای تشکیل نقشه پیوستگی ابتدا تعداد ۳۶۵ نشانگر ریزماهواره و ۳۵ ترکیب آغازگری AFLP در والدین مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس از ۱۲۴ نشانگر ریزماهواره و ۲۱ ترکیب آغازگری AFLP که ۲۶۳ نوار چندشکل و واضح تولید کرده بودند برای تعیین ژنوتیپ کل افراد جمعیت استفاده شد. نقشه ژنتیکی حاصل با تعداد کل ۳۸۷ نشانگر، ۱۹۵۰/۴ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش دادند. مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب بر روی صفات کیفی ظاهری برنج، تعداد ۱۳ QTL برای هشت صفت شناسایی نمود. از این تعداد هشت QTL، بیش از ۱۵ درصد از تغییرات صفات موردنظر را توجیه نمودند. برای وزن تک دانه پخته شده، دو QTL، طول و عرض برنج سفید، بترتیب سه و یک QTL، شکل دانه خام و پخته شده به ترتیب دو و سه QTL و برای طول و عرض برنج پخته شده بترتیب سه و یک QTL شناسایی شد. با توجه به پایدار بودن جمعیت مکان‌یابی مورد استفاده، انتظار می‌رود بتوان با اطمینان بیشتری از QTL‌های شناسایی شده در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر و مکان‌یابی دقیق استفاده نمود. کلمات کلیدی: برنج، ریزماهواره، کیفیت، مکان‌یابی، AFLP.

مقدمه

در اصلاح ارقام برنج، کیفیت دانه همیشه بعد از عملکرد مورد توجه محققان بوده است. در ایران کیفیت برنج عموماً اهمیت بیشتری نسبت به عملکرد داشته و ذائقه ایرانی برنج‌های معطر با طول دانه بلند و عرض دانه کم را ترجیح می‌دهد. با گسترش علم ژنتیک مولکولی، امروزه برای اصلاح صفات پیچیده‌ایی مانند کیفیت از نشانگرهای مولکولی به عنوان ابزار جدیدی برای تکمیل روش‌های اصلاح نباتات کلاسیک استفاده می‌شود تا باعث افزایش کارایی در مکان‌یابی و نشانمند کردن ژن‌ها شده و امکان بررسی ارتباط ژنتیکی بین گونه‌ها را فراهم آورد. در مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی، شناسایی QTL‌ها یا جایگاه‌های ژنومی کنترل کننده صفات کمی از جمله صفات مرتبط با کیفیت دانه و برآورد پارامترهای ژنتیکی آنها به به‌نژادگر این امکان را می‌دهد تا ارزیابی دقیقی از تک تک ژن‌های کنترل کننده این صفات داشته و روش‌های صحیحی را در اصلاح این صفات به کار گیرد (Dong, et al., 2004).

مطالعات روی جمعیت‌های برنج ایرانی در زمینه مکان‌یابی صفات کمی گزارش شده است (Sabouri et al., 2012 و Sabouri et al., 2013). اولین پژوهش در زمینه شناسایی QTL‌ها در ارقام برنج ایرانی، توسط Rabiei et al., (2004) انجام شد که QTL‌های کنترل کننده طول، عرض و شکل دانه برنج را در یک جمعیت

F_2 حاصل از تلاقی ارقام ایرانی شناسایی و ۱۸ QTL کنترل کننده این صفات را مکان‌یابی نمود. Lee et al., (2000) توانستند QTL‌های کنترل کننده طول، عرض، نسبت طول به عرض و ضخامت دانه را در لاین‌های اینبرد نو ترکیب مورد مطالعه قرار دادند و با استفاده از نشانگرهای AFLP و SSR توانستند دو QTL برای عرض دانه روی کروموزوم ۸، چهار QTL برای ضخامت دانه روی کروموزوم‌های ۳، ۷، ۸ و ۱۱ و دو QTL روی کروموزوم‌های ۵ و ۱۰ برای نسبت طول به عرض دانه شناسایی کنند. برای طول دانه هیچ QTL‌ی ردیابی نشد. همچنین Yan et al., (2003) برای طول دانه یک (qGL) QTL (2) در حد فاصل نشانگرهای RM270-RM101 روی کروموزوم ۱۲ با میزان توجه تغییرات فنوتیپی ۱۶/۷ درصد، دو QTL (qGW -2 و qGW -3)، روی کروموزوم‌های ۲ و ۳ برای عرض دانه به ترتیب در حد فاصل نشانگرهای RM154-RM211 و RM257-RM175 با میزان توجه ۱۱/۵ و ۱۶/۶ درصد از تغییرات فنوتیپی و سه QTL (qLW -2، qLW -6 و qLW -7)، برای شکل دانه (نسبت طول به عرض دانه) روی کروموزوم‌های ۲، ۶ و ۷ به ترتیب با میزان توجه تغییرات فنوتیپی ۱۲/۷، ۱۱/۵ و ۱۸/۳ درصد شناسایی نمایند.

در پژوهش Li et al., (2004) دو QTL ($kl10$ و $kl13$) به ترتیب با نشانگرهای RZ251 و RZ421 برای طول دانه روی کروموزوم‌های ۳ و

۱۰، یک QTL (*kw12*) با نشانگر RM247 برای عرض دانه روی کروموزوم ۱۲ و یک QTL (*ke3*) با نشانگر RZ251 برای طویل شدن بعد از پخت دانه‌ها روی کروموزوم ۳ و دو QTL (*ac6*) و (*ac12*) با نشانگرهای RG574 و RG653 برای مقدار آمیلوز روی کروموزوم‌های ۶ و ۱۰ تفرق همزمان نشان دادند.

در مطالعه‌ای (Zhou *et al.*, 2006) اساس ژنتیکی صفات مرتبط با کیفیت دانه برنج از جمله اندازه و شکل دانه برنج را با استفاده از نشانگرهای SSR و CAPS در جمعیت F_2 و BC_1F_2 مورد مطالعه قرار دادند و توانستند یک ژن بزرگ اثر کنترل کننده طول دانه به نام LK-4(t) را مکان‌یابی کنند. آنها این مکان ژنی را با استفاده از نشانگرهای P_1 -EcoRV، P_2 -SacI و P_3 -MboI روی کروموزوم ۳ و نزدیک به سانترومر نشانمند کردند. LK-4(t) بین نشانگرهای P_1 -EcoRV و P_2 -SacI و به ترتیب با فاصله ژنتیکی ۰/۹ و ۰/۵ سانتی‌مورگان از دو نشانگر مکان‌یابی شد. در تحقیقی دیگر Xiao *et al.*, (2006) با استفاده از جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی بین Asominori (*japonica*) و IR24 (*indica*) در بررسی بر روی ابعاد دانه در دو محیط، مجموعاً ۱۰ QTL برای طول، عرض و شکل دانه روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۵ و ۷ شناسایی کردند که از ۷/۰ تا ۳۶/۶ درصد از تنوع فنوتیپی صفات را توجیه کرد. همچنین Amarawathi *et al.*, (2008) توانستند QTL‌های کنترل کننده طول، عرض و شکل دانه

۱۰، یک QTL (*kw12*) با نشانگر RM247 برای عرض دانه روی کروموزوم ۱۲ و یک QTL (*ke3*) با نشانگر RZ251 برای طویل شدن بعد از پخت دانه‌ها روی کروموزوم ۳ و دو QTL (*ac6*) و (*ac12*) با نشانگرهای RG574 و RG653 برای مقدار آمیلوز روی کروموزوم‌های ۶ و ۱۰ تفرق همزمان نشان دادند.

در مطالعه‌ای (Zhou *et al.*, 2006) اساس ژنتیکی صفات مرتبط با کیفیت دانه برنج از جمله اندازه و شکل دانه برنج را با استفاده از نشانگرهای SSR و CAPS در جمعیت F_2 و BC_1F_2 مورد مطالعه قرار دادند و توانستند یک ژن بزرگ اثر کنترل کننده طول دانه به نام LK-4(t) را مکان‌یابی کنند. آنها این مکان ژنی را با استفاده از نشانگرهای P_1 -EcoRV، P_2 -SacI و P_3 -MboI روی کروموزوم ۳ و نزدیک به سانترومر نشانمند کردند. LK-4(t) بین نشانگرهای P_1 -EcoRV و P_2 -SacI و به ترتیب با فاصله ژنتیکی ۰/۹ و ۰/۵ سانتی‌مورگان از دو نشانگر مکان‌یابی شد. در تحقیقی دیگر Xiao *et al.*, (2006) با استفاده از جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی بین Asominori (*japonica*) و IR24 (*indica*) در بررسی بر روی ابعاد دانه در دو محیط، مجموعاً ۱۰ QTL برای طول، عرض و شکل دانه روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۵ و ۷ شناسایی کردند که از ۷/۰ تا ۳۶/۶ درصد از تنوع فنوتیپی صفات را توجیه کرد. همچنین Amarawathi *et al.*, (2008) توانستند QTL‌های کنترل کننده طول، عرض و شکل دانه

۱۰، یک QTL (*kw12*) با نشانگر RM247 برای عرض دانه روی کروموزوم ۱۲ و یک QTL (*ke3*) با نشانگر RZ251 برای طویل شدن بعد از پخت دانه‌ها روی کروموزوم ۳ و دو QTL (*ac6*) و (*ac12*) با نشانگرهای RG574 و RG653 برای مقدار آمیلوز روی کروموزوم‌های ۶ و ۱۰ تفرق همزمان نشان دادند.

در مطالعه‌ای (Zhou *et al.*, 2006) اساس ژنتیکی صفات مرتبط با کیفیت دانه برنج از جمله اندازه و شکل دانه برنج را با استفاده از نشانگرهای SSR و CAPS در جمعیت F_2 و BC_1F_2 مورد مطالعه قرار دادند و توانستند یک ژن بزرگ اثر کنترل کننده طول دانه به نام LK-4(t) را مکان‌یابی کنند. آنها این مکان ژنی را با استفاده از نشانگرهای P_1 -EcoRV، P_2 -SacI و P_3 -MboI روی کروموزوم ۳ و نزدیک به سانترومر نشانمند کردند. LK-4(t) بین نشانگرهای P_1 -EcoRV و P_2 -SacI و به ترتیب با فاصله ژنتیکی ۰/۹ و ۰/۵ سانتی‌مورگان از دو نشانگر مکان‌یابی شد. در تحقیقی دیگر Xiao *et al.*, (2006) با استفاده از جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی بین Asominori (*japonica*) و IR24 (*indica*) در بررسی بر روی ابعاد دانه در دو محیط، مجموعاً ۱۰ QTL برای طول، عرض و شکل دانه روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۵ و ۷ شناسایی کردند که از ۷/۰ تا ۳۶/۶ درصد از تنوع فنوتیپی صفات را توجیه کرد. همچنین Amarawathi *et al.*, (2008) توانستند QTL‌های کنترل کننده طول، عرض و شکل دانه

به منظور مکان‌یابی QTL‌های کنترل کننده ۱۶ صفت زراعی و مرتبط با کیفیت دانه، در پژوهشی Sabouri *et al.*, (2010) از جمعیت متشکل از ۲۳۶ خانواده $F_{2,3}$ حاصل از تلاقی ارقام غریب و سپیدرود استفاده کردند. نقشه پیوستگی حاصل از ۱۰۵ نشانگر ریزماهوره، ۱۴۴۰/۷ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را با فاصله متوسط ۱۳/۷۳ سانتی‌مورگان بین دو نشانگر مجاور پوشش داد. برای صفات ظاهری دانه به ترتیب سه، یک و دو QTL برای عرض، طول و شکل دانه شناسایی شد. با وجود اینکه تحقیقات زیادی در زمینه مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با کیفیت دانه صورت گرفته است اما تاکنون گزارشی با استفاده از جمعیت پایدار لاین‌های اینبرد نوترکیب صورت نگرفته است. لذا در پژوهش حاضر برای نخستین بار از جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب عنبربو × سپیدرود برای مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با ابعاد دانه برنج

استفاده شده است. والد عنبربو یکی ارقام بومی و دارای طول، وزن، و شکل دانه کمتر و عرض دانه بیشتر از رقم سپیدرود است که یک رقم اصلاح شده می باشد.

مواد و روش ها

تهیه جمعیت مکان یابی

به منظور بررسی ساختار ژنتیکی ژن های کنترل کننده خصوصیات فیزیکی دانه برنج از ۹۶ لاین حاصل از جمعیت لاین های نوترکیب نسل هشتم ارقام عنبربو × سپیدرود استفاده شد. توسعه جمعیت برای تهیه تولید رگه های نوترکیب در مزرعه پژوهشی دانشگاه گنبد کاووس صورت گرفت.

استخراج DNA

استخراج DNA ژنومی به روش CTAB تغییر یافته (Saghai Maroof *et al.*, 1994) در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه گنبد کاووس انجام شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با کمک ژل آگارز یک درصد تعیین گردید.

تهیه نقشه ژنتیکی

برای تهیه نقشه ژنتیکی از نشانگرهای ریزماهواره و AFLP و نرم افزار Map QTX17 Manager (Manly and Olson, 1999) استفاده شد. سپس برای مکان یابی صفات به نرم افزار 2.5 QTL Cartographer (Basten *et al.*, 1997) منتقل شد.

نشانگرهای ریزماهواره

آغازگرهای ریزماهواره مورد استفاده از نقشه های ژنتیکی ارائه شده توسط Chen *et al.*, (1997)، (2000) Temnykh *et al.* و (2002) McCouch *et al.* انتخاب شدند. به منظور تشخیص آغازگرهای چندشکل، ابتدا واکنش زنجیره ای پلیمرز تنها برای DNA والدینی (عنبربو و سپیدرود) برای ۳۶۵ جفت نشانگر انجام شد. از این تعداد ۱۳۶ آغازگر چندشکل تشخیص داده شدند. در مرحله بعد نمونه های DNA لاین های نوترکیب با استفاده از ۱۲۴ آغازگر چندشکل که نواریندی واضح تری داشتند، تکثیر شدند و فرآورده های حاصل به منظور تعیین ژنوتیپ افراد الکتروفورز شدند.

نشانگرهای AFLP

روش AFLP مطابق روش وس و همکاران (Vos *et al.*, 1995) انجام شد. پانصد نانوگرم از DNA ژنومی با پنج واحد از آنزیم های محدودگر *EcoRI* و *MseI* به مدت سه ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد مورد هضم قرار گرفتند. در ادامه سازگارهای *EcoRI* و *MseI* به مدت دوساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و یک ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد به انتهای DNA برش یافته متصل شدند سپس در مرحله بعد نمونه های حاصل از مرحله قبل به نسبت ۱:۱۵ رقیق شدند و با آغازگرهای *EcoRI*

بوته و از هر بوته ۱۰ دانه سالم به طور تصادفی انتخاب شد و طول و عرض آنها به کمک دستگاه بینوکولار با دقت ۰/۱ میلی متر اندازه گیری شد. همچنین از تقسیم طول برنج به عرض برنج سفید شکل دانه سفید ثبت شد. برای ثبت طول شدن و عریض شدن دانه پس از پخت ابتدا دانه‌ها در یک لوله آزمایش ریخته شدند و مقدار ۲۰ میلی لیتر آب مقطر به آن افزوده شد. پس از نیم ساعت که دانه‌ها به خوبی خیس خوردند، عمل پخت دانه‌ها انجام شد. به این ترتیب که لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰°C قرار داده شد. آنگاه نمونه‌ها از آب خارج شدند و پس از ۵ دقیقه نگهداری در هوای اطاق بوسیله همان دستگاه طول و عرض دانه‌ها ثبت شد. از تقسیم طول برنج پخته به طول برنج خام، نسبت افزایش طول یا طول شدن دانه بدست آمد و از تقسیم عرض برنج پخته به عرض برنج خام میزان عریض شدن دانه محاسبه شد.

تجزیه داده‌ها

بعد از ارزیابی صفات زراعی و صفات کیفی مورد مطالعه، ابتدا آزمون نرمال بودن داده‌ها (آزمون چولگی و کشیدگی) انجام شد و در صورت معنی دار بودن آنها، تبدیل داده مناسب انجام شد. پس از اطمینان از نرمال بودن توزیع تمامی داده‌ها، QTL‌های کنترل کننده صفات با استفاده از نرم افزار QTL Cartographer (Basten et al., 1997) شناسایی شدند. همچنین نشانگرهای پیوسته با QTL‌های کنترل کننده

و *MseI* واجد یک نوکلئوتید در انتخابی انتهای ۳' با توالی‌های زیر

5'- آغازگر *MseI*

GATGAGTCCTGAGTAAA-3'

5'- آغازگر *EcoRI*

GACTGCGTACCAATTCA-3'

مورد تکثیر پیش انتخابی قرار گرفتند. چرخه‌های حرارتی در این مرحله به تعداد ۳۰ بار و با برنامه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه بود. سپس محصولات حاصل از تکثیر پیش انتخابی به نسبت ۱:۱۰ رقیق شده و با ۲۱ ترکیب (از ۳۵ ترکیب آغازگری) دارای ۲ نوکلئوتید انتخابی در انتهای ۳' (علاوه بر یک نوکلئوتید در پیش تکثیر) تحت چرخه حرارتی Touch down شامل سه مرحله دمایی مختلف تکثیر شدند. فراورده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید واسرشته‌ساز شش درصد تفکیک و با روش نیترات نقره رنگ آمیزی شدند.

اندازه‌گیری صفات برای تعیین فنوتیپ

برای اندازه‌گیری صفات مربوط به کیفیت دانه برنج، ابتدا تمامی دانه‌های هر بوته جداگانه برداشت شد و پس از جداکردن شلتوک از ساقه و خوشه، پوست‌کنی شلتوک طی دو مرحله برای تهیه برنج قهوه‌ای و برنج سفید انجام شد. در این فرایند طول، عرض و شکل دانه سفید ثبت شد. برای اندازه‌گیری این دو صفت از هر لاین، ۱۰

LOD بود به عنوان ناحیه با بیشترین احتمال وجود QTL شناسایی شد و از آستانه $LOD=2/5$ برای شناسایی QTLها استفاده شد. سپس جایگاه دقیق QTL نسبت به نشانگرهای طرفین برحسب سانتی مورگان تعیین شد.

صفات به همراه اثر ژنتیکی افزایشی و میزان تبیین تغییرات فنوتیپی صفات توسط هر یک از QTLهای کنترل کننده صفات برآورد شدند. روش‌های آماری تجزیه QTL مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب بود. نقطه‌ای که واجد بالاترین مقدار

جدول ۱- ترکیبات آغازگری استفاده شده در تجزیه AFLP

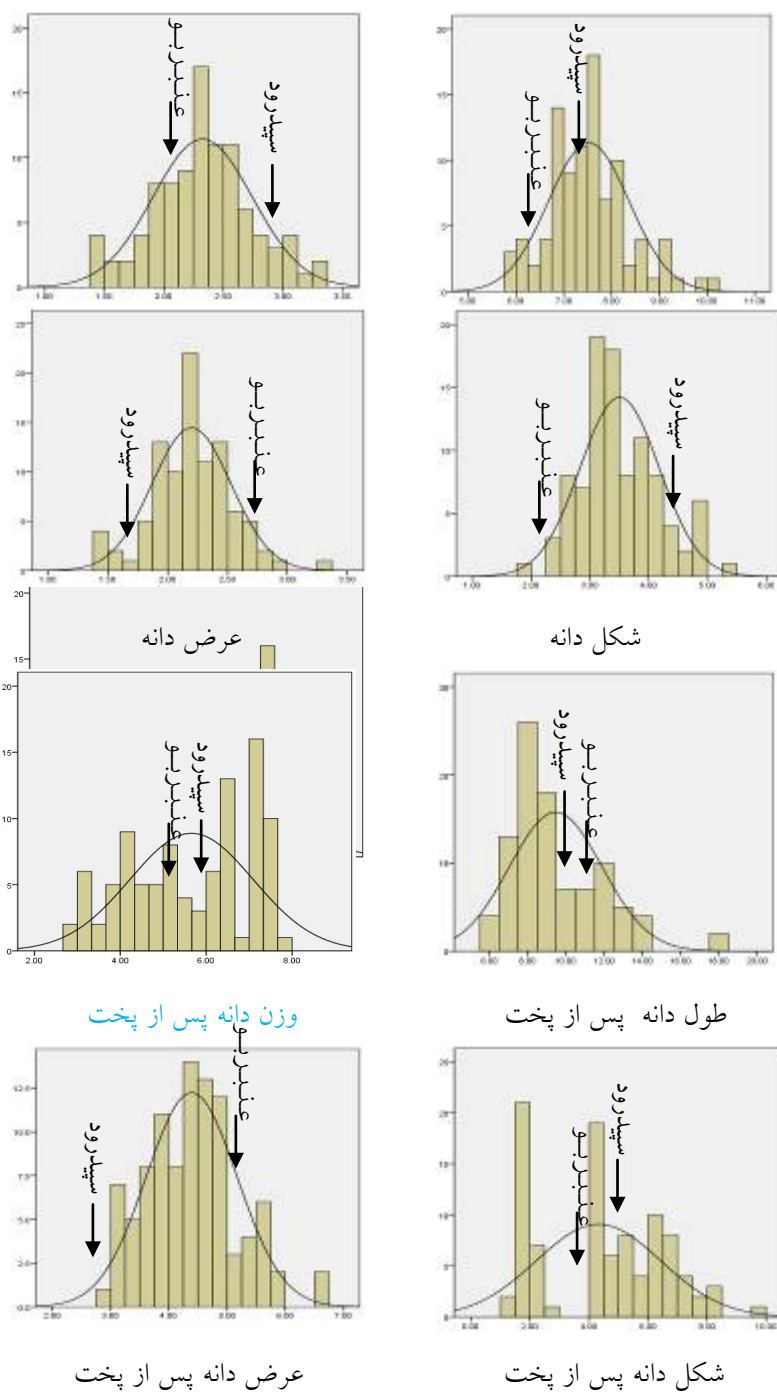
Table 1: Primer combinations used for AFLP analysis

آغازگرهای <i>EcoRI</i>		آغازگرهای <i>MseI</i>	
<i>EcoRI</i> Primers		<i>MseI</i> Primers	
نام	توالی DNA	نام	توالی DNA
Name	DNA Sequence	Name	DNA Sequence
E060	GACTGCGTACCAATTCAAG	M140	GATGAGTCCTGAGTAAAAC
E070	GACTGCGTACCAATTCAAT	M150	GATGAGTCCTGAGTAAAGA
E080	GACTGCGTACCAATTCACG	M160	GATGAGTCCTGAGTAAAGT
E090	GACTGCGTACCAATTCACT		
E100	GACTGCGTACCAATTCAGT		
E110	GACTGCGTACCAATTCATC		
E120	GACTGCGTACCAATTCATT		

پیوسته است. جدول ۲ نیز میانگین صفات مورد بررسی در والدین و لاین‌های نوترکیب جمعیت عنبربو × سپیدرود را نشان می‌دهد. همانگونه که مشاهده می‌شود، میانگین لاین‌های اینبرد نوترکیب برای تمامی صفات در حد واسط میانگین والدین قرار دارند.

نتایج و بحث

شکل ۱ توزیع فراوانی ارزش‌های فنوتیپی صفات مرتبط با کیفیت مورد مطالعه در لاین‌های خالص نوترکیب را بصورت نمودار ستونی (هیستوگرام) همراه با منحنی نرمال و ارزش‌های والدینی نشان می‌دهند. همان‌طور که مشاهده می‌شود، توزیع فنوتیپی صفات به صورت



شکل ۱- نمودار ستونی صفات مورد بررسی در جمعیت عنبربو × سپیدرود و موقعیت والدین روی آنها.

Figure 1- Histogram of studied traits in Anbarbu×Spidroud population and parent situation

همبستگی بین صفات

پس از پخت، طول دانه پس از پخت و طویل شدن دانه رابطه مثبت و معنی دار داشت. همبستگی بین طول دانه با کلیه صفات به جز عرض دانه مثبت بود. همبستگی بین طویل شدن دانه با کلیه صفات به جز عرض دانه مثبت بود.

اگرچه مقادیر ضریب همبستگی بین صفات بسیار بالا نبود، اما تعدادی از آنها معنی دار برآورد شدند (جدول ۳). این تجزیه نشان داد همبستگی بین وزن دانه با طول دانه، وزن دانه

جدول ۲- میانگین صفات مورد بررسی در والدین و لاین‌های نوترکیب جمعیت عنبربو × سپیدرود

Table 2: Mean of measured traits for parent and recombinant inbred lines of Anbarbu × Sepidroud population

	لاین‌های اینبرد نوترکیب recombinant inbred lines		Parent والدین
	سپیدرود Sepidroud	عنبربو Anbarbu	
Grain weight وزن دانه	2.2	2.9	2.2
Grain length طول دانه	6.1	7.5	6.8
Grain width عرض دانه	2.4	1.6	2.1
Grain shape شکل دانه	2.5	4.7	3.3
Cooked grain weight وزن دانه پس از پخت	5.4	5.9	4.4
Cooked grain length طول دانه پس از پخت	11.4	11.2	11.3
Cooked grain width عرض دانه پس از پخت	4.9	2.9	4.6
Cooked grain shape شکل دانه پس از پخت	3.2	4.3	4.2

نقشه ژنتیکی

نقشه پیوستگی حاصل، ۱۹۵۰/۴ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد و فاصله بین نشانگرها به طور متوسط ۵/۰۴ سانتی‌مورگان بدست آمد (شکل ۲). از آنجایی که میانگین فاصله بین دو نشانگر کمتر از ۲۰ سانتی‌مورگان (حد آستانه‌ای که لندر و بوتستین (Lander & Botstein, 1989) پیشنهاد نمودند، بود از این نقشه برای

به منظور تهیه نقشه پیوستگی، از ۲۶۳ نشانگر AFLP و ۱۲۴ نشانگر SSR چندشکل که نواربندی کاملاً واضح داشته و از لحاظ آماری با تفرق مندلی مطابقت داشتند، استفاده شد. نشانگرها به دوازده گروه پیوستگی معادل با دوازده کروموزوم برنج منتسب شدند. در کل

ردیابی شده بیش از ۳۵ درصد تغییرات شکل دانه را توجیه نمودند. در کلیه QTL های ردیابی شده جهت آلل از والد سپیدرود به طرف افزایش شکل دانه بود. با توجه به نقش شکل دانه در بازارپسندی، می توان دو QTL بزرگ اثر مذکور را به عنوان نشانگر در برنامه های انتخاب به کمک نشانگر مورد توجه قرار داد.

برای صفت وزن دانه پخته شده نیز دو QTL به نام های qGWC-3 و qGWC-6 روی کروموزوم های ۳ و ۶ شناسایی شد که در مجموع ۳۳/۸۰ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه کردند. در هر دو QTL آلل های والد عنبربو باعث افزایش وزن دانه پس از پخت شدند. برای صفت عرض دانه پس از پخت تنها یک QTL روی کروموزوم ۲ شناسایی شد که در مجموع بیش از ۳۰ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه کردند. این QTL ردیابی شده در حد فاصل نشانگر RM6733-E100M1607 تأثیر مثبتی در طول شدن دانه داشت. آلل های والد عنبربو در این QTL ردیابی شده باعث افزایش طول شدن دانه شد. برای طول دانه پس از پخت، سه QTL روی کروموزوم های ۱، ۲ و ۶ شناسایی شد. در همه QTL های ردیابی شده به جز QTL موجود روی کروموزوم ۱ آلل های والد عنبربو باعث کاهش طول دانه پس از پخت گردید. سه QTL مذکور در مجموع توانستند بیش از ۳۵ درصد تغییرات مربوط به طول دانه پس از پخت را توجیه نمایند.

مکان یابی QTL استفاده شد. برای تهیه نقشه ژنتیکی با استفاده از نرم افزار Map Manager (Manly & Olson, 1999)، ترتیب نشانگرهای SSR با نقشه های موجود در برنج (Chen *et al.*, 1997; Temnykh *et al.*, 2000; McCouch *et al.*, 2002) مطابقت داشت.

تجزیه QTL

نتایج تجزیه QTL در مورد صفات کیفیت فیزیکی دانه منجر به شناسایی مجموعاً ۱۳ QTL شد که در جدول ۴ و همچنین شکل ۲ آورده شده است. برای طول دانه سه QTL روی کروموزوم های ۱ و ۲ (دو QTL) شناسایی شد. در همه QTL های ردیابی شده آلل های والد عنبربو باعث کاهش طول دانه شدند. سه QTL تشخیص داده شده در مجموع توانستند بیش از ۴۰ درصد تغییرات مربوط به طول دانه را توجیه نمایند. برای صفت عرض دانه تنها یک QTL روی کروموزوم ۱ شناسایی شد که ۱۰/۱۰ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه کرد. این QTL در حد فاصل نشانگر RM312-EO60M1401 قرار داشت و آلل های والد عنبربو باعث افزایش عرض دانه شد.

همچنین برای شکل دانه دو QTL روی کروموزوم های ۲ و ۱۰ شناسایی شد. در این تجزیه مشخص شد که QTL روی کروموزوم ۲ با حدود ۲۵/۱۴ درصد توانست درصد بالایی از تغییرات شکل دانه را توجیه نماید و به عنوان یک QTL بزرگ اثر عمل کند. در مجموع دو QTL

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین صفات مربوط به کیفیت دانه در برنج

Table 3- Correlation coefficients among quality trait in rice

	وزن دانه	طول دانه	عرض دانه	شکل دانه	وزن دانه پس از پخت	طول دانه پس از پخت	عرض دانه پس از پخت	شکل دانه پس از پخت
	Grain weight	Grain length	Grain width	Grain shape	Cooked grain weight	Cooked grain length	Cooked grain width	Cooked grain shape
وزن دانه	1							
طول دانه	0.273*	1						
عرض دانه	0.011	-0.181	1					
شکل دانه	0.030	0.821**	-0.381**	1				
وزن دانه پس از پخت	0.712**	0.210	0.108	0.073	1			
طول دانه پس از پخت	0.310**	0.635**	-0.267*	0.278*	0.198	1		
عرض دانه پس از پخت	0.417**	0.586**	-0.141	0.322**	0.271*	0.487**	1	
شکل دانه پس از پخت	0.040	0.471**	-0.124	0.389**	0.171	0.438**	0.501**	1

Lee et al., (2000) دو QTL برای عرض دانه روی کروموزوم ۸ و دو QTL برای شکل دانه روی کروموزوم‌های ۵ و ۱۰ شناسایی کردند. در پژوهش حاضر نیز یک QTL بر روی کروموزوم یک شناسایی شد. در پژوهشی که توسط Yan et al., (2003) انجام شد، *qGL-12* را در حد فاصل نشانگرهای RM270-RM101 بر روی کروموزوم ۱۲ برای طول دانه، *qGW-2* و *qGW-3* به ترتیب در حد فاصل نشانگرهای RM154-RM211 و RM257-RM175 برای عرض دانه و سه QTL، *qLW-2*، *qLW-6* و *qLW-7*، روی کروموزوم‌های ۲، ۶ و ۷ شناسایی نمودند. در این پژوهش نیز دو QTL بر روی کروموزوم ۲ ردیابی شد که با توجه به جایگاه نشانگرهای احاطه کننده QTLها باید در مجاورت با QTL شناسایی شده توسط Yan et al., (2003) باشد.

برای شکل دانه پس از پخت سه QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۶ و ۷ شناسایی شد. در این تجزیه مشخص شد که QTL روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ با حدود ۳۴/۴۳ درصد توانستند درصد بالایی از تغییرات شکل دانه پس از پخت را توجیه نمایند و به عنوان QTLهای بزرگ اثر عمل کنند. در کلیه QTLهای ردیابی شده جهت آلل از والد سپیدرود به طرف افزایش شکل دانه پس از پخت بود. برای طول، عرض و شکل دانه در پژوهش‌های مختلف مکان‌های متعددی به عنوان جایگاه‌های مهم در کنترل این صفات معرفی شدند. تجزیه QTL روی طول و عرض دانه در مطالعه Tan et al., (2000) نشان داد که طول و عرض دانه هر یک به وسیله یک QTL بزرگ اثر و یک یا دو QTL کوچک اثر کنترل می‌شوند.

کروموزوم ۱۲ و یک QTL (*ke3*) با نشانگر RZ251 برای طویل شدن بعد از پخت دانه‌ها روی کروموزوم ۳ تفرق همزمان نشان دادند. هیچ‌کدام از این QTLها در این بررسی شناسایی نشدند. در پژوهشی (Govindaraj *et al.*, 2005) با استفاده از یک جمعیت در حال تفرق *F₂* حاصل از تلاقی یک رقم با کیفیت بالا (*Basmati370*) و یک رقم با کیفیت پایین و عملکرد بالا (*ASD16*)، QTLهای اصلی کنترل کننده عرض دانه خام و عرض دانه پخته شده را با استفاده از تجزیه تفرق توده و روش آماری تک نشانگری روی کروموزوم‌های ۶ و ۱۲ شناسایی نمودند که به ترتیب با نشانگرهای RM225 و RM247 پیوسته بودند. در بررسی حاضر هیچ منطقه‌ای در کروموزوم ۱۲ برای کنترل صفات مرتبط با کیفیت ظاهری دانه و وزن دانه شناسایی نشد و دلیل آن احتمالاً به متفاوت بودن و تعداد نشانگرهای مورد استفاده و همچنین نوع جمعیت متفاوت باشد. در مطالعه‌ای (Fotokian *et al.*, 2006) یک QTL برای طول دانه خام بین نشانگرهای RM243 و RM23 روی کروموزوم ۱ با توجه فنوتیپی ۴۱ درصد شناسایی کردند. همین ناحیه در پژوهش حاضر در کنترل طول برنج سفید مهم تشخیص داده شد لذا با توجه به نقش قابل توجه آن در چند زمینه ژنتیکی، می‌تواند در پژوهش‌های مربوط به مکان‌یابی دقیق و همسانه‌سازی بر اساس نقشه، مورد توجه محققین قرار گیرد. همچنین آنها برای طول دانه پخته شده و نسبت طویل شدن دانه، یک QTL پلیوتروپیک

در پژوهشی (Rabiei *et al.*, 2004) با استفاده از جمعیت *F₂* حاصل از تلاقی ارقام ایرانی گرده و دم سفید و ۸۸ نشانگر SSR، پنج QTL برای طول دانه، هفت QTL برای عرض دانه و شش QTL برای شکل دانه گزارش نمودند. همچنین، برای هر یک از این صفات، حداقل دو QTL بیش از ۱۵ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند. در پژوهش آنها دو QTL روی کروموزوم‌های ۵ و ۷ به ترتیب در حد فاصل نشانگرهای RM437-RM289 و RM481- RM125 شناسایی شد که کنترل هر سه صفت را بر عهده داشتند. آنها با توجه به نتایج به دست آمده اذعان داشتند که این صفات همبسته به وسیله مکان‌های ژنی یکسانی کنترل می‌شوند و در نقاط مشابه روی کروموزوم‌ها قرار دارند و اثرات پلیوتروپی و یا پیوستگی QTLها باعث به وجود آمدن همبستگی‌های معنی‌دار در بین صفات شده است. نتایج بررسی آنها از لحاظ صفات ظاهری دانه با پژوهش حاضر همخوانی چندانی نداشت که می‌تواند ناشی از عوامل متعددی مانند متفاوت بودن جمعیت مکان‌یابی، والدین مورد استفاده و غیره باشد. در مطالعه Li *et al.*, (2004) با استفاده از جمعیت تلاقی برگشتی پیشرفته بین گونه‌ای حاصل از تلاقی بین (*O. L.*) و IRGC103544 (*O. glaberrima*) و *V20A sativa*، دو QTL (*kl10* و *kl3*) به ترتیب با نشانگرهای RZ421 و RZ251 برای طول دانه روی کروموزوم‌های ۳ و ۱۰، یک QTL (*kw12*) با نشانگر RM247 برای عرض دانه روی

محیط) شناسایی شد. آنها QTL‌هایی را که در هر دو محیط ردیابی شدند به عنوان QTL‌های پایدار معرفی کردند و QTL‌های شناسایی شده روی کروموزوم ۳ برای طول و عرض دانه را مطابق با QTL‌های گزارش شده توسط Huang *et al.*, (1997) دانستند. اما این QTL‌ها با QTL‌های شناسایی شده در این پژوهش همخوانی نداشتند. بررسی دیگری در زمینه مکان‌یابی صفات فیزیکی کیفیت دانه برنج مربوط به Zhang *et al.*, (2007) است که به منظور مکان‌یابی QTL‌های صفات مرتبط با کیفیت ظاهری دانه و کیفیت تبدیل برنج، از ۱۶۰ نشانگر ریزماهواره و ۲۳۱ لاین انتروگرسیون تصادفی حاصل از تلاقی ارقام Teqing به عنوان والد تکراری و Lemont به عنوان والد بخشنده استفاده نمودند. در کل ۱۰ ناحیه ژنومی بعنوان نواحی مؤثر در این صفات شناسایی شدند که مهمترین آنها یک QTL بزرگ اثر برای شکل دانه روی کروموزوم ۷ و در حد فاصل نشانگرهای RM505-RM118 بود که با QTL گزارش شده توسط Redona & Mackill (1998) مطابقت داشت و در این بررسی نیز در مجاورت QTL شناسایی شده بر روی کروموزوم ۷ بود. این QTL نیز می‌تواند به عنوان یک QTL ردیابی شده در چند زمینه ژنتیکی بسیار با ارزش باشد. همچنین در مطالعه‌ای Zhang *et al.*, (2007) نشان دادند شناسایی QTL‌های مشترک در جمعیت‌های متعدد نشاندهنده پایین بودن خطای نوع اول آزمون بوده و این QTL‌ها را برای استفاده در برنامه‌های

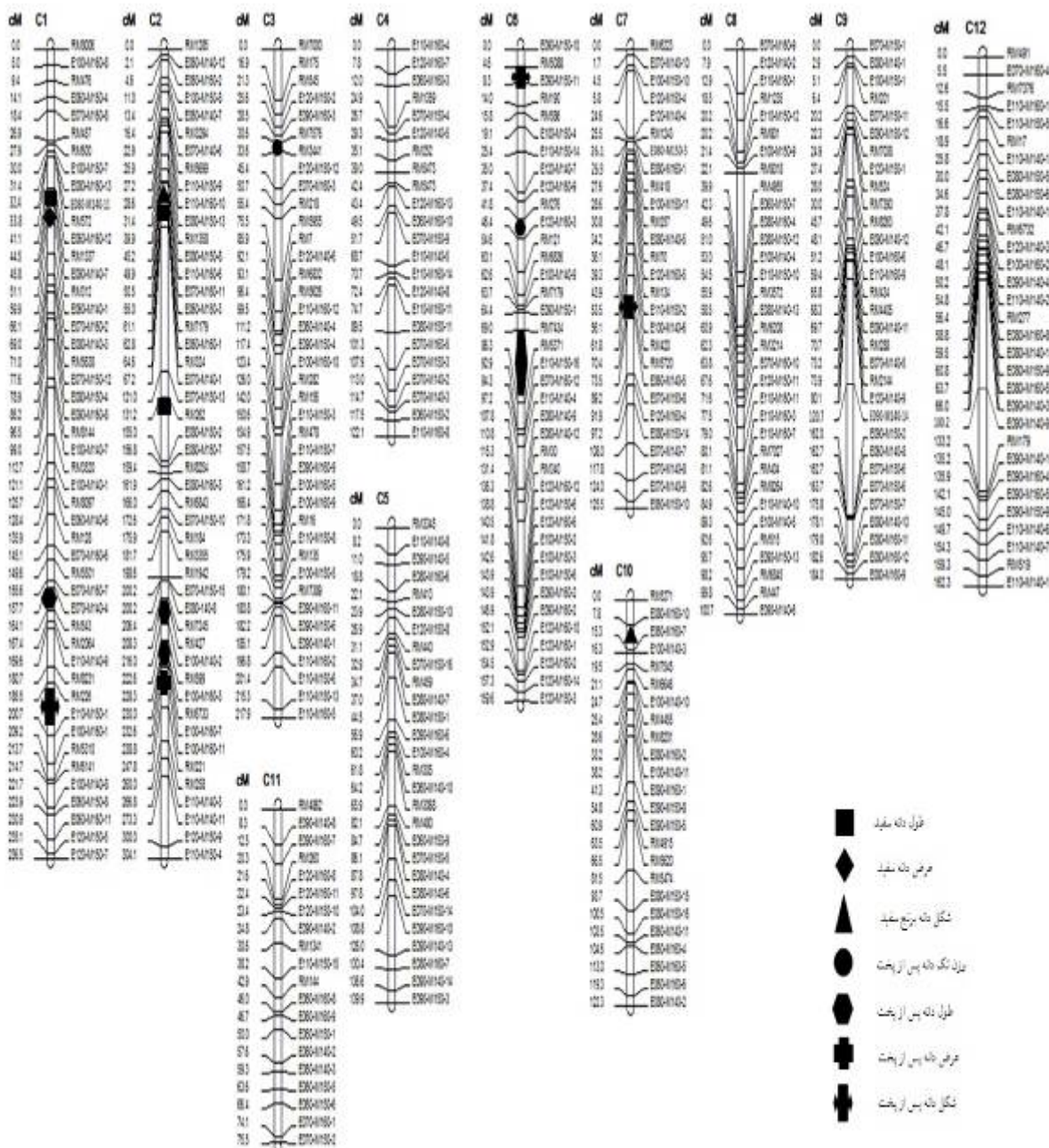
روی کروموزوم ۹ شناسایی کردند. آنها اظهار داشتند وجود همبستگی معنی‌دار بین طول دانه پخته شده و نسبت طویل شدن دانه می‌تواند ناشی از اثر پلیوتروپی QTL مشترک این صفات باشد و این QTL را از نظر اصلاحی با ارزش عنوان کردند که می‌تواند در انتقال ژن یا در هرمی کردن ژن‌ها برای اصلاح کیفیت دانه مورد استفاده قرار گیرد. در عین حال این QTL‌ها در این مطالعه شناسایی نشدند. همچنین Sabouri *et al.* (2010) برای عرض دانه یک QTL بر روی کروموزوم ۴ در حدفاصل نشانگرهای RM273-RM5473 شناسایی کردند که با QTL شناسایی شده توسط Fotokian *et al.*, (2006) مطابقت کامل نداشت. در مطالعه Fotokian *et al.*, (2006) یک QTL نیز برای شکل دانه خام روی کروموزوم ۴ با توجیه ۱۶ درصد تغییرات فنوتیپی شناسایی کردند. در پژوهشی Xiao *et al.*, (2006) با استفاده از جمعیت لاین-های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی بین Asominori (*japonica*) و IR24 (*indica*) در دو محیط بر روی ابعاد دانه مجموعاً ۱۰ QTL برای طول، عرض و شکل دانه روی کروموزوم-های ۱، ۲، ۳، ۵ و ۷ شناسایی کردند. برای طول دانه پنج QTL (*qGL-1*، *qGL-3* و *qGL-5-1*) در محیط اول و *qGL-3*، *qGL-5-2* و *qGL-7* در محیط دوم)، برای عرض دانه سه QTL (*qGW-* 2، *qGW-3* و *qGW-5* در محیط اول و *qGW-5* در محیط دوم) و برای شکل دانه دو QTL (*qLWR-3* و *qLWR-5*) مشترک در هر دو

QTL برای شکل دانه روی کروموزوم‌های ۴، ۷ و ۱۲ شناسایی کردند که QTL شناسایی شده روی کروموزوم ۷ تقریباً با QTL شناسایی شده در این پژوهش مطابقت داشت. همچنین Amarawathi *et al.*, (2008) با استفاده از جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام Pusa1121 و Pusa1342، نواحی از کروموزوم ۷ را مؤثرترین منطقه کنترل کننده طول، عرض و شکل دانه عنوان کردند، به طوری که شش QTL از مجموع هفت QTL شناسایی شده برای این سه صفت روی این کروموزوم و در فواصل نشانگری مشابه قرار داشت. در مطالعه آنها QTL‌های کنترل کننده طول، عرض و شکل دانه برنج شامل *grl7-1*، *lbr7-1* و *grb7-1* در حد فاصل نشانگرهای RM11 و RM505، *grl7-2* و *grb7-2* و *lbr7-2* در حد فاصل نشانگرهای RM505 و RM336 قرار داشتند که تقریباً با ناحیه شناسایی شده بر روی کروموزوم ۷ برای شکل دانه، در این بررسی و چند پژوهش دیگر Redona & Mackill (1998; Kwon *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2007) همخوانی داشت. همچنین یک QTL دیگر برای طول دانه روی کروموزوم ۱ و در حد فاصل نشانگرهای RM431 و RM104 قرار داشت. باید خاطر نشان کرد که مطالعات مختلف نواحی متفاوتی در کنار نواحی مشترک شناسایی کردند که کنترل این صفات را عهده دارند Lee *et al.*, 2000; Yan *et al.*, 2003; Rabiei *et al.*, 2004; Fotokian *et al.*, 2006; Kwon *et al.*, (2008). در پژوهش حاضر نواحی ژنومی یکسانی که کنترل مشترک همه صفات مذکور را عهده‌دار باشند شناسایی نشد.

بعدی گزینش به کمک نشانگر بسیار با ارزش دانستند. همچنین در بررسی آنها QTL‌های شناسایی شده برای صفات مربوط به شکل دانه با QTL‌های مربوط به کیفیت تبدیل همپوشانی بالایی داشت و از آنجایی که همبستگی بالایی بین این صفات مشاهده شد، آنها دلیل این امر را پلیوتروپی QTL‌ها و یا پیوستگی آنها عنوان نمودند. در پژوهشی Rahman *et al.*, (2007) استفاده از یک جمعیت $F_{2:3}$ حاصل از تلاقی یک لاین انتروگرسیون به نام IR71033 (مشتق از گونه وحشی *Oryza minuta*) و رقم کره‌ای Junambyeo (*japonica*) پنج QTL برای طول دانه (*gl3*, *gl5*, *gl6*, *gl7* و *gl9*)، دو QTL برای عرض دانه (*gw2* و *gw5*) و سه QTL برای شکل دانه (*glw2*, *glw3* و *glw5*) به ترتیب در مجموع با ۴۲، ۲۴/۵ و ۳۴/۳ درصد توجیه تغییرات فنوتیپی شناسایی کردند. از این تعداد، سه QTL *glw5*، *glw3* و *glw5* به ترتیب در مجاورت نشانگرهای S5033، S3076 و S5041 در بررسی‌های پیشین گزارش شده بود (Wan *et al.*, 2005; Ge *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2006). با وجود این، نتایج آنها با بررسی (Huang *et al.*, 1997) و Zhang *et al.*, (2007) بررسی حاضر همخوانی نداشت. Wan *et al.*, (2005) با استفاده از ۲۳۱ لاین از یک جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام *Suweon365 (japonica)* و *Chucheongbyeo (japonica)*، دو QTL برای طول دانه روی کروموزوم‌های ۸ و ۱۲، سه QTL برای عرض دانه روی کروموزوم‌های ۴، ۷ و ۱۲ و سه

با توجه به اینکه جمعیت مکان‌یابی مورد استفاده در این پژوهش، جمعیت پایدار لاین‌های اینبرد نوترکیب F_8 بود لذا از نتایج حاصل با اطمینان بیشتر می‌توان در برنامه‌های اصلاحی بعدی بهره برد. از سوی دیگر با در نظر گرفتن نتایج پژوهش‌های مختلف و مقایسه آنها با نتایج حاصل از جمعیت مورد استفاده در بررسی حاضر می‌توان دریافت نواحی از ژنوم برنج به ویژه بخشی از کروموزوم ۱ و کروموزوم ۷ که به طور مشترک در چندین زمینه ژنتیکی متفاوت نقش قابل توجهی در کنترل ژنتیکی صفات مرتبط با کیفیت ظاهری دانه برنج داشتند می‌توانند برای برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر، مکان‌یابی دقیق و همسانه‌سازی بر اساس نقشه مدنظر قرار گیرند.

بررسی نتایج پژوهش‌های مختلف مکان-یابی صفات فیزیکی کیفیت دانه با استفاده از جمعیت‌ها و شرایط مختلف نشان می‌دهد QTL‌های کنترل کننده این صفات تقریباً روی همه کروموزوم‌های برنج توزیع شده‌اند بنابراین، تعدادی از نتایج حاصل با هم مطابقت دارند و تعداد زیادی از آنها با هم همخوانی ندارند از دلایل عدم مطابقت نتایج پژوهش حاضر با نتایج سایر محققین می‌توان به تعداد و نوع نشانگرهای مورد بررسی، نوع جمعیت، تعداد افراد مورد استفاده در جمعیت، نوع والدین مورد استفاده و شرایط محیطی اشاره کرد. همچنین نوع تلاقی و اینکه جمعیت مورد بررسی حاصل از تلاقی ارقام ایندیکا با ایندیکا، ژاپونیکا با ژاپونیکا و یا ایندیکا با ژاپونیکا باشد روی نتایج تاثیرگذار خواهد بود.



شکل ۲- نقشه پیوستگی.

Figure 2- Genetic map.

جدول ۴- مجموع QTL های شناسایی شده برای کیفیت دانه در جمعیت لاین های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی عنبربو × سپیدرود. a: QTL ها با مخفف نام صفت و شماره کروموزوم نامگذاری شدند. b: اثر افزایشی، c: درصدی از کل تغییرات فنوتیپی صفت که توسط QTL توجیه می گردد. d: جهت اثرات فنوتیپی ANB و SPD بترتیب نشاندهنده عنبربو و سپیدرود می باشند.

Table 4: Total identified QTL for grain quality in recombinant inbred lines derived from cross between Anbarbu and Spidroud. a: QTLs are named by abbreviations plus chromosomal number. b: additive effect, c: percentage of total phenotypic variance explained by the QTL, d: direction of phenotypic effect, ANB and SPD indicate Anbarbu and Spidroud, respectively.

صفت	QTL	کروموزوم Chromosome	نشانیگرهای احاطه کننده Flanked markers	موقعیت Position	نقطه اوج Peak point	اثر افزایشی Additive effect	درصد توجیه Explain percentage	جهت Direction
Traits	QTL ^a	Chr.	Flanking markers	Position	Peak LR	A ^b	PEV ^c	Dpe ^d
طول دانه سفید Grain head rice length	qRHL-1	1	EO90M1407-RM312	182.31	18.9	-1.715	13.25	ANB
	qRHL-2a	2	EO60M1601-RM324	184.65	12.23	-1.345	16.88	ANB
	qRHL-2b	2	RM262-E0601502	240.35	15.74	-1.014	17.01	ANB
عرض دانه سفید head rice width Grain	qRHW-1	1	RM312-E060M1401	197.18	12.27	0.958	11.32	ANB
شکل دانه Grain shape	qRGSH-2	2	E110M16010- EO80M15013	83.85	13.01	18.178	24.15	SPD
	qRGSH-10	10	EO60M1607- E100M1403	42.86	15.89	13.624	12.38	SPD
وزن تک دانه پس از پخت Cooked grain weight	qWGC-3	3	RM7576-RM3441	8.23	16.45	7.714	17.65	ANB
	qWGC-6	6	RM276-E120M1603	1.25	25.26	4.213	15.99	ANB
طول برنج پس از پخت Cooked grain length	qRHLC-1	1	E090M1608-RM543	39.31	19.16	3.471	17.36	SPD
	qRHLC-2	2	RM427-E100M1402	44.23	15.23	-1.323	12.65	ANB
	qRHLC-6	6	RM7434-RM5371	19.22	19.08	-2.374	8.91	ANB
عرض برنج پس از پخت Cooked grain width	qRHWC-2a	2	RM6733-E100M1607	535.12	15.17	1.421	10.08	ANB
شکل دانه پس از پخت Cooked grain shape	qRGSHC-1	1	RM226-E110M1501	58.12	15.35	19.107	19.37	SPD
	qRGSHC-6	6	RM5088- E090M15011	11.41	23.71	11.197	17.34	SPD
	qRGSHC-7	7	RM420-RM5720	17.17	14.61	9.217	7.08	SPD

منابع

- Amarawathi Y, Singh R, Singh AK, Singh VP, Mohapatra T, Sharma TR, Singh, NK (2008). Mapping of quantitative trait loci for Basmati quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Breeding* 21: 49-65.
- Basten CJ, Weir BS, Zeng, ZB (1997). *QTL Cartographer: A reference manual and tutorial for QTL mapping: North Carolina State University USA*. P. 163.

- Chen X, Temnykh S, Xu Y, Cho YG, McCouch SR (1997). Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 95: 553-567.
- Dong Y, Tsuzuki E, Dongzhi L, Kamiunten H, Terao H, Matsuo M, Cheng S (2004). Molecular genetic mapping of quantitative trait loci for milling quality in rice (*Oryza sativa* L.). *Cereal Science* 40: 109-114.
- Fotokian M, Ghareyazie B, Taleei A (2006). Study of microsatellite markers associated with grain quality in rice (*Oryza sativa* L.). *Agricultural Science* 15:4. 129-140.
- Ge XJ, Xing YZ, Xu, CG He, YQ (2005). QTL analysis of cooked rice grain elongation, volume expansion, and water absorption using a recombinant inbred population. *Plant Breeding* 124: 121-126.
- Govindaraj P, Arumugachamy, S Maheswaran, M (2005). Bulked segregant analysis to detect main effect QTL associated with grain quality parameters in Basmati 370/ASD16 cross in rice (*Oryza sativa* L.) using SSR markers. *Euphytica* 144: 61-68.
- Huang N, Parco A, Mew T, Magpantay G, Mc Couch SR, Guicerdoni E, Xu J, Subudhi P, Angeles, ER Khush, GS (1997). RFLP mapping of isozymes, RAPD and QTLs for grain shape, brown planthopper resistance in a double haploid rice population. *Molecular Breeding* 3: 105-113.
- Kwon SJ, Cho YC, Kwon SW, Oh CS, Shu JP, Shin YS, Kim YG, Holligan D, Wessler SR, Hwang, HG Ahn, SN (2008). QTL mapping of agronomic traits on RIL population derived from a cross between temperate japonica cultivars in rice (*Oryza sativa* L.). *Breeding Science* 58: 271-279.
- Lander ES, Botstein D (1989). Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199.
- Lee JH, Cho YS, Jung KH, Song MT, Yong SJ, Kim, HY Choi HC (2000). Molecular genetic analysis of quantitative trait loci related to rice grain quality. *Proceedings of the Fourth International Rice Genetic Symposium October 22-27 Losbanos, Philippines, IRRRI Pub*, 642p.
- Li J, Xiao J, Grandillo S, Jiang L, Wan Y, Deng Q, Yuan, L and McCouch, SR (2004). QTL detection for rice grain quality traits using an interspecific backcross population derived from cultivated Asian (*O. sativa* L.) and African (*O. glaberrima* S.) rice. *Genome* 47: 697-704.
- Manly KF, Olson JM (1999). Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QTX. *Mammalian Genome* 10: 327-334.
- McCouch SR, Teytelman L, Xu YB, Lobos KB, Clare K, Walton M, Fu B, Maghirang R Li, ZK, Xing YZ, Zhang QF, Kono I, Yano M, Fjellstrom R, DeClerck G, Schneider D, Cartinhour S, Ware, D Stein L (2002). Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research* 9: 199-207.
- Rabiei B, Valizadeh M, Ghareyazie B, Moghaddam M Johar Ali A (2004). Identification of QTLs for rice grain size and shape of Iranian cultivars using SSR markers. *Euphytica* 137: 325-332.
- Rahman ML, Chu SH, Choi MS, Qiao YL, Jiang W, Piao R, Khanam S, Cho YI, Jeung JU, Jena, K Koh HJ (2007). Identification of QTLs for some agronomic traits in rice using an introgression line from *Oryza minuta*. *Molecules and Cells* 24: 16-26.
- Redona ED, Mackill DJ (1998). Quantitative trait locus analysis for rice panicle and grain characteristics. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 957-963.
- Sabouri A, Toorchi M, Rabiei B, Aharizad, S Moumeni, A, Singh RK (2010). Identification and mapping of QTLs for agronomic traits in indica-indica cross of rice (*Oryza sativa* L.). *Cereal Research Communication* 38(3)317-326.

- Sabouri H, Mohammadinejad Gh, Sabouri A, Navvabpouri S (2013). Molecular analysis of rice vegetative growth traits. *Journal of agriculture Biotechnology*. 5(3):67-86.
- Sabouri H, Katouzi M (2014). Detection of chromosomal regions controlling drought osmotic stress in rice. *Journal of agriculture Biotechnology*. 6(2):91-100.
- Saghi Maroof MA, Biyashev RM, Yang GP, Zhang Q Allard RW (1994). Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barely: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proceeding National Academy of Science USA* 91: 5466-5570.
- Tan TF, Xing YZ, Li JX, Xu SB, Xu CG, Zhang Q (2000). Genetic bases of appearance quality of rice grain in Shanyou 63, an elite rice hybrid. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 823-829.
- Temnykh S, Park WD, Ayres N, Cartinhour S, Hauck N, Lipovich L, Cho YG, Ishii T, McCouch SR (2000). Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 100: 697-712.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T. V. D., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 4407- 4414.
- Wan XY, Wan JM, Weng JF, Jiang L, Bi JC, Wang CM Zhai HQ (2005). Stability of QTLs for rice grain dimension and endosperm chalkiness characteristics across eight environments. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 1334-1346.
- Xiao K, Zuo H, Dong Y, Luo L, Mei H Matsuo M (2006). Genetic mapping of QTLs for grain dimension in rice grown in two asian countries. *Asian Journal of Plant Science* 5: 516-520.
- Yan CJ, Liang GH, Chen F, Li X, Tang SZ, Yi CD, Tian S, Lu JF Gu MH (2003) Mapping quantitative trait loci associated with rice grain shape based on an *indica/japonica* backcross population. *Yi Chuan Xue Bao* 30: 711-716.
- Zhang TQ, Xu JL, Li ZK, Zhai HQ, Wan JM (2007). Genomic regions associated with milling quality and grain shape identified in a set of random introgression lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breeding* 126: 158-163.
- Zhou LQ, Wang YP, Li SG (2006). Genetic analysis and physical mapping of LK-4(t), a major gene controlling length in rice, with a BC₂F₂ population. *Yi Chuan Xue Bao* 33: 72-79.

Molecular-genetic analysis of rice grain dimension in recombinant inbred lines of cross of Anbarbu × Sepidroud

Sabouri H.^{*1}, Dadras A.R.², Sabouri A.³, Katouzi M.⁴

¹Assoc. Prof. Plant Production Department, College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University

²PhD student in Plant Breeding, College of Agriculture Science, University of Guilan.

³Assist. Prof. Plant Breeding Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan

⁴MSc student in Plant Breeding, College of Agriculture Science, Gorgan University of Agriculture Sciences and Natural Resources.

Generally in Iran rice quality has more importance relative to yield. Therefore, breeding of rice cultivars for quality has priority. In the present study, in order to investigate genetic structure and QTL mapping of physical properties of rice grain were used 96 recombinant inbred lines (F8) of derived from Anbarbu × Sepidroud cross. To construct of linkage map, was performed parental survey using 365 microsatellite markers and 35 AFLP primer combinations. Then, 124 microsatellite markers and 21 AFLP primer combinations produced 263 clear and polymorph bands were used to determine genotype of whole population. The constructed genetic map using 387 markers covered 1950.4 cM of rice genome. Combined interval mapping on rice quality traits identified 13 QTLs for eight traits of which eight QTLs explained more than 15 percent of phenotype variance of given characteristics. There were two QTLs for grain weight and cooked grain weight. For grain length and width three and one QTLs were found, respectively. We found two and three QTLs for grain shape and cooked grain shap and three and one QTLs for cooked grain length and width, respectively. Considering of the stability of the mapping population it is expected that identified QTLs may be used with more confidence in marker assisted selection and fine mapping.

Keywords: *AFLP, Mapping, Microsatellite, Rice, Quality.*

* Corresponding Author: Sabouri H.

Tel: 09111438917

Email: hos.sabouri@gmail.com

