

توارث‌پذیری برخی صفات مورفولوژیکی و کیفی برنج و شناسایی مکان‌های ژنی مرتبط با آن‌ها (QTLs) با استفاده از نشانگر ریزماهوره

Heritability of some Morphological and Qualitative Traits of Rice and Identification of Their Related Quantitative Trait Loci (QTLs) Using Microsatellite Marker

رضا امیری فهلیانی^۱، محمود خدامباشی^۲، سعداله هوشمند^۲ و اسد معصومی اصل^۳

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق دکتری و دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده

کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۳۰

چکیده

امیری فهلیانی، ر.، خدامباشی، م.، هوشمند، س. و معصومی اصل، ۱۳۹۳. ا. تواریث‌پذیری برخی صفات مورفولوژیکی و کیفی برنج و شناسایی مکان‌های ژنی مرتبط با آن‌ها (QTLs) با استفاده از نشانگر ریزماهوره. *مجله به‌نژادی نهال و بذر* ۱-۳: ۴۴۰-۴۱۹.

صفات ظاهری می‌توانند به عنوان علائمی برای شناسایی مراحل رشد گیاهی و شاخص‌های انتخاب استفاده شوند. یکی از کاربردهای نشانگرهای DNA، ایجاد نقشه‌های پیوستگی است که برای شناسایی نواحی کروموزومی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی با استفاده از تجزیه QTLها، استفاده می‌شوند. در این تحقیق، از تلاقی بین رقم موسی طارم و رقم ۳۰۴، ۱۹۳ تک بوته F_2 به صورت مجزا بذرگیری و برای کشت ۱۹۳ فامیل $F_{2:3}$ به همراه والدین مورد استفاده قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح آگمنت با سه شاهد به نام‌های لنجان عسکری، ۳۰۴ و دم‌سیاه محلی نورآباد ممسنی، با شش بلوک اجرا شد و فامیل‌های $F_{2:3}$ به صورت تصادفی در بلوک‌ها کاشته شدند. صفات مورد مطالعه شامل ارتفاع گیاهچه، ارتفاع بوته، طول ساقه، طول خوشه، طول و عرض برگ قبل از برگ پرچم، طول و عرض برنج قهوه‌ای، شکل برنج و تعداد پنجه بودند. طول خوشه و تعداد پنجه از تواریث‌پذیری کم ($<0/2$)، طول و عرض برگ از تواریث‌پذیری متوسط ($0/2 - 0/5$)، ارتفاع گیاه، ارتفاع گیاهچه و طول ساقه از تواریث‌پذیری بالا ($0/5$ تا $0/8$) و خصوصیات برنج قهوه‌ای از تواریث‌پذیری خصوصی بسیار بالایی ($>0/8$) برخوردار بودند. ۸۱ جفت آغازگر مربوط به نشانگر ریزماهوره، بر اساس نقشه‌های SSR انتخاب گردیده و بر اساس نتایج به دست آمده، تعداد دو QTL برای ارتفاع گیاهچه، یک QTL برای طول خوشه، دو QTL برای تعداد پنجه، سه QTL برای عرض برگ، دو QTL برای طول دانه، دو QTL برای عرض دانه و دو QTL برای شکل دانه شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: برنج، صفات ظاهری، مکان‌یابی QTL، ریزماهوره.

مقدمه

بیشتر برنامه‌های به‌نژادی برنج در جهت افزایش ظرفیت تولید (عملکرد دانه و برنج سفید)، کاهش خطرات و هزینه‌های تحمیلی بر تولیدکنندگان (مثل مقاومت به بیماری)، یا ارزش افزوده (برنج‌های ویژه برای بازارهای خاص) است. درآمد تولیدکننده به کمیّت و به کیفیت دانه برنج حاصله بستگی دارد، بنابراین در نظر گرفتن هردوی این اجزاء برای بیشتر برنامه‌های به‌نژادی اساسی هستند. اگرچه بخش عظیمی از تولید برنج، به واسطه فناوری‌های جدید و عملیات مدیریتی کشت بوده، ولی بهبود ژنتیکی، یک جزء مهم در رشد صنعت بوده است. از آن جا که برنج از محدود محصولات زراعی است که با کمترین تغییرات از مزرعه به مصرف‌کننده می‌رسد، عواملی که بر کیفیت برنج اثرگذارند، بسیار با اهمیت هستند (Smith and Dilday, 2003).

ویژگی‌های ریختی می‌توانند به عنوان علائمی برای شناسایی مراحل رشد گیاهی در مدیریت مزرعه و شاخص‌های انتخاب در برنامه‌های بهبود گیاهان زراعی استفاده شوند (Moldenhauer *et al.*, 1994). پاکوتاهی، ساقه‌های محکم، پنجه‌زنی متوسط، برگ‌های کوتاه و راست، خوشه‌های فشرده و بلند و زودرسی، صفات معمول مورد استفاده به عنوان شاخص‌های انتخاب هستند. اهمیت این ویژگی‌ها، به واکنش برنج به نیتروژن (Tanaka, 1965؛ Stansel, 1975) و ژنتیک

گیاهی (Beachell and Jennings, 1965) مربوط می‌شود. این مفاهیم و اهداف به‌نژادی، تمامی برنامه‌های به‌نژادی جدید را تحت تأثیر قرار داده است، به نحوی که توسعه و سازگار کردن ارقام بهبودیافته، عملکرد جهانی برنج را طی سال‌های ۱۹۶۶ تا ۱۹۹۰ دو برابر کرده است (Khush, 1997).

اطلاعات حاصل از پروژه‌های بین‌المللی توالی‌یابی ژنوم برنج، نشان می‌دهد که در عصر جدیدی از به‌نژادی برنج و از جمله استفاده از نشانگرهای DNA هستیم. از کاربردهای اساسی نشانگرهای DNA در تحقیقات کشاورزی، ایجاد نقشه‌های پیوستگی برای گونه‌های متفاوت گیاهان زراعی است که برای شناسایی نواحی کروموزومی دربرگیرنده ژن‌های کنترل‌کننده صفات ساده و صفات کمی با استفاده از تجزیه QTLها، استفاده شده‌اند (Mohan *et al.*, 1997). نشانگرهای DNA که پیوستگی شدیدی با ژن‌های مهم زراعی دارند، ممکن است به عنوان ابزار مولکولی برای انتخاب با کمک نشانگر (Marker-Assisted Selection: MAS) در به‌نژادی گیاهان زراعی مختلف و از جمله برنج به طور گسترده‌ای استفاده شوند (Ribaut and Hoisington, 1998). روش گزینش با کمک نشانگر، عمل گزینش را بسیار سودمندتر، مؤثرتر، واقعی‌تر و کم هزینه‌تر از

- روش‌های معمول به‌نژادی گیاهی می‌کند (Collard, 2005).
- پیشرفت‌های اخیر در توالی‌یابی ژنوم و توالی تظاهر یافته‌ها نشانمند (Expressed Sequence Tag: EST) در برنج، منجر به شناسایی هزاران ریزماهوره (Microsatellite) و نقشه‌یابی و گسترش آن‌ها به عنوان نشانگرهای مولکولی شده است (McCouch *et al.*, 2002; Temnykh *et al.*, 2001; Jain *et al.*, 2003; Anonymoys, 2005). با توجه به این که ریزماهوره‌ها هم بارز و مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) هستند، این نشانگر ترجیحاً برای ارزیابی تنوع و روابط ژنتیکی میان ارقام نزدیک برنج استفاده می‌شود (McCouch and Doerge, 1995).
- دانستن مکان ژن‌ها در کروموزوم می‌تواند کمک مؤثری در تشخیص پیوستگی و پلیتروپی (چند اثری ژن) داشته باشد، زیرا این دو مورد توجه خاص به‌نژادگران هستند. از طرفی تعیین QTL‌ها این امکان را فراهم می‌سازد که به بررسی اثر افزایشی و غالبیت مکان‌های ژنی به صورت منفرد پرداخت تا معلوم شود غالبیت تا چه حد تعیین‌کننده بوده و میزان غالبیت واقعی در مکان‌های ژنی مختلف چقدر است. از سوی دیگر، با استفاده از تجزیه QTL‌ها می‌توان به مطالعه اثر متقابل ژن‌ها پرداخته و احتمالاً نوع عمل ژن و نوع اثر متقابل را در بعضی از موارد شناسایی کرد (Kearsey and Farquhar, 1998).
- (Hooshmand, 2002). یکی از روش‌های ترسیم نقشه، استفاده و تجزیه و تحلیل مشاهدات حاصل از نتایج F_2 به دست آمده از خودگشتی تک بوته‌های F_2 است. نتایج حاصل از این نسل، توانایی برآورد سهم غالبیت ژن‌های مؤثر در بروز صفت مورد مطالعه را داشته و به دلیل استفاده از میانگین صفت برای افراد $F_{2,3}$ ، سهم اثرگذار محیطی را کاهش داده و امکان برآورد سهم افزایشی ژن‌(های) مؤثر در صفت مورد مطالعه را با دقت بیشتری فراهم می‌کند (Weising *et al.*, 2003; Collard, 2005). هر پروژه ترسیم نقشه، اغلب با هدف تعیین پیوستگی بین یک یا تعدادی نشانگر و صفت مورد علاقه آغاز می‌شود. هدف گیری ژن، فرآیندی است که از طریق آن، دو نشانگر که کاملاً نزدیک به صفت مورد بررسی و در دو طرف آن قرار دارند، شناسایی شوند. معمولاً منظور از فاصله نزدیک، فواصل ۰/۵ تا ۱ سانتی‌مورگانی است (Weising *et al.*, 2003).
- عملکرد به عنوان یک هدف اصلاحی، دارای ارزش اقتصادی بوده و هدف نهایی به‌نژادی در برنج، یک ویژگی پیچیده و متشکل از اجزای متعدد است که هر یک از آن‌ها به صورت فنولوژیکی کنترل شده و بنابراین نسبت به تغییرات محیطی و نوسانات جوی بسیار حساس هستند (Smith and Dilday, 2003). اصلاح ارقام پرمحصول مستلزم شناخت ساختار ژنتیکی والدین مورد تلاقی و همچنین اطلاع

(Hund *et al.*, 2004؛ Revilla *et al.*, 1999). صفاتی از قبیل ارتفاع گیاهچه یا گیاه به عنوان شاخص‌های خوب بینه گیاهچه و بینه اولیه شناخته می‌شوند (Regan *et al.*, 1992). بینه اولیه، تعیین‌کننده سرعت نمو (Yamauchi and Winn, 1996) و سبز شدن یکنواخت گیاهچه‌ها در دامنه وسیعی از شرایط مزرعه‌ای بوده (Anonymous, 2002)، و نهایتاً سبب افزایش تجمع مواد خشک و افزایش عملکرد دانه می‌شوند (Ellis, 1992). بینه اولیه در هر دو شرایط تنش و بدون تنش آبی برای کشت مستقیم بذر و انتقال نشاء، بیشترین همبستگی ژنتیکی را با عملکرد دانه نشان می‌دهد (Kumar *et al.*, 2009) که می‌تواند به عنوان شاخصی برای بهبود عملکرد در شرایط کشت‌های نشایی استفاده شود (Yamauchi and Winn, 1996).

پنج ناحیه کروموزومی (qSEV-2-2)، qSEV-3-1، qSEV-3-4، qSEV-4-2، و qSEV-5-2) که به صورت توأم بر دو یا سه صفت مرتبط با قدرت رشد اثرگذارند، گزارش شده است. این نواحی در کروموزوم‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ قرار دارند (Lu *et al.*, 2007). گزارش دیگری، کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ را حاوی نواحی کنترل‌کننده ارتفاع گیاهچه اعلام کرده است (Zhou *et al.*, 2007). نواحی کنترل‌کننده ارتفاع گیاهچه بر روی کروموزوم‌های ۲، ۳ و ۱۲ نیز توسط عبدالخلیک و همکاران (Abdelkhalik *et al.*, 2005) و

داشتن از ترکیب‌پذیری صفات مطلوب آن‌ها است که این شناخت با استفاده از روش‌های مطالعه صفات کمی امکان‌پذیر می‌شود (Ahmadikhah, 2008). بدیهی است که ارزش اقتصادی یک رقم به ویژگی‌های مختلف آن بستگی دارد و انتخاب برای چندین صفت به منظور حصول حداکثر ارزش، همواره مورد نظر به‌نژادگران بوده است (Rezaei, 1994). صفاتی چون طول و عرض برگ پرچم، مساحت برگ پرچم، طول ساقه اصلی، وزن خوشه، وزن صد دانه، تعداد خوشه، تعداد دانه پر و پوک در خوشه، تعداد شاخه‌های اولیه (خوشه‌چه) در خوشه و عملکرد دانه به منظور تعیین اثربخشی آن‌ها در عملکرد، مطالعه شده و مورد تأیید قرار گرفته‌اند (Allahgholipoor and Mohammadsalehi, 2003)؛ (Rahimsorouh *et al.*, 2004). طول و عرض دانه و نسبت طول به عرض دانه (شکل دانه) نیز به عنوان صفات زراعی مورد مطالعه قرار گرفته و اثربخشی مثبت و معنی‌دار آن‌ها بر عملکرد تأیید شده است (Rahimsorouh *et al.*, 2004)؛ (Fotokian *et al.*, 2005؛ Hosseini, 2005).

رفتار ژنوتیپ‌ها در طول سه مرحله جوانه‌زنی، رشد هتروتروفی و رشد اولیه اتوتروفی، به ترتیب تحت عنوان بینه بذر (Seed vigor)، بینه گیاهچه (Seedling vigor) و بینه اولیه (Eryl vigor) شناخته می‌شوند (Lu *et al.*, 2007)؛

- هان و همکاران (Han *et al.*, 2007) گزارش شده است. ارتفاع بوته در برنج، تحت کنترل اثر افزایشی (Samonte *et al.*, 1998)؛ Sarawgi *et al.*, 1997؛ Nematzadeh *et al.*, 1983)، غالبیت ناقص (Abouzari *et al.*, 2005)؛ Shoushi Dezfooli and Honamejad, 2005؛ Nematzadeh *et al.*, 1983 و فوق غالبیت (Abouzari *et al.*, 2005) ژن‌ها قرار داشته و وراثت‌پذیری خصوصی بالا (شوشی‌دزفولی و هنرنژاد، ۲۰۰۵) و یا پایینی (Samonte *et al.*, 1998) نشان داده است. سهم اثر افزایشی بیشتر و یا کمتر (Samonte *et al.*, 1998) از اثر غیر افزایشی ژن‌ها در کنترل ارتفاع بوته گزارش شده است.
- چهارده ناحیه کروموزومی یا QTL مؤثر بر ارتفاع بوته در مراحل مختلف، بر کروموزوم‌های ۱ تا ۶ و کروموزوم‌های ۱۰ و ۱۲ گزارش شده است، که جمعاً ۳۹/۱ تا ۶۱/۲٪ واریانس این صفت را پوشش داده‌اند (Lu *et al.*, 2007). کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳ و ۶ حاوی نواحی مؤثر بر ارتفاع گیاه در مرحله پایانی رشد هستند (Lu *et al.*, 2007). یک مکان کروموزومی (QTL) با سهم ۴۳ تا ۴۵٪ تغییرات در ارتفاع بوته، در ناحیه ۱۷ سانتی مورگانی بین نشانگرهای RM275 و RM340 نزدیک مکان *XNpb12*، در بازوی بلند کروموزوم شماره ۶ گزارش شده است.
- (Kobayashi *et al.*, 2006). یک QTL روی بازوی بلند کروموزوم ۴ در ناحیه بین نشانگرهای RM255 و RM348 و در محدوده نشانگر *XNpb235* شناسایی شده که سهم بالایی از تنوع فنوتیپی ارتفاع بوته را به خود اختصاص داده و افزایش ۷ درصدی در ارتفاع بوته را سبب شده است (Kobayashi *et al.*, 2006). به طور کلی، بر اساس گزارش صوفی و راتر (Sofi and Rather, 2007) و به نقل از گزارش‌های محققین مختلف و با استفاده از مواد گیاهی و شرایط رشد متفاوت، تمامی دوازده کروموزوم برنج مکان‌هایی برای کنترل صفت ارتفاع بوته دارند.
- طول خوشه عمدتاً تحت کنترل اثر افزایشی (شوشی‌دزفولی و هنرنژاد، ۲۰۰۵) یا غیر افزایشی (Sharma and Mani, 2005) و یا هر دو اثر افزایشی و غیر افزایشی (Srivastava and Verma, 2004) ژن‌ها قرار دارد. برای طول خوشه وراثت‌پذیری خصوصی زیاد (شوشی‌دزفولی و هنرنژاد، ۲۰۰۵)، یا پایین تا متوسط (۱۳ تا ۴۸٪) گزارش شده است. وجود درجات مختلفی از فوق غالبیت ژن نیز برای طول خوشه گزارش شده است (Abouzari *et al.*, 2005). طول خوشه، تعداد پنجه‌های بارور در گیاه، وزن دانه‌ها و عملکرد دانه، در ایجاد تنوع ژنتیکی سهم کمتری نسبت به ارتفاع بوته و تعداد روز تا ۵۰٪ گلدهی داشته‌اند (Rahimsorouh *et al.*, 2004).
- یک مکان کروموزومی (QTL) با سهم

توارث‌پذیری پایین این صفت است. یک مکان کروموزومی (QTL) با سهم ۳۶ تا ۵۲٪ تغییرات در طول ساقه، در ناحیه ۱۷ سانتی مورگانی بین نشانگرهای RM275 و RM340 نزدیک مکان *XNpb12*، بر بازوی بلند کروموزوم شماره ۶ گزارش شده است (Kobayashi *et al.*, 2006).

ارتباط بین عملکرد دانه و تعداد پنجه‌های بارور در جوامع متفاوت و در سال‌های متفاوت از نظر آماری بی‌معنی (Surek and Beser, 2005) و یا مثبت و معنی‌دار (Sharma and Choubey, 1985) گزارش شده است. تعداد پنجه در بوته برنج تحت کنترل اثر غالبیت کامل ژن‌ها بوده و توارث‌پذیری خصوصی بین ۱۹/۰ تا ۴۴/۰ برای این ویژگی برآورد شده است (Honarnejad, 2007). وراثت‌پذیری تعداد کل پنجه در برنج، توسط ابوذری و همکاران (Abouzari *et al.*, 2005) ۸٪ گزارش شده است. اثر افزایشی و غیر افزایشی ژن‌ها (Gravais and McNew, 1993)؛ (Sarawgi *et al.*, 1997)؛ (Samonte *et al.*, 1998) و (Rahimi *et al.*, 2008) و غالبیت جزئی تا فوق‌غالبیت در کنترل تعداد پنجه در بوته برنج مؤثر و معنی‌دار گزارش شده است.

ناحیه مؤثر بر ارتفاع بوته و طول ساقه روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۶ و بین نشانگرهای RM275 و RM340، کاهش ۱۱ تا ۱۳ درصدی در تعداد پنجه را در

۴۸ تا ۵۵٪ ایجاد تغییر در طول خوشه، در ناحیه ۱۷ سانتی مورگانی بین نشانگرهای RM275 و RM340 نزدیک مکان *XNpb12*، بر بازوی بلند کروموزوم شماره ۶ گزارش شده است (Kobayashi *et al.*, 2006). ناحیه کروموزومی دیگری روی کروموزوم شماره ۳ و در نزدیکی نشانگر RM85 که ۱۰٪ تنوع فنوتیپی طول خوشه را توجیه می‌کند، گزارش شده است (Kobayashi *et al.*, 2006). یک ناحیه کروموزومی مؤثر در طول خوشه و دیگر ویژگی‌های آن روی کروموزوم شماره ۴ و بین نشانگرهای RM241 و RM349 گزارش شده است (Liu *et al.*, 2008). کروموزوم‌های ۱، ۴، ۸ و ۱۰ نواحی مؤثر بر طول خوشه را در شرایط مطلوب رطوبتی بر خود جای داده‌اند به نحوی که کروموزوم ۴ به تنهایی ۳ مکان مؤثر بر این صفت دارد. این در حالی است که در شرایط تنش رطوبتی تنها کروموزوم‌های ۸ و ۹، مکان‌های مؤثری برای طول خوشه داشتند (Liu *et al.*, 2008).

طول ساقه، عمدتاً تحت کنترل اثر افزایشی ژن‌ها قرار داشته و وراثت‌پذیری خصوصی زیادی دارد (شوشی‌دزفولی و هنرژاد، ۲۰۰۵). هوری و همکاران (Horie *et al.*, 1964) توارث‌پذیری خصوصی ۱۶/۸٪ را برای طول ساقه گزارش دادند که همانند گزارش سابو و همکاران (Sabu *et al.*, 2009) و توری‌یاما و فوتسوها (Toriyama and Futsuhara, 1958) دلیل بر

همراه والدین مورد استفاده قرار گرفتند. تهیه خزانه در اردیبهشت‌ماه و در شرایط گلخانه‌ای، در ظروف پلاستیکی در دانشگاه شهرکرد انجام شد و تا انتقال نشاءها به زمین اصلی (واقع در دشت خانمیرزا در فاصله ۳۵ کیلومتری لردگان)، مراقبت‌های لازم اعمال شد. در مرحله پنج برگی گیاهچه، نشاءها به زمین اصلی که برای کشت غرقابی آماده و تسطیح شده بود، انتقال داده شدند. نشاءها به صورت کپه‌های تک بوته‌ای مورد کشت قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح آگمنت با سه شاهد به نام‌های لنجان عسکری، ۳۰۴ و دم‌سیاه محلی نورآباد ممسنی، با شش بلوک اجرا شد و فامیل‌های $F_{2:3}$ به صورت تصادفی در بلوک‌ها کاشته شدند.

صفات مورد مطالعه شامل ارتفاع گیاهچه، ارتفاع بوته، طول ساقه، طول خوشه، طول و عرض برگ قبل از برگ پرچم، طول و عرض برنج قهوه‌ای، شکل برنج (نسبت طول به عرض برنج) و تعداد پنجه، بر اساس روش استاندارد معرفی شده از طرف مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (International Rice Research Institute) IRRI اندازه‌گیری شدند. در مرحله پنجه‌زنی از تمامی بوته‌های موجود نمونه‌های برگ‌گرفته شد. به منظور استخراج DNA، از روش استخراج CTAB برای نمونه با مقادیر کم (Miniprep) با کمی تغییرات و بر اساس روش امیری‌فهلینی و همکاران (Amiri Fahlani *et al.*, 2011)

نتایج مورد مطالعه سبب شده است (Kobayashi *et al.*, 2006). ناحیه‌ای کروموزومی (QTL) روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۴ و بین نشانگرهای RM255 و RM348، با ۳۵٪ توجیه تنوع و ناحیه دیگری بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱ و در مجاورت نشانگر RM306 با ۱۰٪ توجیه تنوع برای تعداد پنجه گزارش شده است (Kobayashi *et al.*, 2006). بر اساس گزارش صوفی و راتر (Sofi and Rather, 2007) کروموزوم‌های ۲، ۴، ۵ و ۶ توسط محققین متفاوت و در شرایط مورد مطالعه، دارای مکان‌های مؤثر در کنترل تعداد پنجه‌های بارور بوده‌اند. بر اساس همین گزارش کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۸ حامل مکان‌هایی برای کنترل تعداد پنجه هستند (Sofi and Rather, 2007).

هدف از انجام این تحقیق، نقشه‌یابی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده ویژگی‌های ریختی-زراعی شامل ارتفاع گیاهچه، ارتفاع بوته، طول ساقه، طول خوشه، طول ماقبل برگ پرچم، عرض برگ ماقبل برگ پرچم، عرض برگ ماقبل برگ پرچم و صفات کیفی از قبیل طول، عرض و شکل دانه قهوه‌ای برنج با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و برآورد وراثت‌پذیری صفات مزبور بود.

مواد و روش‌ها

از تلاقی رقم کیفی موسی طارم و رقم پرمحصول ۳۰۴، ۱۹۳ تک بوته F_2 به صورت مجزا بذرگیری و برای کاشت ۱۹۳ فامیل $F_{2:3}$ به

استفاده شد.

استفاده از روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب (Composite Interval Mapping: CIM) با سرعت پیمایش ۰/۵ سانتی‌مورگان و اندازه پنجره ۱۰ سانتی‌مورگان و تعداد پنج نشانگر به عنوان کنترل انجام شد. آستانه معنی‌داری مورد استفاده (Logarithmic of Odds: LOD) برای انتخاب QTLها برای تمامی صفات مقدار ۳ در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از تجزیه QTLها با استفاده از روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب، برای ویژگی‌های مورد بررسی، اطلاعاتی در رابطه با جایگاه مکان‌های کنترل‌کننده صفت و حدود اطمینان محل مکان‌های کنترل‌کننده، به صورت میله‌های (Bar) افقی و همچنین بسته به انتخاب کاربر و فرض صفر (H_0) که بر اساس نوع جمعیت مورد مطالعه قابل پیش‌بینی است، اطلاعاتی در رابطه با اثر افزایشی، غالبیت و یا سهم واریانس توجیهی هر کدام از QTLهای شناسایی شده ارائه می‌کند.

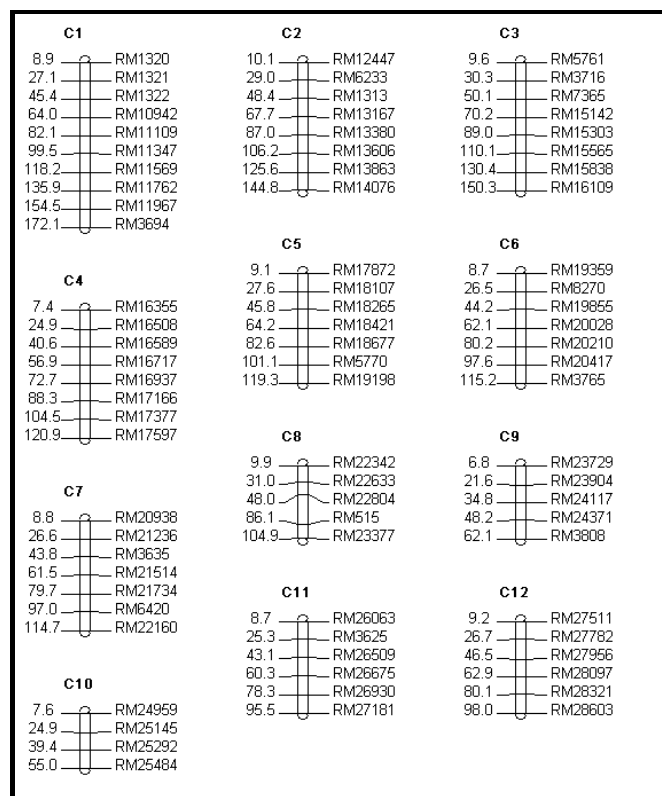
نتایج و بحث

آغازگرهای انتخاب شده و جایگاه آنها به همراه فاصله آنها تا ابتدای بازوی کوتاه کروموزوم بر حسب سانتی‌مورگان به تفکیک کروموزوم‌ها در شکل ۱ ارائه شده است. وراثت‌پذیری خصوصی ویژگی‌های زراعی ارزیابی شده بر اساس اطلاعات حاصل از تجزیه واریانس فامیل‌ها و روش رگرسیون چند متغیره در جدول ۱ ارائه شده است. با مقایسه

هشتاد و یک جفت آغازگر مربوط به نشانگر ریزماهواره، بر اساس نقشه‌های SSR ارائه شده در آدرس اینترنتی http://www.gramene.org/microsat/RM_primers و جهت داشتن فواصل یکسانی از آغازگرها بر روی تمامی ۱۲ کروموزوم انتخاب گردیدند. فاصله آغازگرهای انتخاب شده بر روی هر کروموزوم یکسان ولی بر روی کروموزوم‌های مختلف، متفاوت بودند به نحوی که فاصله آغازگری بین ۱۵ تا ۲۰ سانتی‌مورگان متغیر بود. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در میکروتیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتری و با حجم واکنش ۲۰ میکرولیتر و براساس روش امیری‌فهلیمانی و همکاران (Amiri- Fahliani *et al.*, 2011) طراحی شد. برای تشخیص چندشکلی‌های حاصله، محصولات PCR بر اساس پیشنهاد مک‌کوچ و همکاران (McCouch *et al.*, 2002) بر روی ژل آگارز (Top vision, Fermentas) ۳٪ در بافر $\times 0/5$ TBE مورد بررسی قرار گرفتند.

وراثت‌پذیری خصوصی ویژگی‌های زراعی ارزیابی شده بر اساس روش تجزیه واریانس فامیل‌های نسل F_3 و رگرسیون چند متغیره محاسبه شد (Mather and Jinks, 1982)؛ (Hooshmand, 2002).

تجزیه QTL با استفاده از نرم‌افزار Cartographer V2.5 انجام شد (Wang *et al.*, 2007). بررسی QTLها با



شکل ۱- آغاز گرهای انتخاب شده و جایگاه و پراکندگی آنها روی کروموزوم‌های (C) ۱ تا ۱۲
Fig. 1. Selected primers and their locations and distribution on 1 to 12 chromosomes

جدول ۱- توارث‌پذیری خصوصی محاسبه شده با استفاده از تجزیه واریانس فامیل‌های F_3 و مدل دو پارامتری رگرسیون چند متغیره

Table 1. Narrow sense heritability calculated using F_3 families' analysis of variance and two- parametric multivariate regression model

طول برگ	عرض برگ	طول برنج قهوه‌ای	عرض برنج قهوه‌ای	شکل برنج قهوه‌ای
Leaf length	Leaf width	Brown rice length	Brown rice width	Brown rice shape
0.3644	0.4643	0.8419	0.8840	1.0000
طول ساقه	ارتفاع گیاه	طول خوشه	ارتفاع گیاهچه	تعداد پنجه
Stem height	Plant height	Spike height	Seedling height	Tiller No.
0.5098	0.5832	0.1634	0.5477	0.1789

† Length/with ratio of brown rice

† نسبت طول به عرض برنج قهوه‌ای

و یا نوع نسل در حال تفرق قرار گرفته و بنابراین شدیداً متأثر از شرایط محیطی و اثر غیر افزایشی ژن بودند. به عبارتی برای بهبود ویژگی‌های طول خوشه و تعداد پنجه می‌توان با فراهم کردن

توارث‌پذیری ویژگی‌های تعداد پنجه و طول خوشه و خصوصیات برنج قهوه‌ای، می‌توان اذعان کرد که تنوع ویژگی‌های تعداد پنجه و طول خوشه تحت تأثیر شرایط محیطی متفاوت

اثر افزایشی کم دور از انتظار نیست (Singh, 2005؛ Mather and Jinks, 1982).

در رابطه با طول ساقه، ارتفاع گیاهچه و ارتفاع گیاه با توجه به توارث‌پذیری خصوصی محاسبه شده، می‌توان گفت این ویژگی‌ها از قابلیت تثبیت نسبتاً خوبی برخوردار بودند، اگرچه سهم اثر محیطی در بروز این ویژگی‌ها نسبت به خصوصیات دانه بیشتر بود. توارث‌پذیری ۰/۳۶ تا حدود ۰/۴۷ به ترتیب مربوط به طول و عرض برگ نیز نشان داد که این صفات از قابلیت تثبیت کمتری نسبت به خصوصیات دانه، طول ساقه، ارتفاع گیاهچه و ارتفاع گیاه برخوردار بوده و سهم اثر محیطی در بروز این ویژگی‌ها نقش بیشتری داشت (جدول ۱). طول و عرض برگ ماقبل برگ پرچم از توارث‌پذیری متوسطی (به ترتیب ۰/۳۶ و ۰/۴۶) در این تحقیق برخوردار بودند (جدول ۱).

به طور کلی در رابطه با توارث‌پذیری ویژگی‌های ارزیابی شده در این تحقیق، می‌توان اذعان کرد که طول خوشه و تعداد پنجه از توارث‌پذیری کم ($< 0/2$) و طول و عرض برگ از توارث‌پذیری متوسط ($0/2 - 0/5$) و ارتفاع گیاه، ارتفاع گیاهچه و طول ساقه از توارث‌پذیری بالا (۰/۵ تا ۰/۸) و خصوصیات برنج قهوه‌ای از توارث‌پذیری خصوصی بسیار بالایی ($> 0/8$) برخوردار بودند. سهم اثر محیطی در چنین ویژگی‌هایی به ترتیب زیاد، متوسط و کم و قابلیت تثبیت این صفات از طریق انتخاب که به طور معمول بر اساس فنوتیپ انجام

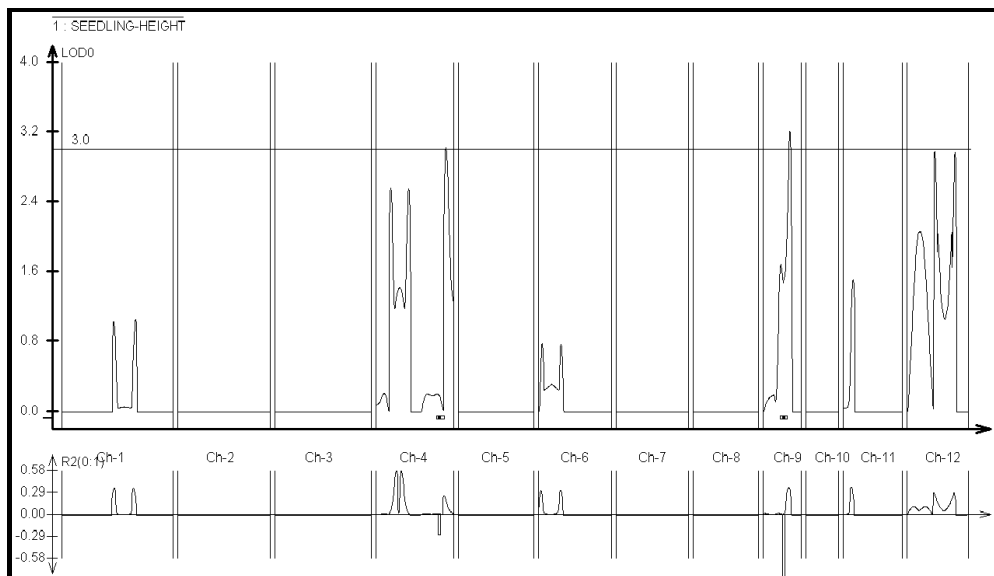
مناسب‌ترین محیط جهت رشد گیاه و تأمین کامل نیاز غذایی گیاه، به هدف مورد نظر دست پیدا کرد.

بر اساس تقسیم‌بندی سینگ (Singh, 2005)، طول ساقه با توارث‌پذیری خصوصی حدود ۰/۵۱، ارتفاع گیاهچه با توارث‌پذیری خصوصی حدود ۰/۵۵ و ارتفاع گیاه با توارث‌پذیری خصوصی حدود ۰/۵۸ از توارث‌پذیری بالایی برخوردار بودند (جدول ۱). شوشی دزفولی و هنرنژاد (۲۰۰۵) نیز گزارش داده‌اند که طول ساقه از توارث‌پذیری خصوصی بالایی برخوردار است. این درحالی است که توری‌یاما و فوتسوها (Toriyama and Futsuhara, 1958)، هوری و همکاران (Horie et al., 1964) و سابو و همکاران (Sabu et al., 2009) سهم اثر غیر افزایشی ژن را بالا گزارش داده و توارث‌پذیری خصوصی پایین تا متوسط را برای طول ساقه محاسبه کرده‌اند. شاید در این رابطه و با توجه به توارث‌پذیری‌های متفاوت گزارش شده، بتوان دلیل عمده این تنوع در میزان وراثت‌پذیری طول ساقه را وابسته بودن تنوع و بنابراین توارث‌پذیری به نوع نسل مورد مطالعه دانست. گزارش‌هایی که توارث‌پذیری پایین تا متوسطی را برای طول ساقه ارائه کرده‌اند، بر اساس اطلاعات حاصل از تجزیه دای‌آلل بوده و بنابراین در این وضعیت با توجه به ساختار ژنتیکی افراد مورد مطالعه (F_1 ها) و سهم بالای ناخالصی ژنتیکی و اثر غیر افزایشی ژن، داشتن

جایگاه‌های شناسایی شده در محور عمودی نشان داده شده است. با توجه به این که در این آزمایش مقدار LOD برابر ۳ در نظر گرفته شده است، ملاحظه می‌شود که تنها روی کروموزوم‌های ۱۲ و ۹، جایگاه معنی‌داری برای ویژگی ارتفاع گیاهچه پیدا شده است. در قسمت پایینی این شکل نیز اطلاعات مربوط به سهم واریانس (R^2) توجیهی توسط جایگاه‌های شناسایی شده نشان داده شده است.

می‌شود، به ترتیب کم، متوسط و زیاد خواهد بود.

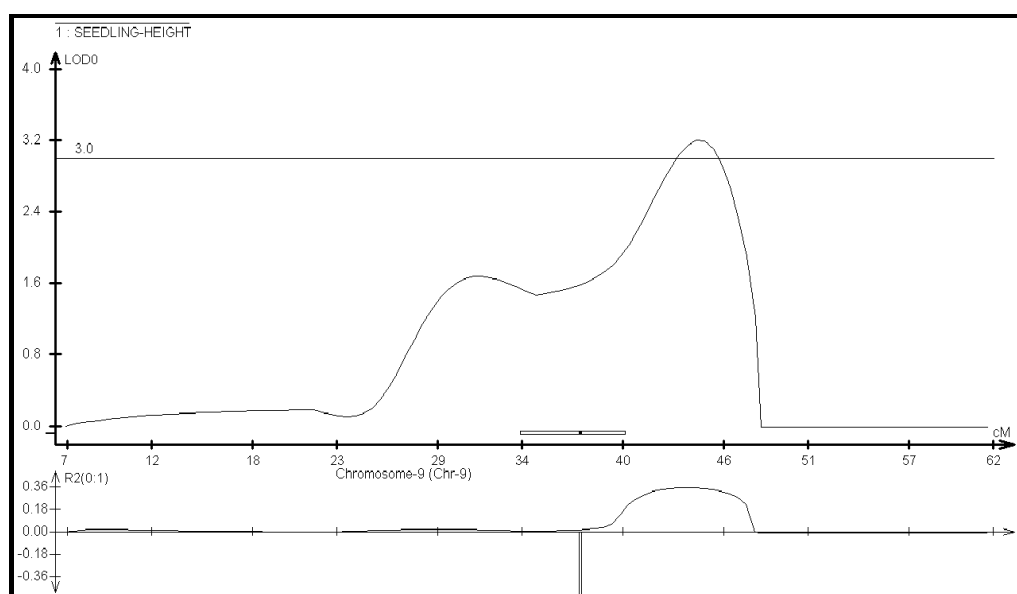
شکل ۲ نموداری را نشان می‌دهد که از تجزیه QTL به روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب برای ویژگی ارتفاع گیاهچه حاصل شده است. در این نمودار وضعیت جایگاه‌های شناسایی شده برای ارتفاع گیاهچه روی تمامی ۱۲ کروموزوم ارائه شده است. در قسمت بالایی نمودار شکل ۳، آستانه معنی‌داری (LOD)



شکل ۲- نمودار حاصل از تجزیه QTL برای ارتفاع گیاهچه با استفاده از روش فاصله‌ای مرکب (CIM)
 Fig. 2. Diagram obtained from QTL analysis for seedling height using composite interval method

قهوه‌ای در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به استفاده از داده‌های حاصل از نسل F_3 ، امکان برآورد هر دو اثر افزایشی و غالبیت وجود داشت. در جدول ۲، صفاتی ذکر شده‌اند که دارای معیاری برابر و یا بیشتر از سطح آستانه‌ای مرسوم در انتخاب QTLها ($LOD \geq 3$) بودند.

نتایج حاصل از تجزیه جایگاه‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی (QTLها) با استفاده از روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب برای ویژگی‌های ارتفاع گیاهچه، طول خوشه، تعداد پنجه، عرض برگ مقابل برگ پرچم، طول برنج قهوه‌ای، عرض برنج قهوه‌ای و شکل برنج



شکل ۳- نمودار مربوط به QTL شناسایی شده برای ارتفاع گیاهچه (بالا) و سهم واریانس توجیهی این جایگاه (پایین) بر کروموزوم ۹

Fig. 3. Diagram related to identified QTL for seedling height (above) and variance proportion for this locus (below) on chromosome 9

توارث‌پذیری خصوصی این ویژگی‌ها، انتظار بر این بود که برای این ویژگی‌ها QTL‌هایی قابل شناسایی باشد. در این شرایط یکی از دلایلی که می‌توان ارائه کرد، این است که جایگاه‌های کنترل‌کننده این ویژگی‌ها زیاد و اثر آن‌ها کم باشد. به عبارتی QTL‌های کنترل‌کننده این ویژگی‌ها بایستی به صورت کم‌اثر (Minor) باشند. در چنین وضعیتی می‌توان عدم شناسایی QTL برای این صفات را کم بودن تعداد افراد مورد مطالعه دانست. دلیل دیگر عدم شناسایی QTL مرتبط با این صفات را می‌توان اشتباهات آزمایشی احتمالی در بررسی چندشکلی‌ها در مراحل متفاوت آزمایش‌های مولکولی دانست. اگرچه عدم شناسایی QTL

برای ویژگی‌های ارتفاع گیاه، طول ساقه و طول برگ ماقبل برگ پرچم هیچ QTL شناسایی و معرفی نشده است. این درحالی است که، آغازگرهایی مرتبط با این ویژگی‌ها با استفاده از روش تجزیه توده‌ای نسل‌های در حال تفرق (Bulked Segregant Analysis: BSA) شناسایی شد (Amiri-Fahlani *et al.*, 2011) به نحوی که بر اساس روش BSA آغازگرهای RM15838 و RM26291 با طول برگ ماقبل برگ پرچم، آغازگرهای RM16589 و RM26063 با ارتفاع گیاه و آغازگرهای RM16589 و RM26291 با طول ساقه مرتبط شناخته شده‌اند (Amiri-Fahlani *et al.*, 2011).
با مراجعه به جدول ۱ و با توجه به

جدول ۲- اطلاعات مربوط به QTL های شناسایی شده در جمعیت F₃ برای ویژگی های زراعی با استفاده از روش نقشه یابی فاصله ای مرکب

Table 2. Information related to identified QTLs in F₃ population for agronomic characteristics using composite interval mapping method

ویژگی	نام پیشنهادی b QTL	مقدار LOD	سهم واریانس QTL	عمل a QTL	نسبت غالبیت	اثر غالبیت QTL	اثر افزایشی QTL	موقعیت QTL بر کروموزوم	موقعیت آغازگر بر کروموزوم	آغازگر نزدیک به QTL	شماره کروموزوم
Characteristic	Proposed QTL name	LOD content	QTL portion (%)	QTL action	Dominance ratio	QTL Dominant effect	QTL Additive effect	QTL position on chromosome (cM)	primer position on chromosome (cM)	Primer closed to QTL	Chromosome No.
Seedling height	<i>qSDLH-4</i>	3.0	24.29	A	0.1	0.2866-	4.5408	100.60	104.54	RM17377	4
Spike height	<i>qSDLH-9</i>	3.2	35.45	OD	1.3	7.1157-	5.5634	37.51	34.81	RM24117	9
	<i>qSPL-9</i>	3.8	14.46	PD	0.3	0.2861	0.8735	34.51	34.81	RM24117	9
Tiller No.	<i>qCLMN-1</i>	3.2	47.77	OD	1.6	7.7400	4.7052-	106.11	99.51	RM11347	1
	<i>qCLMN-4</i>	4.1	32.29	A	0.1	0.2206	3.6885-	92.31	88.28	RM17166	4
Leaf width	<i>qPULW-4-1</i>	3.3	28.61	D	1.0	0.6930-	0.7025	71.71	72.65	RM16937	4
	<i>qPULW-4-2</i>	3.3	27.80	D	0.9	0.6355-	0.6870	86.81	88.28	RM17166	4
	<i>qPULW-9</i>	4.8	23.33	A	0.1	0.0549-	0.6479-	32.01	34.81	RM24117	9
Seed length	<i>qBRL-4</i>	8.0	49.00	OD	1.6	0.2316	0.4333-	70.71	72.65	RM16937	4
	<i>qBRL-9</i>	7.0	50.00	PD	0.5	0.6765	0.4766	29.01	34.81	RM24117	9
Seed width	<i>qBRW-4</i>	5.5	50.29	D	1.0	0.1623-	0.1580	72.21	72.65	RM16937	4
	<i>qBRW-9</i>	5.1	45.88	PD	0.6	0.1061	0.1678-	29.51	34.81	RM24117	9
Seed shape	<i>qBRSh-4-1</i>	8.0	50.00	OD	1.5	0.1842	0.1251-	71.71	72.65	RM16937	4
	<i>qBRSh-4-2</i>	8.0	50.00	OD	1.5	0.1855	0.1251-	90.31	88.28	RM17166	4

(a) نسبت کمتر از ۰/۲ افزایشی (A)، ۰/۲۱ تا ۰/۸ غالبیت ناقص (PD)، ۰/۸۱ تا ۱/۲ غالبیت کامل (D)، و بیشتر از ۱/۲ فوق غالبیت (OD)، (b) نام پیشنهادی بر اساس روش مک کوچ و همکاران (McCouch *et al.*, 1995)

می‌تواند مربوط به تراکم آغازگرهای مورد استفاده در یک پروژۀ نقشه‌یابی نیز باشد که در این تحقیق با توجه به حداکثر فاصله ۲۰ سانتی‌مورگانی آغازگرهای مورد استفاده، کمی تراکم آغازگرهای مورد استفاده، نمی‌تواند دلیل عدم شناسایی QTL (Collard, 2005) برای صفات ارتفاع گیاه، طول ساقه و طول برگ ماقبل برگ پرچم باشد. از دیگر دلایل عدم شناسایی نشانگر مرتبط با این ویژگی‌ها را شاید بتوان ناخالصی (هتروزیگوسیتی) والدین در نواحی کنترل‌کننده این ویژگی‌ها دانست.

QTL‌های مرتبط با ارتفاع گیاهچه (*qSEH-4* و *qSEH-9*) به‌ترتیب روی کروموزوم‌های ۴ و ۹ و در مجاورت آغازگرهای RM17377 و RM24117 شناسایی شد. مقدار LOD مربوط به این QTL‌ها نیز نشان‌دهنده قابلیت اطمینان بالای جایگاه‌های شناسایی شده بود. با توجه به موقعیت آغازگر و موقعیت ارزیابی شده برای QTL معرفی شده، می‌توان گفت که فاصله بین آغازگر و QTL مورد نظر به ترتیب حدود ۳/۹۴ و ۲/۷ سانتی‌مورگان بوده که فاصله بسیار مناسبی جهت استفاده از این آغازگرها در جهت انتخاب برای ارتفاع گیاهچه است. از طرفی با در نظر گرفتن اثر افزایشی QTL‌های شناسایی شده و علامت مثبت آن‌ها، می‌توان استنباط کرد که از این آغازگرها می‌توان در جهت افزایش ارتفاع گیاهچه استفاده کرد. اثر غالبیت و منفی

مربوط به QTL شناسایی شده بر کروموزوم شماره ۹ نیز قابل بررسی بوده و برای کارهای به‌نژادی بایستی مد نظر قرار گیرد. به عبارتی انتخاب در نسل‌های در حال تفرق که از هتروزیگوسیتی و بنابراین اثر غالبیت برخوردار است، به نحوی که باعث دور ریختن بوته‌های کوتاه از نظر ارتفاع گیاهچه شود، می‌تواند به حذف تعدادی از ژن (QTL)‌های مؤثر در افزایش ارتفاع گیاهچه منجر شود. مجموع سهم واریانس توجیهی توسط این دو QTL از مقدار بالایی (۵۹/۷۴٪) برخوردار بود. سهم واریانس ارائه شده به نوعی بخشی از وراثت‌پذیری عمومی است که توسط این جایگاه‌های ژنتیکی توجیه می‌شود.

در این آزمایش برای صفت طول خوشه یک QTL روی کروموزوم ۹ و در فاصله حدود ۰/۳ سانتی‌مورگانی با آغازگر RM24117 قرار دارد. این QTL به صورت غالبیت ناقص عمل کرده و ۱۴/۴۶٪ از تنوع فنوتیپی را توجیه کرد. با در نظر گرفتن میزان توارث‌پذیری خصوصی این صفت (۱۶/۳۴٪، جدول ۱)، می‌توان گفت که QTL (های) دیگری که در کنترل این صفت نقش داشته باشند، بایستی وجود داشته باشد که یکی از دلایل عدم شناسایی آن (ها) اثر جزئی آن‌ها و یا تعداد کم افراد مورد مطالعه می‌تواند باشد. برای دیگر صفات ارائه شده در جدول ۲ نیز می‌توان چنین استنباط‌هایی را با در نظر گرفتن توارث‌پذیری آنها داشت. به طور کلی با استفاده از روش تجزیه QTL از طریق

با مقایسه QTL‌های شناسایی شده برای ویژگی‌های دانه قهوه‌ای، اگرچه صفات طول، عرض و شکل دانه دارای QTL‌هایی بر روی کروموزوم ۴ و نزدیک به آغازگر RM16937 بودند، ولی موقعیت جایگاه‌های کنترل‌کننده این صفات یکسان نیست. این ادعا بر اساس نظریه لو و همکاران (Lu *et al.*, 2007) عنوان شده است. این محققین عقیده دارند که زمانی که یک QTL یا یک ناحیه کروموزومی مشابه مؤثر بر دو یا چند صفت شناخته می‌شود، مقایسه مکان مربوط به حداکثر LOD آن‌ها و شکل منحنی مربوطه برای صفات متفاوت، می‌تواند در تعیین چند اثر بودن (پلیوتروپی) یا نبودن QTL یا ناحیه کروموزومی بر صفات مورد بررسی کمک کنند.

در جدول ۲ همچنین دیده می‌شود که برای عرض برگ و شکل دانه یک QTL نزدیک به آغازگر RM16937 و بر کروموزوم ۴ معرفی شده است که از موقعیت QTL ی یکسانی (فاصله ۷۱/۷۱ سانتی مورگانی از ابتدای بازوی کوتاه کروموزوم) برخوردار بودند. شاید بتوان این ادعا را مد نظر قرار داد که این جایگاه ژنتیکی دارای اثر پلیوتروپی بوده و هر دو ویژگی را کنترل می‌کند.

در مورد نواحی شناخته شده برای ویژگی‌های شکل دانه و تعداد پنجه که قبلاً توسط دیگر محققین نیز گزارش‌های مشابهی مبنی بر آغازگرهای مرتبط وجود دارد، می‌توان گفت که در تحقیق حاضر با توجه به استفاده از

تجزیه فاصله‌ای مرکب، تعداد دو QTL برای ارتفاع گیاهچه ($qSDLH-4$ و $qSDLH-9$)، یک QTL ($qSPL-9$) برای طول خوشه، دو QTL ($qCUN-1$ و $qCUN-4$) برای تعداد پنجه، سه QTL ($qLEW-4-1$ ، $qLEW-4-2$ و $qLEW-9$) برای عرض برگ، دو QTL برای طول دانه ($qGRL-4$ و $qGRL-9$)، دو QTL برای عرض دانه ($qGRW-4$ و $qGRW-9$) و دو QTL برای شکل دانه ($qGRS-4-1$ و $qGRS-4-2$) شناسایی شدند. جدول ۲ نشان می‌دهد که به جز یک QTL مربوط به تعداد پنجه که روی کروموزوم ۱ شناسایی شده است، بقیه QTL‌های شناسایی شده روی کروموزوم‌های شماره ۴ و ۹ قرار داشتند، به نحوی که از ۱۴ عدد QTL شناسایی شده، هشت عدد روی کروموزوم ۴ و ۵ عدد روی کروموزوم ۹ قرار داشتند.

در جدول ۲ دیده می‌شود که صفات ارتفاع گیاهچه، تعداد پنجه، و طول دانه قهوه‌ای دارای QTL‌هایی با عمل فوق‌غالبیت بودند که با اطلاعات مربوط به ویژگی‌های مورد نظر (داده‌ها ارائه نشده است)، می‌توان انتظار چنین وضعیتی را داشت. یکی از دلایل مشاهده عمل فوق‌غالبیت ژن در صفات کمی، می‌تواند وضعیت پراکندگی ژن‌های کنترل‌کننده صفتی باشد که به صورت یک مجموعه متصل بهم از نسلی به نسل دیگر انتقال می‌یابند (Mather and Jinks, 1982)؛ (Hooshmand, 2002).

تحت تأثیر عواملی چون وضعیت ژن‌های کنترل کننده آن‌ها در والدین شرکت کننده در تلاقی است و بنابراین تنها تکیه داشتن بر توارث پذیری صفت مورد نظر، ممکن است منجر به بهبود نهایی صفات نشود. گزینش صفات در نسل‌های در حال تفرق با کمک نشانگرهای مولکولی که تحت تأثیر شرایط محیطی و دیگر عوامل اثر گذار در انتخاب افراد قرار نمی‌گیرند، در دستیابی هرچه سریع‌تر و دقیق‌تر به اهداف به‌نژادی، و احتمالاً تسریع در حذف ژن‌های نامطلوب پیوسته با ژن‌های مطلوب، مؤثر واقع می‌شوند. به طور طبیعی سادگی استفاده از نشانگرهای مولکولی در برنامه‌های به‌نژادی بستگی به قابلیت تکرار ارتباط بین نشانگر و QTL در نسل‌ها، جوامع و محیط‌های متفاوت دارد. قابلیت تکرار ارتباط بین نشانگر و QTL به نوبه خود به ماهیت نشانگر و فاصله بین نشانگر معرفی شده با QTL مورد نظر بستگی دارد. در این آزمایش از نشانگر SSR استفاده شد که با توجه به اختصاصی بودن این نشانگر و گستردگی یکنواخت آن‌ها در طول کروموزوم از قابلیت تکرارپذیری بسیار بالایی برخوردار است. فاصله مطلوب بین نشانگر و QTL نیز بر اساس گزارش‌های متفاوت، فاصله‌های کمتر از ۴/۵ سانتی‌مورگان پیشنهاد شده است که در این آزمایش چندین جایگاه با چنین فاصله‌ای با نشانگر، شناسایی شد.

روش CIM دو آغازگر طرفینی (محصور کننده) جایگاه معرفی شده است که طبیعتاً برای ادامه کار و پیدا کردن نشانگرهای نزدیک‌تر به جایگاه مورد نظر و در نهایت توالی‌یابی مکان ژنی کنترل کننده ویژگی مورد علاقه، بسیار مفید بوده و از نظر دقت، کاملاً متفاوت با شناسایی تک نشانگرهای مرتبط با ویژگی مورد بررسی خواهد بود.

مکان‌های شناسایی شده با استفاده از روش CIM، مرتبط با طول برنج قهوه‌ای (qBRL-9)، عرض برنج قهوه‌ای (qBRW-9)، عرض برگ ماقبل برگ پرچم (qPULW-9)، طول خوشه (qPNL-9) و ارتفاع گیاهچه (qSDLH-9) روی کروموزوم شماره ۹ نسبت به نواحی گزارش شده توسط دیگر محققین، فاصله ژنتیکی زیادی با جایگاه‌های شناسایی شده در این تحقیق دارد. در مورد طول خوشه با توجه به معرفی آغازگر RM5652/RM24307 به عنوان تک آغازگر مرتبط با این ویژگی می‌توان این گونه استنباط کرد که ناحیه کنترل کننده طول خوشه ممکن است در بالادست و در جهت شروع بازوی کوتاه و یا در پایین دست و در جهت انتهای بازوی بلند کروموزوم ۹ قرار داشته باشد.

آگاهی از توارث‌پذیری صفات در جهت طراحی راه کارهای اصلاحی و نوع تلاقی مورد نیاز جهت اصلاح گیاه زراعی مورد نظر، حائز اهمیت زیادی است. توارث‌پذیری صفات،

References

- Abdelkhalik, A. F., Shishido, R., Nomura, K., and Ikehashi, H. 2005.** QTL based analysis of heterosis for grain shape traits and seedling characteristics in an *indica-japonica* hybrid in rice (*Oryza sativa* L.). *Breeding Science* 55: 41-48.
- Abouzari, A., Valizadeh, M., Honarnejad R., and Fotokian H. 2005.** Comparison of classification of rice cultivars by SDS-PAGE electrophoresis of seed storage proteins and quantitative traits data. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*. 36 (5): 1251-1262 (in Persian).
- Ahmadikhah, A. 2008.** Estimation of heritability and heterosis of some morphological traits and combination ability in rice lines using line×tester method. *Electronical Journal of Crop Production* 2: 15-33 (in Persian).
- Allahgholipoor, M., and Mohammadsalehi, M. 2003.** Factor and path analysis in different rice genotypes. *Seed and Plant* 19(1): 75-86 (in Persian).
- Amiri Fahlani, R., Khodambashi, M., Houshmand, S., Arzani, A., and Sorkheh, K. 2011.** Heritability for some agronomic characters of rice (*Oryza sativa* L.) and their linked microsatellites identification. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 35: 481- 490.
- Anonymous 2002.** Seed Vigor Testing Handbook. Association of Official Seed Analysts, Las Cruces, New Mexico (Contribution No. 32).
- Anonymous 2005.** The map-based of the rice genome. IRGP (International Rice Genome Sequencing Project). *Nature* 436: 793-800.
- Beachell, H. M., and Jennings, P. R. 1965.** Need for modification of plant type. In: *The Mineral Nutrition of the Rice Plant, Proceedings of a IRRI Symposium, Feb. 1964.* Johns Hopkins University Press, Baltimore, USA.
- Chang, T. T. 1964a.** Varietal differences in lodging resistance. *IRC Newsletter* 13: 1-11.
- Chang, T. T. 1964b.** Present Knowledge of Rice Genetics and Cytogenetics. Technical Bulletin. 1. International Rice Research Institute, Manila, The Philippines.
- Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer, J. B., and Pang, E. C. K. 2005.** An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142: 169-196.

- Ellis, R. H. 1992.** Seed and seedling vigor in relation to crop growth and yield. *Journal of Plant Growth Regulation* 11: 249-255.
- Fotokian, H., Ghareyazie, B., and Talei, A. 2005.** Study of microsatellite markers corresponding to seed quality in rice. *Journal of Agricultural Science* 15 (4): 129-140 (in Persian).
- Gravais, K. A., and McNew, R. M. 1993.** Genetic relationship among and selection for rice yield and yield components. *Crop Science* 33: 249-252.
- Han, L., Qiao, Y., Zhang, S., Zhang, Y., Cao, G., Kim, J., Lee, K., and Koh, H. 2007.** Identification of quantitative trait loci for cold response of seedling vigor traits in rice. *Journal of Genetics and Genomics* 34: 239-246.
- Honarnejad, R. 2007.** Estimation of genetic parameters in rice by different diallel griffing methods. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources* 41b: 247-258 (in Persian).
- Hooshmand, S. 2002.** *Genetical Analysis of Quantitative Traits*. Sharekord University Press, Sharekord, Iran (in Persian).
- Horie, M., Saio, K., Hatamura, M., and Ito, A. 1964.** The estimation of heritability on paddy rice plants, soybean plants and silkworm. II. Paddy rice plants. *Japanese Journal of Breeding* 14: 130-140.
- Hosseini, M., Honarnejad, R., and Torang, A. 2005.** Study of combining ability and gene action in qualitative traits in rice (*Oryza sativa*). *Journal of Agricultural Science* 15 (4): 253-267 (in Persian).
- Hund, A., Fracheboud, Y., Soldati, A., Frascaroli, E., Salvi, S., and Stamp, P. 2004.** QTL controlling root and shoot traits of maize seedlings under cold stress, *Theoretical and Applied Genetics* 109: 618-629.
- Jain, S., Mitchell, S. E., Jain, R. K., Kresovich, S., and McCouch, S. R. 2003.** DNA fingerprinting and phylogenetic analysis of Indian aromatic high-quality rice germplasm using panels of fluorescent-labeled microsatellite markers. pp. 162-166. In: Khush, G. S., Brar, D. S., and Hardy, B. (eds.) *Advances in Rice Genetics*. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- Jennings, P. R. 1964.** Plant type as a rice breeding objective. *Crop Science* 4: 13-15.
- Kearsey, M. J., and Farquhar, A. G. L. 1998.** QTL analysis in plants; where are we now? *Heredity* 80: 137-142.

- Khush, G. S. 1997.** Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Molecular Biology* 35: 25-34.
- Kobayashi, S., Araki, E., Osaki, M., Khush, G. S., and Fukuta, Y. 2006.** Localization, validation and characterization of plant-type QTLs on chromosomes 4 and 6 in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research* 96: 106-112.
- Kumar, A., Verulkar, S., Dixit, S., Chauhan, B., Bernier, J., Venuprasad, R., Zhao, D., and Shrivastava, M. N. 2009.** Yield and yield-attributing traits of rice (*Oryza sativa* L.) under lowland drought and suitability of early vigor as a selection criterion. *Field Crops Research* 114: 99-107.
- Liu, G. L., Mei, H. W., Zou, X. Q., Liu, H. Y., Hu, S. P., Li, M. S., Chen, J. H., and Luo, L. J. 2008.** QTL analysis of panicle neck diameter, a trait highly correlated with panicle size, under well-watered and drought conditions in rice (*Oryza sativa*). *Plant Science* 174: 71-77.
- 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.
- Mather, K., and Jinks, J. L. 1982.** *Biometrical Genetics*. 3rd ed. Chapman & Hall, London. 396 pp.
- McCouch, S. R., and Doerge, R. W. 1995.** QTL mapping in rice. *Trends in Genetics* 11: 482-487.
- McCouch, S. R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K. B., Clare, K., Walton, M., Fu, B., Maghirang, R., Li, Z., Xing, Y., Zhang, Q., Kono, I., Yano, M., Fjellstrom, R., DeClerck, G., Schneider, D., Cartinhour, S., Ware, D., and Stein, L. 2002.** Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research* 9: 199-207.
- Mohan, M., Nair, S., Bhagwat, A., Krishna, T. G., Yano, M., Bhatia, C. R., and Sasaki, T. 1997.** Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding* 3: 87-103.
- Moldenhauer, K. A. K., Wells, B., and Helms, R. 1994.** Rice growth stages. pp. 5-12. In: Helms, R. S., (ed.) *Rice Production Handbook*. Cooperative Extension Service Print Shop, Little Rock, AR.

- Nematzadeh, G., Vahabian, M., Khajenouri, A., and Abbaskhani Davanloo, H. 1983.** Gene effect and combining ability for quantitative and qualitative traits in rice. The First Meeting of the Country's Rice Planning , Gachsaran, Kohgiluyeh and Boyer Ahmad, Iran (in Persian).
- Rahimi, M., Rabii, B., Samiazadeh Lahijii, H., and Kafi Ghasemi, A. 2008.** Estimation of combining ability in rice cultivars by second and fourth griffing method. Science and Technology of Agriculture and Natural Resources Journal 43a: 129-141(in Persian).
- Rahimsorouh, H., Mesbah, M., and Hoseinzadeh, A. 2004.** Study of relationship between yield and yield components in rice. Iranian Journal of Agricultural Sciences 35 (4): 983-993.
- Regan, K. L., Siddique, K. H. M., Turner, N. C., and Whan, B. R. 1992.** Potential for increasing early vigor and total biomass in spring wheat. 2. Characteristics associated with early vigor. Australian Journal of Agricultural Research 43: 541-553.
- Revilla, P., Butron, A., Malvar, R. A., and Ordas, A. 1999.** Relationships among kernel weight, early vigor, and growth in maize. Crop Science 39: 654-658.
- Rezaei, A. 1994.** Selection indices in plant breeding. Key Articles, Proceedings of the 3rd Iranian Agronomy and Plant Breeding Sciences Congress, Tabriz University, Tabriz, Iran. pp. 105-134 (in Persian).
- Ribaut, J. M., and Hoisington, D. 1998.** Marker-assisted selection: New tools and strategies. Trends in Plant Science 3: 236-239.
- Sabu, K. K., Abdullah, M. Z., Lim, L. S., and Wickneswari, R. 2009.** Analysis of heritability and genetic variability of agronomically important traits in *Oryza sativa* × *O. rufipogon* cross. Agronomy Research 7: 97-102.
- Samonte, S. O. P. B., Wilson, L. T., and McClung, A. M. 1998.** Path analysis of yield and yield related traits of fifteen diverse rice genotypes. Crop Science 38: 1130-1136.
- Sarawgi, A. K., Rastogi, N. K., and Soni, D. K. 1997.** Correlation and path analysis in rice accessions from Madhya Pradesh. Field Crops Research 52: 161-167.

- Sharma, R. K., and Mani, S. C. 2005.** Combining ability and gene action for quality characters in Basmati rice (*Oryza sativa* L.). Indian Journal of Genetics 65(2): 123-124.
- Sharma, R. S., and Choubey, S. D. 1985.** Correlation studies in upland rice. Indian Journal of Agronomy 30: 87-88.
- Shoushi Dezfooli, A. A., and Honarnejad, R. 2005.** Identification of gene action and heritability of some traits corresponding with rice quality using graphical analysis of diallel. Iranian Journal of Agricultural Sciences 24 (1): 7-17 (in Persian).
- Singh, B. D. 2005.** Plant Breeding: Principles and Methods. 7th ed. Kalyani Publishers, New Delhi, India. 1018 pp.
- Smith, C. W., and Dilday, R. H. 2003.** Rice: Origin, History, Technology, and Production. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA.
- Sofi, P., and Rather, A. G. 2007.** QTL analysis in rice improvement: concept, methodology and application. Biotechnology 6: 1-13.
- Srivastava, H. K., and Verma, O. P. 2004.** Genetic component and combining ability analyses in relation to heterosis for yield and associated traits using three diverse rice growing ecosystems. Field Crops Research 88: 91-102.
- Stansel, J. W. 1975.** Effective utilization of sunlight. pp. 9-21. In: Six Decades of Rice Research in Texas. Research Monograph 4. Texas Agricultural Experimental Station, Texas A&M University System, and U. S. Department of Agriculture, USA.
- Surek, H., and Beser, N. 2005.** Selection for grain yield and its components in early generations in rice (*Oryza sativa* L.). Trakya University Journal of Natural Sciences 6: 51- 58.
- Tanaka, A. 1965.** Plant characters related to nitrogen response in rice. pp. 419-435. In: The Mineral Nutrition of the Rice Plant, Proceedings of a Symposium at IRRI, Feb. 1964. Johns Hopkins University Press, Baltimore, USA.
- Temnykh, S., DeClerk, G., Lukashova, A., Lipovich, L., Cartinhour, S., and McCouch, S. R. 2001.** Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. Genome Research 11: 1441-1452.

- Toriyama, K., and Futsuhara, Y. 1958.** Estimates of heritabilities on individuals and lines in rice. *Japanese Journal of Breeding* 7: 208-210.
- Wang, S., Basten, C. J., Gaffney, P., and Zeng, Z. B. 2007.** Windows QTL Cartographer. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K., and Kahl, G. 2005.** DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods, and Applications. 2nd ed., CRC Press, Taylor & Francis Group, USA. 444 pp.
- Yamauchi, M., and Winn, T. 1996.** Rice seed vigor and seedling establishment in anaerobic soil. *Crop Science* 36: 680-686.
- Zhou, L., Wang, J. K., Yi, Q., Wang, Y. Z., Zhu, Y. G., and Zhang, Z. H. 2007.** Quantitative trait loci for seedling vigor in rice under field conditions. *Field Crops Research* 100: 294-301.

