

تحقیقات غلات

دوره هشتم / شماره سوم / پاییز ۱۳۹۷ (۳۱۹-۳۰۷)

کارایی انتخاب به کمک نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با ویژگی‌های کیفی دانه در یک جمعیت نسل F₆ برنج (*Oryza sativa* L.)

مهناز پورعباس دولت‌آباد^۱، بابک ربیعی^{۲*} و مریم حسینی^۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۱۷

چکیده

یکی از اهداف مهم در اصلاح واریته‌های برنج، بهبود کیفیت پخت و خوراک است که نقش کلیدی در بازارپسندی و ارزش اقتصادی آن دارد. تحقیق حاضر به منظور انتخاب غیرمستقیم لاین‌های خوش کیفیت یک جمعیت نسل F₆ حاصل از تلاقی ارقام برنج هاشمی × ندا با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با نواحی ژنومی کنترل کننده کیفیت پخت و خوراک انجام شد. در این تحقیق، ۲۵۰ لاین F₆ در قالب طرح آگمنت به همراه پنج رقم رایج منطقه شامل ندا، هاشمی، دمسیاه، کادوس و علی‌کاظمی به عنوان ارقام شاهد در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو منطقه شامل مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) و ایستگاه تحقیقات برنج چپرسر (مازندران) در سال ۱۳۹۴ کشت شدند. تکثیر DNA ژنومی به کمک نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با نواحی ژنومی (ژن‌های) کنترل کننده صفات مرتبط با کیفیت دانه برنج روی کروموزوم‌های شماره ۶، ۷ و ۸ انجام شد. نتایج این تحقیق نشان داد که از بین نشانگرهای مورد استفاده، بالاترین دقت و کارایی انتخاب متعلق به نشانگر RM331 روی کروموزوم شماره ۸ بود که کم‌ترین فاصله را با QTL شناسایی شده برای صفات مقدار آمیلوز، غلظت ژل و مدت زمان لازم تا حداکثر چسبندگی را داشت. پس از آن، نشانگرهای RM1364 و RM27181 به ترتیب روی کروموزوم‌های شماره ۷ و ۸ دارای بیشترین کارایی انتخاب بودند. بررسی فاصله‌های ژنومی بین نشانگرهای مجاور مورد مطالعه نیز نشان داد که به ترتیب نشانگرهای مجاور RM234-RM1364 و RM22804-RM331 بهترین فاصله‌های نشانگری جهت غربال جمعیت مورد مطالعه از نظر ویژگی‌های کیفی بودند.

واژه‌های کلیدی: انتخاب تک‌نشانگری، کارایی انتخاب، کیفیت پخت، نشانگرهای مجاور

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات اصلاح بذر، مؤسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

* نویسنده مسئول: rabiei@guilan.ac.ir

مقدمه

برنج دارای کوچک‌ترین ژنوم در بین تمامی غلاتی است که به‌عنوان محصول زراعی کشت می‌شوند. دیپلوئید بودن و خودگردانه‌افشان بودن آن باعث شده است تا گسترده‌ترین مطالعات ژنتیکی در بین غلات روی برنج انجام شود. اصلاح ارقام پرمحصول و با کیفیت پخت مطلوب از اهداف اصلی برنامه‌های اصلاح برنج در ایران است، اما انتخاب برای صفات تعیین‌کننده کیفیت پخت در برنج طی نسل‌های متفرق به دلیل میزان کم بذر و هزینه زیاد امکان‌پذیر نیست (Arzani, 2008). از طرف دیگر، انتخاب بر اساس فنوتیپ، تحت تاثیر عواملی نظیر محیط و برهمکنش ژنوتیپ × محیط (G×E) قرار می‌گیرد. پیشرفت‌های انجام شده در زمینه ژنتیک مولکولی و شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات مهم موجب شده است تا از این اطلاعات بتوان برای انتخاب به‌کمک نشانگر (Marker Assisted Selection) استفاده کرد (Arzani, 2008; Utami et al., 2017).

در انتخاب به‌کمک نشانگرهای مولکولی، از انتخاب مستقیم و یا غیر مستقیم ژن‌ها، به‌منظور اجتناب از مشکلات روش‌های به‌نژادی متداول استفاده می‌شود. از نشانگرهای ریزماهواره برای انتخاب به‌کمک نشانگر (MAS) در اصلاح برنج استفاده و به‌طور عمده در دو دهه اخیر برای هرمی کردن ژن‌های مقاومت به بیماری‌ها مانند بلاست (Narayanan et al., 2004) و سوختگی باکتریایی (Chen et al., 2000) استفاده شده است. بیم‌پونگ و همکاران (Bimpong et al., 2016) برای انتقال ژن‌های مقاومت به رقم Rassi، از تلاقی برگشتی و ردیابی ژن‌های مقاومت از طریق نشانگرهای مولکولی استفاده کردند. سرینیواسولا و همکاران (Sreenivasulu et al., 2015) برای اصلاح ارقام برنج با عملکرد بالا، کیفیت دانه مطلوب، متحمل به گرمای فزاینده کره زمین و متحمل به افزایش درصد گچی‌شدن (Chalkiness) در اثر گرما از انتخاب به‌کمک نشانگرهای مولکولی پیوسته با این صفات استفاده کردند. شبانی‌مفرد و همکاران (Shabanmofrad et al., 2015) به‌منظور بررسی مقاومت ۱۰۸ خانواده نسل F3 حاصل از تلاقی ارقام برنج MR267 و RathuHeenati در برابر بیوتیپ‌های ۲ و ۳ زنجبرک قهوه‌ای (Brown Planthopper)، از ۲۸ توالی تکراری ساده (SSR)

به‌عنوان نشانگر استفاده کردند. جین و همکاران (Jin et al., 2010) از طریق انتخاب به‌کمک نشانگرهای مولکولی توانستند کیفیت پایین پخت (آمیلوز بسیار بالا، دمای ژلاتینی شدن بالا و عطری نبودن) را در لاین II-32B بهبود دهند. برای این کار، ژن‌های مربوط به این سه ویژگی (به‌ترتیب ژن‌های *SSIIa*، *wx* و *fgt*) را از طریق اینتروگرسیون و با کمک نشانگرهای مولکولی به وسیله دو تلاقی برگشتی و سه خودگشتی از لاین Yixiang B که یک لاین معطر با مقدار آمیلوز و دمای ژلاتینی شدن پایین بود، به لاین II-32B منتقل کردند و سپس انتخاب افراد حامل این ژن‌ها به‌کمک نشانگرهای مولکولی پیوسته با این سه ژن صورت گرفت که در نتیجه آن، ۱۷ لاین هموزیگوت برای ژن‌های بالا به‌دست آمد که این لاین‌های اصلاح‌شده (II-32B) دارای مقدار آمیلوز و دمای ژلاتینی شدن پایین و در عین حال معطر بودند.

ریز ماهواره‌ها یکی از نشانگرهای DNA مبتنی بر PCR هستند که به‌علت دارا بودن مزایایی از قبیل سیستم چندآلی، توارث هم‌بازر، قابلیت تکرار آسان، هزینه نسبتاً کم و توزیع وسیع و تصادفی در طول ژنوم، کاربرد وسیعی در انگشت‌نگاری DNA دارد و به‌عنوان نشانگرهای انتخابی در بسیاری از برنامه‌های اصلاحی برنج مورد استفاده قرار گرفته است. در این تحقیق، از نشانگرهای ریزماهواره کنترل‌کننده ویژگی‌های کیفیت پخت و خوراک برنج مانند مقدار آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن، غلظت ژل و صفات مرتبط با چسبندگی نشاسته، جهت انتخاب غیرمستقیم ژنوتیپ‌ها استفاده و با انتخاب فنوتیپی مقایسه خواهد شد. هدف از این تحقیق، غربال جمعیت F6 حاصل از تلاقی ارقام ندا و هاشمی و انتخاب غیرمستقیم لاین‌های با کیفیت پخت مطلوب در مراحل اولیه رشد با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره (SSR) و برآورد دقت و کارایی انتخاب نشانگرهای مورد استفاده بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه در این پژوهش، یک جمعیت نسل F6 برنج حاصل از تلاقی ارقام هاشمی × ندا بود که جهت انتخاب لاین‌های با ویژگی‌های کیفی برتر بر اساس انتخاب به‌کمک نشانگرهای مولکولی ریزماهواره مورد مطالعه قرار گرفت. تلاقی بین والدین جهت تولید نسل F1 و سپس گسترش نسل‌ها تا تهیه بذرها نسل F6 قبلاً توسط حسینی و همکاران (Hosseini et al., 2016)

شدند. در انتها، ژنوتیپ هر لاین F6 بر اساس الگوی بانندی مشاهده شده در والدین مشخص شد.

در پایان فصل زراعی و پس از برداشت، صفات مرتبط با کیفیت پخت نظیر مقدار آمیلوز (Juliano, 1971)، غلظت ژل (Cagampang *et al.*, 1973) و دمای ژلاتینی شدن (Little *et al.*, 1985) و ویژگی‌های چسبندگی نشاسته شامل حداقل و حداکثر چسبندگی، چسبندگی نهایی، فروریختگی، پس‌روی و پایداری چسبندگی و مدت زمان تا حداکثر چسبندگی بودند که با استفاده از دستگاه رپید ویسکوآنالایزر (Rapid Visco Analyzer) اندازه‌گیری شد (Allahgholipour *et al.*, 2010).

تجزیه واریانس ساده و مرکب ارقام شاهد با نرم‌افزار SAS انجام و با توجه به معنی‌دار نشدن این برهمکنش، انتخاب به‌کمک نشانگرها انجام شد. دقت (AMAS) و کارایی (EMAS) انتخاب به‌کمک نشانگرها از طریق روابط (۱) و (۲) محاسبه شدند (Peng *et al.*, 2000):

$$AMAS = \frac{N_1}{N_2} \times 100 \quad (1)$$

$$EMAS = \frac{N_1}{N_3} \times 100 \quad (2)$$

که در آن‌ها، N1 تعداد لاین‌های خوش کیفیت دارای الگوی بانندی مشابه رقم هاشمی که میزان آمیلوز آن‌ها در محدوده ۲۰ تا ۲۲، دمای ژلاتینی شدن (۳ تا ۵) و غلظت ژل (۴۰ تا ۶۰ میلی‌متر) بودند، N2 تعداد کل لاین‌های دارای الگوی بانندی مشابه رقم هاشمی و N3 تعداد کل لاین‌های خوش کیفیت است. در مورد نشانگرهای مجاور، N1 و N2 به ترتیب تعداد لاین‌های خوش کیفیت و تعداد کل لاین‌های دارای الگوی بانندی مشابه هاشمی برای هر دو نشانگر مجاور هستند.

انجام شده است. ۲۵۰ لاین نسل F6 حاصل در قالب طرح آگمنت در دو منطقه شامل مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) و ایستگاه برنج چپر سر (مازندران) در سال ۱۳۹۴ کشت شدند و به‌منظور انجام تجزیه‌های آماری و مقایسه میانگین لاین‌ها، پنج رقم رایج منطقه شامل ندا، هاشمی، دمسیاه، کادوس و علی‌کاظمی به‌عنوان ارقام شاهد در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در هر دو مکان مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت ارزیابی‌های ژنوتیپی، تهیه نمونه‌های برگ و استخراج DNA، حداقل ۱۰ بوته از هر لاین برداشت و تا مرحله استخراج DNA در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. استخراج DNA ژنومی نمونه‌ها به‌روش CTAB انجام شد (Murray and Thompson, 1980). کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با انجام الکتروفورز روی ژل آگارز و اسپکتروفوتومتری بررسی شد. قبل از انجام واکنش PCR، غلظت تمامی نمونه‌ها تا مقدار ۲۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند.

تکثیر DNA ژنومی به‌کمک نشانگرهای ریزماهوره RM217 و RM225 روی کروموزوم شماره ۶، نشانگرهای RM234 و RM1364 روی کروموزوم ۷ و نشانگرهای RM22804، RM331 و RM27181 روی کروموزوم شماره ۸ که با ژن‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با کیفیت دانه در برنج پیوسته بودند (Hosseini *et al.*, 2012) انجام شد. مشخصات این نشانگرها در جدول ۱ ارائه شده است. کلیه نشانگرها از شرکت ایزوژن هلند و سایر مواد مورد استفاده از قبیل dNTPs، آنزیم تک‌پلی‌مراز، بافر PCR و MgCl2 از شرکت سیناژن خریداری شدند. فرآورده‌های PCR روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۶ درصد تفکیک، با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و با دستگاه ژل‌داک (Gel Documentation, BioRad) عکسبرداری

جدول ۱- مشخصات نشانگرهای ریزماهوره استفاده شده در این تحقیق

Table 1. Characteristics of the SSR markers used in this research

Marker	Synonym name	Chr.	Fragment size	Motif	Forward sequence	Reverse sequence
RM217	CT115	6	133	(CT)20	ATCGCAGCAATGCCTCGT	GGGTGTGAACAAAGACAC
RM225	CT201	6	140	(CT)18	TGCCCATATGGTCTGGATG	GAAAGTGGATCAGGAAGGC
RM234	CT360	7	156	(CT)25	ACAGTATCCAAGGCCCTGG	CACGTGAGACAAAGACGGAG
RM1364	MRG0364 RGP036	7	158	(AG)26	AAGAAATTCAAAACACATGA	AAAACATCTACTTTGATCCA
RM22804	AUT22804	8	198	(CT)12	GGACCAACCTAAGCAGTGACTCG	CTGAAGAGCGATCATCAAATGTGG
RM331	CTT13	8	176	[(CTT)4GTT]]2(CTT)11	GAACCAGAGGACAAAATGC	CATCATACATTTGCAGCCAG
RM27181	AUT27181	8	172	(AG)10	CAATTCAGAGGAGCAAGGTGTCC	TTCTTAACCTGGACTTGCCATGC

نتایج و بحث

(۲۸۰-۲۵۰)، فروریختگی چسبندگی (۶۰-۴۹)، چسبندگی نهایی (۴۲۵-۴۰۰)، پس‌روی چسبندگی (۱۵۰-۱۴۰)، پایداری چسبندگی (۱۰۰-۹۰) و مدت زمان تا حداکثر چسبندگی (۷-۶ دقیقه) در نظر گرفته شد (Hosseini-Chaleshtari, 2011). از ۲۵۰ لاین مورد بررسی، ۱۸۷ لاین در این محدوده بودند. از این‌رو، غربال فنوتیپی لاین‌ها صرفاً بر اساس داده‌های مورفولوژی، موجب انتخاب ۱۸۷ لاین شد و به عبارت بهتر، ۷۴/۸ درصد از این جمعیت بر اساس غربال فنوتیپی دارای فنوتیپ خوش کیفیت مشابه رقم هاشمی بودند. از آنجایی که در غربال فنوتیپی، هر دو منبع ژنوتیپ و محیط نقش دارند، از این‌رو انتخاب بر اساس نشانگرها که در آن انتخاب فقط بر اساس ژنوتیپ انجام می‌شود، یک انتخاب مطمئن‌تر است و دقت انتخاب را افزایش می‌دهد. توجه هم‌زمان به ژنوتیپ و فنوتیپ نیز می‌تواند کارایی انتخاب را افزایش دهد. آماره‌های توصیفی صفات تعیین‌کننده کیفیت دانه در دو محیط رشت و چپرس در جدول ۵ ارائه شده است.

نشانگرهای کروموزوم شماره ۶

نشانگر RM217: نتایج نشان داد که از بین لاین‌های مورد مطالعه تعداد ۱۷۹ لاین دارای باندهای مشابه والد هاشمی (شکل ۱) و تعداد ۷۱ لاین دارای باندهای مشابه والد ندا بودند. در مرحله بعد، لاین‌ها با نتایج غربال فنوتیپی مورد مقایسه قرار گرفتند و مشخص شد که از تعداد ۱۷۹ لاینی که دارای باندهای مشابه والد هاشمی بودند، تعداد ۱۷۵ لاین هم‌زمان دارای ویژگی‌های کیفی مشابه این رقم نیز بودند. بنابراین، دقت و کارایی انتخاب با استفاده از نشانگر RM217 به ترتیب برابر با ۹۷/۷۶ و ۹۳/۵۸ درصد بود.

نشانگر RM225: نتایج نشان داد که از ۲۵۰ لاین مورد مطالعه، ۱۷۳ لاین دارای باندهای مشابه رقم هاشمی و ۷۷ لاین دارای باندهای مشابه والد ندا بودند. در غربال فنوتیپی نیز مشخص شد که از تعداد ۱۷۳ لاینی که دارای باندهای مشابه والد هاشمی بودند، ۱۶۸ لاین هم‌زمان دارای ویژگی‌های کیفی مشابه این رقم نیز بودند و فقط ۵ لاین در این محدوده قرار نداشتند. بنابراین، دقت و کارایی انتخاب با نشانگر ریزماهواره RM225 به ترتیب برابر با ۹۷/۱۰ و ۸۹/۸۳ درصد بود.

در تجزیه مرکب داده‌ها، اثر محیط (مکان) در همه صفات غیر معنی‌دار بود، به این معنی که محیط‌های مورد مطالعه (رشت و چپرس) اثر مشابهی روی همه خصوصیات مربوط به کیفیت پخت و چسبندگی نشاسته دانه در ارقام شاهد داشتند. ارقام شاهد در صفات مختلف در سطح یک درصد با هم اختلاف معنی‌دار داشتند. اثر متقابل ژنوتیپ در محیط نیز در همه صفات غیر معنی‌دار بود (جدول ۲). با توجه به معنی‌دار نشدن برهمکنش ژنوتیپ در محیط، انتخاب به کمک نشانگرها در این صفات بر اساس میانگین آن‌ها در دو آزمایش (رشت و چپرس) انجام شد که به تفکیک هر نشانگر بیان می‌شود.

نتایج تجزیه واریانس در رشت (جدول ۳) نشان داد که تفاوت بین ارقام شاهد در همه صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر بلوک فقط در صفات فروریختگی چسبندگی و پس‌روی چسبندگی معنی‌دار بود. کم‌ترین ضریب تغییرات متعلق به صفت پایداری چسبندگی (۱/۴۷) و بیش‌ترین آن مربوط به دمای ژلاتینی شدن (۱۲/۵۶) بود (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس در مکان چپرس (جدول ۴) نیز نشان داد که ارقام شاهد از نظر کلیه صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری داشتند، اما اثر بلوک فقط برای صفات حداقل چسبندگی، فروریختگی چسبندگی و مدت زمان تا حداکثر چسبندگی معنی‌دار بود و برای سایر صفات معنی‌دار نشد. کم‌ترین ضریب تغییرات متعلق به صفت مدت زمان تا حداکثر چسبندگی (۱/۱۲) و بیش‌ترین آن مربوط به دمای ژلاتینی شدن (۹/۱۲) بود (جدول ۴).

نتایج غربال فنوتیپی

پس از ارزیابی صفات تعیین‌کننده کیفیت، تعداد لاین‌هایی که ویژگی‌های کیفی آن‌ها در محدوده ارقام خوش کیفیت برنج بود، شمارش شد. این لاین‌ها بر اساس شباهت با رقم هاشمی در کیفیت پخت غربال شدند. شباهت با رقم هاشمی و خوش کیفیت بودن لاین‌ها بر مبنای اعداد کمی صفات مورد بررسی صورت گرفت. محدوده مناسب برای لاین‌های خوش کیفیت، برای مقدار آمیلوز (۲۰ تا ۲۲)، دمای ژلاتینی شدن (۳ تا ۵)، غلظت ژل (۴۰ تا ۶۰ میلی‌متر) و ویژگی‌های مرتبط با چسبندگی شامل حداکثر چسبندگی (۳۱۱-۳۳۵)، حداقل چسبندگی

جدول ۲- میانگین مربعات صفات مورد مطالعه در تجزیه واریانس مرکب ارقام شاهد در دو منطقه رشت و چپر سر

Table 2. Mean squares of the studied traits in combined analysis of variance of the check varieties in Rasht and Chaparsar regions, Iran

Source of variations	df	Amylose content	Gelatinization temperature	Gel consistency	Peak viscosity (RVU)	Minimum viscosity (RVU)	Breakdown (RVU)	Final viscosity (RVU)	Viscosity setback (RVU)	Viscosity stability (RVU)	Time to peak viscosity
Environment (E)	1	39.11 ^{ns}	21.30 ^{ns}	23.7 ^{ns}	40.27 ^{ns}	110.30 ^{ns}	248.110 ^{ns}	89.60 ^{ns}	182.51 ^{ns}	3.42 ^{ns}	0.34 ^{ns}
Replication / E	4	20.17	10.38	24.55	28.97	73.15	130.14	36.46	156.50	4.54	0.365
Genotype (G)	4	181.11 ^{**}	34.60 ^{**}	136.30 ^{**}	698.31 ^{**}	531.21 ^{**}	720.41 ^{**}	431.20 ^{**}	241.51 ^{**}	135.26 ^{**}	13.21 ^{**}
G × E	4	15.20 ^{ns}	17.6 ^{ns}	45.01 ^{ns}	120.60 ^{ns}	62.50 ^{ns}	102.50 ^{ns}	64.50 ^{ns}	82.21 ^{ns}	40.20 ^{ns}	2.98 ^{ns}
Error	16	11.43	3.84	23.97	87.86	24.75	66.36	32.29	40.24	25.38	1.12
CV (%)	-	4.54	8.24	4.12	3.25	1.52	9.12	4.78	1.56	2.5	1.25

^{ns} and ^{**}: Not-significant and significant at 1% probability level, respectively.

جدول ۳- میانگین مربعات صفات مورد مطالعه در تجزیه واریانس ساده ارقام شاهد در منطقه رشت

Table 3. Mean squares of the studied traits in simple analysis of variance of the check varieties in Rasht region

Source of variations	df	Amylose content	Gelatinization temperature	Gel consistency	Peak viscosity (RVU)	Minimum viscosity (RVU)	Breakdown (RVU)	Final viscosity (RVU)	Viscosity setback (RVU)	Viscosity stability (RVU)	Time to peak viscosity
Replication	2	1.65 ^{ns}	0.86 ^{ns}	3.6 ^{ns}	12.50 ^{ns}	22.70 ^{ns}	98.68 ^{**}	14.31 ^{ns}	172.50 ^{**}	5.06 ^{ns}	0.15 ^{ns}
Genotype	4	98.3 ^{**}	22.14 ^{**}	101.50 ^{**}	337.12 ^{**}	85.32 ^{**}	524.70 ^{**}	162.42 ^{**}	212.43 ^{**}	63.42 ^{**}	8.14 ^{**}
Error	6	4.925	0.51	6.29	19.68	18.54	14.28	8.81	31.46	6.49	0.12
CV (%)		4.52	12.56	3.78	3.23	4.18	9.39	2.17	2.54	1.47	3.75

^{ns} and ^{**}: Not-significant and significant at 1% probability level, respectively.

جدول ۴- میانگین مربعات صفات مورد مطالعه در تجزیه واریانس ساده ارقام شاهد در منطقه چپر سر

Table 4. Mean squares of the studied traits in simple analysis of variance of the check varieties in Chapsar region

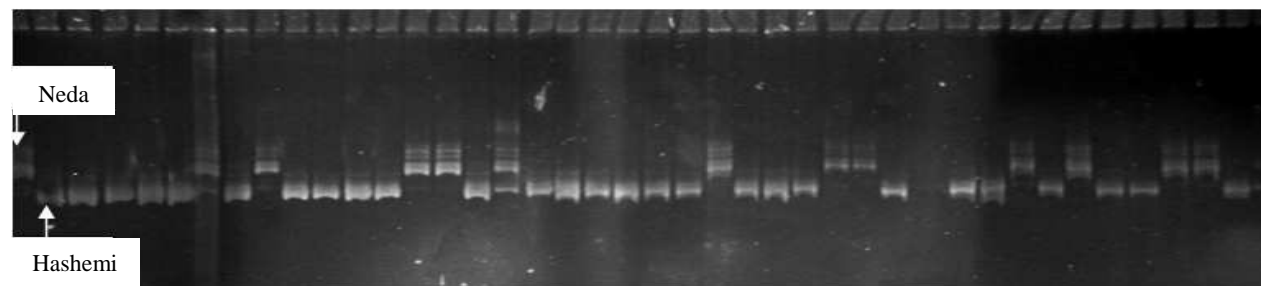
Source of variations	df	Amylose content	Gelatinization temperature	Gel consistency	Peak viscosity (RVU)	Minimum viscosity (RVU)	Breakdown (RVU)	Final viscosity (RVU)	Viscosity setback (RVU)	Viscosity stability (RVU)	Time to peak viscosity
Replication	2	2.15 ^{ns}	0.98 ^{ns}	2.41 ^{ns}	11.25 ^{ns}	52.21 ^{**}	64.40 ^{**}	15.31 ^{ns}	141.4 ^{ns}	4.31 ^{ns}	0.14 ^{**}
Genotype	4	78.3 ^{**}	32.14 ^{**}	131.87 ^{**}	486.30 ^{**}	69.30 ^{**}	283.01 ^{**}	221.18 ^{**}	168.20 ^{**}	86.94 ^{**}	8.21 ^{**}
Error	6	5.12	0.83	8.34	21.24	16.56	15.86	11.29	8.54	5.17	0.021
CV (%)		3.63	9.12	4.74	2.12	3.11	7.86	2.13	1.71	1.68	1.12

^{ns} and ^{**}: Not-significant and significant at 1% probability level, respectively.

جدول ۵- آماره‌های توصیفی صفات تعیین کننده کیفیت دانه برنج در لاین‌های F6 در دو محیط رشت و چپرسر

Table 5. Descriptive statistics of the rice grain quality traits in F6 lines in Rasht and Chapsar regions

Region	Statistical parameters	Amylose content	Gelatinization temperature	Gel consistency	Peak viscosity (RVU)	Minimum viscosity (RVU)	Breakdown (RVU)	Final viscosity (RVU)	Viscosity setback (RVU)	Viscosity stability (RVU)	Time to peak viscosity
Rasht	Minimum	14.23	2.89	28.98	285.16	200.06	39	395.13	117.31	13.88	5.23
	Maximum	27.6	6.89	75.15	427.32	351.25	155.12	514.12	237.45	129.04	7.85
	Average	21.09	4.22	48.69	327.35	263.05	64.43	418.49	155.43	90.93	6.48
Chaparsar	Minimum	14.5	3	27.06	286.83	201.73	37.2	396.8	118.65	11.58	5.42
	Maximum	26.5	7	75.87	425.02	349.45	152.82	512.32	235.65	127.24	8.1
	Average	21.5	4.5	50.1	327.53	263.36	64.58	419.5	155.30	91.49	6.56



شکل ۱- الگوی بانندی والدین و نتاج نسل F6 بر اساس نشانگر ریزماهوره RM217

Figure 1. Banding pattern of the parents and F6 progenies for the RM217 SSR marker

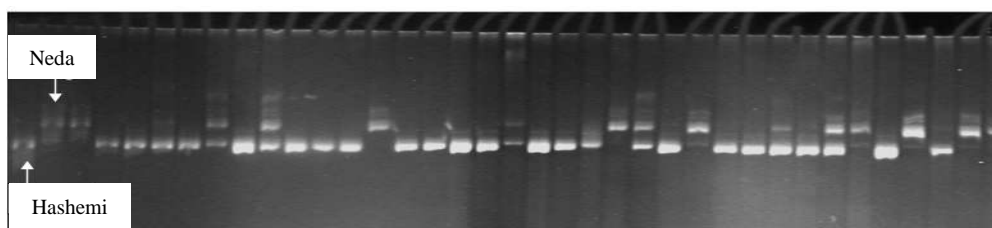
استفاده از دو نشانگر مجاور کروموزوم شماره ۶ (RM217 و RM225)

تعداد لاین‌های دارای باند مشابه هاشمی در هر دو نشانگر ۱۷۰ لاین بود که از این تعداد ۱۶۸ لاین دارای کیفیت مناسب نیز بودند. از این رو براساس روابط (۳) و (۴) دقت انتخاب به کمک این دو نشانگر مجاور ۹۸/۸۲ درصد و کارایی انتخاب ۸۹/۸۳ درصد ارزیابی شد. براساس انتخاب به کمک این دو نشانگر فقط ۶۷/۲ درصد از لاین‌های این جمعیت هم از نظر فنوتیپی و هم از نظر ژنوتیپی در محدوده ارقام خوش کیفیت نظیر هاشمی بودند. این در حالی است که صرفاً انتخاب فنوتیپی حدود ۷۴/۸ درصد از لاین‌های این جمعیت را غربال کرده بود و این همان خطای غربال فنوتیپی است که علاوه بر هزینه‌های اندازه‌گیری صفات موجب انتخاب لاین‌هایی خواهد شد که ژنوتیپ خوش کیفیت ندارند. سوامی و همکاران (Swamy et al., 2012) با استفاده از نقشه پیوستگی در جمعیت برنج *O. Swarna* × *O. nivara*، QTL‌های پیوسته با صفات درصد میلینگ، عرض دانه و طول دانه پس از پخت، غلظت ژل و عرض دانه را برای دو جمعیت، شناسایی کرده و از نشانگرهای SSR پیوسته با این صفات برای غربال دو جمعیت استفاده کردند. با توجه به اینکه یک کلاستر ژنی برای صفات عملکرد و شکستن خواب بذر شناسایی شده بود، از نشانگرهای پیوسته با این صفات برای انتخاب ارقام خوش کیفیت با عملکرد بالا استفاده کردند. از آنجا که نشانگرهای پیوسته با این

صفات فاصله کمی با جایگاه ژنی داشتند انتخاب به کمک نشانگرها به غربال لاین‌های خوش کیفیت منجر شد. یون و همکاران (Yun et al., 2014) از نشانگرهای RM23914 پیوسته با میزان پروتئین، RM6266 و RM586 برای میزان چربی استفاده کردند. همچنین از نشانگرهای پیوسته با QTL‌های کنترل کننده مقدار آمیلوز روی کروموزوم‌های ۱ و ۹ نیز برای غربال لاین‌های خوش کیفیت استفاده کردند. این در حالی است که نشانگرهای استفاده شده در این تحقیق با ژن‌های کنترل کننده مقدار آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن، غلظت ژل و حداکثر چسبندگی روی کروموزوم ۶ پیوسته بودند. برای غربال لاین‌های خوش کیفیت از نشانگرهای پیوسته با QTL‌ها روی کروموزوم شماره ۶ استفاده شد.

نشانگرهای کروموزوم شماره ۷

نشانگر RM234: از ۲۵۰ لاین مورد مطالعه، ۱۷۵ لاین الگوی باندهای مشابه رقم هاشمی (شکل ۲) و تعداد ۷۵ لاین باندهای مشابه والد ندا داشتند. در مرحله بعد، لاین‌ها با نتایج غربال فنوتیپی مورد مقایسه قرار گرفتند و مشخص شد که از تعداد ۱۷۵ لاینی که دارای باندهای مشابه والد هاشمی بودند، تعداد ۱۷۱ لاین هم‌زمان دارای ویژگی‌های کیفی مشابه این رقم نیز بودند و فقط چهار لاین در این محدوده قرار نداشتند. بنابراین دقت و کارایی انتخاب با نشانگر RM234 به ترتیب ۹۷/۷۱ و ۹۱/۴۴ درصد بود.



شکل ۲- الگوی باندهای والدین و نتاج نسل F6 بر اساس نشانگر ریزماهوره RM234
Figure 2. Banding pattern of the parents and F6 progenies for the RM234 SSR marker

همزمان دارای خصوصیات کیفی مشابه این رقم نیز بودند و ۳ لاین در این محدوده قرار نداشتند. بنابراین دقت و کارایی انتخاب با نشانگر RM1364 به ترتیب برابری ۹۸/۳۳ و ۹۴/۶۴ درصد بود. جین و همکاران (Jin et al., 2010) از نشانگرهای پیوسته با خصوصیات تعیین کننده کیفیت مانند مقدار آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن، عطر و خصوصیات

نشانگر RM1364: از ۲۵۰ لاین مورد مطالعه تعداد ۱۸۰ لاین الگوی باندهای مشابه رقم هاشمی و تعداد ۷۰ لاین دارای باندهای مشابه والد ندا بودند. در مرحله بعد، لاین‌ها با نتایج غربال فنوتیپی مورد مقایسه قرار گرفتند و مشخص شد که از تعداد ۱۸۰ لاینی که دارای باندهای مشابه والد هاشمی بودند، تعداد ۱۷۷ لاین

نشانگر RM331: نتایج نشان داد که از ۲۵۰ لاین مورد مطالعه تعداد ۱۸۱ لاین الگوی بانندی مشابه رقم هاشمی و تعداد ۶۹ لاین دارای باندهای مشابه والد ندا بودند. در مرحله بعد، لاین‌ها با نتایج غربال فنوتیپی مورد مقایسه قرار گرفتند و مشخص شد که از تعداد ۱۸۱ لاینی که دارای باندهای مشابه والد هاشمی بودند، تعداد ۱۷۹ لاین همزمان دارای خصوصیات کیفی مشابه این رقم نیز بودند و ۲ لاین در این محدوده قرار نداشتند. بنابراین بر اساس روابط (۱) و (۲) دقت و کارایی انتخاب با نشانگر RM331 به ترتیب ۹۸/۸۹ و ۹۵/۷۲ درصد بود.

نشانگر RM27181: نتایج نشان داد که از ۲۵۰ لاین مورد مطالعه تعداد ۱۷۸ لاین الگوی بانندی مشابه رقم هاشمی (شکل ۳) و تعداد ۷۲ لاین دارای باندهای مشابه والد ندا بودند. در مرحله بعد، لاین‌ها با نتایج غربال فنوتیپی مورد مقایسه قرار گرفتند و مشخص شد که از تعداد ۱۷۸ لاینی که دارای باندهای مشابه والد هاشمی بودند، تعداد ۱۷۵ لاین همزمان دارای خصوصیات کیفی مشابه این رقم نیز بودند و ۳ لاین در این محدوده قرار نداشتند. بنابراین دقت و کارایی انتخاب با نشانگر RM27181 به ترتیب ۹۸/۳۱ و ۹۳/۵۸ درصد بود. جانتابون و همکاران (Jantaboon et al., 2011) تلاقی بین ارقام مشابه جاسمین Kao Dawk Mali 105 و یک لاین از ابری IR57514 را با هدف اصلاح ارقام مقاوم به غرقاب با کیفیت پخت مطلوب را انجام و از نشانگرهای پیوسته با ژن‌های *Sub1*، *Wx*، *badh2* و *SSIIa* برای غربال استفاده کردند. آن‌ها میزان دقت انتخاب به کمک نشانگرها را در مقایسه با انتخاب فنوتیپی بالا گزارش کردند. در نهایت ۳۱ لاین خالص نوترکیب شامل همه این ژن‌ها غربال شد. یون و همکاران (Yun et al., 2014) نیز گزارش کردند که از نشانگرهای مربوط به سه QTL روی کروموزوم‌های ۸، ۹، ۱۰ برای میزان پروتئین و دو QTL روی کروموزوم‌های ۱ و ۹ برای مقدار آمیلوز جهت غربال لاین‌های دابل هاپلوئید استفاده کردند و در نهایت تعدادی لاین خوش کیفیت با میزان پروتئین بالا غربال شد.

نشانگرهای مجاور کروموزوم شماره ۸ (RM22804) و (RM331)

تعداد لاین‌های دارای الگوی بانندی مشابه رقم هاشمی در هر دو نشانگر ۱۶۴ لاین بود که از این لاین‌ها ۱۶۳

چسبندگی برای غربال لاین‌های جمعیت حاصل از تلاقی رقم Yixiang B که یک لاین معطر و خوش کیفیت است با لاین II-32B استفاده کردند. انتخاب به کمک نشانگرها در جمعیت حاصل از تلاقی برگشتی و سه خودگشنی انجام شد و در نهایت ۱۷ لاین هموزیگوت خوش کیفیت معطر گزینش شدند. محققان دیگری نیز از نشانگرهای روی کروموزوم شماره ۷ برای غربال جمعیت‌ها استفاده کردند. چن و همکاران [Chen et al., 2014] از نشانگرهای پیوسته با QTL‌های *qSB-7TQ* و *qSB-9TQ* برای هرمی کردن ژن‌های مفید استفاده کردند.

استفاده از دو نشانگر مجاور کروموزوم شماره ۷ (RM1364 و RM234)

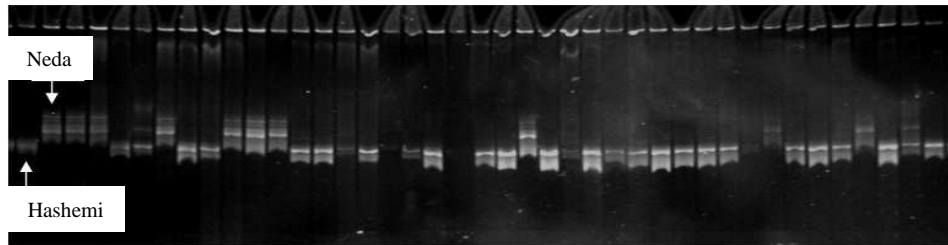
تعداد لاین‌های دارای الگوی بانندی مشابه رقم هاشمی در هر دو نشانگر RM234 و RM1364 تعداد ۱۷۴ لاین بود که از این تعداد ۱۷۳ لاین از نظر خصوصیات مرتبط با کیفیت نیز در محدوده مناسب بودند. بنابراین دقت انتخاب به کمک این دو نشانگر برای صفات مرتبط با چسبندگی نشاسته برنج ۹۹/۴۲ درصد و کارایی انتخاب ۹۲/۵۱ درصد برآورد شد. اگر این انتخاب به کمک دو نشانگر روی کروموزوم شماره ۷ با غربال فنوتیپی مقایسه شود، فقط ۶۹/۲ درصد از لاین‌های این جمعیت دارای ژنوتیپ و فنوتیپ خوش کیفیت بودند، در حالی که انتخاب فنوتیپی ۷۴/۸ درصد از افراد را غربال کرد. بنابراین انتخاب به کمک نشانگرهای کروموزوم شماره ۷ موجب افزایش دقت و کارایی انتخاب در مقایسه با غربال فنوتیپی شد.

نشانگرهای کروموزوم شماره ۸

نشانگر RM22804: نتایج نشان داد که از ۲۵۰ لاین مورد مطالعه تعداد ۱۷۰ لاین الگوی بانندی مشابه رقم هاشمی و تعداد ۸۰ لاین دارای باندهای مشابه والد ندا بودند. در مرحله بعد، لاین‌ها با نتایج غربال فنوتیپی مورد مقایسه قرار گرفتند و مشخص شد که از تعداد ۱۷۰ لاینی که دارای باندهای مشابه والد هاشمی بودند، تعداد ۱۶۳ لاین همزمان دارای خصوصیات کیفی مشابه این رقم نیز بودند و ۷ لاین در این محدوده قرار نداشتند. بنابراین بر اساس روابط (۱) و (۲) دقت و کارایی انتخاب با نشانگر RM22804 به ترتیب ۹۵/۸۸ و ۸۷/۱۶ درصد بود.

لاین خوش کیفیت بودند و فقط یک لاین دارای باند مشابه والد هاشمی، خوش کیفیت نبود. دقت انتخاب به کمک این دو نشانگر مجاور برای غربال جمعیت از نظر مقدار آمیلوز ۹۹/۳۹ درصد و کارایی انتخاب ۸۷/۷۱ درصد بود. غربال براساس این دو نشانگر حدود ۶۵/۲ درصد از

لاین‌های این جمعیت را خوش کیفیت تشخیص داد. در حالی که با انتخاب فنوتیپی حدود ۷۴/۸ درصد از لاین‌ها خوش کیفیت بودند. این اختلاف ۹/۶ درصدی اهمیت توجه به ساختار ژنتیکی در زمان انتخاب را نشان داد.



شکل ۳- الگوی بانندی والدین و نتاج نسل F6 بر اساس نشانگر ریزماهواره RM27181

Figure 3. Banding pattern of the parents and F6 progenies for the RM27181 SSR marker

مقایسه دقت و کارایی انتخاب بین تک‌نشانگرها و نشانگرهای مجاور

مقایسه دقت و کارایی انتخاب بر مبنای نشانگرهای کروموزوم ۶ نشان داد که در صورت استفاده از نشانگرهای مجاور دقت انتخاب افزایش یافت، ولی کارایی انتخاب ثابت ماند و یا کاهش پیدا کرد. انتخاب به کمک نشانگرهای RM234-RM1364 روی کروموزوم شماره ۷ نیز باعث افزایش دقت انتخاب نسبت به نشانگرهای RM234 و RM1364 شد. نشانگرهای مجاور روی این کروموزوم نیز باعث بالا رفتن دقت انتخاب نسبت به استفاده از تک‌نشانگرها شدند (جدول ۶). در مقابل، کارایی انتخاب هنگام استفاده از نشانگرهای مجاور نسبت به نشانگر RM234 افزایش و نسبت به نشانگر RM1364 کاهش داشت. کارایی انتخاب در حالت نشانگرهای مجاور نسبت به میانگین تک‌نشانگری کم‌تر بود. انتخاب به کمک نشانگرهای مجاور RM22804-RM331 روی کروموزوم شماره ۸ نیز باعث افزایش دقت نسبت به نشانگرهای RM22804 و RM331 شد، اما کارایی انتخاب هنگام استفاده از نشانگرهای مجاور نسبت به نشانگر RM22804 افزایش و نسبت به نشانگر RM331 کاهش داشت و بنابراین کارایی انتخاب در صورت استفاده از این نشانگرهای مجاور نیز کم‌تر از میانگین تک‌نشانگرها بود. انتخاب به کمک نشانگرهای مجاور RM331-RM27181 روی کروموزوم شماره ۸ باعث کاهش دقت و نیز کاهش کارایی انتخاب نسبت به نشانگرهای RM331 و

استفاده از دو نشانگر مجاور کروموزوم شماره ۸ (RM27181 و RM331)

تعداد لاین‌هایی که دارای الگوی بانندی مشابه در هر دو نشانگر بودند، ۱۷۷ لاین بود که ۱۷۴ لاین خوش کیفیت بودند. دقت انتخاب به کمک این دو نشانگر مجاور ۹۸/۳۰ و کارایی انتخاب ۹۳/۰۴ درصد بود. غربال به وسیله این دو نشانگر نشان داد که ۶۹/۶ درصد از این جمعیت الگوی مشابه رقم هاشمی داشتند و از نظر فنوتیپی نیز خوش کیفیت بودند. لذا انتخاب آن‌ها برای معرفی ارقام خوش کیفیت نسبت به انتخاب از طریق صفات فنوتیپی از دقت بیشتری برخوردار بود. انتخاب فنوتیپی موجب غربال ۷۴/۸ درصد از جمعیت مذکور شد.

مقایسه بین تک‌نشانگرها

بین فاصله نشانگر تا QTL شناسایی شده و دقت و کارایی انتخاب به کمک نشانگر رابطه عکس وجود دارد، به طوری که هر چه فاصله نشانگر و مکان ژنی مورد نظر (QTL) کم‌تر، دقت و کارایی انتخاب بالاتر و احتمال خطا در غربال جمعیت‌ها کم‌تر خواهد بود. در این تحقیق، نشانگر RM331 فاصله کم‌تری از QTL مورد نظر داشت و نسبت به سایر نشانگرها از دقت و کارایی انتخاب بالاتری هم برخوردار بود. پایین‌ترین دقت و کارایی انتخاب نیز متعلق به نشانگر RM22804 روی کروموزوم شماره ۸ بود که فاصله بیش‌تری نسبت به تمامی نشانگرهای دیگر از QTL مربوطه را داشت.

لاین‌ها به‌عنوان لاین‌های خوش‌کیفیت غربال شدند، اما وقتی که انتخاب فقط بر اساس الگوی بانندی مشابه رقم خوش‌کیفیت هاشمی بود، درصد لاین‌های انتخابی کم‌تر شد و از ۶۵/۶ درصد تا ۷۲/۴ درصد متغیر بود و بنابراین، اختلاف غربال ژنوتیپی و فنوتیپی از ۲/۴ تا ۹/۲ درصد متغیر بود. در انتخاب هم‌زمان بر اساس فنوتیپ و ژنوتیپ، درصد لاین‌های انتخابی باز هم کم شد و از ۶۵/۲ درصد تا ۷۱/۶ درصد متغیر بود. اختلاف این نوع غربال با غربال فنوتیپی نیز از ۳/۲ تا ۹/۶ درصد متغیر بود. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که انتخاب فنوتیپی با خطای زیادی همراه بود و کم‌ترین خطای زمانی مشاهده شد که انتخاب هم‌زمان بر اساس فنوتیپ و ژنوتیپ انجام شد. بیش‌ترین اختلاف بین غربال فنوتیپی با غربال ژنوتیپی و غربال هم‌زمان فنوتیپی و ژنوتیپی مربوط به نشانگر RM22804 روی کروموزوم شماره ۸ و کم‌ترین اختلاف مربوط به نشانگر RM331 روی کروموزوم شماره ۸ بود.

RM27181 شد. در مجموع می‌توان چنین نتیجه گرفت که انتخاب به‌کمک نشانگرهای مجاور نسبت به تک‌نشانگری از دقت بیش‌تری برخوردار است، اما کارایی انتخاب در حالت تک‌نشانگری بیش‌تر است. بنابراین، برای کاهش خطا و افزایش دقت انتخاب توصیه می‌شود از نشانگرهای مجاور یک مکان ژنی استفاده شود.

مقایسه بین نشانگرهای مجاور با یکدیگر

هر چه فاصله دو نشانگر مجاور اطراف QTL از یکدیگر کم‌تر باشد، انتخاب به‌کمک جفت نشانگر از دقت بیش‌تری برخوردار خواهد بود. بالاترین دقت انتخاب متعلق به نشانگرهای RM234-RM1364 روی کروموزوم شماره ۷ و کم‌ترین دقت انتخاب مربوط به RM331-RM27181 روی کروموزوم ۸ بود. مقایسه غربال فنوتیپی با ژنوتیپی و با غربال هم‌زمان فنوتیپی و ژنوتیپی در نشانگرهای مورد مطالعه در جدول ۷ ارائه شده است. نتایج نشان داد که وقتی انتخاب بر اساس فنوتیپ انجام شد، ۷۴/۸ درصد از

جدول ۶- مقایسه دقت و کارایی انتخاب بر اساس تک‌نشانگرها و نشانگرهای مجاور

Table 6. Comparison of the selection accuracy and efficiency based on single marker and flanking markers

Marker	Chromosome	Distance between QTL and marker (cM)	Distance between flanking markers (cM)	Selection accuracy (%)	Selection efficiency (%)
RM217	6	3.5	-	97.76	93.58
RM225	6	21.16	-	97.10	89.83
RM217-RM225	6	-	24.66	98.82	89.83
RM234	7	10.46	-	97.71	91.44
RM1364	7	2.65	-	98.33	94.64
RM234-RM1364	7	-	13.01	99.42	92.51
RM22804	8	28.4	-	95.88	87.16
RM331	8	0.8	-	98.89	95.72
RM27181	8	2.3	-	98.31	93.58
RM22804-RM331	8	-	29.2	99.39	87.71
RM331-RM27181	8	-	26.7	98.30	93.04

جدول ۷ - مقایسه غربال فنوتیپی و غربال ژنوتیپی و غربال هم‌زمان فنوتیپی و ژنوتیپی در نشانگرهای مورد مطالعه

Table 7. Comparison of the phenotypic and genotypic screening and simultaneous phenotypic and genotypic screening in the studied markers

Marker	Genotypic screening (%)	Simultaneous phenotypic and genotypic screening (%)	Difference between phenotypic and genotypic screening (%)	Difference between phenotypic and simultaneous phenotypic and genotypic screening (%)
RM217	71.6	70	3.2	4.8
RM225	69.2	67.2	5.6	7.6
RM217-RM225	68	67.2	6.8	7.6
RM234	70	68.4	4.8	6.4
RM1364	72	70.8	2.8	4
RM234-RM1364	69.6	69.2	5.2	5.6
RM22804	68	65.2	6.8	9.6
RM331	72.4	71.6	2.4	3.2
RM27181	71.2	70	3.6	4.8
RM22804-RM331	65.6	65.2	9.2	9.6
RM331-RM27181	70.8	69.6	4	5.2

نتیجه گیری کلی

لاین‌هایی با کیفیت نامطلوب می‌شود. لذا برای رسیدن به این هدف مهم انتخاب ژنوتیپی براساس نشانگرهای مولکولی پیوسته با این صفات توصیه می‌شود. مقایسه بین انتخاب مستقیم فنوتیپی با انتخاب ژنوتیپی و انتخاب هم‌زمان ژنوتیپ و فنوتیپ نشان داد که انتخاب هم‌زمان برای صفات فنوتیپی با در نظر گرفتن ژنوتیپ بهترین نتیجه را می‌دهد. در صورتی که به دلیل هزینه‌ها و یا انتخاب زود هنگام اول فصل مجبور به غربال جمعیت باشیم، بهتر است انتخاب ژنوتیپی به جای انتخاب مستقیم فنوتیپی انجام شود. بدیهی است که وقتی تعداد زیادی لاین در جمعیت‌های مورد مطالعه وجود دارد، کشت، برداشت شلتوک و اندازه‌گیری صفات تعیین کننده کیفیت مستلزم صرف وقت و هزینه خواهد بود. از طرفی مقدار شلتوک خالص برای تکثیر و اندازه‌گیری این صفات نیز باید حداقل ۱۵۰ گرم باشد که نیاز به کرت‌های بزرگ‌تر و صرف هزینه‌های بیش‌تر برای عملیات زراعی دارد. در صورتی که با انتخاب بر اساس نشانگرها در مراحل اولیه رشد که تعداد بذر بسیار کم است، می‌توان غربال ژنوتیپی که از دقت انتخاب بالاتری نیز برخوردار است انجام داد و در نسل‌های بالاتر صفات تعیین کننده کیفیت را در لاین‌های غربال شده اندازه‌گیری کرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کلیه همکاران محترم موسسه تحقیقات برنج کشور که همکاری صمیمانه‌ای در اجرای این تحقیق داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

دقت و کارایی انتخاب به کمک نشانگر RM331 روی کروموزوم شماره ۸ نسبت به سایر نشانگرها بالاتر بود. بنابراین برای انتخاب تک‌نشانگری، این نشانگر نسبت به سایر نشانگرها ارجحیت داشت و پس از آن نشانگر RM1364 روی کروموزوم شماره ۷ در رتبه دوم از نظر دقت و کارایی انتخاب قرار گرفت. استفاده از نشانگرهای مجاور احاطه‌کننده QTL مربوطه نسبت به استفاده از تک‌نشانگرها موجب افزایش دقت انتخاب شد، اما کارایی انتخاب کاهش یافت. از بین نشانگرهای مجاور به ترتیب نشانگرهای RM234-RM1364 با ۹۹/۴۲ درصد دقت انتخاب و فاصله ۱۳/۰۱ سانتی‌مورگان و نشانگرهای RM22804-RM331 با ۹۹/۳۹ درصد دقت انتخاب و فاصله ۲۹/۲ سانتی‌مورگان به‌عنوان بهترین نشانگرها برای غربال جمعیت مورد مطالعه پیشنهاد می‌شوند.

بررسی دقت انتخاب مستقیم فنوتیپی نیز نشان داد که بسیاری از لاین‌هایی که به ظاهر دارای ویژگی‌های تعیین کننده کیفیت مشابه رقم هاشمی بودند، از نظر ژنوتیپی الگوی باندی مشابه رقم ندا را داشتند و انتخاب مستقیم براساس فنوتیپ، به‌نژادگر را در نسل‌های بعد با مشکل مواجه خواهد کرد. وقتی تعداد جمعیت‌ها زیاد باشد و اهداف زیادی از جمله عملکرد، اجزای عملکرد، مقاومت به بیماری‌ها و آفات و... علاوه بر کیفیت مد نظر باشد انتخاب اشتباه برای صفت مهمی مثل کیفیت بر اثر انتخاب مستقیم فنوتیپی ممکن است منجر به خالص‌سازی

References

- Arzani, A. 2008. Investigation of selection efficiency with markers for the gene of resistance to Russian aphids in wheat. *Seed and Plant Journal* 23 (1): 110-112. (In Persian with English Abstract).
- Allahgholipour, M., Rabiei, B., Ebadi, A. A., Hosseini, M. and Yekta, M. 2010. Starch viscosity properties: New criteria for assessment of cooking quality of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences* 12 (2): 140-151. (In Persian with English Abstract).
- Bimpong, I. K., Manneh, B., Sock, M., Diaw, F., Amoah, N. K. A., Ismail, A. M., Gregorio, G., Singh, R. K. and Wopereis, M. 2016. Improving salt tolerance of lowland rice cultivar 'Rassi' through marker-aided backcross breeding in West Africa. *Plant Science* 242: 288-299.
- Cagampang, G. B., Perez, C. M. and Juliano, B. O. 1973. A gel consistency test for eating quality of rice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 24 (12): 1589-1594.
- Chen, S., Lin, X. H., Xu, C. G. and Zhang, Q. 2000. Improvement of bacterial blight resistance of Minghui 63, an elite restorer line of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection. *Crop Science* 40: 239-244.
- Chen, Z. X., Zhang, Y. F., Feng, F., Feng, M. H., Jiang, W., Ma, Y. Y., Pan, C. H., Hua, H. L., Li, G. S., Pan, X. B. and Zuo, S. M. 2014. Improvement of Japonica rice resistance to sheath blight by pyramiding *Qsb-9 Tq* and *Qsb-7 Tq*. *Field Crops Research* 161: 118-127.

- Hosseini-Chaleshtari, M. 2011.** Locating the controlling genes of yield, yield components and determining quality traits of rice. Ph. D. Dissertation, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran. (In Persian).
- Hosseini, M., Houshmand, S., Mohammadi, Sh., Tarang, A., Khodambashi, M. and Rahim-Soroush, H. 2012.** Detection of QTLs with main, epistatic and QTL× environment interaction effects for rice grain appearance quality traits using two populations of backcross inbred lines (BILs). **Field Crops Research** 135: 97-106.
- Hosseini, M., Rahim-Soroush, H., Habibi, F. and Ebadi, A. A. 2016.** Modification of high quality cultivars with cooking quality of sadri. Final report. Agricultural Research Promotion Education Publishing. 91. (In Persian).
- Jantaboon, J., Siangliw, M., Im-mark, S., Jamboonsri, W., Vanavichit, A. and Toojinda, T. 2011.** Ideotype breeding for submergence tolerance and cooking quality by marker-assisted selection in rice. **Field Crops Research** 123 (3): 206-213.
- Jin, L., Lu, Y., Shao, Y., Zhang, G., Xiao, P., Shen, Sh., Corke, H. and Bao, J. 2010.** Molecular marker assisted selection for improvement of the eating, cooking and sensory quality of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Cereal Science** 51 (1): 159-164.
- Juliano, B. 1971.** A simplified assay for milled-rice amylase. **Cereal Science Today** 16: 334-338.
- Little, R. R., Hilder, G. B., Dawson, E. H. and Elsie, H. 1985.** Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. **Cereal Chemistry** 35: 111-126.
- Murray, M. G. and Thompson, W. F. 1980.** Rapid isolation of high molecular weight plant. **DNA Nucleic Acids Research** 8: 4321-4325.
- Narayanan, N. N., Baisakh, N., Oliva, N. P., Veracruz, C. M., Gnanamanickam, S. S., Datta, K. and Datta, S. K. 2004.** Marker-assisted selection combined with biolistic transformation for blast and bacterial blight resistance in Indica rice. **Molecular Breeding** 14 (1): 61-71.
- Peng, J. H., Fahima, T., Röder, M. S., Li, Y. C., Garma, A. and Neevo, E. 2000.** Microsatellite high density mapping of the stripe rust resistance gene *YrH52* region on chromosome 1B and evaluation of its marker-assisted selection in the F generation in wild emmer wheat. **New Phytologist** 146: 41-154.
- Shabanimofrad, M., Yusop, M. R., Ashkani, S., Musa, M. H. N. A., Haifa, I., Harun, A. R. and Latif, M. A. 2015.** Marker-assisted selection for rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) resistance using linked SSR markers. **Turkish Journal of Biology** 39 (5): 666-673.
- Sreenivasulu, N., Butardo, V. M., Misra, G., Cuevas, R. P., Anacleto, R. and Kishor, P. B. K. 2015.** Designing climate-resilient rice with ideal grain quality suited for high-temperature stress. **Journal of Experimental Botany** 66 (7): 1737-1748.
- Swamy, B. P. M., Kaladhar, K., Rani, N. Sh., Prasad, G. S. V., Viraktamath, B. C., Reddy, G. A. and Sarla, N. 2012.** QTL analysis for grain quality traits in 2 BC2F2 populations derived from crosses between *Oryza sativa* cv. Swarna and 2 accessions of *O. Nivara*. **Journal of Heredity** 103 (3): 442-452.
- Utami, S., Widyastuti, U., Wikan Utami, D., Rosdianti, I. and Lestari, P. 2017.** Molecular marker-assisted selection of rice grain quality on rice (*Oryza sativa* L.) lines tolerant to Fe toxicity stress. **Journal of Tropical Life Science** 7 (3): 268-276.
- Yun, B. W., Kim, M. G., Handoyo, T. and Kim, K. M. 2014.** Analysis of rice grain quality-associated quantitative trait loci by using genetic mapping. **American Journal of Plant Sciences** 5: 1125-1132.



University of Guilan
Faculty of Agricultural
Sciences

Cereal Research
Vol. 8, No. 3, Autumn 2018 (307-319)

Efficiency of marker assisted selection in a rice (*Oryza sativa* L.) F6 population using linked SSR markers to grain quality characteristics

Mahnaz Pourabbas Dolatabad¹, Babak Rabiei^{2*} and Maryam Hosseini³

Received: February 6, 2018

Accepted: August 19, 2018

Abstract

One of the important objectives in improving rice varieties is improving cooking and eating quality, which plays a key role in its marketability and economic value. This research was carried out to indirectly select the high quality lines of a population of F6 generation derived from the cross of Hashemi×Neda rice varieties using microsatellite markers tightly linked to cooking and eating quality traits. In this research, 250 F6 lines in an augmented design together with five prevalent rice varieties as the checks including Neda, Hashemi, Domsiah, Kadus and Ali Kazemi, in a randomized complete block design with three replications were cultivated in two regions, Rice Research Institute of Iran (Rasht, Iran), and Chaparsar Rice Station (Mazandaran, Iran), in 2015. Genomic DNA amplification was performed by linked microsatellite markers to the genomic regions (genes) controlling rice grain quality traits, including RM217 and RM225 on chromosome 6, RM234 and RM1364 on chromosome 7 and RM331, RM22804 and RM27181 on chromosome 8. The results of this research showed that among the markers used in current study, the highest accuracy and selection efficiency belonged to the RM331 on chromosome 8 which had the smallest distance with the QTL detected to amylose content, gel consistency and time to peak viscosity. Afterwards, two SSR markers, RM1364 and RM27181 on chromosomes 7 and 8, respectively, were the most efficient markers. Assessing the genomic intervals among the flanking markers also showed that the flanking markers RM234-RM1364 and RM22804-RM331 were the best marker intervals for the screening of the studied population for the qualitative characteristics.

Keywords: Cooking quality, Flanking markers, Selection efficiency, Single marker selection

1. Graduated M. Sc., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

2. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

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

* Corresponding author: rabiei@guilan.ac.ir