

تجزیه ارتباطی بین صفات جوانه‌زنی و نشانگرهای AFLP در برنج (*Oryza sativa* L.)

حسین صبوری^{۱*}، شریفه محمدآلق^۲، عباس بیابانی^۱، احمدرضا دادرسی^۳، عاطفه صبوری^۴، مهناز کاتوزی^۵،
محبوبه نجار عجم^۶، ماهم پیراسته^۷، رسول خاتمی‌نژاد^۸

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

۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس، ایران

۳. استادیار پژوهشی بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، ایران

۴. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۵. دکتری اصلاح نباتات، مرکز تحقیقات آگروسکوپ، سوئیس

۶. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۷. دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مازندران، ساری، ایران

۸. کارشناس ارشد علوم دامی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۰۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۲۳)

چکیده

برنج غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت جهان را به خود اختصاص داده است. به طور کلی، برنج در ۱۶۱ میلیون هکتار زمین کشت شده و سالانه ۶۷۸/۷ میلیون تن شلتوک تولید می‌شود. جوانه زنی از مهمترین مراحل رشد برنج محسوب می‌شود. به منظور بررسی روابط بین نشانگرهای AFLP و صفات جوانه‌زنی، ۱۹۲ لاین برنج مورد بررسی قرار گرفتند. لاین‌های در قالب طرح آگمنت با ۱۰۰ بذر در هر لاین استفاده شد. هدف این بررسی شناسایی نشانگرهای پیوسته به مکان‌های ژنی کنترل کننده طول ساقچه، طول ریشه‌چه، طول کلوتیل و درصد جوانه‌زنی بود. بیشترین تغییرات طول ساقچه توسط نشانگرهای E080-M140-11 (۱۹/۵۵ درصد)، E060-M160-11 (۱۷/۹۲ درصد) و E080-M150-11 (۱۷/۸۷ درصد) تبیین شد. نشانگرهای E120-M150-5، E110-M150-8، E080-M150-11، E060-M160-11 و E120-M150-5 با هر دو صفت طول ساقچه و طول ریشه‌چه مرتبط بودند. از نشانگرهای پیوسته شناسایی شده در این مطالعه بعد از تایید اعتبار، می‌توان برای بهبود صفات جوانه زنی با استفاده از انتخاب به کمک نشانگر بهره برد.

واژه‌های کلیدی: برنج، تجزیه ارتباطی، جوانه‌زنی، نشانگرهای AFLP

Association analysis between germination traits and AFLP markers in rice (*Oryza sativa* L.)

H. Sabouri^{1*}, Sh. Mohammad Alegh², A. Biabani¹, A. R. Dadras³, A. Sabouri⁴, M. Katouzi⁵,
M. Najjar Ajam⁶, M. Pirasteh⁷, R. Khatami Nejad⁸

1. Associated Professor Department of Plant Production, College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran

2. Former MSc Student Department of Plant Production, College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

3. Research Assistant Professor of Crop and Horticultural Science Research Department, Zanjan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zanjan, Iran,

4. Associated Professor Department of Agronomy & Plant Breeding, University of Guilan, Rasht, Iran

5. PhD in Plant Breeding, Agroscope, Route de Duillier 50, Case Postale 1012, 1260 Nyon 1, Switzerland.

6. Former MSc Student, Department of Agronomy & Plant Breeding, University of Guilan, Rasht, Iran

7. MSc Student Department of Agronomy & Plant Breeding, University of Mazandaran, Sari, Iran

8. MSc in Animal Science, Department of Animal Science, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: May. 25, 2017 – Accepted: Dec. 14, 2019)

Abstract

Rice (*Oryza sativa* L.) is a staple food for more than half of the world's population. Globally, rice is grown on 161 million hectares, with an average annual production of 678.7 million tonnes. Germination is one of the important stages in rice life. In order to investigate the relationships among AFLP markers and germination traits in rice plants, 192 Rice lines were evaluated. Lines were used in the form of an augmented design with 100 seeds per line. The purpose of this study was to identify linked markers for gene controlling plumule length, root length, coleoptile length and germination percentage. The most variation in plumule length were determined by E080-M140-11 (19.55%), E060-M160-11 (17.92%) and E080-M150-11 (17.87%). E060-M160-11, E080-M150-11, E110-M150-8 and E120-M150-5 Markers were associated with both shoot and root length, which represents an extremely close association of the traits together, or possibly are affected multi-effect genes. The identified linked markers in this study after validation can be used to improve the germination traits by marker-assisted selection.

Keywords: AFLP Markers, Association analysis, Germination, Rice

* Email: hossein.sabouri@gonbad.ac.ir

محدود می‌باشد که این وضعیت مانع مکان‌یابی دقیق ژن‌ها می‌شود (Breseghello and Sulerz, 2006).

مقدمه

در سال‌های اخیر، پیشرفت‌های تحسین برانگیزی که در زمینه زیست‌شناسی مولکولی و بیوتکنولوژی صورت گرفته، ابزار قدرتمندی را برای پژوهش‌های ژنتیک تفصیلی گیاهان عالی از جمله گیاهان زراعی فراهم کرده‌اند. شاید اساسی‌ترین و مفیدترین این ابزار نشانگرهای DNA باشند که همان تفاوت‌های قابل ثبت ردیف‌های بازی DNA موجود بین دو یا چند نمونه‌اند. امروزه اطلاعات به‌دست آمده از نشانگرهای DNA کاربردهای بسیاری دارند، که عمده‌ترین آن‌ها در پزشکی قانونی، تشخیص بیماری‌های گیاهی و انسانی، قرنطینه گیاهی، پژوهش‌های ژنتیک تکاملی و فیلوژنتیک، طبقه‌بندی موجودات زنده و اصلاح نباتات است. این نشانگرها دارای انواع مورفولوژیک، پروتئینی و نشانگرهای مولکولی DNA و RNA می‌باشند (Naghavi et al., 2009).

اگرچه روش‌های معمول نشانگرهای مولکولی مانند RFLP^۱، به طور گسترده‌ای در تهیه نقشه پیوستگی غلاتی جو، برنج و گندم به کار رفته است، ولی استفاده از آن به خاطر نیاز به مقادیر زیاد DNA و هیبریداسیون به وسیله کاوشگر محدود شده است، اما در بین این روش‌های مختلف نشانگرهای مولکولی، AFLP^۲ کارآمدتر از روش‌های دیگر انگشت‌نگاری DNA است زیرا تعداد زیادتری نوار چندشکل در یک ژل قابل شناسایی است. علاوه بر آن تکرارپذیری و اطمینان به نتایج حاصل از این روش توسط تعداد زیادی از محققین به اثبات رسیده است (Sayyed Tabatabaei and Shahnejat Boshehri, 2003). در این روش نشانگرهایی تولید می‌شوند که علاوه بر دارابودن مزایای RFLP مانند دقت و تکرارپذیری، ویژگی‌های مثبت روش‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز را نیز دارند.

برنج پس از گندم مهم‌ترین گیاه زراعی است که در بیش از ۵۰ درصد از جوامع انسانی، به عنوان منبع اصلی تأمین‌کننده موادغذایی بوده و یکی از منابع پروتئینی است (Brar et al., 2002) که نقش منحصر به فردی را در بین غلات به آن داده است. علاوه بر این، با توجه به ژنوم نسبتاً کوچک برنج در مقایسه با سایر غلات، به عنوان یک گیاه مدل برای تک‌لپه‌ای‌ها، در بسیاری از مطالعات بیولوژیکی و پایه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Liu et al., 2008). جوانه‌زنی تعیین‌کننده شروع رشد گیاهچه می‌باشد که به دنبال آن استقرار گیاهچه، مهم‌ترین مرحله در چرخه زندگی گیاه است (Delesalle and Bloom, 1994). در واقع یکی از عوامل دستیابی به عملکرد بالا در واحد سطح درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرها و استقرار گیاهچه‌های حاصل از بذور کشت شده است (Foti et al., 2002). امروزه توان جوانه زنی بالا در بذور یکی از صفاتی است که در ایجاد و توسعه ارقام برنج اصلاح شده مورد توجه قرار می‌گیرد (Zeng et al., 2006؛ Zhang et al., 2005). یکی از موضوعات مورد بحث در اصلاح گیاهان، شناسایی ساختار ژنتیکی صفات و ژن‌های کنترل آنها می‌باشد. در سال‌های اخیر روش جدیدی بنام مکان‌یابی ارتباطی یا تجزیه ارتباطی معرفی شده است که نه تنها امکان مکان‌یابی دقیق و مطمئن ژن‌ها و مکان‌های کنترل‌کننده صفات کمی را فراهم می‌کند، بلکه امکان شناسایی نواحی کروموزومی دیگری که در مطالعات مبتنی بر پیوستگی امکان‌پذیر نیستند را نیز میسر می‌سازد. در این روش از نشانگرهای مولکولی استفاده می‌شود و نیازی به تهیه جمعیت در حال تفرق که نیاز به زمان زیادی دارد نمی‌باشد، ولی بهتر است از داده‌های فنوتیپی چندساله استفاده شود. از طرف دیگر، کراسینگ‌اورهایی که در حین تهیه جمعیت‌های در حال تفرق صورت می‌گیرد،

^۱ Restriction Fragment Length Polymorphism

^۲ Amplified Fragment Length Polymorphism

نشانگرهای مرتبط با صفات جوانه‌زنی و ارزیابی توان تجزیه ارتباطی برای شناسایی نشانگرهای قابل اعتماد در ۱۹۲ ژنوتیپ برنج با استفاده از نشانگرهای AFLP بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه گیاهشناسی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس اجرا شد. مواد گیاهی شامل ۱۹۲ لاین و رقم برنج بود. بذور فوق از موسسه بین المللی تحقیقات برنج، موسسه تحقیقات برنج کشور، به همراه تعدادی از بذور جمع‌آوری شده از استان‌های برنج خیز کشور تهیه شد و همچنین از تعدادی از لاین‌های توسع یافته در دانشگاه گنبد کاووس نیز استفاده شد (جدول ۱). مؤلفه‌های جوانه‌زنی ارزیابی شده شامل طول ریشه‌چه، ساقه‌چه، کلئوپتیل و درصد جوانه‌زنی روی ۱۰۰ بذر هر لاین بود. آزمایش حاضر در قالب طرح آزمایشی اگمنت اجرا شد.

استخراج DNA و انجام AFLP

استخراج DNA به روش CTAB (Saghai Maroof *et al.*, 1994) انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از نانودراپ و ژل آگارز ۰/۸ درصد انجام شد. غلظت نمونه‌های DNA ژنوتیپ‌ها برای استفاده در واکنش زنجیره‌های پلیمرز (PCR) به مقدار ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر رسانده شد. روش AFLP مطابق روش وس و همکاران (Vos *et al.*, 1995) و با استفاده از آنزیم‌های محدودگر *MseI* و *EcoRI* تهیه شده از شرکت فرمنتاز انجام شد. در مرحله هضم DNA ژنوتیپ‌ها با استفاده از آنزیم‌های محدودگر مورد هضم دوگانه قرار گرفتند سپس در این مرحله دو سازگار ساز دو رشته‌ای بوسیله آنزیم T4 DNA لیگاز به انتهای برش خورده متصل شدند در مرحله پیش تکثیر، نمونه‌ها با آغازگرهای حاوی مکان برشی آنزیم‌های *MseI* و *EcoRI* دارای یک نوکلئوتید انتخابی در انتهای ۳' تکثیر یافتند و

از جمله مطالعاتی که با استفاده از روش تجزیه ارتباطی انجام شد، می‌توان به مطالعه رشیدی منفرد و همکاران (Rashidimonfared *et al.*, 2008) اشاره کرد که بر روی ۸۷ ژنوتیپ بومی و ۲۱ رقم زراعی گندم دوروم و با استفاده از ۷۴ نشانگر مولکولی حاصل از ۱۰ جفت آغازگر انجام و ارتباط بین ۶ صفت زراعی و نشانگرها را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها در نهایت ۳۲ نشانگر^۱ SSAP که رابطه معنی‌داری با یکی از صفات مورد مطالعه داشتند برای بهره‌گیری از این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی وابسته به نشانگر معرفی کردند. (Ivandic *et al.*, 2002) با استفاده از ۳۳ نشانگر SSR و روش تجزیه ارتباطی، نشانگرهای مرتبط با زمان گلدهی در جو را شناسایی کردند. در بررسی دیگری که با روش تجزیه ارتباطی و نشانگرهای^۲ SSR و^۳ RAPD روی نارگیل انجام شد، پنج نشانگر مرتبط با مقاومت به کرم پنبه شناسایی شد (Shailti *et al.*, 2007). در گیاه برنج رئیسی و صبور (Raiesi and Sabouri, 2015)، تجزیه ارتباطی نشانگرهای ریزماهواره با مرتبط با تنش شوری و خشکی را برنج‌های هوازی و ایرانی تحت تنش اسمزی بررسی کردند. نتایج تحقیق آنها نشان داد نشانگرهای ریزماهواره RM190، RM104، RM11943، RM28166، RM231، RM510، RM270، RM19367 و RM431 به عنوان نشانگرهای مرتبط با تحمل به تنش اسمزی درصد قابل توجهی از تغییرات صفات مرتبط با جوانه‌زنی را توجیه کردند. مردانی و همکاران (Mardani *et al.*, 2013) با استفاده از یک جمعیت مکان‌یابی برنج مشتق از والدین ایرانی توانستند تعداد ۱۳ QTL مرتبط با صفات مهم جوانه‌زنی تحت تنش اسمزی مکان‌یابی کنند که تعدادی از این QTLها درصد قابل توجهی از تغییرات صفات را توجیه کردند. هدف ما از این پژوهش شناسایی

¹ Sequence Specific Amplified Polymorphism

² Simple Sequence Repeat

³ Random Amplification of Polymorphic DNA

الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید شش درصد تفکیک و به روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند (شکل ۱). در نهایت امتیازدهی نوارها به صورت صفر و یک به ترتیب برای عدم حضور و حضور نوارها انجام گرفت.

محصولات پس از رقیق‌سازی به نسبت ۱:۱۰ با ۲۱ ترکیب آغازگری دارای ۲ نوکلئوتید انتخابی دیگر در انتهای ۳، تحت چرخه حرارتی تاچ داون شامل سه مرحله دمایی مختلف تکثیر شدند. فرآورده‌های PCR (جدول ۲) مربوط به ۷ ترکیب آغازگری (جدول ۳) با استفاده از

جدول ۱- اسامی و منشأ ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی

Table 1- Names of evaluated rice genotypes

شماره	لاین	منشأ	شماره	لاین	منشأ
1	X23	ایری IRRI	49	Hasan Sarei Atashgah	ایران Iran
2	Bala	هند India	50	Lemont	امریکا USA
3	IR-GKU-SA-AHM.SPD-52	ایران (لاین حاصل از تلاقی اهلمی طارم × سپیدرود) Iran (Line derived from cross Ahlami-Tarom × Sepidroud)	51	TEQING	ایری IRRI
4	Cisedane	نیجریه Nigeria	52	Zireh	ایران Iran
5	Yasoj 1	ایران Iran	53	Champa Boudar	ایران Iran
6	Shahpasan Mazandaran	ایران Iran	54	Dular	هند India
7	IR73885-1-4-3-2-1-10	ایری IRRI	55	Budda	هند India
8	Shahpasand	ایران Iran	56	Amol 1	ایران Iran
9	Co 43	هند India	57	Bhavani	هند India
10	Kohrang	ایران Iran	58	Ali Kazemi	ایران Iran
11	Charam 1	ایران Iran	59	Rashti Sard	ایران Iran
12	IR-GKU-SA-AHM.SPD-31	ایران (لاین حاصل از تلاقی اهلمی طارم × سپیدرود) Iran (Line derived from cross Ahlami-Tarom × Sepidroud)	60	Giza 173	مصر Egypt
13	Charam 3	ایران Iran	61	Hasan Saraei Pichideh Ghalaf	ایران Iran
14	Salari	ایران Iran	62	IR 72582-10-1-1-3-1	ایری IRRI
15	Domsepid	ایران Iran	63	IR 72593-B-3-2-1-2	ایری IRRI
16	Anbarbou Ilam	ایران Iran	64	Amol 2	ایران Iran

Table 1 Continued

ادامه جدول ۱

شماره	لاین	منشا	شماره	لاین	منشا
17	IR-GKU-SA-AHM.SPD-39	ایران (لاین حاصل از تلاقی اهلمی طارم × سپیدرود) Iran (Line derived from cross Ahlami-Tarom × Sepidroud)	65	Ghashangeh	ایران Iran
18	IR-GKU-SA-AN.SPD-62	ایران (لاین حاصل از تلاقی عنبربو × سپیدرود)	66	IR-GKU-SA-AN.SPD-21	ایران (لاین حاصل از تلاقی عنبربو × سپیدرود) Iran (Line derived from cross Anbarboo × Sepidroud)
19	Mir Tarom	ایران Iran	67	IR 72579-B-2R-1-3-2	ایری IRRI
20	Gardeh	ایران Iran	68	Dylamani	ایران Iran
21	Gharib Siah Ryhani	ایران Iran	69	IR-GKU-SA-AN.SPD-94	ایران (لاین حاصل از تلاقی عنبربو × سپیدرود) Iran (Line derived from cross Anbarboo × Sepidroud)
22	IR-GKU-SA-SH.IR28-78	ایران (لاین حاصل از تلاقی شاه پسند × IR28) Iran (Line derived from cross Shah-Pasand × IR28)	70	Basmati 370	هند India
23	IR-GKU-SA-SH.IR28-1	ایران (لاین حاصل از تلاقی شاه پسند × IR28) Iran (Line derived from cross Shah-Pasand × IR28)	71	ASD 16	هند India
24	IR-GKU-SA-SH.IR28-1	ایران (لاین حاصل از تلاقی شاه پسند × IR28) Iran (Line derived from cross Shah-Pasand × IR28)	72	Sang Jo	ایران Iran
25	IR-GKU-SA-AHM.SPD-45	ایران (لاین حاصل از تلاقی اهلمی طارم × سپیدرود) Iran (Line derived from cross Ahlami-Tarom × Sepidroud)	73	Rashti	ایران Iran
26	Charam 2	ایران Iran	74	IR65192-4B-10-3	ایری IRRI
27	Sang Tarom	ایران Iran	75	Giza 171	مصر Egypt
28	Hasan Saraei	ایران Iran	76	IR HON-215	ایری IRRI
29	IR-GKU-SA-AHM.SPD-7	ایران (لاین حاصل از تلاقی اهلمی طارم × سپیدرود) Iran (Line derived from cross Ahlami-Tarom × Sepidroud)	77	Yasoj 2	ایران Iran

Table 1 Continued

ادامه جدول ۱

شماره	لاین	منشا	شماره	لاین	منشا
30	IR 73678-6-9-B	ایری IRRI	78	Ahlami Tarom	ایران Iran
31	Giza 178	مصر Egypt	79	IR69626B	ایری IRRI
32	Saleh	ایران Iran	80	Tarom Mahalli	ایران Iran
33	Pusa (Basmati 1)	هند India	81	Sazandegi	ایران Iran
34	Domzard	ایران Iran	82	Tarom Mantagheh	ایران Iran
35	Abjiboji	ایران Iran	83	Ghasraldashti	ایران Iran
36	Madhukar	هند India	84	Zayandroud	ایران Iran
37	Mosa Tarom	ایران Iran	85	Binam	ایران Iran
38	Azucena	هند India	86	Domsiah	ایران Iran
39	Nemat	ایران Iran	87	Anbarbou	ایران Iran
40	Dasht	ایران Iran	88	Sadri	ایران Iran
41	Domsorkh	ایران Iran	89	IR-GKU-SA-AN.SPD-45	ایران (لاین حاصل از تلاقی عنبربو × سپیدرود) Iran (Line derived from cross Anbarboo × Sepidroud)
42	Tarom Friydonkenar	ایران Iran	90	Tarom Zanjan	ایران Iran
43	IR-GKU-SA-SH.IR28-18	ایران (لاین حاصل از تلاقی شاه پسند × IR28) Iran (Line derived from cross Shah-Pasand × IR28)	91	Tarom Pakotah	ایران Iran
44	Gharib	ایران Iran	92	Tarom Amiri	ایران Iran
45	LEBANT	امریکا USA	93	Zirehbandpey	ایران Iran
46	Neda	ایران Iran	94	Mohammadi Chaparsar	ایران Iran
47	Hashemi	ایران Iran	95	Domsiah Solymandarab	ایران Iran
48	Hasani	ایران Iran	96	Yasoj 3	ایران Iran
97	IR30	ایری IRRI	145	IR43	ایری IRRI
98	Amol 3	ایران Iran	146	IR24	ایری IRRI

شماره	لااین	منشا	شماره	لااین	منشا
99	Bojar	ایران Iran	147	IR29	ایری IRRI
100	IR58	ایران Iran	148	IR60	ایری IRRI
101	Spidroud	ایران Iran	149	Line 416	ایران Iran
102	Dorfak	ایران Iran	150	Line203	ایران Iran
103	Kadous	ایران Iran	151	IR63295-AC209-7	ایری IRRI
104	Zawa Bandy	تایلند Thailand	152	IR68897A	ایری IRRI
105	IR71466-75-3-B-1	ایری IRRI	153	Gohar	ایران Iran
106	IR69513-14-SRN-1-UBN-5-5-B	ایری IRRI	154	IR 72593-B-13-3-3-1	ایری IRRI
107	IRBB60	ایری IRRI	155	IR 71991-3R-2-6-1	ایری IRRI
108	IR31802	ایری IRRI	156	R644	چین China
109	Norin	ژاپن Japan	157	Yuanjing 7	چین China
110	IR69617A	ایری IRRI	158	Guang122	چین China
111	Hnankar	هند India	159	IR24	ایری IRRI
112	Manawthukha	هند India	160	Giza 181	مصر Egypt
113	Pahk maw peun meuang	کره Korea	161	Giza 159	مصر Egypt
114	Kasalath	بنگلادش Bangladesh	162	Cheng-Hui 448	چین China
115	Rahasee	هند India	163	Gang 16	چین China
116	IR72102-4-159-1-3-3-3	ایری IRRI	164	Babaomi	چین China
117	PSBRc28	فلیپین Philippines	165	Diantun 502	چین China
118	IR25571	ایری IRRI	166	MR 159	نیجریه Nigeria
119	Arjantin	آرژانتین Argentina	167	MR 167	نیجریه Nigeria
120	IRGC-15092-RT-1031-62	ایری IRRI	168	TB154E - TB - 2	اندونزی Indonesia
121	Sahel	ایران Iran	169	IR66946-3R7811	ایری IRRI
122	Dorodzan	ایران Iran	170	IR66946-3R178-11	ایری IRRI

Table 1 Continued

ادامه جدول ۱

شماره	لاین	منشا	شماره	لاین	منشا
123	IRAT216	ایری IRRI	171	PSB RC28	فیلیپین Philippines
124	IR60	ایری IRRI	172	PSB RC66	فیلیپین Philippines
125	FUJIMINURI	ژاپن Japan	173	Apo	فیلیپین Philippines
126	Fajr	ایران Iran	174	IR68899B	ایری IRRI
127	Sakha	مصر Egypt	175	IR59673-93-2-3-3R	ایری IRRI
128	IR 50	ایری IRRI	176	IR57515-PM1 8-1-1- SRW 1-1	ایری IRRI
129	ZENIT	آمریکا USA	177	IR59682-132-1-1-2	ایری IRRI
130	KANTU-51	اندونزی Indonesia	178	IR59552-21-3-2-2	ایری IRRI
131	IR28	ایری IRRI	179	IR60819-34-2-1	ایری IRRI
132	IR57301-158-IR	ایری IRRI	180	IR62141-114-3-2-2-2	ایری IRRI
133	Gil 1	ایران Iran	181	IR59469-B-B-3-2	ایری IRRI
134	IR36	ایری IRRI	182	IR50404-57-2-2-3	ایری IRRI
135	Ahvaz 1	ایران Iran	183	IR55423-1	ایری IRRI
136	IR72	ایری IRRI	184	IR47686-30-3-2	ایری IRRI
137	IR63307-4B-24-2	ایری IRRI	185	IR61979-138-1-3-2-3	ایری IRRI
138	PSBRc50	فیلیپین Philippines	186	IR64616 H	ایری IRRI
139	USEN	آمریکا USA	187	IR62829A	ایری IRRI
140	Gil 3	ایران Iran	188	IR47686-30-3-2	ایری IRRI
141	IR64	ایری IRRI	189	IR57515-PM1 8-1-1- SRW 1-1	ایری IRRI
142	Shafagh	ایران Iran	190	IR50404-57-2-2- 3/Pagsanjan	ایری IRRI
143	Shirodi	ایران Iran	191	IR-GKU-SA-AN.SPD-75	ایران (لاین حاصل از تلاقی عنبربو × سپیدرود) Iran (Line derived from cross Anbarboo × Sepidroud)
144	PSBRc86	فیلیپین Philippines	192	IR58025A	ایری IRRI

جدول ۲- برنامه چرخه های حرارتی برای نشانگر های AFLP
Table 2- Thermal cycling program for AFLP markers

پیش تکثیر Pre-amplification			
تعداد چرخه Number of cycle	زمان (دقیقه) و (ثانیه) Time (min) and (second)	دما (°C) Temperature (C°)	مرحله Step
1	5'	94	واسرشته سازی اولیه DNA Initial denaturation of DNA
30	30"	94	واسرشته سازی DNA DNA denaturing
	60"	60	اتصال آغازگرها Primers annealing
1	1'	72	بسط Extension
	5'	72	بسط نهایی Final Extension
تکثیر انتخابی Selective amplification			
1	5'	94	واسرشته سازی اولیه DNA Initial denaturation of DNA
10	30"	94	واسرشته سازی DNA DNA denaturing
	30"	65	اتصال آغازگرها Primers annealing
26	1'	72	بسط Extension
	30"	94	واسرشته سازی DNA DNA denaturing
	30"	56	اتصال آغازگرها Primers annealing
1	1'	72	بسط Extension
	5'	72	بسط نهایی Final Extension

جدول ۳- ترکیبات آغازگری استفاده شده در تجزیه AFLP ژنوتیپ‌های برنج
Table 3- The used primer combinations in AFLP analysis of rice genotypes

آغازگرهای <i>EcoRI</i> <i>EcoRI</i> Primers		آغازگرهای <i>MseI</i> <i>MseI</i> Primers	
توالی DNA DNA Sequence		توالی DNA DNA Sequence	
E-A	5'-GACTGCGTACCAATTCA-3'	M-A	5'-GATGAGTCCTGAGTAAA-3
(E060)E-AAG	5'-GACTGCGTACCAATTCAAG-3'	(M140)M-AAC	5'-GATGAGTCCTGAGTAAAAC-3
(E070)E-AAT	5'-GACTGCGTACCAATTCAAT-3'	(M150)M-AGA	5'-GATGAGTCCTGAGTAAAGA-3
(E080)E-ACG	5'-GACTGCGTACCAATTCACG-3'	(M160)M-AGT	5'-GATGAGTCCTGAGTAAAGT-3
(E090)E-ACT	5'-GACTGCGTACCAATTTCACT-3'		
(E100)E-AGT	5'-GACTGCGTACCAATTCAGT-3'		
(E110)E-ATC	5'-GACTGCGTACCAATTCATC-3'		
(E120)E-ATT	5'-GACTGCGTACCAATTCATT-3'		

تجزیه‌های آماری

برای تجزیه ارتباطی، ابتدا ماتریس ساختار ژنتیکی لاین‌ها با استفاده از نرم‌افزار استراکچر^۱ (Pritchard *et al.*, 1995) تشکیل شد. برای محاسبه تعداد زیرجمعیت (K) از روش ایوانو و همکاران (Evanno *et al.*, 2005) استفاده شد. در

نهایت تجزیه ارتباطی بین داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی با نرم‌افزار تاسل انجام گرفت. مدل‌های آماری استفاده شده در این نرم‌افزار در جدول ۴ ارائه شده است.

جدول ۴- پنج مدل آماری استفاده شده برای ارتباط نشانگرهای AFLP و صفات فنوتیپی در ژنوتیپ‌های برنج

Table 4- The used five statistical models for association analysis of AFLP markers and phenotypic traits in rice genotypes

مدل Model	مجموعه داده مورد استفاده Used data set
1:GLM ^a	Phenotype+ AFLP
2:GLM	Phenotype+ AFLP+Q ^b
3:GLM	Phenotype+ AFLP+PC ^c
4:MLM ^d	Phenotype+ AFLP+K ^e
5:MLM	Phenotype+ AFLP+K+Q

a مدل خطی عمومی

b داده‌های ساختار جمعیت یا اصل و نسب استنباط شده از افراد

c مؤلفه‌های اصلی

d مدل خطی مخلوط

e داده‌های خویشاوندی حاصل از تشابه کلی افراد از لحاظ زمینه ژنتیکی ناشی از خویشاوندی

a:GLM: General Linear Model

b: Q: Population structure data or Inferred ancestry of individuals

c: PC: Principal components

d:MLM: Mixed Linear Model

e: K: Kinship data derived from general similarity in genetic background arising from shared kinship

انحراف معیار (Stdev) تکرارها محاسبه گردید. بعد از آن تفاضل میانگین تکرارها برای گروه‌های مجاور به صورت گروه بالاتر منهای گروه پایین تر و به نام $L'(K)$ تعیین و سپس تفاضل $L'(K)$ برای گروه‌های مجاور و به نام $L''(K)$ محاسبه گردید که در نهایت از این محاسبات ΔK تعیین شد (Dadras, 2012). خلاصه عملیات ذکر شده به صورت روابط زیر می‌باشد:

$$K = L(K) \text{ میانگین } \ln P(D) \text{ تکرارها برای هر } K$$

$$L'(K) = L(K)^n - L(K)^{n-1}$$

$$L''(K) = L'(K)^n - L'(K)^{n-1}$$

¹ Structure

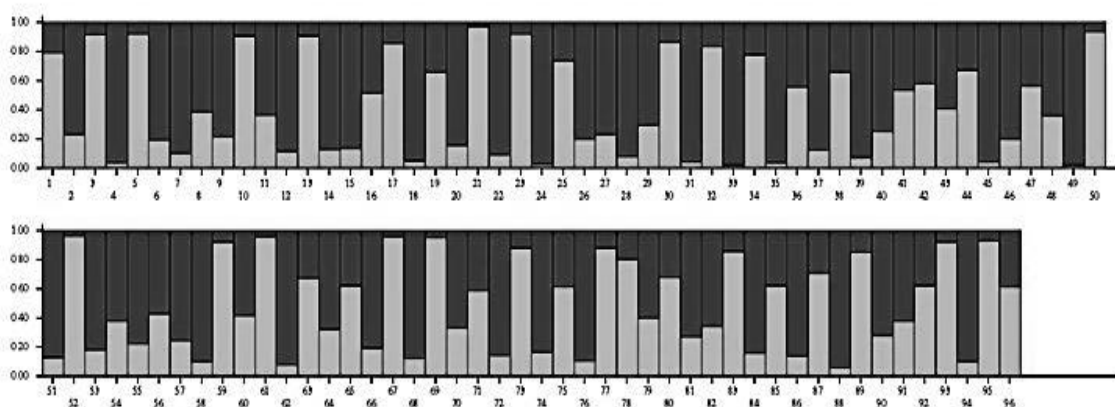
نتایج و بحث

برای تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت از نرم‌افزار استراکچر استفاده شد و چون در مورد ساختار جمعیت اطلاعات قبلی در دست نبود، در این نرم‌افزار تعداد بهینه K با انجام شبیه‌سازی محاسبه شد و شبیه‌سازی با طول دوره ۱۰۰۰۰۰ Burnin و تعداد تکرار ۱۰۰۰۰۰ MCMC (Markov Chain Monte Carlo) صورت پذیرفت. برای این منظور تعداد K از ۱ تا ۱۰ در نظر گرفته شد و از دو ستون خلاصه شده K و $\ln P(D)$ برای محاسبات استفاده شد. به این صورت که برای هر K، میانگین $L(K)$ و

با استفاده از پنج مدل ارتباطی، ضریب تبیین و سطح معنی‌داری نشانگرهای شناسایی شده ارائه شده است. برای طول ریشه‌چه ۱۰ نشانگر مرتبط با این صفت شناسایی شد که از این تعداد، نشانگر E090-M140-9 در مدل‌های یک و سه و نشانگرهای E060-M160-8 و E090-M140-8 در مدل‌های چهار و پنج با هم مشترک بودند. بیشترین تعداد نشانگرهای شناسایی شده در مدل ۲ قرار داشتند. برای صفت طول ساقه‌چه در مجموع ۲۵ نشانگر پیوسته به QTL‌های این صفت شناسایی شد که ۱۱ نشانگر در مدل ۲ قرار داشت. نشانگر E080-M160-11 در هر سه مدل GLM به طور مشترک شناسایی شدند. نشانگرهای یافت شده در هر دو مدل رویه MLM کاملاً با هم مطابقت داشتند. نشانگرهای E060-M160-11، E080-M140-11 و E089-M150-11 دارای ضریب تبیین بالایی (به ترتیب ۱۷/۹۲، ۱۹/۵۵ و ۱۷/۸۷) بودند. در ارتباط با طول کلنوتیل ۱۶ نشانگر مکان‌یابی شد که در بین نشانگرهای GLM تنها E080-M160-17 در مدل‌های یک و دو مشترک بودند. نشانگرهای شناسایی شده در هر دو مدل MLM کاملاً با هم مطابقت داشتند.

در صورتی که نمودار دو طرفه K و ΔK رسم گردد. نقطه اوج منحنی همان تعداد بهینه K خواهد بود. شکل ۱ ساختار استنتاج شده برای جمعیت مورد مطالعه حاضر را به وسیله نرم‌افزار STRUCTURE برای نشانگرهای چند شکل AFLP نشان می‌دهد. مطابق نتایج حاصل از تجزیه ساختار، تعداد خوشه‌هایی که پارامتر ΔK را به حداکثر خود می‌رساند برابر ۲ می‌باشد. طبق روش ایوانو و همکاران (Evanno *et al.*, 2005) همه ژنوتیپ‌ها می‌توانند به دو گروه شکسته شوند. حال برای هر فرد در هر گروه می‌توان با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE درصد عضویت را محاسبه نمود و طبق نتایج و بر اساس روش اسپارتو و همکاران (Sparto *et al.*, 2011) یک ژنوتیپ هنگامی می‌تواند به انتساب یک گروه درآید که درصد عضویت آن بیشتر از ۰/۷ باشد و در صورتی که درصد عضویت کمتر از ۰/۶۹ باشد به عنوان ژنوتیپ مخلوط در نظر گرفته می‌شود. بر این اساس ۹۶ لاین منتسب به گروه ۱ و ۹۶ لاین منتسب به گروه ۲ شدند (جدول ۵).

در جدول ۶ نشانگرهای پیوسته به صفات مطالعه شده



شکل ۱- بار پلات ساختار جمعیت برای ژنوتیپ‌های برنج بر اساس نشانگرهای AFLP بخش‌بندی شده بر اساس K تعداد رنگ (K=2)

Figure 1- Bar plot of population structure estimates for rice genotypes assessed by AFLP markers partitioned into K-colored segments (K = 2).

جدول ۵- درصد عضویت ژنوتیپ‌های برنج بر اساس تجزیه ساختار و اطلاعات نشانگرهای AFLP

Table 5- Membership percentage of rice genotypes based on Structure analysis and AFLP markers data

ژنوتیپ Genotype	درصد عضویت گروه ۱ Membership percentage of group 1	درصد عضویت گروه ۲ Membership percentage of group 2	ژنوتیپ Genotype	درصد عضویت گروه ۱ Membership percentage of group 1	درصد عضویت گروه ۲ Membership percentage of group 2
X23	0.001	0.999	Hasan Sarei Atashgah	0.001	0.999
Bala	0.001	0.999	Lemont	0.001	0.999
IR-GKU-SA-AHM.SPD-52	0.001	0.999	TEQING	0.001	0.999
Cisedane	0.001	0.999	Zireh	0.001	0.999
Yasoj 1	0.001	0.999	Champa Boudar	0	1
Shahpasan Mazandaran	0.001	0.999	Dular	0.001	0.999
IR73885-1-4-3-2-1-10	0.009	0.991	Budda	0.001	0.999
Shahpasand	0.001	0.999	Amol 1	0.001	0.999
Co 43	0.001	0.999	Bhavani	0.001	0.999
Kohrang	0.001	0.999	Ali Kazemi	0.026	0.974
Charam 1	0.001	0.999	Rashti Sard	0.001	0.999
IR-GKU-SA- AHM.SPD-31	0.001	0.999	Giza 173	0.001	0.999
Charam 3	0.001	0.999	Hasan Saraei Pichideh Ghalaf	0.001	0.999
Salari	0.001	0.999	IR 72582-10-1-1-3-1	0	1
Domsepid	0.001	0.999	IR 72593-B-3-2-1-2	0.001	0.999
Anbarbou Ilam	0.001	0.999	Amol 2	0.001	0.999
IR-GKU-SA- AHM.SPD-39	0.002	0.998	Ghashangeh	0.001	0.999
IR-GKU-SA-AN.SPD-62	0.001	0.999	IR-GKU-SA-AN.SPD-21	0.001	0.999
Mir Tarom	0.001	0.999	IR 72579-B-2R-1-3-2	0.001	0.999
Gardeh	0.001	0.999	Dylamani	0.001	0.999
Gharib Siah Ryhani	0.001	0.999	IR-GKU-SA-AN.SPD-94	0.001	0.999
IR-GKU-SA-SH.IR28-78	0.001	0.999	Basmati 370	0.001	0.999
IR-GKU-SA-SH.IR28-1	0.001	0.999	ASD 16	0.001	0.999
IR-GKU-SA-SH.IR28-1	0.001	0.999	Sang Jo	0.001	0.999
IR-GKU-SA- AHM.SPD-45	0.001	0.999	Rashti	0.001	0.999
Charam 2	0.001	0.999	IR65192-4B-10-3	0.001	0.999
Sang Tarom	0.001	0.999	Giza 171	0.003	0.997
Hasan Saraei	0.001	0.999	IR HON-215	0.002	0.998
IR-GKU-SA- AHM.SPD-7	0.002	0.998	Yasoj 2	0.001	0.999
IR 73678-6-9-B	0.001	0.999	Ahlami Tarom	0.001	0.999
Giza 178	0.001	0.999	IR69626B	0.005	0.995
Saleh	0.001	0.999	Tarom Mahalli	0.002	0.998
Pusa (Basmati 1)	0	1	Sazandegi	0.023	0.977
Domzard	0.001	0.999	Tarom Mantagheh	0.001	0.999
Abjiboji	0.001	0.999	Ghasraldashti	0.001	0.999
Madhukar	0	1	Zayandroud	0.002	0.998

Table 5 Continued

ادامه جدول ۵

ژنوتیپ Genotype	درصد عضویت گروه ۱ Membership percentage of group 1	درصد عضویت گروه ۲ Membership percentage of group 2	ژنوتیپ Genotype	درصد عضویت گروه ۱ Membership percentage of group 1	درصد عضویت گروه ۲ Membership percentage of group 2
Mosa Tarom	0.001	0.999	Binam	0.001	0.999
Azucena	0.001	0.999	Domsiah	0.002	0.998
Nemat	0.001	0.999	Anbarbou	0.001	0.999
Dasht	0.001	0.999	Sadri	0.001	0.999
Domsorkh	0.001	0.999	IR-GKU-SA-AN.SPD-45	0.002	0.998
Tarom Fryndonkenar	0	1	Tarom Zanjan	0.002	0.998
IR-GKU-SA-SH.IR28-18	0	1	Tarom Pakotah	0.001	0.999
Gharib	0.001	0.999	Tarom Amiri	0.001	0.999
LEBANT	0.001	0.999	Zirehbandpey	0.001	0.999
Neda	0.001	0.999	Mohammadi Chaparsar	0.001	0.999
Hashemi	0.001	0.999	Domsiah Solymandarab	0.002	0.998
Hasani	0.001	0.999	Yasoj 3	0.002	0.998
IR30	0.935	0.065	IR43	0.997	0.003
Amol 3	0.989	0.011	IR24	0.999	0.001
Bojar	0.996	0.004	IR29	0.997	0.003
IR58	0.992	0.008	IR60	0.983	0.017
Spidroud	0.996	0.004	Line 416	0.997	0.003
Dorfak	0.982	0.018	Line203	0.998	0.002
Kadous	0.974	0.026	IR63295-AC209-7	0.998	0.002
Zawa Bandy	0.997	0.003	IR68897A	0.997	0.003
IR71466-75-3-B-1	0.998	0.002	Gohar	0.996	0.004
IR69513-14-SRN-1-UBN-5-5-B	0.995	0.005	IR 72593-B-13-3-3-1	0.998	0.002
IRBB60	0.999	0.001	IR 71991-3R-2-6-1	0.987	0.013
IR31802	0.997	0.003	R644	0.997	0.003
Norin	0.999	0.001	Yuanjing 7	0.991	0.009
IR69617A	0.997	0.003	Guang122	0.988	0.012
Hnankar	0.999	0.001	IR24	0.999	0.001
Manawthukha	0.996	0.004	Giza 181	0.999	0.001
Pahk maw peun meuang	0.999	0.001	Giza 159	0.997	0.003
Kasalath	0.999	0.001	Cheng-Hui 448	0.999	0.001
Rahasee	0.999	0.001	Gang 16	0.996	0.004
IR72102-4-159-1-3-3-3	0.999	0.001	Babaomi	0.994	0.006
PSBRc28	0.999	0.001	Diantun 502	0.998	0.002
IR25571	0.997	0.003	MR 159	0.963	0.037
Arjantin	0.999	0.001	MR 167	0.996	0.004
IRGC-15092-RT-1031-62	0.999	0.001	TB154E - TB - 2	0.991	0.009
Sahel	0.997	0.003	IR66946-3R7811	0.977	0.023

Table 5 Continued

ادامه جدول ۵

ژنوتیپ Genotype	درصد عضویت گروه ۱ Membership percentage of group 1	درصد عضویت گروه ۲ Membership percentage of group 2	ژنوتیپ Genotype	درصد عضویت گروه ۱ Membership percentage of group 1	درصد عضویت گروه ۲ Membership percentage of group 2
Dorodzan	0.999	0.001	IR66946-3R178-11	0.933	0.067
IRAT216	0.998	0.002	PSB RC28	0.666	0.334
IR60	0.999	0.001	PSB RC66	0.793	0.207
FUJIMINURI	0.999	0.001	Apo	0.986	0.014
Fajr	0.999	0.001	IR68899B	0.989	0.011
Sakha	0.995	0.005	IR59673-93-2-3-3R	0.985	0.015
IR 50	0.999	0.001	IR57515-PM1 8-1-1- SRW 1-1	0.985	0.015
ZENIT	0.995	0.005	IR59682-132-1-1-2	0.976	0.024
KANTU-51	0.999	0.001	IR59552-21-3-2-2	0.915	0.085
IR28	0.999	0.001	IR60819-34-2-1	0.968	0.032
IR57301-158-IR	0.998	0.002	IR62141-114-3-2-2-2	0.984	0.016
Gil 1	0.999	0.001	IR59469-B-B-3-2	0.937	0.063
IR36	0.998	0.002	IR50404-57-2-2-3	0.976	0.024
Ahvaz 1	0.998	0.002	IR55423-1	0.994	0.006
IR72	0.999	0.001	IR47686-30-3-2	0.997	0.003
IR63307-4B-24-2	0.999	0.001	IR61979-138-1-3-2-3	0.994	0.006
PSBRc50	0.999	0.001	IR64616 H	0.778	0.222
USEN	0.995	0.005	IR62829A	0.967	0.033
Gil 3	0.999	0.001	IR47686-30-3-2	0.981	0.019
IR64	0.999	0.001	IR57515-PM1 8-1-1- SRW 1-1	0.89	0.11
Shafagh	0.999	0.001	IR50404-57-2-2- 3/Pagsanjan	0.926	0.074
Shirodi	0.999	0.001	IR-GKU-SA-AN.SPD-75	0.767	0.233
PSBRc86	0.998	0.002	IR58025A	0.758	0.242

عدد بودند که در مدل سه هیچ نشانگری یافت نشد. نشانگرهای شناسایی شده در مدل های ۴ و ۵ کاملاً با هم مطابقت داشتند. نشانگر E080-M140-11 با تبیین بالای ۷ درصد در دو مدل ۱ و ۲ مشترک بود. تجزیه ساختار و همچنین تجزیه ارتباطی بر اساس اطلاعات نشانگرهای AFLP در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Dadras *et al.*, 2014). ربیعی و همکاران

هو و همکاران (Hu *et al.*, 2007) مکان‌های مرتبط با طول کلئوپتیل برنج را در شرایط تنش خشکی و نرمال با استفاده از ۱۹۵ لاین خالص نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام Zhenshan 97B و IRAT109 و ۲۱۳ نشانگر SSR مکان‌یابی کردند. در پژوهش آن‌ها ۹ QTL در شرایط تنش و ۷ QTL در شرایط نرمال ردیابی شد. در این بررسی، تعداد نشانگرهای مرتبط با درصد جوانه‌زنی ۷

SSR انجام دادند. آن‌ها اظهار کردند که بسیاری از نشانگرهای مرتبط با صفات مورد بررسی در مناطقی واقع شده که قبلاً در آن مکان QTL شناسایی شده است و نتیجه گرفتند که مکان‌یابی ارتباطی می‌تواند یک روش جایگزین مناسب برای مکان‌یابی QTL در تلاقی‌های مختلف باشد.

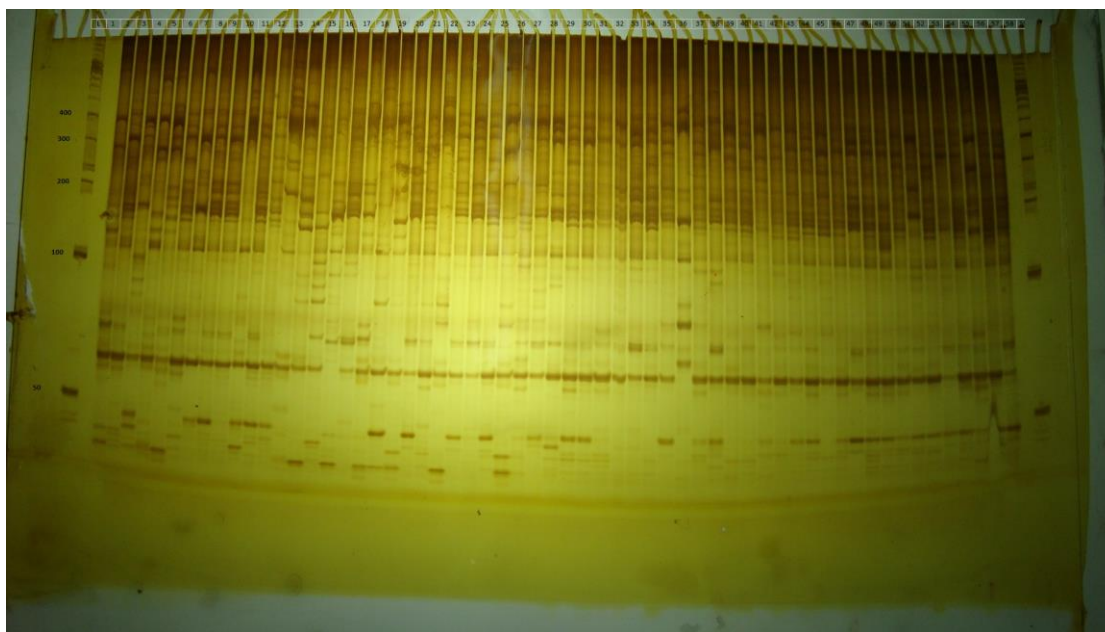
(Rabiei *et al.*, 2017) نشان دادند که برای درصد جوانه‌زنی تنها یک QTL بر روی کروموزوم ۱ در فاصله نشانگری E38-M59-4-RM1287 در شرایط تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلايکول قرار دارد. آگرام و همکاران (Agrama *et al.*, 2007) مطالعه‌ای را برای شناسایی مکان‌های مرتبط با عملکرد و اجزاء عملکرد ۹۲ توده ژرم پلاسما و ۱۱ رقم برنج با استفاده از ۱۲۳ نشانگر

جدول ۶- سطح معنی‌داری (P) و میزان واریانس توجیه شده (R^2) توسط نشانگر AFLP شناسایی شده با استفاده از تجزیه ارتباط با پنج مدل در نرم-

افزار TASSEL

Table 7- Significant level (P) and phenotypic variance explained (R^2) and by AFLP markers identified using association analysis with five models in the TASSEL software.

Trait	مدل 5 (MLM) (G+PH+Q)		مدل 4 (MLM) (G+PH)		مدل 3 (GLM) (H+PH+PC)		مدل 2 (GLM) (H+PH)		مدل 1 (GLM) (H+PH+Q)		ترکیب آغازگری Primer combination	P	R^2 (درصد)		
	P	R^2 (درصد)	P	R^2 (درصد)	P	R^2 (درصد)	P	R^2 (درصد)	P	R^2 (درصد)					
طول ریشه Length of radicle	0.008	6.3	E060-M160-2	0.008	6.3	E060-M160-2	0	4.72	E090-M140-9	0	12.15	E060-M160-11	0	7.34	E090-M140-9
	0.016	3.08	E090-M140-8	0.016	3.08	E090-M140-8	0	4.86	E120-M150-5	0	11.57	E070-M140-9	0	18.83	E080-M150-11
							0	5.64	E120-M160-8	0	13.06	E100-M140-3	0	11.96	E100-M150-8
							0	4.02	E070-M140-7	0.006	4.02	E070-M140-7	0	4.32	E070-M160-2
0.01	3.45	E070-M160-1	0.01	3.45	E070-M160-1	0	4.47	E080-M160-11	0	17.92	E060-M160-11	0	10.64	E070-M140-8	
0.001	5.45	E080-M140-10	0.001	5.45	E080-M140-10	0	5.4	E120-M150-5	0	11.78	E070-M140-9	0	10.57	E070-M160-11	
0.01	3.20	E080-M160-10	0.01	3.20	E080-M160-10	0	19.55	E080-M140-11	0	14.91	E080-M140-11	0	13.35	E080-M150-11	
طول ساقچه Plumule length	0.009	3.63	E090-M140-8	0.009	3.63	E090-M140-8	0	17.87	E080-M150-11	0	11.48	E080-M160-11	0	11.95	E080-M160-11
							0	11.48	E080-M160-11	0	11.09	E090-M140-9	0	11.09	E090-M140-9
							0	11.46	E100-M150-6	0	11.72	E100-M150-2	0	13.06	E100-M150-8
							0	11.06	E110-M150-8	0	11.77	E110-M160-12	0	0.06	E080-M140-12
0.011	3.44	E060-M150-2	0.011	3.44	E060-M150-2	0	6.35	E100-M150-9	0	0.06	E080-M140-16	0	0.05	E080-M160-17	
0.005	4.10	E100-M160-11	0.005	4.10	E100-M160-11	0	6.29	E100-M160-12	0	7.01	E110-M150-18	0	5.84	E120-M160-8	
0.009	3.55	E110-M150-17	0.009	3.55	E110-M150-17	0	7.01	E110-M150-18	0	5.84	E120-M160-8	0	5.84	E120-M160-8	
طول کولوپیت Length of coleoptile	0.005	4.07	E110-M160-20	0.005	4.07	E110-M160-20	0	5.84	E120-M160-8	0	5.84	E120-M160-8	0	5.84	E120-M160-8
							0	5.84	E120-M160-8	0	5.84	E120-M160-8	0	5.84	E120-M160-8
							0	5.84	E120-M160-8	0	5.84	E120-M160-8	0	5.84	E120-M160-8
							0	5.84	E120-M160-8	0	5.84	E120-M160-8	0	5.84	E120-M160-8
0.019	2.91	E070-M140-4	0.019	2.91	E070-M140-4	0	6.15	E080-M140-8	0	8.57	E080-M140-11	0	8.57	E080-M140-11	
0.013	3.28	E070-M150-7	0.013	3.28	E070-M150-7	0	7.32	E080-M140-11	0	7.32	E080-M140-11	0	7.32	E080-M140-11	
0.004	4.27	E080-M140-7	0.004	4.27	E080-M140-7	0	4.27	E080-M140-7	0	4.27	E080-M140-7	0	4.27	E080-M140-7	
0.01	3.02	E100-M150-11	0.01	3.02	E100-M150-11	0	3.02	E100-M150-11	0	3.02	E100-M150-11	0	3.02	E100-M150-11	
0.018	2.95	E100-M160-8	0.018	2.95	E100-M160-8	0	2.95	E100-M160-8	0	2.95	E100-M160-8	0	2.95	E100-M160-8	
درصد جوانه‌زنی Percentage of germination	0.019	2.91	E070-M140-4	0.019	2.91	E070-M140-4	0	6.15	E080-M140-8	0	8.57	E080-M140-11	0	8.57	E080-M140-11
0.013	3.28	E070-M150-7	0.013	3.28	E070-M150-7	0	7.32	E080-M140-11	0	7.32	E080-M140-11	0	7.32	E080-M140-11	
0.004	4.27	E080-M140-7	0.004	4.27	E080-M140-7	0	4.27	E080-M140-7	0	4.27	E080-M140-7	0	4.27	E080-M140-7	
0.01	3.02	E100-M150-11	0.01	3.02	E100-M150-11	0	3.02	E100-M150-11	0	3.02	E100-M150-11	0	3.02	E100-M150-11	
0.018	2.95	E100-M160-8	0.018	2.95	E100-M160-8	0	2.95	E100-M160-8	0	2.95	E100-M160-8	0	2.95	E100-M160-8	



شکل ۲- الگوی نواریندی DNA مربوط به ترکیب آغازگری E060- M160
Figure 2- Banding pattern of DNA of E060- M160 combination

جوانه‌زنی در این بررسی، از نتایج آن می‌توان در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر جهت بهبود آن‌ها استفاده نمود. با توجه به اینکه شناسایی نشانگرهای مرتبط با چندین صفت مهم می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی بسیار کاربردی باشد از این رو پیشنهاد می‌شود در سایر پژوهش‌های مربوط به برنج استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

امکانات مالی این تحقیق بر اساس طرح مصوب شماره ۶/۵۸۱ مصوب تاریخ ۹۰/۱۲/۱ دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشکده گنبد کاووس فراهم گردیده است که بدین وسیله از مدیریت پژوهشی جهت تأمین منابع مالی مراتب قدردانی اعلام می‌گردد.

نتیجه گیری کلی

در کل برای چهار صفت اندازه‌گیری شده تعداد ۵۶ نشانگر ارتباط معنی‌داری را با این صفات در سطح یک درصد نشان دادند. بالاترین ضریب تبیین به نشانگر E080-M140-11 با توجیه ۱۹/۵۵ درصد از تغییرات طول ساقه‌چه با مدل GLM اختصاص داشت. نشانگرهای E110-M150-8، E080-M150-11، E060-M160-11 و E120-M150-5 نیز مرتبط با صفات طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه شناسایی شدند. ارتباط یک نشانگر با چندین صفت، بیانگر رابطه بسیار نزدیک این صفات با همدیگر بوده و یا احتمالاً تحت تاثیر ژن‌های چند اثره قرار دارند. از نشانگرهای پیوسته به QTL های کنترل کننده مولفه‌های جوانه‌زنی، پس از تعیین اعتبار نشانگرهای پیوسته با صفات

Reference

منابع

- Agrama, H.A., G.C. Agrama, and W. Yan. 2007.** Association mapping of yield and its components in rice Cultivars. *Mol. Breed.* 19: 341–356.
- Brar, D.S., and G.S. Khush. 2002.** Transferring genes from wild species into rice. Pp: 197-217. In: Kang, M. S. (ed.) *Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breed.* Cabi.
- Breseghele, F., and M.E. Sorrells. 2006.** Association analysis as a strategy for improvement of quantitative traits in plants. *Crop Sci.* 46: 1323–1330.
- Dadras, A. R. 2012.** Evaluation of genetic diversity of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cultivars sing AFLP molecular marker. MSc. Thesis. Shahid Bahonar Univ.of Kerman, Iran. (In Persian, with English Abstract)
- Dadras, A.R., H. Sabouri, G. Mohammadi-Nejad, A. Sabouri, and M. Shoai-Deylami, 2014.** Association analysis, genetic diversity and structure analysis of tobacco based on AFLP markers. *Molecular Biology Reports*, 41(5): 3317-3329.
- Delesalle, V., and S. Blum. 1994.** Variation in germination and survival among families of *Sagittaria latifolia* in response to salinity and temperature. *Int. J. Plant Sci.* 155: 187-195.
- Evanno, G., E. Reganut, and J. Goudet. 2005.** Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611-2620.
- Foti, S., S.L. Cosentino, C. Patane, and G.M.D. Agosta. 2002.** Effects of osmoconditioning upon seed germination of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) under low temperatures. *Seed Sci. Technol.* 30: 521-533.
- Hu, S.P., H. Yang, G.H. Zou, H.Y. Liu, G.L. Liu, H.W. Mei, C. Run, M.S. Li, and L.J. Luo. 2007.** Relationship between coleoptile length and drought resistance and their QTL mapping in rice. *Rice Sci.* 14: 13-20.
- Ivandic, V., C.A. Hackett, E. Nevo, R. Keith, W.T.B. Thomas, and B.P. Forster. 2002.** Analysis of simple sequence repeats (SSRs) in wild barley from the Fertile Crescent: associations with ecology, geography and flowering time. *Plant Mol. Biol.* 48: 511–527.
- Liu, G., Z. Zhang, H. Zhu, F. Zhao, X. Ding, R. Zeng, W. Li, and G. Zhang. 2008.** Detection of QTLs with additive effects and additive by environment interaction effects on panicle number in rice (*Oryza sativa* L.) with single-segment substitution lines. *Theor. Appl. Genet.* 116: 923–931.
- Mardani, Z., B. Rabiei, H. Sabouri, and A. Sabouri. 2013.** Mapping of QTLs for germination characteristics under non-stress and drought stress in rice. *Rice Sci.* 20(6): 391-399.
- Naghavi M. R., B. Gharehyazi, and Gh. Hossein, 2009.** *Molecular Markers.* Tehran University Pree. 340 pp. (In Persian)
- Pritchard, J. K., M. Stephens, N.A. Rosenberg, and P. Donnelly. 2000.** Association mapping in structured populations. *Am. J. Hum. Genet.* 67: 170-181.
- Rabiei, B., Z. Mardani, Kh. Ghomi, H. Sabouri, and A. Sabouri. 2017.** The Effect of Rice Chromosome 1 on Traits Associated with Drought and Salinity Tolerance at Germinating and Seedling Stage. *Seed and Plant Improv.* 1 (30): 1-16. (In Persian, with English Abstract)
- Raiesi, T., and A. Sabouri. 2015.** Validation and association analysis of microsatellite markers related to drought and salinity tolerance in aerobic and Iranian rice under osmotic stress. *Crop Biotech.* 10: 57-72. (In Persian, with English Abstract)
- Rashidi Monfared, S., M. Mardi, A. H. Hossinzade, and M. R. Naghavi. 2011.** Communication breakdown between important agronomic traits and retrotransposon SSAP markers in samples of durum wheat. *Genet. novin.* 3 (2): 29-35. (In Persian, with English Abstract)
- SaghaiMaroof, M. A., R. M. Biyashev, G. P. Yang, Q. Zhang, and R. W. Allard. 1994.** Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. Am.* 91: 5466-5570.

- Sayyed Tabatabaei B.A., and A.A. Shahnejat-Boshehri, 2003.** Barlet genetic linkage map based on AFLP. Iranian J. Crop Sci. 34(1): 9-18. (In Persian, with English Abstract)
- Shalini, K.V., S. Manjuathan, P. Lebrun, A. Berger, L. Baudouin, N. Pirany, R.M. Ranganatha, and D. Theertha Prasad. 2007.** Identification of molecular markers associated with mite resistance in coconut (*Cocos nucifera* L.). Genome. 50: 35-42.
- Spataro, G., B. Tiranti, P. Arcaleni, E. Bellucci, G. Attene, R. Papa, P. Spagnoletti Zeuli, and V. Negri, 2011.** Genetic diversity and stucture of a worldwide collection of *Phaseolus coccineus* L. Theor. Appl. Genet. 122: 1281-1291.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T.V.D. Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995.** AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. 23: 4407-4414.
- Zeng, D.L., L.B. Guo, Y.B. Xu, K. Yasukumi, L.H. Zhu, and Q. Qian. 2006.** QTL analysis of seed storability in rice. Plant Breed. 125: 57-60.
- Zhang, Z.H., S.B. Yu, T. Yu, Z. Huang, and Y.G. Zhu. 2005.** Mapping quantitative trait loci (QTLs) for seedling Vigor using recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.). Field Crop Res. 91: 161-170.