

ارزیابی ژنتیکی صفت طول خورجین در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) از طریق تجزیه میانگین نسل ها و نشانگرهای RAPD

Genetic assessment of silique length in rapeseed (*Brassica napus* L.) using generation mean analysis and RAPD markers

زهرا یوسفی^۱، نادعلی بابائیان جلودار^۲ و سید کمال کاظمی تبار^۳

چکیده

یوسفی، ز.، ن. ع. بابائیان جلودار و س. ک. کاظمی تبار. ۱۳۹۱. ارزیابی ژنتیکی صفت طول خورجین در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) از طریق تجزیه میانگین نسل ها و نشانگرهای RAPD. مجله علوم زراعی ایران. ۱۴(۱): ۸۳-۷۲.

در برنامه‌های به‌نژادی کلزا جهت دستیابی به ارقامی با طول خورجین بلندتر و انتقال این صفت به ارقام پیشرفته جهت افزایش عملکرد آنها، آگاهی از نحوه توارث و عمل ژن در این صفت بسیار مؤثر است. به منظور بررسی توارث پذیری این صفت آزمایشی در سال زراعی ۸۶-۱۳۸۵ در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری اجرا و داده‌های حاصل از تلاقی دو به دوی سه رقم والدینی کلزا با اسامی Foseto، Option 500 و Goliath و نسل‌های F1، F2 و F3 حاصل از تلاقی دو به دوی آنها جمع آوری شده و با استفاده از روش تجزیه میانگین نسل‌ها، اثرهای ژنی مربوط به طول خورجین در آنها برآورد شد. نتایج این آزمایش نشان داد که در گیاه کلزا صفت طول خورجین بلند، عمدتاً توسط اثرهای غالبیت ژن‌ها به ارث می‌رسد و اثرهای متقابل اپیستازی از نوع غالبیت در غالبیت نیز در توارث آن مؤثر می‌باشد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل مولکولی نشان داد که دو آغازگر RAPD (UBC_248 و UBC_83) با صفت طول خورجین بلند همبسته بوده به طوری که در لاین‌هایی با طول خورجین بلند باند ۴۷۰ bp توسط آغازگر UBC_83 و باند ۶۸۰ bp توسط آغازگر UBC_248 تکثیر شدند. از این رو به نظر می‌رسد که می‌توان از این دو آغازگر در برنامه‌های به‌نژادی کلزا جهت شناسایی ارقام و لاین‌هایی با طول خورجین بلند و گزینش این نوع ژنوتیپ‌ها در نسل‌های مختلف، بهره‌برداری کرد.

واژه‌های کلیدی: اثرهای ژنی، توارث پذیری، طول خورجین، کلزا و نشانگر RAPD.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱/۲۸

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و مدرس دانشگاه علمی کاربردی شاهرود- بسطام. عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: zahra_youssefi@yahoo.com)

۲- استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقدمه

در زراعت کلزا عملکرد روغن تحت تأثیر مستقیم عملکرد دانه قرار می‌گیرد، به صورتی که همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = 0.99^{**}$) بین عملکرد دانه و عملکرد روغن گزارش شده است (Eilkaee and Emam, 2003). یکی از مهم‌ترین اهداف به‌نژادی در کلزا، افزایش عملکرد در واحد سطح می‌باشد. یکی از راه‌های افزایش عملکرد، اصلاح صفات مطلوب و مؤثر بر عملکرد است. عملکرد دانه یک صفت چندژنی است که انتخاب مستقیم برای به‌نژادی آن چندان مؤثر نبوده و تنها انتخاب روی اجزای آن می‌تواند مفید واقع گردد (Falconer, 1989). طول خورجین یکی از مهم‌ترین صفات تعیین‌کننده میزان محصول در کلزا محسوب می‌شود (Samizadeh et al., 2003). ارقامی با خورجین‌های بلندتر به طور معنی‌داری محصول بیشتری نسبت به ارقام با خورجین کوتاه‌تر تولید می‌کنند. از این رو انتخاب ارقامی با خورجین بلندتر می‌تواند گام مهمی در جهت افزایش عملکرد کلزا باشد و به طور قابل توجهی عملکرد آن را بهبود بخشد. اطلاع از نحوه کنترل ژنتیکی این صفت جهت انتخاب روش به‌نژادی و راهبردی مناسب آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. یکی از روش‌های تجزیه ژنتیکی، تجزیه میانگین نسل‌ها می‌باشد. در تجزیه و تحلیل میانگین نسل‌ها برای محاسبه ژنتیکی از میانگین نسل‌های مختلف استفاده می‌گردد (Choukan, 2002) و در این روش می‌توان علاوه بر اثر ژن‌های افزایشی و غالبیت، اثر متقابل بین مکان‌های ژنی را نیز برآورد نمود.

هاو کینز و همکاران (Hawkins et al., 2005) گزارش کردند که طول خورجین می‌تواند تأثیر مثبتی روی محصول نهایی کلزا داشته باشد. طول خورجین به وسیله دو ژن غالب مستقل کنترل می‌شود و آغازگر UBC_248 را پیوسته با صفت طول خورجین معرفی

نمودند. هاشمی (Hashemi, 2006) گزارش کرد که معنی‌دار شدن نسبت میانگین مربعات $\frac{GCA}{SCA}$ برای صفت طول خورجین نشان دهنده اهمیت اثر غالبیت ژن‌ها در کنترل این صفت می‌باشد. ون لیانگ (Wenliang, 2000) بیان داشت که صفت طول خورجین، با ژن‌های هسته کنترل می‌شود و به طور معنی‌داری تحت تأثیر غالبیت ژن‌ها است. رائو (Rao, 1977) با اجرای آزمایشی روی شلغم روغنی اثر غالبیت ژن‌ها را برای صفت طول خورجین گزارش نمود.

استفاده توأم از روش‌های اصلاحی کلاسیک با انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی، احتمال موفقیت در انتخاب برای صفت طول خورجین بلند را به مراتب بیشتر نموده و با کاهش دادن طول برنامه‌های اصلاحی، بر سرعت دستیابی به لاین‌های برتر می‌افزاید. با توجه به اینکه با استفاده از نشانگرهای مولکولی همبسته با صفت مورد نظر، انتخاب روی توان ژنتیکی بوته مورد نظر صورت می‌گیرد، قابلیت اعتماد به این انتخاب افزایش خواهد یافت.

در این آزمایش آغازگرهای مولکولی شناخته شده و همبسته با صفت طول خورجین در کلزا جهت برآورد میزان مفید بودن آنها، به منظور انتخاب لاین‌هایی با طول خورجین بلند مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

گیاهان F_1 ، F_2 و F_3 حاصل از تلاقی دو به دوی سه رقم والدینی کلزا، (Foseto، 500 Option و Goliath) به همراه والدین در پاییز سال ۱۳۸۵ در سه تکرار در کرت‌های جداگانه در قالب طرح کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری کشت شدند. گیاهان کشت شده تقریباً ۵ هفته پس از گلدهی از نظر طول خورجین مورد بررسی قرار گرفتند. از بین هر جمعیت ۷۵ بوته که حداقل طول

خورجین (۷۰ میلی متر) را دارا بودند، برای آزمایش های بعدی انتخاب شدند. بوته های مورد نظر شماره گذاری و با نصب علامت مشخص شدند.

استخراج DNA

برای استخراج DNA از ۵۰۰ میکروگرم از بافت برگ گی جوان و از روش CTAB استفاده شد (Doyle and Doyle, 1987). کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد تعیین گردید.

آغاز گر ها

در این آزمایش از دو آغاز گر UBC_83 (Samizadeh et al., 2003) و UBC_248

هورجین (۷۰ میلی متر) را دارا بودند، برای آزمایش های بعدی انتخاب شدند. بوته های مورد نظر شماره گذاری و با نصب علامت مشخص شدند.

استخراج DNA

برای استخراج DNA از ۵۰۰ میکروگرم از بافت برگ گی جوان و از روش CTAB استفاده شد (Doyle and Doyle, 1987). کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد تعیین گردید.

آغاز گر ها

در این آزمایش از دو آغاز گر UBC_83 (Samizadeh et al., 2003) و UBC_248

واکنش زنجیره ای پلیمرز

حجم کلی محلول و مواد مورد نیاز واکنش ۲۱ میکرولیتر در نظر گرفته شده، در جدول یک ارائه شده است. برنامه تکثیر قطعات DNA در ترموسایکلر نیز در جدول دو نشان داده شده است (Samizadeh et al., 2003 ; Hawkins et al., 2005).

واکنش زنجیره ای پلیمرز

حجم کلی محلول و مواد مورد نیاز واکنش ۲۱ میکرولیتر در نظر گرفته شده، در جدول یک ارائه شده است. برنامه تکثیر قطعات DNA در ترموسایکلر نیز در جدول دو نشان داده شده است (Samizadeh et al., 2003 ; Hawkins et al., 2005).

آغاز گر ها

در این آزمایش از دو آغاز گر UBC_83 (Samizadeh et al., 2003) و UBC_248

جدول ۱- اجزای واکنش PCR (غلظت نهایی ۲۱ میکرولیتر)

Tabel 1. PCR reaction components (final volume 21 µl)

PCR components	Taq DNA polymerase	آغاز گر Primer	dNTPs	کلرید منیزیم MgCl ₂	PCR buffer
	1.5 U.µl ⁻¹	0.4 mM	0.2 mM	5 mM	1X

جدول ۲- چرخه دمایی برنامه ریزی شده جهت تکثیر PCR

Table 2. Thermal cycler programed for PCR amplifications

طبع برگشتی اولیه Per-heating	۴۵ سیکل 45 Cycles	بسط نهایی Final extension
1 min. and 30 sec. at 94 °C	1 min. at 72 °C 45 sec. at 42 °C	30 sec. at 94 °C 1 min. at 72 °C

جهت بررسی چگونگی توارث پذیری صفت طول خورجین و انجام تجزیه ژنتیکی، ابتدا تجزیه واریانس ساده این صفت برای هر سه تلاقی شامل: تلاقی اول 500 × Option Foseto، تلاقی دوم 500 × Goliath Foseto و تلاقی سوم 500 × Option Foseto، با استفاده از برنامه SAS (V: 9.1) انجام شد. درجه غالبیت صفت طول خورجین در هر سه تلاقی با استفاده از رابطه $\sqrt{\frac{H}{D}}$ برآورد شد (Sadat Noori and Fazel Najafabadi, 2006). وراثت پذیری عمومی با استفاده از روش محمود و کارمر (Mahmud and Karmer, 1951) بر طبق رابطه ۱ برآورد شد:

تجزیه داده ها

از هر کرت مربوط به سه رقم والدینی و همچنین نسل های F₁، F₂ و F₃ حاصل از تلاقی دو به دوی این سه رقم والدینی که به طور جداگانه در مزرعه کشت شده بودند، چند بوته به صورت تصادفی انتخاب شدند. گیاهان انتخابی در مرحله رسیدگی کامل از نظر صفت طول خورجین مورد بررسی قرار گرفته و یادداشت برداری های لازم صورت گرفت. داده های مربوط به نسل های مختلف در نرم افزار Excel وارد شده و از آنجا که وجود تنوع بین ژنوتیپ ها، پیش نیاز انجام تجزیه و تحلیل های ژنتیکی می باشد،

نتایج و بحث

نتایج صفات کمی

نتایج تجزیه واریانس ساده نشان داد که در مورد صفت طول خورجین در گیاه کلزا، در هر سه تلاقی مورد بررسی تفاوت معنی داری بین ژنوتیپ‌ها (والدین، نسل‌های F_1 ، F_2 و F_3) وجود داشت (جدول ۳). در تلاقی اول و سوم این تفاوت در سطح احتمال یک درصد معنی دار و در تلاقی دوم معنی داری در سطح احتمال پنج درصد بود. به دلیل وجود تفاوت معنی دار بین ژنوتیپ‌ها اجرای تجزیه و تحلیل ژنتیکی در مراحل بعدی امکان پذیر شد. در هر تلاقی مقایسه انجام شده شامل مقایسه والدین تلاقی با نسل‌های F_1 ، F_2 و F_3 بود.

$$h_{bs}^2 = V_{F_2} - \sqrt{V_{P_1} \times V_{P_2}} / V_{F_2} \quad (1)$$

با توجه به اینکه در این تحقیق داده‌های نسل F_3 در دسترس بود، اما داده‌های بک کراس یک (BC_1) و بک کراس دو (BC_2) وجود نداشت، از مدل ۵ پارامتری متر و جینکز استفاده شد (Farshadfar, 1998; Mather and Jinks, 1982). در این مدل با توجه به اطلاعات حاصل از نسل‌های والدینی و اطلاعات مربوط به نسل‌های F_1 ، F_2 و F_3 حاصل از هر یک از تلاقی‌ها در هر سه تکرار انجام شده، پارامترهای m (میانگین نسل‌ها)، d (اثرات افزایشی ژن‌ها)، h (اثرات غالبیت)، i (اثر متقابل افزایشی در افزایشی) و l (اثر متقابل غالبیت در غالبیت) برآورد شدند. معنی دار بودن این پارامترها با استفاده از آزمون t بررسی شد.

جدول ۳- تجزیه واریانس صفت طول خورجین در نسل‌های حاصل از سه تلاقی کلزا

Table 3. Analysis of variance for silique length in generation of three crosses in rapeseed

Crosses	تلاقی‌ها	S.O.V. منایم تغییر	
		Generations نسل‌ها (d.f=4)	Error اشتباه آزمایشی (d.f=10)
Foseto × Option 500	تلاقی اول	102.769**	13.015
Foseto × Goliath	تلاقی دوم	87.452 *	21.974
Option500 × Goliath	تلاقی سوم	137.079 **	21.480

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

داده‌های نسل F_3 مدل ۵ پارامتری متر و جینکز (Farshadfar, 1998; Mather and Jinks, 1982) شامل m ، d ، h ، i و l جهت برآزش داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۴). مقدار m برابر با اثر تمام ژن‌هایی است که

توارث صفت طول خورجین

برآورد اثرهای اپیستازی برای صفت طول خورجین نشان داد که مدل ساده سه پارامتری (افزایشی غالبیت) شامل m ، d و h ، برای توجیه اثرهای ژنتیکی این صفت کفایت نمی کند و با توجه به در دسترس بودن

جدول ۴- برآورد پارامترهای ژنتیکی برای صفت طول خورجین کلزا در مدل ۵ پارامتری

Table 4. Estimation of genetic parameters for silique length in rapeseed in five parametric models

Crosses	تلاقی‌ها	$t_{(m)}$	$t_{(d)}$	$t_{(h)}$	$t_{(i)}$	$t_{(l)}$
Foseto × Option 500	تلاقی اول	154.31 **	-0.019 ns	-12.86 **	0.63 ns	1.92 ns
Foseto × Goliath	تلاقی دوم	177.40 **	0.28 ns	-8.47 **	7.57 **	1.92 ns
Option500 × Goliath	تلاقی سوم	35.60 **	0.38 ns	-2.95 **	3.80 **	0.03 ns

ns : Not significant,

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

ns: غیر معنی دار

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

معنی دار شدن $t_{(i)}$ [اثر متقابل نوع افزایشی $\times$ افزایشی] در هر سه تلاقی نشان می دهد که این پارامتر در کنترل صفت طول خورجین اهمیت چندانی ندارد.

معنی دار شدن توأم $t_{(h)}$ و $t_{(l)}$ در توارث صفت طول خورجین در گیاه کلزا دلیل محکم تری را مبنی بر مؤثر بودن اثرات غالبیت ژن در کنترل صفت مورد نظر فراهم می نماید. وجود اثرات اپیستازی غالبیت در غالبیت در توارث این صفت، بیانگر لزوم به تعویق انداختن انتخاب برای صفت طول خورجین بلند تا چند نسل می باشد (Pahlavani et al., 2005).

در صورتی که برای یک صفت اثر غالبیت $t_{(h)}$ و اثر متقابل غالبیت در غالبیت $t_{(l)}$ به طور توأم معنی دار باشند، نشان می دهد که اثر متقابل اپیستازی از نوع مضاعف (Duplicate type) (۱۵:۱) و یا از نوع تکمیلی (۹:۷) در کنترل صفت مورد بررسی دخیل می باشد. حال اگر $t_{(h)}$ و $t_{(l)}$ هم علامت باشند اثر متقابل از نوع تکمیلی و اگر از نظر علامت مخالف هم باشند اثر متقابل از نوع مضاعف می باشد که این نوع اپیستازی، مشکلی را در جهت گزینش بونه های مطلوب ایجاد نمی کند (Choukan, 2008). با توجه به اینکه در این آزمایش در هر سه تلاقی $t_{(h)}$ و $t_{(l)}$ از نظر علامت مخالف هم بودند، نتیجه گرفته می شود که اثر متقابل از نوع مضاعف، در توارث صفت طول خورجین مؤثر می باشد. از آنجا که اثر اپیستازی از نوع مضاعف روند پیشرفت اصلاحی را کند می نماید، تثبیت صفت طول خورجین بلند در کلزا نیازمند انجام تلاقی های مکرر جهت رسیدن به هیبریدهایی است که حداکثر بهره مندی را از ژن های مطلوب والدین داشته باشند. از سوی دیگر جهت دستیابی به این هدف، انتخاب گیاهان مطلوب باید در نسل های پیشرفته اصلاحی صورت گیرد.

در این آزمایش در هر سه تلاقی، مقدار جزء غالبیت از جزء افزایشی بیشتر بود که این موضوع نشان می دهد جهت دستیابی به اهداف اصلاحی مورد نظر، انجام دورگ گیری (هیبریداسیون) برای این صفت،

در هر دو ژنوتیپ به صورت مشترک وجود دارند. (Sadat Noori and Fazel Najafabadi, 2006). هرگاه در تجزیه و تحلیل یک صفت، $t_{(m)}$ معنی دار باشد نشان دهنده این است که در بروز صفت مورد نظر، اثر ژنتیکی و ژن های هسته بسیار بالاست و اثر سیتوپلاسمی یا مادری در بروز صفت نقش مهمی ندارند. در این آزمایش در هر سه تلاقی $t_{(m)}$ در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود، نتیجه اینکه در بروز صفت طول خورجین در گیاه کلزا، اثرهای ژنتیکی و ژن های هسته نقش مهمی دارند. این موضوع با نتایج ون لیانگ (Wenliang, 2000) و سمیع زاده و همکاران (Samizadeh et al., 2003) که گزارش کردند صفت طول خورجین، با ژن های هسته کنترل می شود و نتایج استرینگام و بینگ (Stringam and Bing, 1994) که عنوان نمودند اثر سیتوپلاسمی در کنترل این صفت بسیار ناچیز است، مطابقت دارد. عدم معنی دار شدن $t_{(d)}$ [اثر افزایشی] در هر سه تلاقی بیانگر این موضوع می باشد که اثر افزایشی در کنترل این صفت تأثیر چندانی ندارد و همچنین معنی دار شدن $t_{(h)}$ [اثر غالبیت] (در سطح احتمال یک درصد) در هر سه تلاقی مبین این موضوع می باشد که اثر غالبیت ژن ها در توارث این صفت نقش مؤثرتر و بیشتری داشته و اثر غالبیت ژن ها در کنترل و بروز این صفت سهم مهم و بیشتری را دارا می باشد و این صفت توسط ژن هایی با اثر غالبیت به ارث می رسد. این موضوع با نتایج هاوکینز و همکاران (Hawkins et al., 2005)، ون لیانگ (Wenliang, 2000)، هاشمی (Hashemi, 2006) و رائو (Rao, 1977) که اثر غالبیت ژن را در کنترل این صفت مؤثر گزارش کرده اند، مطابقت دارد.

$t_{(l)}$ [اثر متقابل غالبیت $\times$ غالبیت] در تلاقی اول غیرمعنی دار، ولی در دو تلاقی دوم و سوم در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. این موضوع نشان می دهد که اثر متقابل غالبیت در غالبیت در توارث صفت طول خورجین نقش مؤثری را ایفا می کند. عدم

جدول ۵- برآورد درجه غالبیت در سه تلاقی مورد بررسی در کلزا

Table 5. Estimation of degree of dominance in three crosses in rapeseed

Degree of dominance		درجه غالبیت
Option500 × Goliath	Foseto × Goliath	Foseto × Option 500
-1.86	1.26	-2.12

مؤثرتر از انتخاب خواهد بود.

درجه غالبیت

از یک، نشان دهنده اهمیت جزء غالبیت می باشد (Miller and Pikett, 1956). کمتر بودن مقدار واریانس افزایشی [d] از واریانس غالبیت [h] نشان دهنده این است که گزینش در شرایط خودگشنی برای صفت مورد مطالعه قابل تثبیت نیست و برای اصلاح این صفت انجام تلاقی و اداره جامعه بعد از آن، مؤثرتر از روش انتخاب خواهد بود (Pahlavani *et al.*, 2005). بنابراین گزینش تحت شرایط خودگشنی در مورد صفت طول خورجین قابل تثبیت نمی باشد، بلکه اثر هتروزیس کاهنده و افزایش در بروز صفت تأثیر دارند. علامت مثبت در یک تلاقی و علامت منفی در تلاقی دیگر نشان می دهد که اثر غالبیت در دو جهت افزایشی و کاهشی روی صفت تأثیر می گذارند.

برآورد وارث پذیری عمومی صفت طول خورجین بلند

وارث پذیری عمومی برآورد شده برای صفت طول خورجین در هر سه تلاقی در جدول ۶ ارائه شده است.

درجه غالبیت صفت طول خورجین در هر سه تلاقی برآورد شده در جدول ۵ نشان داده شده است. نسبت $\left[\frac{h}{d}\right]$ (درجه غالبیت)، اندازه درجه غالبیت آلل ها، در یک مکان ژنی را نشان می دهد (Sadat Noori and Fazel Najafabadi, 2006). بالا بودن درجه غالبیت در صفت طول خورجین بیانگر وجود اثرات غالبیت تا فوق غالبیت در کنترل آن صفت می باشد (Sadat Noori and Fazel najafabadi, 2006). همان طور که ملاحظه می شود درجه غالبیت در هر سه تلاقی بزرگتر از یک می باشد که این موضوع حاکی از آن است که نقش اثر غالبیت ژن ها در کنترل و بروز صفت طول خورجین نسبت به اثرات افزایشی ژن ها بیشتر و مهم تر می باشد. بزرگتر بودن جزء غالبیت نسبت به جزء افزایشی در صفت طول خورجین در هر سه تلاقی و همچنین درجه غالبیت بزرگ تر

جدول ۶- برآورد وارث پذیری عمومی در سه تلاقی مورد بررسی در کلزا

Table 6. Estimation of broadsense heritability in three crosses in rapeseed

وارث پذیری عمومی (h_b)		
Option500 × Goliath	Foseto × Goliath	Foseto × Option 500
71.30	76.22	80.04

طریق هیبریداسیون بالا خواهد بود، این موضوع تأثیر انتخاب همراه با تلاقی را بر صفت طول خورجین افزایش خواهد داد. این موضوع با نتایج ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2006)، فاروق و همکاران (Farooq *et al.*, 2006)، دیپن بروک (Diepenbrock, 2000)، هاشمی (Hashemi, 2006) و

صفت طول خورجین در هر سه تلاقی دارای وارث پذیری عمومی بالایی می باشد و از آنجا که وارث پذیری میزان انتقال صفت را به نسل های بعدی نشان می دهد، می توان اظهار داشت که اثرهای محیطی در بروز صفت طول خورجین در کلزا نقش چندانی نداشته و قابلیت انتقال این صفت به نسل های بعدی از

استرینگام و بینگ (Stringam and Bing, 1994)، مبنی بر وارث پذیری عمومی بالا در صفت طول خورجین در کلزا، مطابقت دارد.

اینکه آغازگر UBC_248 همبسته با صفت طول خورجین در کلزا می باشد (شکل های ۳ و ۴). نتایج کلی این تحقیق حاکی از آن است که صفت طول خورجین در گیاه کلزا تحت تأثیر اثرات ژنوتیپی بوده و اثرات سیتوپلاسمی و مادری در کنترل این صفت دخالت چندانی ندارند. صفت طول خورجین بلند در کلزا توسط اثر غالبیت ژن ها به ارث می رسد و اثر متقابل ایستازی غالبیت در غالبیت نیز در توارث آن مؤثر می باشد. صفت طول خورجین از درجه غالبیت بالاتر از یک برخوردار بوده و همچنین دارای وارث پذیری عمومی بالایی نیز می باشد که هر دوی این عوامل مؤید این است که اثر غالبیت ژن در کنترل صفت طول خورجین نقش اصلی را دارا می باشد. معنی دار بودن اثر غالبیت در این صفت بدین معنی است که می توان در نتایج این تلاقی ها از پدیده هتروزیس استفاده نمود و هیبریدهایی با طول خورجین بلندتر از والدین را به وجود آورد (Pahlavani *et al.*, 2005).

در مواردی که درجه غالبیت به منظور اندازه گیری بیش از یک ژن به کار برده شود، نسبت $\left[\frac{h}{d} \right]$ به عنوان توانایی نسبی والدین (Potence ratio) نامیده می شود (Sadat Noori and Fazel Najafabadi, 2006). در مورد صفاتی که والدین در بیش از یک ژن اختلاف دارند، $\Sigma(h)$ مجموع اثر غالبیت ژن ها نیست، بلکه توازن بین h هایی است که اثر آنها در جهت ازدیاد و h های که اثر آنها در جهت کاهش صفت هستند؛ می باشد، از این رو مقدار (h) یا انحراف $\overline{F_1}$ از متوسط والدین (m) می تواند بسته به توازن بین h های افزایشنده و h های کاهشنده، مثبت و یا منفی باشد (Sadat Noori and Fazel Najafabadi, 2006). در مواردی که مقدار درجه غالبیت منفی می باشد، نشان دهنده برتری نسبی والدین است.

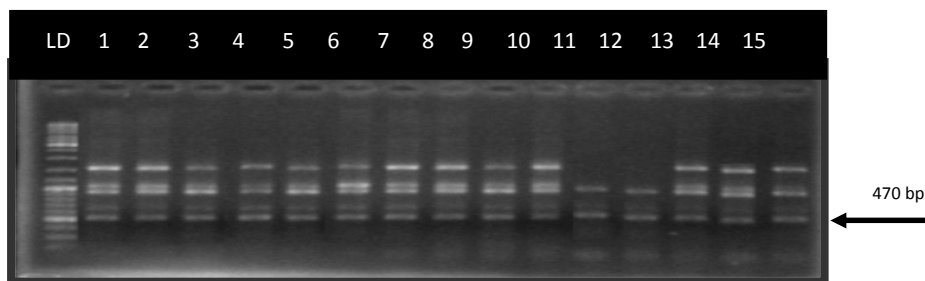
نتایج تجزیه مولکولی

نتایج مربوط به آغازگر UBC_83

نتایج تکثیر PCR نشان داد که آغازگر UBC_83 در یک جمعیت F_3 که شامل ژنوتیپ هایی با طول خورجین بین ۷۴-۱۰۷ میلی متر می باشد، قادر است آنهایی را که دارای طول خورجین بیش از ۸۵ میلی متر می باشند را به عنوان ژنوتیپ های خورجین بلند شناسایی نماید. این آغازگر در واکنش PCR مربوط به این ژنوتیپ باند ۴۷۰ جفت بازی را تکثیر نمود. این موضوع با نتایج سمیع زاده و همکاران (Samizadeh *et al.*, 2003) مطابقت دارد و تأییدی است بر اینکه آغازگر UBC_83 همبسته با صفت طول خورجین بلند می باشد و می تواند جهت شناسایی ارقام و لاین هایی با طول خورجین بلند مورد استفاده قرار گیرد. از این رو می توان از این آغازگر در برنامه های اصلاحی به منظور انتخاب صفت طول خورجین که به عنوان یکی از اجزای مهم عملکرد در کلزا می باشد، استفاده نمود تا از این طریق با کوتاه نمودن زمان اصلاحی به طور غیر مستقیم عملکرد دانه و مقدار روغن افزایش داد (شکل های ۱ و ۲).

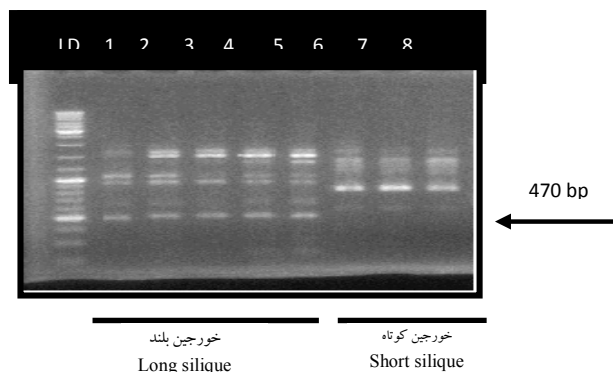
نتایج مربوط به آغازگر UBC_248

نتایج تکثیر PCR نشان داد که آغازگر UBC_248 در جمعیت مورد بررسی F_3 که شامل ژنوتیپ هایی با طول خورجین بین ۷۴-۱۰۷ میلی متر می باشند قادر است ژنوتیپ هایی را که طول خورجین آنها بیش از ۹۲ میلی متر می باشد را به عنوان ژنوتیپ های خورجین بلند شناسایی کرده و در واکنش PCR مربوط به این ژنوتیپ ها، باند ۶۸۰ جفت بازی را تکثیر نماید. این موضوع با نتایج هاو کینز و همکاران



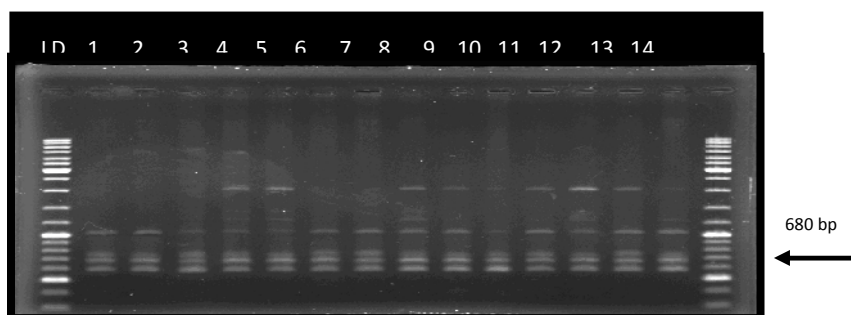
شکل ۱- الگوی بانندی ایجاد شده توسط آغازگر (UBC_83) RAPD در کلزا

Fig.1. Band profiles produced by RAPD marker (UBC_83), in rapeseed



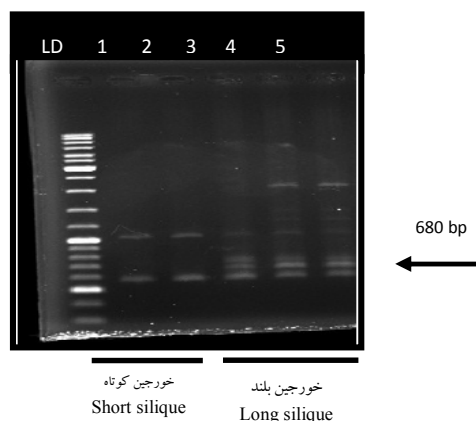
شکل ۲- آنالیز RAPD، ۵ لاین با طول خورجین بلند و ۳ لاین با طول خورجین کوتاه با آغازگر (UBC_83) RAPD

Fig. 2. RAPD analysis of five long silique lines and tree short silique lines with UBC 83 primer



شکل ۳- الگوی بانندی ایجاد شده توسط آغازگر (UBC_248) RAPD در کلزا

Fig. 3. Band profiles produced by RAPD marker (UBC_248), in rapeseed



شکل ۴- آنالیز RAPD، ۲ لاین با طول خورجین کوتاه و ۳ لاین با طول خورجین بلند با آغازگر (UBC_248) RAPD

Fig. 4. RAPD analysis of two long silique lines and tree short silique lines with UBC 248 primer

را بوجود می آورند، نمود. جهت اصلاح صفت طول خورجین در کلزا انجام دورگ گیری و تلاقی دی ال ال مفیدتر از انتخاب در نسل های اولیه خواهد بود.

با توجه به اثر غالبیت ژن و اثر غالبیت در غالبیت ژن ها، اصلاح صفت مورد نظر از طریق روش های کلاسیک اصلاح نباتات ساده نبوده و به صرف مخارج بالا و کار زیاد نیاز دارد، زیرا امکان دارد نتایج لاین های انتخاب شده در نسل های بعد تفکیک یافته و تثبیت این صفت در جامعه نیاز به اداره کردن جامعه بعد از تلاقی تا دستیابی به نسل های پیشرفته و سپس انتخاب در این نسل ها داشته باشد و این موضوع مستلزم صرف وقت و تقبل هزینه های بالا خواهد بود. از این رو همراه کردن روش های اصلاحی کلاسیک با انتخاب به کمک آغازگرهای مولکولی، شانس موفقیت در انتخاب برای صفت طول خورجین بلند را به مراتب بیشتر خواهد کرد و ضمناً با کوتاه نمودن زمان انتخاب لاین های برتر، طول مدت برنامه های اصلاحی کاهش خواهد یافت. چرا که می توان از طریق این آغازگرها بدون صرف وقت و هزینه بالا جهت بررسی صفات مورفولوژیکی و نمونه برداری در مراحل پایانی رشد گیاهان، در همان مراحل اولیه رشد گیاه، اقدام به گزینش بوته ها و سپس انتخاب بوته های مطلوب از نظر صفت مورد نظر و حذف بوته های نامطلوب نمود. همچنین با توجه به اینکه در صورت استفاده از آغازگرهای مولکولی همبسته با صفت طول خورجین بلند در کلزا (مانند UBC_83 و UBC_248)، انتخاب روی توان ژنتیکی آن بوته صورت می گیرد (نه خصوصیات مورفولوژیکی)، بنابراین استفاده از روش های مولکولی همراه با اصلاح کلاسیک جهت انتخاب بوته های با خورجین بلند مطمئن تر بوده و این انتخاب از قابلیت اعتماد بیشتری برخوردار خواهد بود.

علامت جبری پارامتر غالبیت در مدل ژنتیکی نشان دهنده جهت غالبیت می باشد (Mather and Jinks, 1982). مثبت بودن درجه غالبیت بدین مفهوم است که غالبیت برای صفت مورد بررسی به طرف والدی که دارای میانگین بالاتری است، اتفاق افتاده است و در صورت منفی بودن این نسبت مفهوم آن این است که غالبیت به طرف والدی اتفاق افتاده که دارای میانگین کوچک تری برای صفت مورد بررسی می باشد (Mostafavi et al., 2005). در این آزمایش علامت t_d در تلاقی اول منفی و در تلاقی دوم و سوم مثبت بوده، این موضوع نشان می دهد که در تلاقی اول والد (P_2) Option 500، نسبت به والد (P_1) Foseto در مورد صفت طول خورجین برتر می باشد و دارای تعداد بیشتری ژن جهت افزایش این صفت می باشد و مثبت بودن آن در تلاقی دوم و سوم مبین این است که در تلاقی دوم، والد (P_1) Foseto نسبت به والد (P_3) Goliath برتر بوده و دارای تعداد ژن بیشتری جهت افزایش این صفت است و در تلاقی سوم، والد (P_2) Option 500 نسبت به والد (P_3) Goliath برتر بوده و دارای تعداد ژن بیشتری جهت افزایش این صفت می باشد. از این رو به ترتیب والد های Option 500، Foseto و Goliath دارای بیشترین تعداد ژن جهت افزایش صفت طول خورجین در کلزا می باشند.

این نتایج نشان می دهد که گزینش فنوتیپی و انتخاب در نسل های اولیه به منظور اصلاح این صفت مفید نخواهد بود و این گزینش نمی تواند صفت مورد نظر را در نسل های بعدی تثبیت نماید، بلکه به منظور اصلاح این صفت می باید به خلوص لاین ها و انجام تلاقی بین لاین های برای این صفت مبادرت ورزید و بعد از دست یابی به جمعیت هتروزیگوت در نسل های بعدی اقدام به گزینش بهترین هیبریدها با طول خورجین بلند، و انتخاب والدینی که بیشترین هتروزیس

References

- Choukan, R. 2008.** Methods of genetical analysis of quantitative traits in plant breeding. Agricultural Extension, Education and Research Organization. (In Persian).
- Choukan, R. 2002.** Genetic analysis of grain yield and yield components in maize. Seed Plant J. 18(2): 170-178. (In Persian with English abstract).
- Diepenbrock, W. 2000.** Yield analysis of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): A review. Field Crops Res. 67: 35-49.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1987.** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19: 11-15.
- Eilkaee, M. N. and Y. Emam. 2003.** Effect of plant density on yield and yield components in two winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) Cultivars. Iran. J. Agric. Sci. 3(34): 509-515. (In Persian with English abstract).
- Falconer, D. S. 1989.** Introduction to quantitative genetics. The Ronald Press Company. New York.
- Farooq, A. K., S. Ali, A. Shakeel, A. Saeed, and G. Abbas. 2006.** Genetic variability and genetic advance analysis for some morphological traits in *Brassica napus* L. J. Agric. Res. 44(2): 83-88.
- Farshadfar, E. 1998.** Application of biometrical genetics in plant breeding. Razi University of Kermanshah Press. (In Persian).
- Hashemi, A. 2006.** Genetic studies of rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.) via diallele analysis. M.Sc. thesis. The University of Mazandaran, Faculty of Agriculture, 627 pp. (In Persian).
- Hawkins, G. P., X. Zhang, M. R. Thiagarajah, L. M. Corrigan and G. R. Stringam. 2005.** Identification of RAPD markers linked to pod length in (*B. napus*) canola. Canad. J. Plant. Sci. 85: 803-808.
- Mahmud, I. and H. H. Karmer. 1951.** Segregation for yield, height and maturity following a soybean cross. Agron. J. 43: 605- 609.
- Mather, K. and L. Jinks. 1982.** Biometrical genetics the study of continuous variation. Chapman and Hall. London.
- Miller, D. and R. C. Pikett. 1956.** Inheritance of parent male fertility in *Sorghum vulgar* Peres. Crop Sci. 14: 1- 4.
- Mostafavi, Kh., A. H. Hossein-zadeh and H. Zeinali Khaneghah. 2005.** Genetic analysis of yield and correlated traits in bread wheat (*Triticum aestivum*). Iran. J. Agric. Sci. 36(1): 187-197.
- Pahlavani, M. H., G. H. Saeidi and A. F. Mirlouhi. 2005.** Genetic mode controlling seed yield and oil content in local safflower genotypes using generation mean analysis. J. Agric. Sci. Natur. Resour. 11 (4): 25-34. (In Persian with English abstract).
- Rao, T. S. 1977.** Genetics of yield components in brown sarson. Genet. Iber. 29: 219-227.
- Sadat Noori, S. A and M. Fazel Najafabadi. 2006.** Quantitative genetics. University of Tehran Press. (In Persian).

Samizadeh, H., B. Yazdi Samadi, M. R. Ghannadha, M. A. Malboubi, A. R. Taleei and G. R Stringam.

2003. A study of molecular marker associated with pod length trait in canola (*B. napus*) doubled haploid population. Iran. J. Agric. Sci. 4(34): 871-879. (In Persian with English abstract).

Stringam, G. R. and D. G. Bing. 1994. Use of biotechnology to relate pod and seed size, quality traits and yield in canola. Project 90M232. University of Alberta Press. 62pp.

Wenliang, W. 2000. Studies of the inheritance of a long pod mutant in *Brassica napus* L. Hereditas, 22: 93-95.

Zhang, G. Q, Y. He, L. Xu, G. X. Tang and W. J. Zhou. 2006. Genetic analysis of agronomic and seed quality traits of doubled haploid population in (*Brassica napus*) through microspore culture. Euphytica, 149: 169–177.

Genetic assessment of silique length in rapeseed (*Brassica napus* L.) using generation mean analysis and RAPD markers

Youssefy, Z¹., N. Babaeian Jelodar², S. K. Kazemitabar³

ABSTRACT

Youssefy, Z. N. Babaeian Jelodar, S. K. Kazemitabar. 2012. Genetic assessment of silique length in rapeseed (*Brassica napus* L.) using generation mean analysis and RAPD markers. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 14(1):72-83. (In Persian).

Information of inheritance and gene action for silique length is very useful in rapeseed breeding program for development of cultivars with longer silique and incorporating this trait to the new improved cultivars for increasing grain yield. To study the heritability of silique length, an experiment was conducted during 2006-2008 at the University of Agricultural and Natural Resources Sciences of Sari, Iran. Data collected from the three cultivar of rapeseed parents; Foseto, Option 500, Goliath as well as F₁, F₂ and F₃ generations of their crosses. Genetic inheritance of silique length was estimated using generation mean analysis. Results indicated that silique length in rapeseed was mainly controlled by dominant gene effects, and dominant × dominant epistatic was also effective in controlling of silique length. Two RAPD markers (UBC_83, UBC_248) also identified that were associated with silique length, and produced 470bp band by (UBC_83) and 680bp band by (UBC_248). Therefore, these two markers could be used in the breeding programs of rapeseed for identification of genotypes and lines with long siliques to shorten the breeding cycle.

Key words: Gene effect, Heritability, RAPD marker, Rapeseed and Silique length.

Received: August, 2010

Accepted: April, 2011

1-Former M.Sc. Student, The University of Agricultural and Natural Resources Sciences of Sari, Sari, Iran
(Corresponding author) (Email: zahra_youssefi@yahoo.com)

2- Professor, The University of Agricultural and Natural Resources Sciences of Sari, Sari, Iran

3- Associate Prof., The University of Agricultural and Natural Resources Sciences of Sari, Sari, Iran