دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

نقشه‌یابی ژن آنتوسیانین ساقه برنج (*Oryza sativa* L.) با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره

طاهره ابراهیمی[۱]، غلامعلی رنجبر[۲]، قربانعلی نعمت زاده[۳] و غفار کیانی[۴]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،
(نویسنده مسوول: ebrahimi_404@yahoo.com)
۲، ۳ و ۴- دانشیار، استاد و استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۲

چکیده

وجود رنگدانه‌های آنتوسیانین در برنج و سایر گیاهان عامل اصلی تولید ساقه ارغوانی رنگ محسوب می‌شود. درک درست از مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین باعث توسعه ابزار قدرتمندی در زمینه بیولوژی مولکولی و ژنتیک برنج می‌شود. برای مطالعه الگوی تفرق ژن آنتوسیانین ساقه تعداد ۱۲۳ تک بوته از جمعیت F2 حاصل از تلاقی ۱۸-۳۳ -DN/ ندا A، مورد مطالعه قرار گرفت. تک بوته‌های F2 بر اساس رنگ ساقه مورد ارزیابی و طبقه‌بندی قرار گرفتند. تعداد بوته‌های رنگی (ارغوانی) ۸۳ و تعداد بوته‌های بی رنگ ۴۰ بوته مشاهده گردید و نسبت تفرق ۱ :۲/۰۷۵ بدست آمد. آماره ^{2} i برای این نسبت تفرق برابر با ۳/۴۸ بود که اختلاف معنی‌داری را از نسبت تفکیک ۳:۱ نشان نداد. این نسبت موید کنترل تک ژنی برای صفت مذکور می‌باشد. مطالعات مولکولی با استفاده از ۵۹ نشانگر مولکولی SSR، ۲۸ درصد پلی مورفیسم بین والدین را نشان دادند. آنالیز لینکاژ انجام شده روی بوته‌های مغلوب جمعیت F2 نشان داد که ژن آنتوسیانین ساقه روی بازوی کوتاه کروموزم شماره ۶ برنج واقع بوده و با نشانگر RM253 همبسته می باشد که در فاصله ۱۵ سانتی مورگان از ژن مورد نظر قرار دارد.

واژه‌های کلیدی: برنج، رنگدانه آنتوسیانین، رنگ ساقه، نشانگرهای SSR

مقدمه

رنگدانه‌های آنتوسیانین نقش مهمی را نه تنها در توضیح تنظیم ژن و بیان مؤلفه‌ها در متابولیسم گیاه ایفا کرده است، بلکه به عنوان شاخصی از اثرات جانبی در تحمل گیاه به استرس‌های زیستی و غیرزیستی و دفاع در برابر پاتوژن‌ها محسوب می‌شود (۳). متابولیت‌های ثانویه گیاهی نقش مهمی در کیفیت مواد غذایی (رنگ، طعم و بو) مختلف دارند و برای تولید دارو، رنگ، حشره کش‌ها، طعم دهنده‌های غذایی و عطر استفاده می شوند (۱۵). شناسایی مسیرهای بیوسنتزی

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-05-21]

این ژن ها به اهدافی چون نقشه‌یابی ژن با مارکرهای مولکولی که ارتباط نزدیکی به آنها دارند کمک می‌کند (۱۶). نقشه‌یابی ژن‌ها و تهیه نقشه‌های ژنتیکی کاری اساسی در علم ژنتیک محسوب می شود. زیرا بخش عمده‌ای از علم ژنتیک با درک توارث صفات ویژه و دست ورزی آنها در ارتباط می باشد. این گونه اطلاعات به منظور به نژادی و شناسایی نسل های واجد صفات مطلوب به کار می‌رود. روشهای مولکولی با نشانمند کردن ژنها و گزینش به کمک نشانگر، برنامه‌های اصلاحی را سرعت بخشیده است (۴). شناسایی نشانگرهای مولکولی کاملاً پیوسته با ژن مورد نظر و مکان‌یابی آن، یک هدف مهم در اصلاح برنج است که با استفاده از این روش می‌توان بر پیچیدگی‌های روشهای اصلاحی متداول غلبه کرد. پیشرفت در بیولوژی مولکولی به همراه اصلاح اطلاعات از بیوسنتز آنتوسیانین منجر به افزایش ارقام و جهش یافته‌های گیاهی با رنگ‌ها و اشکال جدید شده است.

ژن آنتوسیانین در برنج دارای سه ژن اصلی است: C (رنگ زا)، A (فعال کننده) و P (توزیع کننده). لوکوس C روی بازوی کوتاه کروموزوم ۶ که وابسته به لوکوس wx می باشد نقشه یابی شده است (۱۲). ژنهای کنترل‌کننده صفت رنگ در برنج دارای توارث غالب هستند و در مطالعات مختلف به صورت تک ژنی (۵، ۱۷)، دو ژنی (۱۰) و چند ژنی (۱۳) گزارش شده‌اند. بین اندام‌های مختلف گیاه برنج از نظر تشکیل رنگ و تراکم رنگیزه‌های آنتوسیانین روابطی وجود دارد در نتیجه قطعاً دلایلی از همبستگی بین صفات خاص وجود دارد.

هدف از این پژوهش، مطالعه ژن کنترل کننده رنگ ساقه در ژنوم برنج و شناسایی جایگاه ژنومی آن از طریق مارکرهای SSR می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمعیت F_2 شامل ۱۲۳ ژنوتیپ از تلاقی بین دو رقم برنج ایرانی (۱۸-۳۳ -DN/ ندا A) به دست آمد. والد ۱۸-۳۳ -DN با ساقه سبز رنگ، لاین جدیدی از برنج است که به تازگی توسط محققین پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی طبرستان با استفاده از روش تلاقی برگشتی- شجره‌ای از تلاقی سپیدرود × سنگ جو اصلاح و در دست معرفی می‌باشد. رقم ندا A از طریق تلاقی برگشتی با لاین نرعقیم IR58025A اصلاح شده است و دارای ساقه ارغوانی رنگ است. به منظور تهیه نقشه لینکاژی جمعیت مورد مطالعه، ۵۹ نشانگر چند شکل SSR که توزیع خوبی روی ۱۲ کروموزوم برنج داشتند، بر اساس نقشه‌های موجود (۲، ۱۱، ۲۰) انتخاب شدند. آغازگرهای خریداری شده از شرکت متابیون (*Metabion. Germany*) به صورت منجمد و خشک و در غلظت‌های مختلف بوده و اطلاعاتی به همراه دارند که بر اساس آنها پرایمرها رقیق شدند.

نمونه‌های برگی از والدین و جمعیت F2 تهیه و DNA ژنومی طبق روش CTAB (۱۴) و با کمی تغییرات استخراج گردید. واکنش

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-05-21]

زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در حجم ۱۵ µl انجام شد. سیکل PCR در دمای واسرشته سازی ۹۴C° برای ۴ دقیقه، ۹۴C° برای ۴۵ ثانیه، دمای اتصال ۵۵C° برای ۴۵ ثانیه، ۷۲C° برای ۱ دقیقه و دمای گسترش نهایی ۷۲C° برای ۵ دقیقه انجام شد. دو راه برای تفکیک باندهای SSR وجود دارد، آکریلامید و دیگری آگارز متافور (چهار)، در این پژوهش برای بررسی محصولات PCR از ژل آگارز ۳٪ استفاده شد که با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شدند.

از داده‌های مولکولی و فنوتیپی دو والد و ۱۲۳ ژنوتیپ جمعیت F2 برای تعیین موقعیت کروموزومی ژن رنگ ساقه استفاده گردید. گروه های لینکاژ بر اساس نقشه‌های ژنتیکی SSR در برنج ارائه شده توسط مک کوچ و همکاران (۱۱) تعیین شدند. فواصل ژنتیکی براساس روش کوسمبی (۹) محاسبه و از روش حداکثر درست نمائی (۱) برای محاسبه میزان نوترکیبی با استفاده از بوته‌های مغلوب جمعیت F2 محاسبه گردیدند. آزمون نسبت مورد انتظار ۱:۲:۱ تفرق ژنوتیپ‌های نشانگر بوسیله آزمون χ^2 و با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد آزمون قرار گرفت. ژنتیک مندلی ژن آنتوسیانین، تفرق گیاهان با ساقه سبز و ارغوانی در جمعیت F2 را بر مبنای تجزیه و تحلیل رنگ ساقه گیاه با ارائه تناسب خوبی با نسبت ۳:۱ (۸۳ گیاه با ساقه ارغوانی در برابر ۴۰ گیاه با ساقه سبز رنگ) آشکار نمود که نشان دهنده حضور یک ژن غالب برای تولید رنگ در ساقه رقم ندا می باشد (جدول ۱).

برای تهیه نقشه پیوستگی نشانگرهای ریز ماهواره در جمعیت F2 حاصل از تلاقی ندا/ DN-33-18، ۵۹ جفت آغازگر SSR مورد مطالعه قرار گرفتند که از این تعداد ۱۷ جفت نشانگر (۲۸ درصد) الگوی نوار بندی متفاوتی برای والدین مورد مطالعه به نمایش گذاشتند. تعداد معدودی از نشانگرها تنها در یکی از دو والد، باند تولید نمودند و برخی نیز فاقد محصول تکثیر یافته در هر دو والد بودند. چون این نشانگرها تفاوتی بیشتر از ۱۰ جفت باز بین والدین داشتند، نوارهای والدینی روی ژل های آگارز قابل تفکتیک بودند. توالی آغازگرها و برخی اطلاعات مورد نیاز درباره آنها در جدول ۲ ذکر شده‌اند.

جدول ۱- آماره محاسباتی χ^2 با درجه آزادی ۱ برای صفت رنگ ساقه در جمعیت F_2

کلاس فنوتیپی	فراوانی مشاهده شده	فراوانی مورد انتظار	میانگین مربعات (3:1) χ^2
ساقه ارغوانی	۸۳	۹۳	۳/۴۸
ساقه سبز	۴۰	۳۰	
کل	۱۲۳	۱۲۳	

مقدار بحرانی در سطح احتمالی ۵ درصد و درجه آزادی ۱، ۳/۸۴ می‌باشد.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-05-21]

جدول ۲- نشانگرهای چند شکل (پلی مورف) در این تحقیق به همراه توالی آغازگرهای رفت و برگشت و دمای اتصال آنها

پرایمر	کروموزم	توالی رفت	توالی برگشت
RM3148	۱	gactattgctcgaacactttg	ttgtctgctttggtatttgc
RM443	۱	gatggttttcatcggctacg	agtcccagaatgtcgtttcg
RM497	۲	tcctcttcacctatgggtgg	gccagtgctaggagagttgg
RM262	۲	cattccgtctcggctcaact	cagagcaaggtggcttgc
RM1358	۲	gatcgatgcagcagcatatg	acgtgtggctgcttttgc
RM1164	۳	cgtttctcccagaaaagtcg	caaggtggtcgttgaggc
RM2422	۵	aacatgggaaacactaataa	aagatttgaaccacagtgga
RM253	۶	tccttcaagagtgcaaaacc	gcattgtcatgtcgaagcc
RM587	۶	acgcgaacaaattaacagcc	ctttgctaccagtagatccagc
RM7027	۸	aggacctggactttatgggc	cctgcactgctccacagtac
RM447	۸	cccttgtgctgtctcctctc	acgggcttcttctccttctc
RM7390	۹	ctggttaacgtgagagctcg	gcagatcaattggggagtac
RM1553	۹	aattagagggtccacatgtc	attaccctcattttctacgc
RM3152	۱۰	ggaagaggacaatcgacag	gactatcttgaaaattcccatc
RM5620	۱۰	tcgacttgaagcatcacacc	tctgaaatgtcaagtgggcc
RM6085	۱۱	ggtgagagatggctaaagcg	catcggcctctagcacctcc
RM101	۱۲	gtgaatggtcaagtgacttaggtggc	acacaacatgttccctcccatgc

نتایج و بحث

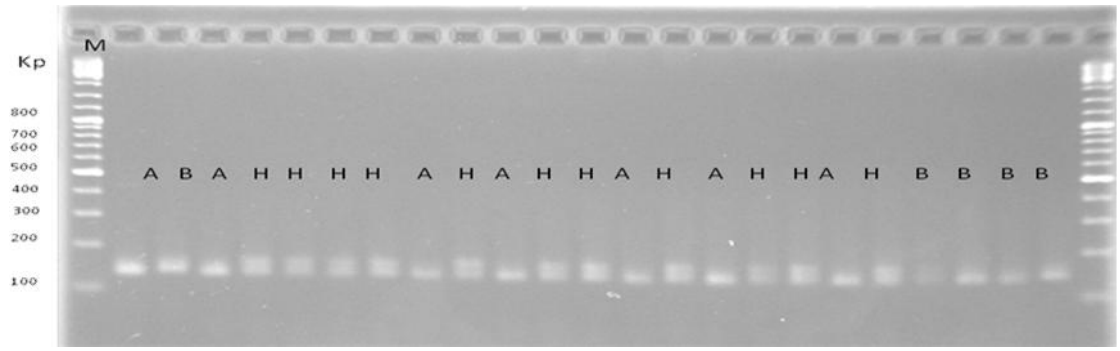
DNA ژنومی حاصل از تعدادی گیاه کاملاً بی رنگ به طور جداگانه با هر یک از ۱۷ جفت نشانگر نشان دهنده پلی مورفیسم بین والدین مورد بررسی قرار گرفت. از میان این ۱۷ آغازگر، تنها آغازگر RM253 الگوی نواربندی مشابه بین لاین های والدینی و گیاهان کاملاً بی رنگ نشان دادند. آغازگر اخیر در ۱۲۳ ژنوتیپ F2 مورد مطالعه قرار گرفت و با استفاده از نوارهای الکتروفورز والدینی ژنوتیپ افراد مشخص گردید (شکل ۱).

تجزیه پیوستگی نشان داد که ژن کنترل کننده رنگ ساقه برنج واقع در بازوی کوتاه کروموزوم ۶ می باشد. در میان ۲۰ بوته F2، دو گیاه با استفاده از جفت آغازگر RM253 به عنوان بوته‌های نوترکیب شناسایی

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-05-21]

شدند. نشانگر RM253 با فاصله ۱۵ سانتی مورگان روی کروموزوم ۶ قرار داشت. آزمون χ^2 برای بررسی انحراف فراوانی های ژنوتیپی نشانگر RM253 از فراوانی مورد انتظار مندلی (۱:۲:۱) در ۲۰ بوته F2 استفاده گردید (جدول ۳).

از آنجائی که نشانگر RM253 به خوبی قادر به تفکیک بوته‌های با ساقه ارغوانی از بوته‌های با ساقه سبز در جمعیت F2 مورد نظر بود، ارقام دیگری با ساقه ارغوانی (ارقام ندا، قائم ۱، خزر، F۱ های رنگی) و ساقه سبز (ارقام سپید رود، باسماتی، دم سیاه، قائم ۲ و نعمت به همراه لاین‌های F۱×F۱) نیز جهت اطمینان از نتیجه حاصله با این آغازگر مورد ارزیابی قرار گرفتند. الگوی نواربندی بدست آمده نشان دهنده این است که نشانگر RM253 به خوبی قادر به تفکیک ارقام دارای ساقه سبز از ارقام ساقه ارغوانی می‌باشد. الگوی نوار بندی بدست آمده نشان دهنده این است که پرایمر RM253 به خوبی قادر به تفکیک بوته های بی‌رنگ از رنگی می باشد.



شکل ۱- همبستگی نشانگر RM253 با صفت رنگ ساقه در تعدادی از بوته های F2 بدست آمده از تلاقی ندا/ DN-33-18. M: مارکر وزنی ۱۰۰ Kb. P1: ندا، P2: DN-33-18، A: ساقه ارغوانی، B: ساقه سبز.

بسیاری از ژن‌های مسئول رنگ‌آمیزی در اندام‌های مختلف گیاه برنج مورد مطالعه قرار گرفته است. بیوسنتز فلاوونوئید و آنتوسیانین از اولین مسیرهای متابولیت‌های ثانویه می‌باشد که مهندسی ژنتیک آنها صورت گرفت. دلیل این موضوع این است که مسیر بیوسنتز آنها به خوبی شناخته شده می‌باشد و نتایج تغییرات انجام شده به راحتی از روی تغییر رنگ در بخش‌های مختلف گیاه قابل مشاهده است. این ژنها در گیاه برنج دارای توارث غالب هستند و صفت رنگ ممکن است توسط یک، دو یا سه ژن کنترل شود. در پژوهش حاضر، تجزیه و تحلیل ژنتیک مندلی، عمل غالبیت یک جایگاه ژنی را با نسبت ۳:۱ آشکار نمود. در گذشته پژوهش‌های انجام شده توسط محققین روی صفت رنگ در

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-05-21]

بخش‌های مختلف گیاه برنج اشاره به عمل غالبیت ناقص نیز داشته‌اند.

جدول ۳- آزمون χ^2 برای مقایسه فراوانی های ژنوتیپی نشانگر RM253 با فراوانی های مورد انتظار ۱:۲:۱ در جمعیت F_2

نشانگر	هموزیگوت غالب (ارغوانی) A/A	هتروزیگوت (ارغوانی) A/B	هموزیگوت مغلوب (سبز) b/b	میانگین مربعات $\chi^2(1:2:1)$
RM253	۷	۱۰	۳	۳/۶**

**: اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و درجه آزادی ۲.

در برنج با استفاده از افزایش لاین‌های مونوزومی ناسازگار (MAAL)[1]، (۸) مشخص شد که ژن کلاله ارغوانی (ps) دارای غالبیت مونوژنیک بوده و روی کروموزوم شماره ۳ *O. officinalis* قرار دارد (۱۹). همچنین با استفاده از لاین‌هایی با جایگزینی قطعات واحد (SSSl) یا به طور مختصر لاین‌های s-۳ نشان داده شد که ژن رنگ نوک دانه ارغوانی (ps) نیز مونوژنیک و غالب است که با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت دارد. همچنین ژنوتیپ‌های نشانگرهای پلی مورفیک RM253، PSM349، PSM425 وراثت مندلی (۱:۲:۱) را نشان می‌دهند (۷). لاین‌های s-۳ از طریق سیستم‌های نزدیک به تلاقی برگشتی با کمک مارکرهای SSR ایجاد شدند. در این مطالعه موقعیت کروموزومی ژن آنتوسیانین ساقه گیاه حاصل از لاین رنگی در برنج تجزیه و تحلیل شده است. به طور جالب توجهی تالوکدار و ژانگ ژن رنگ نوک دانه را روی کروموزوم ۶ نقشه‌یابی نمودند. در مطالعه آنها ژن رنگ نوک دانه روی کروموزوم ۶ در مجاورت نشانگر RM253 با فاصله ژنتیکی ۰/۲ سانتی مورگان قرار داشت (۱۹). همچنین در مطالعه دیگری (۶) در یک نمونه گیاه برنج دابل هاپلوئید (rdh)[2] گزارش داد که صفت کلاله ارغوانی توسط یک ژن غالب کنترل می‌شود و تجزیه و تحلیل چند شکلی نشانگرهای میکروستلایت نشان داد که این ژن روی کروموزوم ۶ برنج به ترتیب در فاصله ۴/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵۳ سانتی مورگان از نشانگرهای میکروستلایت RM276، RM253 و RM111 قرار دارد. وجود طیف وسیعی از عملکردها و انواع آنتوسانین‌ها سوالات زیادی را در زمینه این که رنگ ارغوانی چه نقشی را در ساقه بازی می‌کند بر می‌انگیزد. اگر رنگ بنفش ساقه در جذب حشرات گرده افشان به گیاه کمک می‌کند، چه توضیحی در مورد واریته‌های متنوع برنج، خود گرده افشانی محصولاتی با ساقه بی‌رنگ و باروری بالا و همچنین بسیاری از واریته‌های برنج دارای ساقه بی‌رنگ و نسبت بذر بالا با توجه به این که متابولیت‌های ثانویه وظایف مختلفی در طول چرخه زندگی گیاه دارند می‌توانیم ارئه دهیم؟

1- Shoot apex

2- Double haploid rice

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-05-21]

تهیه نقشه‌های مولکولی و شناسایی نواحی ژنومی کنترل کننده صفات اهمیت زیادی برای به‌نژاد گران برنج دارد به طوری که با علم به موضوع با دقت بیشتر و در مدت زمان کمتری می‌توان از طریق اجرای برنامه های انتخاب به کمک نشانگر به اصلاح این گونه صفات پرداخت. همچنین می‌توان از نشانگرهای مجاور آن برای احراز وجود یک صفت متناظر استفاده کرد. بدین ترتیب نیازی به انتظار برای ظهور آثار ژن نیست.

علیرغم مطالعات مختلف در سیستم‌های اصلاحی برنج، شناسایی و نقشه یابی ژن رنگ ساقه در بین ارقام ایرانی مطالعه نشده است.

تعیین الگوی تفرق برای صفات کمی و کیفی در برنج کمک موثری در شناخت ماهیت ژنتیکی آنها و راهنمای خوبی برای انتخاب و اداره نسل‌های در حال تفکیک می‌باشد. قطعاً انتخاب صفات مهم کیفی و کمی بستگی مطلق به درصد وراثت‌پذیری آنها و الگوی تفرق یا رفتارهای اصلاحی آنها دارد. اطلاع از ماهیت ژنتیکی صفات این فرصت را به به‌نژادگرها می‌دهد تا با آمادگی بیشتر و بهتر به کار اصلاحی بپردازند. این مطالعه برای اولین بار موقعیت کروموزومی ژن رنگ ساقه گیاه حاصل از لاین رنگی را در برنج ایرانی تجزیه و تحلیل نموده است. لیکن تا کنون نشانگر SSR پیوسته با ژن رنگ ساقه روی کروموزوم ۶ گزارش نشده است. نشانگر RM253 که در این مطالعه با ژن رنگ ساقه گیاه همبستگی نشان داد، برای شناسایی لاین‌های دارای این ژن بسیار مفید می‌باشند و نتایج قابل اطمینان، موثر و کارآمدی را ارائه خواهد داد. با شناسایی نشانگرهای مولکولی همبسته با ژن، می‌توان از مزیت‌های انتخاب به کمک نشانگر مولکولی (MAS) (۱۸) در برنامه‌های اصلاحی برنج استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

تمامی عملیات زراعی و آزمایشگاهی این تحقیق در پژوهشکده ژنتیک زیست فناوری کشاورزی طبرستان و با حمایت مالی این پژوهشکده انجام شده است که بدین وسیله مراتب تشکر و سپاس فراوان خود را تقدیم به کلیه همکاران این پژوهشکده می‌نماییم.

منابع

1. Allard, R.W. 1956. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity. Hilgardia, 24: 235-278.
2. Chen, X., S. Temnykh, Y. Xu, Y.G. Cho and S.R. McCouch. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (Oryza Sativa L.). Theoretical and Applied Genetics, 95: 553-567.
3. Fitter, A.H. and R.K.M. Hay. 2001. Environmental physiology of plants. Academic Press. 367 pp.
4. Flowers, T.J. and A.R. Yeo. 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants. Australian Journal of Plant Physiology, 22: 875-884.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-05-21]

5. Gealy, D.R., Y. Wengui and J.N. Rutger. 2006. Red rice (*Oryza sativa*) plant types affect growth, coloration, and flowering Characteristics of first- and second-generation crosses with rice. Weed Technology, 20: 839-852.
6. Han, L., T. Zhang, X.U. Jian-Di, L.I. Yun, X.U-Dung Wang and Xianjun Wu. 2006. Genetic analysis and gene mapping of purple stigma in rice. Acta Genetica Sinica, 33(7): 642-646
7. He, F.H., Z.Y. Xi, R.Z. Zeng, A. Talukdar and G.Q. Zhang. 2005. Developing single segment substitution lines (SSSLs) in rice (*Oryza sativa* L.) using advanced backcrosses and MAS. Acta Genetica Sinica, 32: 825-831.
8. Jena, K. and G.S. Khush. 1990. Monosomic alien addition lines of rice: production, morphology, cytology and breeding behavior. Genome 32: 449-455.
9. Kosambi, D.D. 1944. The estimation of map distances from recombination values. Annals Eugenics, 12: 172-175.
10. Kumari, P., U. Ahuja, V. Chawla and R.K. Jain. 2009. Genetics of apiculus, hull and pericarp colour and awnedness in Basmati rice progenies. ORYZA- An International Journal on Rice., 46: 149-151.
11. Mc Couch, S.R., L. Teytelman, Y. Xu, K. Lobos, K. Clare, M. Fu, B. Walton, R. Li, Z. Maghirang, X. Xing, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Scheneider, S. Cartinhour, D. Ware and L. Stein. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Research, 9: 199-207.
12. Mikami, I., A. Takahashi Sano and Y. thidar. 2000. A candidate for C (Chromogen for anthocyanin) gene. Rice Genetics Newsletter, 17: 54-56.
13. Monta, S., W. Matthayatthaworn, S. Uckarach and T. Sreewongchai. 2010. Inheritance of thermo sensitive genetic male sterility and stigma color in AnxiangS rice variety. Proceeding of 48th Kasetsart University Annual Conference, Plants, Bangkok Bangkok, Thailand. 587-592 pp.
14. Murray, M.G. and W.F. Thampson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research, 8: 4321-4325.
15. Nicolosi, E., Z.N. Deng, A. Gentile, S. La Malfa, G. Continella and E. Tribulato. 2000. Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. Theoretical and Applied Genetics, 100: 1155-1166.
16. Reddy, A. 1996. The tissue-specific distribution and accumulation of anthocyanin pigments are determined by additional loci. In: Rice Genetics III. Proceedings of the third International Rice Genetics Symposium, 16-20 Oct 1995.IRRI, Manila, Los Banos, (Philippines), 341-351 pp.
17. Shi, B.Z., H. Sun Can, L.P. Chen and Z.M. Yang. 2002. Inheritance and utilization of purple characters of Zi x iang dao rice in Guizhou. Seed, 2: 29-30.
18. Spelman, R. and H. Bovenhuis. 1998. Genetic response from marker assisted selection in an outbred population for differing marker bracket sizes and with two identified quantitative trait Loci. Genetics, 148: 1389-1396.
19. Talukdar, A. and G. Zhang. 2006. 3-8 Lines and molecular tagging of the gene for purple apiculus in rice (*Oryza sativa* L.). Indian Journal of Genetics, 66(4): 271-274.
20. Temnykh, S., G. DeClerck, A. Lukashova, L. Lipovich, S. Cartinhour and S.R. McCouch. 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations and genetic marker potential. Genome Research, 11: 1441-1452.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-05-21]

Molecular Tagging of Stem Anthocyanin Gene in Rice Using SSR Markers

Tahereh Ebrahimi[1], Gholam Ali Ranjbar[2], Ghorbanali Nematzadeh[3] and Ghaffar Kiani[4]

1- Former MSc Student, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (Corresponding author: ebrahimi_404@yahoo.com)
2, 3 and 4- Associate Professor, Professor and Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Received: October 15, 2012 Accepted: March 2, 2013

Abstract

Anthocyanin pigments are responsible for production of purple stem in rice. Proper understanding of anthocyanin pigmentation may lead to the development of a powerful tool in rice genetics and molecular biology. Segregation mode of stem anthocyanin gene is studied on 123 individual plants from an F_2 population derived from Neda/DN-33-18 cross. Plants evaluated based on stem color as purple and colorless classes. Segregating of 83 purple to 40 colorless plants revealed that monogenic Mendelian inheritance governed on this trait. Molecular analysis using 59 microsatellite markers showed that 17 (28%) were polymorphic between parents. Linkage analysis on recessive individuals from F_2 population showed that the stem anthocyanin gene has associated with SSR marker RM253 located on short arm of chromosome 6 in rice genome.

Keywords: Rice, Stem color, Tagging, SSR markers

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-05-21]