دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

نقشه‌یابی ژنتیکی ژن(های) برگداننده باروری در برنج با استفاده از نشان‌گرهای STS و SSR

بهاره خوش خلق[1]، نادعلی بابائیان جلودار[2] و نادعلی باقری[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: bahare.khoshkholgh@yahoo.com)
۲ و ۳- استاد و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۸

چکیده

تکنولوژی تولید ارقام هیبرید در افزایش عملکرد برنج بسیار موفقیت‌آمیز می‌باشد. در این مطالعه نقشه ژنتیکی ژن‌های برگداننده باروری با استفاده از نشان‌گرهای SSR و STS هم‌بسته با ژن باروری در جمعیت F_2 حاصل از گیاهان والدینی (IR58025A و آمل- ۲) در گیاه برنج مورد مطالعه قرار گرفت. این مطالعه در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در آزمایشگاه بیوتکنولوژی در سال ۱۳۸۹ انجام گرفت. در این بررسی از ۲۰ نشان‌گر SSR و دو نشان‌گر STS استفاده شد. نشان‌گرهای RG140، RM490، RM243، RM23، RM302، RM580، RM244، RM311، RM171، RM228 چند شکلی نشان دادند در حالی که نشان‌گرهای RM237، RM128، RM104، RM258، RM84، RM269، RM3510، RM271، RM294 و S10019 چندشکلی نشان ندادند. نشان‌گرهای RG140، RM490، RM243، RM23 با استفاده از نرم‌افزار JOIN MAP در یک گروه لینکاژی و نشانگرهای RM244 و RM311 در گروه لینکاژی دیگری قرار گرفتند. ژن برگداننده باروری (RF_3) بین دو نشان‌گر RG140 و RM490 با فاصله یک سانتی مورگان از نشان‌گر RG140 قرار گرفت و فاصله نشان‌گر RM490 با ژن باروری نیز ۱۵ سانتی مورگان به دست آمد و محل ژن (RF_4) نیز بین دو نشان‌گر RM244 و RM311 با فاصله هفت سانتی مورگان از نشان‌گر RM244 تعیین شد.

واژه‌های کلیدی: برنج، ژن برگداننده باروری، نشان‌گر مولکولی SSR، نشان‌گر مولکولی STS

مقدمه

امروزه، برنج غذای اصلی مردم جهان است. با توجه به افزایش روزافزون جمعیت جهان و در مقابل آن کاهش زمین‌های زراعی، واضح است که برای حل کردن مشکل کمبود غذا باید عملکرد محصولات زراعی در هر منطقه با استفاده از علوم و تکنولوژی افزایش یابد (۱۳).

یکی از راه‌های افزایش عملکرد استفاده از سیستم برنج هیبرید می‌باشد. در حال حاضر تولید برنج هیبرید در جهان به‌صورت سیستم سه لاینی (نرعقیم سیتوپلاسمی) و یا دو لاینی (نرعقیم حساس به طول روز یا درجه حرارت) می‌باشند. از سیستم‌های مورد استفاده در CMS سیستم‌های WA، BT و HL می‌باشند. سیستم WA متعلق به سیستم CMS اسپوروفیتیک هستند که به تولید گرده نرمال قادر نیستند (۶،۳). ژن‌های هسته‌ای قادر به برگرداندن باروری دانه گرده می‌باشند و بررسی‌های ژنتیکی انجام گرفته نشان داد که دو ژن اصلی در برگرداندن باروری در این سیستم نقش موثری دارند (۱۶). لاین‌های اعاده‌کننده باروری فاکتور مهم برای توسعه برنج هیبرید موفق، می‌باشند. در مقایسه با برنج هیبرید CMS-WA معرفی شده برای تولید تجاری، توارث‌پذیری و نقشه‌یابی آلل‌های Rf نیز به طور گسترده‌ای با استفاده از لاین‌های اعاده‌کننده باروری متعدد با منشاء مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است.

تعدادی گزارش درباره‌ی توارث‌پذیری آلل‌های اعاده‌کننده باروری برای CMS-WA از لاین‌های اعاده‌کننده باروری IR24، IR64، IR8، IR527 به دست آمده از ایری و Minghui63، Milyang23، Milyang46، Mianhui725 از چین وجود دارد که این لاین‌ها به طور عمده در تولید تجاری نیز به‌کار می‌روند (۱۹،۱۰). مدل‌های ژنتیکی متفاوت آلل‌های Rf همانند تک ژنی (۱۸،۱۴)، دو ژنی پیوسته (۷) و دو ژنی مستقل (۲۲،۱۷،۲،۱) از سوی گروه‌های مختلفی پیشنهاد شده است. هو و لی (۵)، تفکیک باروری را در نسل‌های F_1، F_2 و BCF_1 حاصل از لاین‌های نرعقیم از منابع سیتوپلاسمی متفاوت و لاین‌های برگداننده باروری را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها دریافتند که در این لاین‌ها باروری تحت تأثیر دو ژن اصلی قرار دارد. لی (۹) شجره IR24 را بررسی کرد و بیان نمود که IR24 دارای دو آلل اعاده‌کننده باروری اصلی ($R_1R_1R_2R_2$) است. از دو آلل Rf، یکی از China آمده است که یک واریته ایندیکای دیررس در چین می‌باشد و آلل دیگر از SLO17، که به رقم IR127 از طریق CP-SLO به ارث رسیده است. این دو آلل Rf بعدا Rf_3 و Rf_4 نام‌گذاری شده‌اند. اما وانگ (۲۱) عقیده داشت که باروری Zhen-Shen 97A از نوع CMS-WA از راه یک ژن Rf کنترل می‌شود. فو (۴) باروری خوشه F_1، F_2 و BCF_1 از تلاقی به‌دست آمده از پنج تلاقی مختلف بین لاین CMS-WA و لاین‌های

1- International Rice Research Institute

اعاده‌کننده باروری مختلف را بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که لاین‌های اعاده‌کننده باروری ایندیکای Milyang46 و H804 دارای دو آلل اعاده‌کننده باروری غالب می‌باشد، اما لاین‌های اعاده‌کننده باروری ژاپونیکای H921 و T984 یک آلل اعاده‌کننده باروری دارند. هرچند نتایج گزارشات مختلف نشان می‌دهد که باروری CMS-WA از طریق یک یا دو جفت آلل اعاده‌کننده باروری کنترل می‌شود که در لاین‌های اعاده‌کننده باروری مختلف وجود دارند (۱۴،۷،۲).

این آلل‌ها به‌صورت پیوسته یا مستقل در لاین‌های اعاده کننده باروری مختلف عمل می‌کنند (۷،۲). در دست‌رس بودن نقشه‌های مولکولی اشباع شده، به ویژه نقشه ژنوم برنج با نشان‌گرهای SSR اشباع شده (۱۳) و تکنیک‌های کارآمد تعیین نشان‌گر DNA، یافتن مکان آلل‌های اعاده‌کننده باروری در برنج را بسیار مؤثر و دقیق امکان‌پذیر ساخته است.

جینگ و همکاران (۷)، دریافتند که مکان Rf_4 در IR24 با نشان‌گر RM171 (OSR33) و RM228 روی بازوی بلند کروموزوم ۱۰ به ترتیب با فاصله ژنتیکی ۳/۷ و ۳/۴ سانتی‌مورگان قرار دارد.

مواد و روش‌ها

ژنوتیپ‌های برنج (*Oryza sativa L.*) مورد استفاده در این مطالعه شامل لاین نرعقیم سیتوپلاسمی (IR58025A) که این لاین از منبع سیتوپلاسمی نوع WA[1] می‌باشد و لاین برگرداننده باروری به نام آمل-۲ می‌باشد، که در طرح تحقیقاتی تولید برنج هیبرید مورد استفاده قرار می‌گیرند. گیاهان مورد بررسی مولکولی قرار گرفتند. در زمانی‌که گیاهان در مرحله ۴ برگی بودند، از برگ‌ها نمونه‌برداری شد و استخراج DNA ژنومی از گیاهان با استفاده از روش CTAB تغییریافته استخراج شد (۱۵). مقداری از برگ‌های پودر شده به تیوب‌های ۱/۵ میلی‌متری منتقل شده و سپس مقدار ۵۵۰ میکرولیتر بافر استخراج به آن اضافه شد. مقدار ۳۰ میکرولیتر از SDS (۲۰٪) به آن‌ها اضافه و پس از عمل ورتکس به مدت ۲۰ دقیقه داخل حمام آب گرم ۶۵ درجه قرار گرفتند. پس از آن ۹۲ میکرولیتر NaCl ۵ مولار و مقدار ۷۵ میکرولیتر CTAB اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه داخل حمام آب گرم ۶۵ درجه قرار گرفتند و پس از اضافه کردن کلروفرم دو فاز تشکیل و فاز رویی برداشته شده و به تیوب جدید منتقل شد و ایزوپروپانول به آنها اضافه شده و پس از عمل رسوب‌دهی به مدت ده دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند. رسوب DNA با الکل ۷۰٪ شسته و پس از خشک شدن، رسوب یا کلاف DNA را با ۱۰۰ میکرولیتر TE حل کرده و به مدت ۲۴ ساعت داخل یخچال نگهداری شدند.

نشان‌گرهای STS

نشان‌گر S_{10019} هم‌بسته با ژن Rf_4 روی کروموزوم ده و نشان‌گر RG140 هم‌بسته با ژن Rf_3 روی کروموزوم ۱ قرار دارند (۱۷).

نشان‌گر SSR

تعداد ۲۰ نشان‌گر در والدین برای مشاهده چند شکلی آزمایش شده‌اند و پس از مشاهده چندشکلی در جمعیت F_2 برای امتیازبندی مورد استفاده قرار گرفتند.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[2]

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و واکنش هضم آنزیمی طبق روش ستاری و همکاران انجام گرفت (۱۷). واکنش زنجیره‌ای در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد که شامل $MgCl_2$، ۲ mM و PCR Buffer ۲ »l، ۲ mM dNTP/۰۲، ۰/۲ »l از آنزیم تک پلی‌مراز بود. شرایط PCR برای نشان‌گر S10019 به‌صورت یک چرخه ۹۴ دقیقه در ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه (۹۴ درجه برای ۱ دقیقه، ۵۸ درجه برای ۱ دقیقه و ۷۲ درجه برای ۱ دقیقه) و ۷۲ درجه برای ۵ دقیقه بود.

توالی‌های محصول واکنش PCR برای شناسایی لاین عقیم از بارور با آنزیم‌های مربوطه هضم شدند. برای هضم آنزیم نشان‌گر S10019 از آنزیم BSTUI و نشانگر RG140 از آنزیم PVUII استفاده شد. محصولات واکنش PCR پس از مشاهده باند مورد نظر، برای شناسایی لاین عقیم از بارور با آنزیم‌های مربوطه هضم شدند. واکنش هضم آنزیمی شامل ده میکرولیتر از محصول پی سی ار، ۷/۷ میکرولیتر آب مقطر استریل، دو میکرولیتر از بافر آنزیم، ۰/۳ از آنزیم مربوط استفاده شد. برای هضم آنزیمی نشان‌گر S10019 از آنزیم BSTU استفاده شد و هضم واکنش در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت.

محصول هضم آنزیمی به ژل آگارز دو درصد با ولتاژ ۶۰ برده شدند و سپس با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند. تعداد ده نشان‌گر در والدین برای مشاهده چند شکلی آزمایش شده‌اند و پس از مشاهده چندشکلی در جمعیت F_2 برای امتیازبندی مورد استفاده قرار گرفتند.

شرایط PCR برای نشان‌گرهای SSR، به‌صورت یک چرخه ۹۴ دقیقه در ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه (۹۴ درجه برای یک دقیقه، ۵۵ درجه برای یک دقیقه و ۷۲ درجه برای یک دقیقه) و ۷۲ درجه برای پنج دقیقه بود. محصولات PCR، پس از دیدن باند مورد نظر در ژل آگارز، برای امتیازبندی به ژل اکریل آمید شش درصد دناچوره برده شدند. برای تهیه گروه لینکاژی، از نرم‌افزار Join Map استفاده شد. فواصل نقشه براساس تبدیل نسبت نوترکیبی به سانتی مورگان تعیین شدند (۸).

1- Wild Abortive

2- Polymerase Chain reaction

نتایج و بحث

توزیع باروری گیاهان براساس باروری دانه گرده در جمعیت F_2 در نمودار ۱ نشان داده شده است. بررسی تفکیک باروری جمعیت F_2 (آمل-۲ × IR58025A) از طریق بررسی درصد باروری دانه گرده نشان داد که ۱۴۳ گیاه بارور، ۶۱ گیاه نیمه بارور، ۵۵ گیاه نیمه عقیم و ۱۱ گیاه کاملاً عقیم بودند. برای فهمیدن چند ژنی بودن از آزمون کای اسکور استفاده شد. این آزمون نسبت ۹ (کاملاً بارور)، ۳ (نیمه بارور) ۳، (نیمه عقیم) ۱، (کاملاً عقیم) ($X^2_{115} = 2.18$) و یا نسبت ۱۵ (بارور) ۱: (عقیم) ($X^2_{1:3:3;9} = 5.06$) را برای درصد باروری دانه گرده تأیید کرد. لذا می‌توان نتیجه گرفت که صفت برگرداننده باروری در رقم آمل-۲ دو ژنی است و دو ژن غالب و مستقل از هم هستند.

از نشان‌گرهای استفاده شده روی کروموزوم یک و ده، نقشه کروموزومی به دست آمد (شکل ۵). از آغازگرSTS مورد استفاده (RG140) برای جمعیت F_2 حاصل از تلاقی IR58025A و آمل-۲، آغازگر RG140 چندشکلی بین والدین نشان داده (شکل ۳)، در حالی که نشانگر S10019 هیچ پلی مورفیسمی بین والدین نشان نداد (شکل ۱).

نشان‌گر RG140، در جمعیت F_2 حاصل از آمل-۲ و IR58025A قبل از هضم آنزیمی قطعات باندی به اندازه تقریباً 1500 bp ایجاد کرد (شکل ۲) و پس از هضم آنزیمی قطعات باندی به اندازه 1150 و 1250 bp ایجاد کرد (شکل ۳). آزمون کای اسکور نشان داد که ژن Rf_3 و RG140 روی یک کروموزوم بوده با هم پیوستگی دارند. نسبت ۱:۲:۱ برای ژن مورد نظر RG140 معنی‌دار نشده که نشان‌دهنده هم تفرقی آن‌هاست و نسبت کای اسکور ۰/۰۱ به دست آمده و با توجه به ۴۳ گیاه هتروزیگوت، ۲۳ گیاه والد مادری و ۲۴ گیاه والد پدری بیش‌ترین هم‌بستگی را با ژن باروری (Rf_3) نشان دادند. نشان‌گر RG140 در جمعیت مورد بررسی بین والدین چند شکلی نشان داد و با توجه به آنالیز انجام شده هم‌بستگی بسیار بالایی با ژن برگرداننده باروری (Rf_3) نشان داده است و فاصله آن با ژن برگرداننده یک سانتی‌مورگان برآورد شد. از نشان‌گرهای مورد استفاده روی کروموزوم یک، RM580، RM243، RM490، RM23، RM84، RM302، RM128، RM104، RM128، RM237 بودند که فقط نشان‌گرهای RM580، RM243، RM490، RM23، RM302 چندشکلی نشان دادند. از دیگر نشان‌گرهای مورد استفاده روی کروموزوم ی، نشان‌گر RM490 بوده که پس از مشاهده چندشکلی در والدین، با استفاده از ژل اکریل آمید تجزیه و تحلیل باندی انجام شد (شکل ۴) و فاصله آن با ژن برگرداننده باروری ۱۵ سانتی مرگان برآورد شد.

از نشان‌گر RM243 نیز برای تعیین هم‌بستگی با ژن برگرداننده باروری روی کروموزوم یک استفاده شد و پس از مشاهده آن روی ژل اکریل آمید و تجزیه آن، هم‌بستگی کم‌تری با ژن برگرداننده باروری نشان داد.

در آنالیز حاصل از گروه‌بندی نرم‌افزار Join map، نشان‌گرهای RM302، RM580، نسبت کای اسکور ۱:۲:۱ آنها معنی‌دار نشده‌اند. ولی نشان‌گرهای RM243، RM490، RM23 به همراه نشان‌گر STS (RG140) در یگ گروه لینکاژی، گروه‌بندی شدند (شکل ۵).

روی کروموزوم ده نیز نشان‌گرهای RM258، RM269، RM3510، RM271، RM294 هیچ چندشکلی نشان ندادند درحالی که نشان‌گرهای RM244، RM171، RM311 چندشکلی نشان دادند.

نشان‌گر RM228 نیز در والدین پلی مورفیسمی نشان داد ولی نسبت کای اسکور آن معنی‌دار نشد. نشان‌گرهای RM244 و RM311 با استفاده از نرم‌افزار Join map در یک گروه لینکاژی، گروه‌بندی شدند ولی نشانگر RM171 با استفاده از نرم‌افزار Join map در گروه جدا گروه‌بندی شد که شاید دلیل بر فاصله بیش‌تر از ۵۰ سانتی‌مورگان بین آنها باشد و نهایتاً نقشه کروموزومی ۱۰ به‌دست آمد (شکل ۵).

فاصله ژن باروری Rf_4 با نشان‌گر RM244، ۷ سانتی‌مورگان تعیین شد. روی کروموزم دو نیز نشانگرهای RM307 و RM401 استفاده شد و نسبت کای اسکور هیچ کدام معنی‌دار نشد.

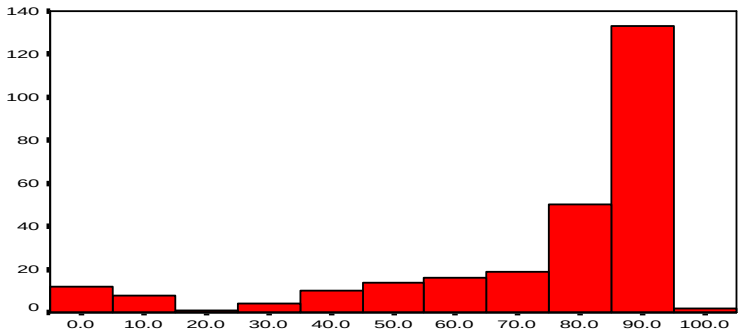
شناسایی مورفولوژیکی باروری گیاهان نیاز به هزینه وقت و زمان زیادی است، لیکن انتخاب به کمک نشانگر راه حل مناسبی برای شناسایی لاین‌های عقیم از بارور و صرفه‌جویی اقتصادی از نظر هزینه و زمان می‌باشد. به این برای، انتخاب به کمک نشان‌گر در اصلاح‌گران نباتات کاربرد فراوانی دارد. عمده‌ترین نشان‌گرهای مورد استفاده در انتخاب به کمک نشان‌گر، نشان‌گرهای مولکولی می‌باشند. یافتن نشان‌گر مولکولی پیوسته با ژن مورد نظر، در شناسایی مولکولی لاین‌های عقیم از بارور، لازم و ضروری می‌باشد. از این رو، تهیه نقشه ژنتیکی از راه‌های مورد استفاده در پیدا کردن نشان‌گر پیوسته با ژن مورد نظر می‌باشد. از آن جا که بیش‌ترین لاین‌های عقیم برنج مورد استفاده در ایران از نوع سیتوپلاسم WA می‌باشند، در این مطالعه، ژن(های) برگرداننده باروری در این نوع از سیتوپلاسم مکان‌یابی شدند و نشان‌گرهای پیوسته با ژن برگرداننده باروری، معرفی شدند. از نشان‌گرهای پیوسته با ژن برگرداننده باروری (Rf_3) روی کروموزوم یک، نشان‌گر STS، RG140 به فاصله یک سانتی مورگان و نشان‌گر RM490 به فاصله ۱۵ سانتی مورگان از ژن برگرداننده باروری Rf_3 شناسایی و روی کروموزوم ده نیز، نشان‌گر RM244

پیوسته با ژن برگرداننده باروری Rf_4 با فاصله هفت سانتی‌مورگان از این ژن، مکان‌یابی شدند و نشانگرهای مناسبی در انتخاب به کمک نشان‌گر، برای شناسایی لاین عقیم از بارور در این جمعیت معرفی شدند.

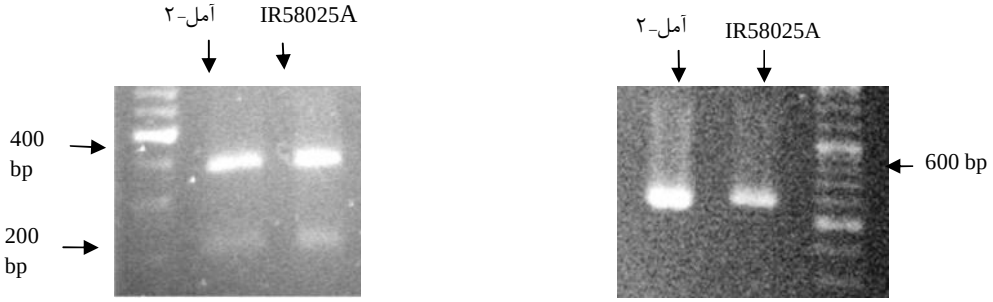
ستاری و همکاران (۱۷) نشان دادند که تعیین نشان‌گر RG140 / PVU II قابل استفاده در غربال برای بازگرداندن باروری در سیتوپلاسم WA می‌باشد. تعیین نشان‌گرهای پیوسته می‌توانند برای استفاده در MAS به‌کار روند و نیز امکان کلون ژن بر اساس نقشه ژن‌های بازگرداننده باروری کمک را فراهم می‌کنند. نشان‌گرهای STS نشانگرهای اختصاصی هستند که می‌توانند در شروع برنامه اصلاحی برنج هیبرید برای شناخت لاین‌های جدید و برای بهبود کارایی MAS[1] در لاین‌های برگرداننده بارور استفاده شوند.

در بررسی دیگری، تنگ (۲۰) در دو جمعیت بک کراس (BC_1F_1) و F_2 حاصل از کراس IR13419-113-1/RD21A و RD21A//RD21A/IR24 به ترتیب شامل ۱۲۲ و ۱۹۷ گیاه، ژن برگرداننده باروری را با استفاده از نشان‌گرهای AFLP و RFLP نقشه‌یابی کرد. وی دو QTL[2] را روی کروموزوم ۱۰ شناسایی و پیوسته با نشان‌گر C1361 معرفی کرد.

علوی و همکاران (۱) در جمعیت حاصل از کراس Neda A (CMS) و IR36، شامل ۶ گیاه کاملاً عقیم و ۸۵ گیاه بارور ژن بازگرداننده باروری (Rf_3) را مکان‌یابی کردند. آنها نشانگرهای RG140 و RM1 را با فاصله‌های ۱۲/۵ و ۵/۶ سانتی‌مورگان از این ژن نقشه‌یابی و آن‌ها را نشان‌گرهای مناسبی برای استفاده در انتخاب به کمک به نشان‌گر معرفی کردند. جینگ و همکاران (۷) در جمعیت حاصل از کراس بین IR64 و Zhensnan 97A نشان‌گر RM244 را با نسبت نوترکیبی ۱۶/۷٪ و به فاصله ۱۷/۳ سانتی‌مورگان از ژن برگرداننده باروری (Rf6(t)) روی کروموزوم ۱۰ مکان‌یابی کردند. آنها RM244 را نشان‌گر مناسبی برای استفاده در انتخاب به کمک نشان‌گر معرفی کردند.



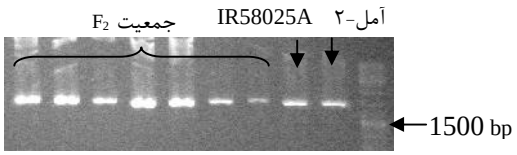
نمودار ۱- توزیع فراوانی گیاهان براساس درصد باروری دانه گرده در جمعیت F_2 حاصل از تلاقی. آمل-۲ × IR58025A.



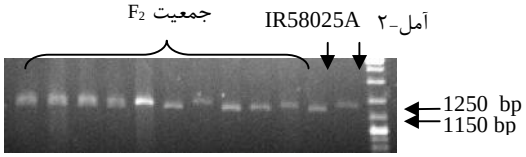
شکل ۱- قطعات باندی حاصل نشان‌گر S_{10019} در والدین IR58025A و آمل-۲ پیش از هضم آنزیمی (الف) و پس از هضم آنزیم (ب).

1- Marker Asisted Selection

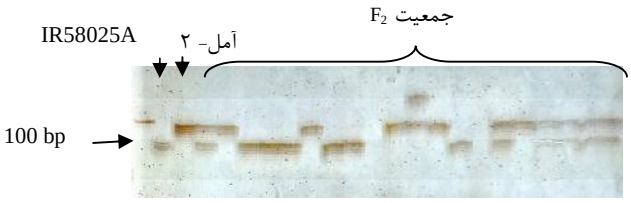
2- Quantitative Trait Loci



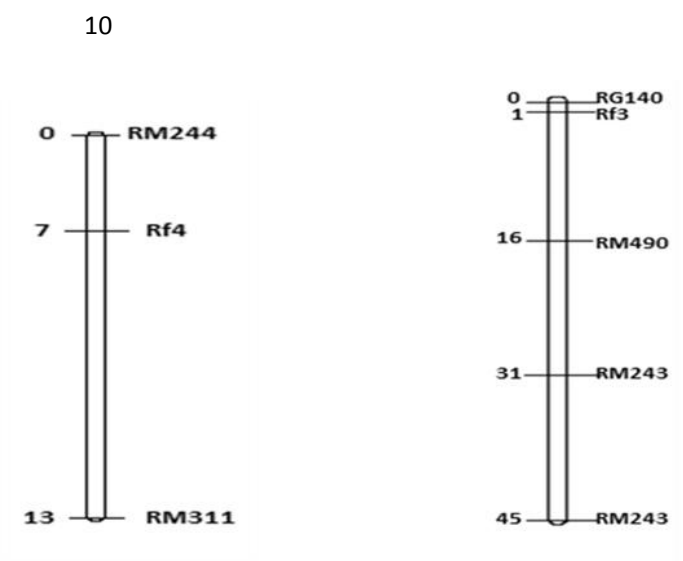
شکل ۲- قطعات باندی حاصل از جمعیت F_2 حاصل از آمل-۲ × IR58025A به اندازه 1500 bp پیش از هضم آنزیمی.



شکل ۳ - قطعات باندی جمعیت F_2 حاصل از آمل-۲ × IR58025A با استفاده از نشانگر RG140 پس از هضم آنزیمی.



شکل ۴- قطعات باندی جمعیت F_2 حاصل از آمل-۲ × IR58025A با استفاده از نشان‌گر RM490.



شکل ۵- نقشه کروموزوم‌های ۱ و ۱۰ برنج.

منابع

1. Alavi, M., A. Ahmadikhah, B. Kamkar and M. Kalateh. 2009. Mapping Rf3 locus in rice by SSR and CAPS markers. Internarional Journal of Genetics and molecular Biology, 1: 121-126.
2. Bharaj, T.S., S.S. Virmani and G.S. Khsh. 1995. Chromosomal location of fertility restoring genes for wild abortive cytoplasmic male sterility using primary trisomic in rice Euphytica, 83: 169-173.
3. Budar, F. and G. Pelletier. 2001. Male sterility in plants, occurrence, determinism, significance and use. Life Science, 324: 543-550.
4. Fu, H.W. and Q.Z. Xue. 2004a. Analysis of restoring genes of three type of cytoplasmic male sterility in rice. Molcular. Plant Breeding, 2: 336- 341.
5. Hu, J. and Z. Li. 1985. A primary studies on the inheritance of male sterility of rice male sterile lines with four different kinds of cytoplasm. Journal of Huazhong Agricultural University, 4: 15-22 (In Chinese with an English abstract).
6. Huang, W., L. Wang, P. Yi, X.L. Tan, X.M. Zhang, Z.J. Zhang, Y.S. Li and Y.G. Zhu. 2006. RFLP analysis for mitochondrial genome of CMS-rice. Acta Genetica Sinica, 33: 330-338.
7. Jing, R., X. Li, P. Yi and Y. Zhu. 2001. Mapping fertility restoring genes of rice WA cytoplasmic male sterility using SSLP markers. Botanical Bulletin Academia Sinica, 42: 167-171.
8. Kosambi, D.D. 1994. The estimation of map distance from recombination values. Annals of Eugenics, 12: 172-175.
9. Li, Y.C. 1985. The pedigree analysis of the inheritance of the restoring gene in IR24 Science Agricalture Sinica, 1: 24-31 (In Chinese with an English abstract).
10. Li, Y.C. and L.P. Yuan. 1986. Genetic analysis of fertility restoration in male sterile lines of rice. In: IRRI, ed. Rice Genetics. Proceedings International Rice Genet Symposium IRRI, Manila, pp: 617-632.
11. Li, Z.B. and Y.G. Zhu. 1986. Rice male sterile cytoplasm and fertility restoration. In: Hybrid Rice/Proceedings of the International Symposium on Hybrid Rice. International Rice Research Institute (IRRI), Manila, pp: 85-102.
12. Longping, Y. 2004. Hybrid rice technology for food security in the world. 4th FAO Rice Conference. Rome, Italy.
13. McCouch, S.R., L. Teytelman, Y.B. Xu, K.B. Lobos, K. Clare and M. Walton. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Research, 9: 199-207.
14. Mishra, G.P., R.K. Singh, T. Mohapatra, A.K. Singh, K.V. Prabhu, F.U. Zaman and R.K. Sharma. 2003. Molecular mapping a gene for fertility restoration of Wild Abortive (WA) Cytoplasmic Male Sterility using a Basmati rice restorer line. Plant Biochemistry & Biotechnology, 12: 37-42.
15. Murray, M.G. and W.F. 1980. Thompson Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleid Acids Research, 8: 4321-4325.
16. Raj, K.G. and S.S. Virmani. 1988. Genetics of fertility restoration of WA type cytoplasmic male sterility in rice. Crop Science, 28: 787-792.
17. Sattari, M., A. Kathiresan, G.B. Gregorio, J.E. Hernandez, T.M. Nas and S.S. Virmani. 2007. Development and use of a two-gene marker-aided selection system for fertility restorer genes in rice. Euphytica, 153: 35-42.
18. Shen, Y., Q. Cai, M. Gao and X. Wang. 1996. Isolation and genetic characterization of fertility restoring revertant induced from cytoplasmic male sterile rice Euphytica, 90: 17-23.
19. Tan, Y.P., S.Q. Li, L. Wang, G. Liu, J. Hu and Y.G. Zhu. 2008. Genetic analysis of fertility restorer genes in rice. Biologia Plantarum, 52: 469- 474.
20. Teng, L.S. and Z.T. Shen. 1994. Inheritance of fertility restoration for cytoplasmic male sterility in rice. Rice Genetics, Newsletter, 11: 95-97.
21. Wang, S.L. 1980. Study on inheritance of restoring factor and approach of developing new restorer in rice Agricultural Science and Technology of Hunan. 4: 1-4 (In Chinese with an English abstract).
22. Yao, F.Y., C.G. Xu, S.B. Yu, J.X. Li, Y.J. Gao, X.H. Li and Q. Zhang. 1997. Mapping and genetic analysis of two fertility restorer loci in the wild-abortive cytoplasmic male sterility system of rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica, 98: 183-187.

Gene Mapping of Fertility Restorer Gene(s) in Rice using STS and SSR Markers

Bahareh Koshkholgh[1], Nad Ali Babaeian Jelodar[2] and Nad Ali Bagheri[3]

1- M.Sc. Student, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
(Corresponding author: bahare.khoshkholgh@yahoo.com)
2 and 3- Professor and Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Received: September 27, 2011 Accepted: May 28, 2012

Abstract

Hybrid technology is very successful in increasing rice yield. Genetic map of fertility restorer genes using STS markers linked to fertility gene in F_2 population from parental plants (IR58025A) and Amol-2 in rice was studied. Present work was conducted in biotechnology laboratory of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University in 2010. In current study 20 SSR markers and two STS marker were used. RG140, RM49, RM243, RM23, RM302, RM580, RM244, RM311, RM171 and RM228 showed polymorphism, while, RM128, RM104, RM258, RM84, RM269, RM3510, RM271, RM294, S10019 did not showed polymorphism. RG140, RM490, RM243 and RM23 by using Join Map Software have been grouped in one linkage group and RM244, RM311 in another group The fertility gene was mapped between RG140 and RM490 with 1 cM distance to RG140 and the distance of fertility gene to RM490 was obtained 15 cM and the other gene (Rf_4) was mapped between RM244, RM311 with 7 cM distance to RM244.

Keywords: Fertility Restorer Genes, Rice, SSR Molecular Markers, STS Molecular Markers