

مکان‌یابی ژن‌های مرتبط با تحمل به خشکی در مرحله گیاهچه‌ای ریشه

برنج

Locating genes associated with the roots of rice at seedling stage using recombinant lines under normal and drought conditions

حسین صبوری^{۱*}، شریفه محمدآلق^۲

۱- دانشیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس

Sabouri H^{1*}, Mohammad Alegh Sh²

1- Associate Professor, College of Agriculture Science and Natural Resources,
Gonbad Kavous University

2- MSc Student, Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous
University

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hos.sabouri@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۱)

چکیده

به منظور شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات ریشه مرتبط با تحمل به خشکی در شرایط تنش خشکی و عدم تنش، ۹۶ لاین F_8 حاصل از تلاقی بین دو رقم سپیدرود و عنبر بو در شرایط کشت هیدروپونیک و محلول غذایی یوشیدا با پتانسیل اسمزی ۵- بار ارزیابی شدند. نقش پیوستگی حاصل از ۲۶۴ نوار چندشکل AFLP و ۱۲۴ نشانگر SSR، ۱۹۵۰/۴ سانتی مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد. متوسط فاصله بین نشانگرها ۵/۲۰ سانتی مورگان بود. صفات مورد بررسی شامل طول ساقه و ریشه در روزهای هفتم، چهاردهم، بیست و یکم، بیست و هشتم و سی و پنجم، وزن ساقه، وزن ریشه، ضخامت ریشه، بیوماس، درجه لوله شدن برگ و درجه سوختگی برگ بود. مکان ژنی qRT-2 (ضخامت ریشه روی کروموزوم ۲) در هر دو شرایط تنش و عدم تنش شناسایی شد که ظهور این QTL در دو شرایط مختلف آزمایش احتمالاً نشان‌دهنده پایداری این QTL و عدم تاثیرپذیری از شرایط محیطی است. سه QTL بزرگ اثر برای صفات طول ساقه روز هفتم، وزن ریشه و ضخامت ریشه در فاصله نشانگرهای E120-M150-2 و E090-M160-3 روی کروموزوم سه در شرایط نرمال مکان‌یابی شد. QTL‌های کنترل‌کننده طول ریشه در روز هفتم (qRLD7-4b)، وزن ریشه (qRM-2a و qRM-4) در شرایط نرمال همچنین طول ساقه در روز سی و پنجم (qSLD35-9)، درجه سوختگی برگ (qLF-6) و درجه لوله شدن برگ (qLR-6) در شرایط تنش، بزرگ اثر تشخیص داده شدند که این QTL‌ها توجه بالایی ۲۰ درصد از تغییرات فنوتیپی را به خود اختصاص دادند. نشانگرهای دارای پیوستگی شدید با QTL‌های بزرگ اثر در این مطالعه، می‌تواند در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر برای گزینش لاین‌های برتر و نیز انتقال آلل‌های مطلوب به ارقام اصلاحی برنج مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی

برنج (*Oryza sativa* L.)

تنش خشکی

صفات ریشه

مکان‌یابی

مقدمه

برنج از اولین محصولات کشاورزی است که برای بیش از نیمی از جمعیت جهان غذای اصلی به شمار می‌رود (Todaka et al. 2012). خشکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده سازگاری ارقام پرمحصول برنج به خصوص در محیط‌های خشک و دیم است و دوره‌های کوتاه کمبود آب خسارت زیادی ایجاد می‌کند (Lafitte et al. 2007). مهم‌ترین روش بررسی واکنش ارقام به تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی، ارزیابی عملکرد ارقام در هر دو شرایط نرمال و تنش است (Bouman and Tuong 2001). رفتارهای سازگاری گیاه به تنش نقش مهمی در تحمل به تنش ایفا می‌کند. این رفتارها توسط ژن‌ها کنترل می‌شوند و می‌توانند تحت شرایط تنش و گاهی در شرایط غیرتنش عمل کنند (Bouman and Tuong 2001). نقشه‌یابی مکان‌های ژنی صفات کمی (QTL^1) یکی از روش‌هایی است که در دهه اخیر برای مطالعه ژنتیکی صفات کمی توسعه یافته است. در این روش تفرق همزمان صفت کمی و نشانگرهای مولکولی بررسی می‌شود و در نهایت تعداد ژن‌ها (عوامل مؤثر)، نوع عمل آن‌ها و میزان اثر هر یک برآورد شده و مکان QTL ‌ها روی ژنوم شناسایی می‌شود. بنابراین می‌توان از نتایج آن در گزینش به کمک نشانگر استفاده نمود (Mohammadi et al. 2005). به‌طورکلی برنج در شرایط غرقاب رشد می‌کند و با توجه به توزیع ریشه‌های کم‌عمق، ظرفیت محدودی برای استخراج آب از لایه‌های عمیق خاک دارد (kondo et al. 2002; 2003). برنج نیز مانند سایر غلات دارای دو نوع ریشه بذری و نابجا است. در فرآیند جوانه‌زنی، اولین عضوی که در محیط خاک از جنین ظاهر می‌شود غلاف ریشه‌چه یا کلنوریز و نهایتاً خود ریشه‌چه یا رادیکل است (Kazemi Arbat 2008). سیستم ریشه گیاه و صفات مرتبط با آن در سازگاری به مناطقی که محدودیت منابع آب و مواد غذایی وجود دارد از اهمیت بالایی برخوردار است. مطالعات متعدد نشان می‌دهند که خصوصیات ریشه مانند عمق ریشه، حجم ریشه، قطر آوندهای چوبی و وزن خشک ریشه از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردارند و به‌راحتی به گزینش پاسخ می‌دهند (Manschadi et al. 2006; Manske and Vlek 2002; Gregory 1994; Hoad et al. 2001;

¹ Quantitative trait loci

(Manske and Vlek 2002). علی‌رغم نقش ضروری سیستم ریشه در رشد و سازگاری گیاه و تنوع بالای آن، به دلیل این‌که تکنیک‌های ارزیابی ریشه مشکل، زمان‌بر و در شرایط مزرعه با خطای زیادی همراه هستند نسبت به اندام‌های هوایی توجه کم‌تری به آن شده است (Manschadi et al. 2006). (Sabouri et al. 2012a) استفاده از جمعیت F_2 حاصل از تلاقی ارقام شاه‌پسند و IR28 به- ترتیب به‌عنوان رقم متحمل و حساس به خشکی، QTL ‌های کنترل کننده تحمل به خشکی را با استفاده از ۳۳ نشانگر ریزوماهواره چند شکل ردیابی کردند. آن‌ها در مجموع ۲۴ QTL بر روی کروموزوم‌های یک و ۶ شناسایی کردند که از بین این QTL ‌های ردیابی شده، دو QTL کنترل‌کننده درجه لوله شدن برگ ($qROL-1$) و درجه باروری ($qFER-6$) را به‌عنوان QTL ‌های بزرگ اثر معرفی کردند که به‌ترتیب ۱۴/۱۱ و ۱۴/۶۵ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند. همچنین این محققین نشان دادند که QTL کنترل کننده درجه سوختگی برگ با QTL کنترل‌کننده لوله شدن برگ بر روی کروموزوم یک همپوشانی داشتند. در مطالعه دیگری (Biji et al. 2008) برای مکان‌یابی صفات مرتبط با عملکرد برنج تحت تنش خشکی از ۱۵۵ لاین نوترکیب خالص که از تلاقی لاین‌های IR58821-23-B-1-2-1 و IR52561-UBN-1-1-2 به دست آمده بود استفاده کردند. آن‌ها در مجموع یازده QTL برای صفات لوله شدن برگ، تعداد روز تا سنبله دهی، تعداد ساقه بارور، عملکرد دانه و زیست توده مکان-یابی کردند که این QTL ‌ها ۹/۳ تا ۲۳/۴ درصد از تنوع فنوتیپی را در شرایط کشت دیم و کشت آبی توجیه کردند. (Wang et al. 2013) با تشکیل ۲۱۵ لاین خالص و نوترکیب حاصل از تلاقی Xieqingzao B (ریشه کوتاه) و R9308 (ریشه بلند) فقط QTL ‌های مرتبط با طول ریشه در کروموزوم ۷ را در دو سال با کشت هیدروپونیک در شرایط نرمال مکان‌یابی کردند. آن‌ها $qRL-7$ را در بین نشانگرهای RM3859 و RM214 بر روی کروموزوم ۷ ردیابی کردند. این QTL توانست بیش از ۱۸ درصد واریانس فنوتیپی طول ریشه را در دو سال تبیین نماید. (Sabouri et al. 2012b) برای بررسی اثر ژن‌ها و تهیه نقشه پیوستگی در جمعیت برنج‌های ایرانی از ۱۹۲ لاین حاصل از تلاقی ارقام غریب و خزر در شرایط نرمال استفاده نمودند و تعداد ۱۰ QTL برای صفات

وسیله ماده اسمتیک D Manitol به میزان ۵- بار در هر پلیت کشت اعمال شد. برای ثبت صفات در کنار لاین های مورد بررسی، رقم شاهد بین المللی IR29 نیز کاشته شد و زمانی که این رقم به کد ۹ در سیستم امتیازدهی موسسه بین المللی برنج رسید، ثبت صفات انجام شد. ابتدا بذرها به مدت ۲۰ ثانیه با محلول ۵۰ درصد هیپوکلریت سدیم ضد عفونی و پس از شستشو با آب مقطر استریل به پتری حاوی کاغذ صافی منتقل شدند و سطوح بذور با آب مقطر، مرطوب نگه داشته شد. بذور جوانه زده با دقت داخل سوراخ های تعبیه شده روی صفحه های یونولیت هدایت شدند. برای کشت از صفحات یونولیت و شیشه های با ابعاد ۶۰×۳۰×۵ سانتیمتر استفاده شد (شکل ۱). به مدت ۱۰ روز گیاهچه ها داخل محلول یوشیدا (Yoshida et al. 1976) قرار داشتند و بعد از آن تنش بر روی گیاهچه ها اعمال شد. محلول غذایی هر هفته تعویض شد و pH محلول هفته ای سه بار کنترل شد و با محلول های هیدروکلریک اسید و سدیم هیدروکسید یک نرمال روی ۵/۵ ثابت نگه داشته شد. در طول این مدت صفات طول ساقه و طول ریشه هر هفته اندازه گیری و ثبت شد. در نهایت وزن ساقه، وزن ریشه، ضخامت ریشه، بیوماس، درجه سوختگی برگ و درجه لوله شدن برگ اندازه گیری شد.

استخراج DNA ژنومی به روش CTAB (Saghai Maroof et al. 1994) انجام شد. کمیت و کیفیت نمونه های DNA با روش الکتروفورز ژل آگارز تعیین شد. برای ارزیابی های ژنوتیپی ابتدا چند شکلی والدین با استفاده از ۳۶۵ جفت آغازگر ریزماهواره بررسی شد. آغازگرهای مورد استفاده در مکان یابی از نقشه های ریزماهواره ارایه شده به وسیله Chen et al. 1997، Temnykh et al. 2000 و McCouch et al. 2002 انتخاب شدند و توزیع یکنواختی بر روی ۱۲ کروموزوم برنج داشتند به طوری که فاصله بین هر دو نشانگر مجاور بیش تر از ۱۰ سانتی مورگان نبود. از مجموع آغازگرهایی که تکثیر مناسب و قابلیت امتیازدهی داشتند، ۱۲۴ جفت، چند شکلی در بین والدین نشان دادند که برای ارزیابی ژنتیک جمعیت و تعیین ژنوتیپ افراد نسل F₈ مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه های DNA لاین های نوترکیب با استفاده از ۱۲۴ آغازگر چندشکل که نواربندی واضح تری داشتند، تکثیر شدند. واکنش AFLP بر اساس روش Vos et al. (1995) صورت گرفت.

زراعی از جمله زیست توده، تعداد روز تا گلدهی، ارتفاع بوته، طول خوشه، تعداد خوشه، طول خروج، عرض برگ پرچم و وزن دانه در بوته بر روی کروموزوم های ۱ (سه مورد)، ۲ (دو مورد)، ۵، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ (دو مورد) شناسایی کردند. (Courtois et al. 2000). با استفاده از جمعیت هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی ارقام IR64 و Azucena، QTL های مرتبط با اجتناب از خشکی برنج را در ۳ آزمایش با شدت تنش خشکی مختلف در دو مکان ردیابی کردند. آن ها از ۱۴۱ نشانگر RFLP، ۱۴ نشانگر RAPD، ۸ نشانگر آیزوزایم و ۱۲ ژن همسان سازی شده استفاده کردند و در نهایت توانستند ۱۱ QTL برای خشک شدن برگ، ۱۲ QTL برای محتوای نسبی آب برگ، ۱۰ QTL برای سرعت رشد نسبی و ۱۹ QTL برای لوله ای شدن برگ ردیابی کنند. همچنین (2003) Courtois et al. QTL های کنترل کننده صفات ریشه را با استفاده از لاین های خالص نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام IAC165 و Co39 در شرایط تنش خشکی ردیابی کردند. آن ها از ۱۳۱ نشانگر RFLP و ۵۱ نشانگر ریزماهواره استفاده کردند. در مجموع ۴۲ QTL برای صفات ریشه از جمله بیش ترین طول ریشه، ضخامت ریشه و وزن ریشه در لایه های مختلف خاک شناسایی شد. نظر به این که تعداد مطالعات در زمینه مکان یابی صفات ریشه برنج بسیار محدود بوده و برای جمعیت های ایرانی نیز انجام نشده است و با توجه به اینکه اکثر مناطق ایران دارای اقلیم خشک و نیمه خشک می باشد این مطالعه با هدف شناسایی نواحی ژنومی کنترل کننده صفات ریشه وابسته به تحمل به خشکی و استفاده از نشانگرهای وابسته به این صفات برای گزینش به وسیله نشانگر طراحی و انجام شد.

مواد و روش ها

جمعیت مورد استفاده در تحقیق حاضر ۹۶ لاین خالص نوترکیب نسل هشتم حاصل از تلاقی دو والد برنج (*Oryza sativa* L.) به نام های سپیدرود و عنبربو بود که برای بررسی QTL های مرتبط با تحمل به تنش خشکی در مرحله گیاهچه ای مورد بررسی قرار گرفت. تلاقی اولیه در موسسه تحقیقات برنج کشور در سال زراعی ۱۳۸۳ انجام شد و نسل های در حال تفرق در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه گنبد کاووس تهیه شدند. اعمال تنش خشکی به

دستگاه الکتروفورز BioRad استفاده شد. الکتروفورز به مدت یک تا دو ساعت و با ولتاژ ثابت ۱۵۰ ولت و با استفاده از بافر TBE 0.5x انجام و رنگ‌آمیزی به روش نیترا ت نقره صورت گرفت (شکل ۲).

برای تهیه نقشه ژنتیکی از نرم‌افزار Map Manager QTbX17 (Manly and Olson 1999) استفاده شد و فاصله ژنتیکی براساس نوترکیبی و با استفاده از تابع کوزامبی (Kosambi 1994) محاسبه شد. برای مشخص نمودن QTLها از مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (Lander and Botstein 1989) استفاده شد. جهت نام‌گذاری باند‌های تکثیر یافته نیز بدین ترتیب عمل شد که برای هر کدام از ترکیبات پرایمری استفاده شده، به آل‌های تکثیر یافته از بالای کروموزوم شماره داده شد. نام گذاری QTLها براساس روش McCouch et al. (1997) انجام شد. مکان، نسبت درست‌نمایی و پارامترهای ژنتیکی مرتبط با هر کدام از QTLهای ردیابی شده با استفاده از نرم‌افزار QTL Cartographer v 2.5 (Basten et al. 2001) تخمین زده شدند.

هضم DNA با استفاده از دو آنزیم برشی *EcoRI* و *MseI* تهیه شده از شرکت Fermentase انجام شد. سپس اتصال سازگار سازها به انتهای قطعات برش‌یافته با استفاده از آنزیم DNA لیگاز T_4^1 انجام شد. در مرحله پیش تکثیر از آغازگرهای *EcoRI* و *MseI* واجد یک نوکلئوتید انتخابی در انتهای ۳' با توالی‌های زیر استفاده شد:

3'-GATGAGTCCTGAGTAAA-5': *MseI*

3'-GACTGCGTACCAATTCA-5': *EcoRI*

محصولات حاصل از تکثیر پیش‌انتخابی به نسبت ۱:۱۰ رقیق شده و با ۲۱ ترکیب (از ۳۵ ترکیب آغازگری) دارای ۲ نوکلئوتید انتخابی دیگر در انتهای ۳' (علاوه بر یک نوکلئوتید در پیش تکثیر) تحت چرخه حرارتی Touch down شامل سه مرحله دمایی مختلف تکثیر شدند. ترکیبات آغازگری استفاده شده در تجزیه AFLP در جدول ۱ نشان داده شده‌است. برای مشاهده الگوی نواری بندی محصولات PCR از ژل پلی‌اکریل‌امید ۶ درصد و

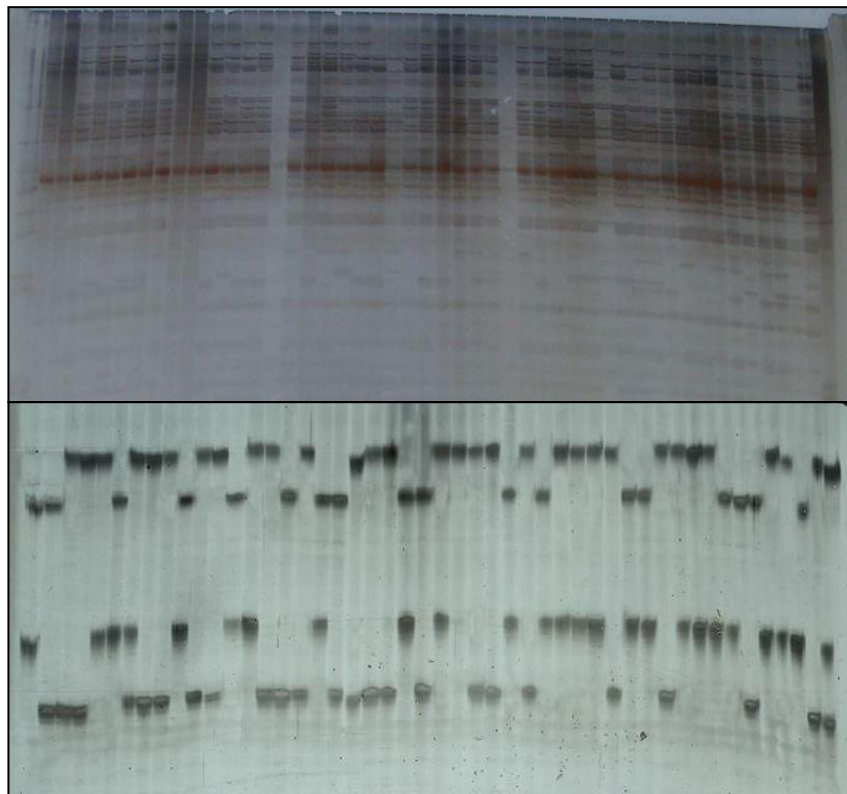
T_4^1 DNA Ligase



شکل ۱- مراحل مختلف اندازه‌گیری صفات فنوتیپی در شرایط هیدروپونیک

جدول ۱- توالی آغازگرهای استفاده شده در تجزیه AFLP

آغازگرهای <i>EcoRI</i>		آغازگرهای <i>MseI</i>	
نام	توالی	نام	توالی
E060	GACTGCGTACCAATTCAAG	M140	GATGAGTCCTGAGTAAAC
E070	GACTGCGTACCAATTCAAT	M150	GATGAGTCCTGAGTAAAGA
E080	GACTGCGTACCAATTCACG	M160	GATGAGTCCTGAGTAAAGT
E090	GACTGCGTACCAATTCAC		
E100	GACTGCGTACCAATTCAGT		
E110	GACTGCGTACCAATTCATC		
E120	GACTGCGTACCAATTCATT		



شکل ۲- نمونه ای از ژل های حاصل از ترکیب آغازگری E080-M150 برای تعیین ژنوتیپ افراد ۱ تا ۴۸ و نشانگر RM5720 برای تعیین ژنوتیپ افراد ۱ تا ۹۶

نتایج و بحث

نسبت های مندلی برای کلیه باندهای چند شکل تکثیر یافته بررسی شد و نشانگرهایی که با نسبت های مذکور اختلاف معنی دار داشتند در صورت پراکنده بودن در نواحی مختلف ژنومی از تجزیه حذف شدند و در صورت تمرکز در یک منطقه خاص ژنومی در تجزیه مورد استفاده قرار گرفتند. نقشه پیوستگی تهیه شده بر اساس ۲۶۴ نوار چندشکل AFLP و ۱۲۴ نشانگر SSR روی ۹۶ فرد جمعیت F₈ نشان داد که نشانگرهای مورد استفاده

کلیه کروموزوم های برنج را پوشش دادند. این پوشش برابر با ۱۹۵۰/۴ سانتی مورگان با متوسط فاصله ۵/۲۰ سانتی مورگان بین دو نشانگر مجاور بود. نشانگرها تراکم متفاوتی برای کروموزوم های مختلف داشتند، به طوری که کروموزوم های ۴، ۱۰ و ۱۱ کم ترین تعداد نشانگر را داشتند (شکل ۱). به طور کلی ۵۳ فاصله واجد QTL (۱۰۰ QTL) در دو شرایط نرمال و تنش خشکی شناسایی شدند که از این تعداد ۵۲ QTL مختص صفات شرایط نرمال و ۴۸ QTL برای شرایط تنش بودند (جدول ۲ و ۳).

جدول ۲- QTL‌های شناسایی شده برای صفات ریشه در شرایط نرمال

صفت	QTL	نشانگرهای مجاور*	کروموزوم	LOD	موقعیت (سانتی‌مورگان)	اثر افزایشی	ضریب تبیین	جهت آلل
طول ساقه در روز ۷م	<i>qSLD7-10</i>	<u>E080-M160-6-E080-M140-2</u>	۱۰	۲/۴۰۵	۱۲۰	-۳/۵۲۶	۱۰/۹	سپیدرود
	<i>qSLD7-2a</i>	<u>E060-M150-3-RM7179</u>	۲	۲/۱۰۱	۵۸	۱/۹۰۸	۹/۶	عنبربو
	<i>qSLD7-2b</i>	<u>E070-M140-1-E070-M150-13</u>	۲	۲/۰۲۹	۱۲۰	۱۵/۷۱۷	۹/۳	عنبربو
	<i>qSLD7-3</i>	<u>E120-M150-2-E090-M160-3</u>	۳	۴/۶۳۵	۲۸	-۴/۵۲۱	۱۹/۹	سپیدرود
طول ساقه در روز ۱۴م	<i>qSLD14-1</i>	<u>RM128-E070-M160-6</u>	۱	۲/۴	۱۴۲	-۲/۶۳۵	۱۰/۹	سپیدرود
	<i>qSLD14-11</i>	<u>E060-M150-6-E070-M160-1</u>	۱۱	۲/۳۳۲	۷۴	۴/۲۷۶	۱۰/۶	عنبربو
	<i>qSLD14-6</i>	<u>E070-M160-12-E110-M140-4</u>	۶	۲/۷۱۶	۹۶	۴/۲۸	۱۲/۲	عنبربو
	<i>qSLD14-9</i>	<u>RM7390</u>	۹	۲/۶۱۸	۳۰	۱/۹۲۱	۱۱/۸	عنبربو
طول ساقه در روز ۳۵م	<i>qSLD35-9</i>	<u>E070-M150-1-E080-M140-1</u>	۹	۲/۱۷۲	۲	۹/۸۴	۹/۹	عنبربو
طول ریشه در روز ۷م	<i>qRLD7-12</i>	<u>E080-M140-14-E080-M150-9</u>	۱۲	۲/۱۴۳	۶۰	۱۰/۱۷۵	۹/۸	عنبربو
	<i>qRLD7-2</i>	<u>E070-M140-1-E070-M150-13</u>	۲	۴/۵۰۱	۱۰۶	۲۲/۶۵۵	۱۹/۴	عنبربو
	<i>qRLD7-3</i>	<u>E120-M150-2-E090-M160-3</u>	۳	۲/۸۲۴	۲۸	۱۳/۶۳۷	۱۲/۷	عنبربو
	<i>qRLD7-4a</i>	<u>E060-M160-3-RM1359</u>	۴	۴/۰۸۶	۱۴	۲۰/۳۵۵	۱۷/۸	عنبربو
	<i>qRLD7-4b</i>	<u>RM1359-E070-M150-4</u>	۴	۴/۸۱۳	۲۶	۲۴/۴۱۳	۲۰/۶	عنبربو
	<i>qRLD7-4c</i>	<u>E070-M150-9-E110-M140-5</u>	۴	۲/۳۷۹	۶۸	۱۱/۳۶۱	۱۰/۸	عنبربو
طول ریشه در روز ۱۴م	<i>qRLD14-1</i>	<u>E100-M140-7-RM3520</u>	۱	۲/۲۴۲	۱۰۴	۱۰/۶۷۳	۱۰/۲	عنبربو
	<i>qRLD14-10</i>	<u>E080-M160-10-E060-M160-7</u>	۱۰	۲/۹۹۱	۸	۱۴/۵	۱۳/۴	عنبربو
	<i>qRLD14-12</i>	<u>E080-M160-5-E090-M140-3</u>	۱۲	۳/۱۹۴	۶۴	۱۵/۵۶۳	۱۴/۲	عنبربو
	<i>qRLD14-2a</i>	<u>E070-M140-1-E070-M150-13</u>	۲	۳/۴۸	۱۰۸	۱۷/۰۸	۱۵/۴	عنبربو
	<i>qRLD14-2b</i>	<u>E070-M140-1-E070-M150-13</u>	۲	۲/۳۸۳	۱۲۰	۱۱/۳۸۶	۱۰/۸	عنبربو
	<i>qRLD14-2c</i>	<u>RM262-E080-M150-2</u>	۲	۲/۳۱۶	۱۳۶	۱۱/۰۴۷	۱۰/۵	عنبربو
	<i>qRLD14-3</i>	<u>E120-M150-2-E090-M160-3</u>	۳	۲/۱۰۵	۲۸	۹/۹۸۶	۹/۶	عنبربو
	<i>qRld14-4a</i>	<u>E060-M160-3-RM1359</u>	۴	۴/۳۰۵	۲۴	۲۱/۵۶۱	۱۸/۷	عنبربو
	<i>qRLD14-4b</i>	<u>E080-M150-11-E070-M160-5</u>	۴	۲/۱۱	۹۴	۱۰/۰۱۲	۹/۶	عنبربو
	<i>qRLD14-4c</i>	<u>E070-M150-3-E070-M140-2</u>	۴	۲/۳۳۶	۱۰۸	۱۱/۱۴۷	۱۰/۶	عنبربو
	<i>qRLD14-7</i>	<u>RM418-E100-M150-11</u>	۷	۲/۸۱۴	۲۸	۱۳/۵۸۷	۱۲/۶	عنبربو
	<i>qRLD14-9</i>	<u>E120-M140-9-E090-M140-14</u>	۹	۲/۱۰۹	۱۰۶	۱۰/۰۰۷	۹/۶	عنبربو
طول ریشه در روز ۲۱م	<i>qRLD21-2a</i>	<u>E070-M150-13-RM262</u>	۲	۲/۲۱۶	۱۲۸	۱۰/۵۴۱	۱۰/۱	عنبربو
	<i>qRLD21-2b</i>	<u>RM262-E080-M150-2</u>	۲	۲/۲۱۳	۱۳۴	۱۰/۵۲۷	۱۰/۱	عنبربو
طول ریشه در روز ۲۸م	<i>qRLD28-2</i>	<u>E070-M140-1-E070-M150-13</u>	۲	۲/۵۳۸	۱۰۸	۱۲/۱۷	۱۱/۵	عنبربو
	<i>qRLD28-9</i>	<u>E120-M140-9-E090-M140-14</u>	۹	۳/۱۷۹	۱۰۲	۱۵/۴۸۶	۱۴/۱	عنبربو
طول ریشه در روز ۳۵م	<i>qRLD35-10</i>	<u>E080-M160-10-E060-M160-7</u>	۱۰	۲/۰۴۴	۸	۹/۶۸۵	۹/۳	عنبربو
	<i>qRLD35-2a</i>	<u>E070-M140-1-E070-M150-13</u>	۲	۳/۷۴۷	۱۰۸	۱۸/۵۱۲	۱۶/۵	عنبربو
	<i>qRLD35-2b</i>	<u>RM262-E080-M150-2</u>	۲	۲/۳۷۱	۱۳۸	۱۱/۳۲۲	۱۰/۸	عنبربو
	<i>qRLD35-2c</i>	<u>RM6843</u>	۲	۲/۳۶۹	۱۶۶	۱۱/۳۱۳	۱۰/۷	عنبربو
	<i>qRLD35-3</i>	<u>E120-M150-2-E090-M160-3</u>	۳	۲/۱۰۵	۲۸	۹/۹۸۹	۹/۶	عنبربو
	<i>qRLD35-4</i>	<u>E060-M160-3-RM1359</u>	۴	۲/۷۴۶	۲۴	۱۳/۲۳۴	۱۲/۳	عنبربو
	<i>qRLD35-6</i>	<u>E120-M160-9-RM276</u>	۶	۴/۲۶۳	۳۸	۲۱/۳۲۷	۱۸/۵	عنبربو
	<i>qRLD35-8</i>	<u>E100-M140-4-E110-M150-10</u>	۸	۲/۱۹۲	۵۴	۱۰/۴۲۲	۱	عنبربو
وزن ریشه	<i>qRM-10</i>	<u>E080-M160-10-E060-M160-7</u>	۱۰	۲/۸۶۹	۸	۱۳/۸۷	۱۲/۹	عنبربو
	<i>qRM-12</i>	<u>E080-M160-5-E090-M140-3</u>	۱۲	۳/۳۱۹	۶۴	۱۶/۲۲۳	۱۴/۷	عنبربو
	<i>qRM-2a</i>	<u>E070-M140-1-E070-M150-13</u>	۲	۴/۸۳۹	۱۰۸	۲۴/۵۵۹	۲۰/۷	عنبربو
	<i>qRM-2b</i>	<u>RM262-E080-M150-2</u>	۲	۳/۱۲۵	۱۳۶	۱۵/۲۰۴	۱۳/۹	عنبربو
	<i>qRM-2c</i>	<u>RM6843-E070-M150-10</u>	۲	۲/۵۰۴	۱۶۸	۱۱/۹۹۶	۱۱/۳	عنبربو
	<i>qRM-3</i>	<u>E120-M150-2-E090-M160-3</u>	۳	۴/۵۲۷	۲۶	۲۲/۸۰۱	۱۹/۵	عنبربو
	<i>qRM-4</i>	<u>E060-M160-3-RM1359</u>	۴	۴/۶۶۶	۲۴	۲۳/۵۸۲	۲۰/۱	عنبربو
	<i>qRM-7</i>	<u>RM418-E100-M150-11</u>	۷	۲/۵۲۴	۲۸	۱۲/۱۰۱	۱۱/۴	عنبربو

عنبیو	۱۳/۵	۱۴/۶۹۹	۸	۳/۰۲۹	۱۰	E080-M160-10-E060-M160-7	qRT-10	
عنبیو	۱۳/۷	۱۴/۹۳۹	۶۴	۳/۰۷۵	۱۲	E080-M160-5-E090-M140-3	qRT-12	
عنبیو	۰/۱۶۳	۱۸/۳۱	۱۰۸	۳/۷۱	۲	E070-M140-1-E070-M150-13	qRT-2	
عنبیو	۳۵	۵۰/۶۲۳	۲۸	۸/۹۸۱	۳	E120-M150-2-E090-M160-3	qRT-3	ضخامت ریشه
عنبیو	۱۹/۹	۲۳/۳۴۲	۲۶	۴/۶۲۴	۴	RM1359-E070-M150-4	qRT-4	
عنبیو	۹/۸	۱۰/۲۰۲	۳۰	۲/۱۴۸	۷	E100-M150-11-RM257	qRT-7	

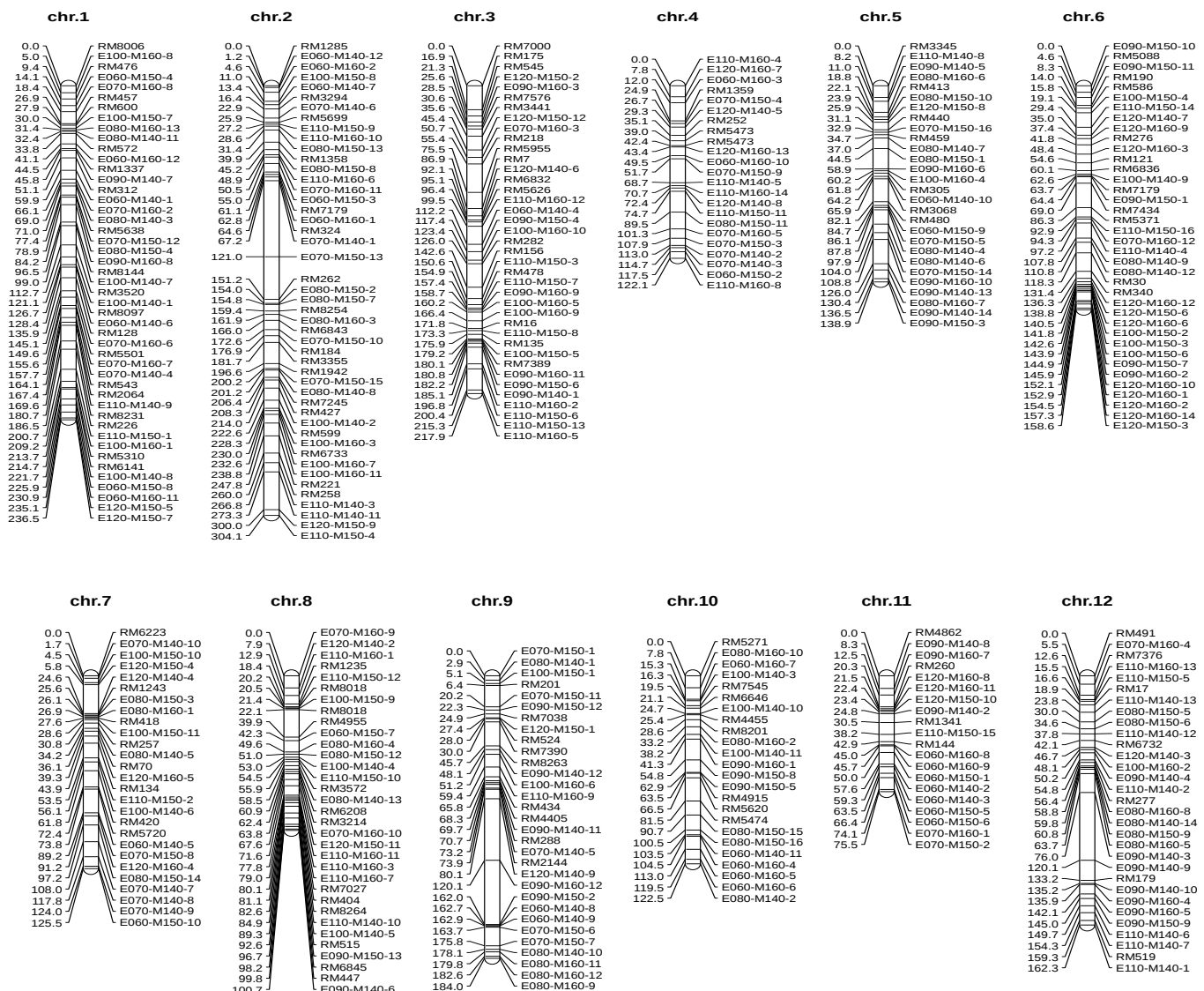
*: نشانگرهایی که زیرشان خط کشیده شده به QTL مربوطه نزدیکتر هستند.

جدول ۲- QTL های شناسایی شده برای صفات ریشه در شرایط تنش خشکی

صفت	QTL	نشانگرهای مجاور*	کروموزوم	LOD	موقعیت (سانتی مورگان)	اثر افزایشی	ضریب تبیین	جهت آلل
طول ساقه در روز ۷م	qSLD7-10	E060-M160-4-E060-M160-5	۱۰	۲/۴۸۱	۱۱۲	-۱/۴۰۷	۱۱/۲	سپیدرود
	qSLD7-7	RM5720-E060-M140-5	۷	۲/۴۸۴	۷۲	۱/۳۱۴	۱۱/۲	عنبیو
	qSLD7-9	RM201-E070-M150-11	۹	۲/۴۸	۱۶	۲/۱۴۸	۱۱/۲	عنبیو
طول ساقه در روز ۱۴م	qSLD14-1	RM226-E100-M150-1	۱	۲/۵۳۳	۱۸۸	۱/۶	۱۱/۴	عنبیو
	qSLD14-7	RM70-E120-M160-5	۷	۲/۲۰۷	۳۸	-۱/۷۳۵	۱	سپیدرود
طول ساقه در روز ۲۸م	qSLD28-3a	E070-M160-3-RM218	۳	۲/۹۴۹	۵۴	-۲/۵۲۹	۱۳/۲	سپیدرود
	qSLD28-3b	RM218-RM5955	۳	۲/۶۷۲	۶۰	-۲/۷۶۴	۱۲	سپیدرود
طول ساقه در روز ۳۵م	qSLD35-1a	E090-M140-7-RM312	۱	۲/۹۳۱	۴۶	۳/۸۵۸	۱۳/۱	عنبیو
	qSLD35-1b	RM128-E070-M160-6	۱	۲/۴۰۸	۱۴۴	-۱/۹۸۱	۱۰/۹	سپیدرود
	qSLD35-12	E080-M150-5-E080-M150-6	۱۲	۲/۰۲۴	۳۴	۲/۶۷	۹/۳	عنبیو
	qSLD35-2a	E070-M140-1-E070-M150-13	۲	۳/۳۵۹	۱۰۶	-۲/۸۹۱	۱۴/۹	سپیدرود
	qSLD35-2b	RM262-E080-M150-2	۲	۲/۹۴۱	۱۵۰	۲۰/۶۹۲	۱۳/۲	عنبیو
	qSLD35-2c	RM599-E100-M160-3	۲	۲/۳۷۹	۲۲۶	۳/۵۴۵	۱۰/۸	عنبیو
	qSLD35-4	RM1359-E070-M150-4	۴	۲/۳۱۹	۲۶	-۳/۶۴۱	۱۰/۵	سپیدرود
	qSLD35-6a	E110-M140-4-E080-M140-9	۶	۲/۶۴۳	۱۰۶	۴/۹۸۷	۱۱/۹	عنبیو
	qSLD35-6b	E080-M140-9-E080-M140-12	۶	۲/۴۱۵	۱۱۰	۹/۴۹۳	۱۰/۹	عنبیو
	qSLD35-9	E120-M140-9-E090-M140-14	۹	۵/۵۸۴	۱۰۲	۷/۹۵۸	۲۳/۵	عنبیو
طول ریشه در روز ۷م	qRL7-3	RM7000	۳	۲/۱۳۴	۰	-۰/۷۱۳	۹/۷	سپیدرود
	qRL7-8	E060-M150-7-E080-M160-4	۸	۲/۰۱۴	۴۶	-۰/۹۲۸	۹/۲	سپیدرود
طول ریشه در روز ۱۴م	qRL14-10	E090-M160-1-E090-M150-8	۱۰	۲/۱۰۵	۵۴	۱/۴۱۵	۹/۶	عنبیو
	qRL21-1	E060-M150-4-E070-M160-8	۱	۲/۰۷۶	۱۸	۱/۷۴	۹/۵	عنبیو
طول ریشه در روز ۲۸م	qRL28-2	RM184-RM3355	۲	۲/۲۱	۱۷۸	-۰/۷۳۲	۱۰/۱	سپیدرود
	qRL28-3	RM3441-E120-M150-12	۳	۲/۵۳۹	۴۲	۱/۷۴۳	۱۱/۵	عنبیو
	qRL28-9	E070-M150-1-E080-M140-1	۹	۳/۲۴۳	۲	-۱/۷۵۷	۱۴/۴	سپیدرود
وزن ساقه	qSM-2a	E070-M140-1-E070-M150-13	۲	۲/۶۲۵	۱۰۶	-۰/۰۲۷	۱۱/۸	سپیدرود
	qSM-2b	RM262-E080-M150-2	۲	۳/۴۵۸	۱۵۰	۰/۲۳۴	۱۵/۳	عنبیو
	qSM-2c	RM599-E100-M160-3	۲	۲/۲۶۳	۲۲۶	۰/۰۳۶	۱۰/۳	عنبیو
	qSM-3	RM175-RM545	۳	۲/۰۷	۲۰	-۰/۰۲۴	۹/۵	سپیدرود
	qSM-4	RM1359-E070-M150-4	۴	۲/۰۶۸	۲۶	-۰/۰۳۶	۹/۴	سپیدرود
	qSM-6a	E110-M140-4-E080-M140-9	۶	۳/۲۱۴	۱۰۶	۰/۰۵۷	۱۴/۳	عنبیو
	qSM-6b	E080-M140-9-E080-M140-12	۶	۲/۷۳۵	۱۱۰	۰/۱۰۶	۱۲/۳	عنبیو
	qSM-9	E120-M140-9-E090-M140-14	۹	۳/۳۸۸	۱۰۲	۰/۰۶۷	۱۵	عنبیو
	qRM-8	RM1235-E110-M150-12	۸	۲/۰۸۳	۲۰	-۰/۰۰۶	۹/۵	سپیدرود
بیوماس	qPM-1	RM128-E070-M160-6	۱	۲/۵۴۴	۱۴۲	-۰/۰۲۵	۱۱/۵	سپیدرود
	qPM-2a	E070-M140-1-E070-M150-13	۲	۲/۷۴	۱۰۶	-۰/۰۲۷	۱۲/۳	سپیدرود
	qPM-2b	RM262-E080-M150-2	۲	۲/۸۲۱	۱۵۰	۰/۲۰۵	۱۲/۷	عنبیو
	qPM-2c	RM599-E100-M160-3	۲	۲/۱۷۱	۲۲۶	۰/۰۳۴	۹/۹	عنبیو

سپیدرود	۹/۳	-۰/۰۳۵	۲۶	۲/۰۳۴	۴	RM1359-E070-M150-4	qPM-4
عنبربو	۱۰/۸	۰/۰۴۸	۱۰۶	۲/۳۷۲	۶	E110-M140-4- E080-M140-9	qPM-6a
عنبربو	۱۰/۷	۰/۰۹۵	۱۱۰	۲/۳۵۱	۶	E080-M140-9- E080-M140-12	qPM-6b
عنبربو	۱۲/۸	۰/۰۵۹	۱۰۲	۲/۸۵	۹	E120-M140-9- E090-M140-14	qPM-9
عنبربو	۱۰/۳	۰/۰۲۳	۲	۲/۲۷۵	۱۰	RM5271-E080-M160-10	qRT-10
سپیدرود	۱۰/۶	-۰/۰۲۷	۱۰۸	۲/۳۳	۲	E070-M140-1-E070-M150-13	qRT-2
سپیدرود	۱۰/۹	-۰/۰۵۷	۱۵۶	۲/۳۹۵	۶	E120-M160-2-E120-M160-14	qRT-6
عنبربو	۱۱/۹	۰/۰۶۵	۱۰۲	۲/۶۴۵	۹	E120-M140-9- E090-M140-14	qRT-9
عنبربو	۲۰/۴	-۰/۰۵۸۱	۱۵۳	۱۹/۱	۶	E120-M160-1-E120-M160-2	qLF-6
سپیدرود	۲۰/۶	۱/۰۳۳	۴	۱۵/۹۶	۶	E090-M150-10-RM5088	qLR-6
سپیدرود	۱۴/۳	۱/۰۵۰	۱۳۴	۱۵/۳۷	۱۲	RM179-E090-M140-10	qLR-12

*: نشانگرهایی که زیرشان خط کشیده شده به QTL مربوطه نزدیک تر هستند.



شکل ۳- نقشه پیوستگی در جمعیت لاین های خالص نوترکیب برنج ایرانی حاصل از تلاقی ارقام عنبربو و سپیدرود

مکان‌یابی QTL‌ها در شرایط نرمال

برای طول ساقه در روز هفتم، چهار QTL ردیابی شد که بر روی کروموزوم‌های ۲ (دو مورد)، ۳ و ۱۰ قرار داشتند. اثر افزایشی این QTL‌ها از ۳/۵۲- تا ۱۵/۷۱ سانتی‌متر بود. در QTL‌های qSLD7-2a و qSLD7-2b آلل‌های افزایش‌دهنده از والد عنبربو به نتاج منتقل شد و در QTL‌های qSLD7-10 و qSLD7-3 آلل‌های سپیدرود باعث کاهش طول ساقه شدند. در مورد qSLD7-2b آلل عنبربو به تنهایی ۱۵/۱۷ سانتی‌متر در روز هفتم طول ساقه را افزایش داد. برای طول ساقه در روز چهاردهم نیز چهار QTL شناسایی شد. به جز در مورد qSLD14-1 که آلل سپیدرود باعث کاهش طول ساقه شد، در سایر QTL‌های ردیابی شده آلل‌های عنبربو باعث افزایش آن شد. برای طول ساقه در روز سی و پنجم تنها یک QTL روی کروموزوم ۹ و در جهت افزایش آن به اندازه ۹/۸۴ سانتی‌متر مکان‌یابی شد.

شش QTL کنترل‌کننده طول ریشه در روز هفتم بر روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۴ (دو مورد) و ۱۲ قرار داشتند که در همه مکان‌های شناسایی شده آلل عنبربو باعث افزایش طول ریشه شد. QTL‌های qRLD7-4b و qRLD7-2 اثر نسبتاً بزرگی بر طول ریشه در روز هفتم داشتند و به‌ترتیب ۲۰/۶ و ۱۹/۴ درصد از تنوع فنوتیپی موجود را توجیه کردند. QTL‌های شناسایی شده برای طول ریشه در روز چهاردهم روی کروموزوم‌های ۱، ۲ (سه مورد)، ۳، ۴ (سه مورد)، ۷، ۹ و ۱۲ قرار داشتند. اثرات افزایشی در همه QTL‌ها مثبت بودند. qRLD14-4a با LOD برابر با ۴/۳۰ یک QTL بزرگ اثر بود که توانست طول ریشه را به اندازه ۲۱/۵۶ سانتی‌متر افزایش دهد. در پژوهشی که Wang et al. (2013) انجام دادند یک QTL برای طول ریشه روی کروموزوم ۷ ردیابی شد. برای صفت طول ریشه در روز بیست و یکم دو QTL روی کروموزوم ۲ شناسایی شد. برای صفت طول ریشه در روز بیست‌وهشتم در مجموع دو QTL (qRLD28-2 و qRLD28-9) پیدا شد که روی کروموزوم‌های ۲ و ۹ واقع بودند. آلل‌های افزایش‌دهنده در این QTL‌ها از والد عنبربو به نتاج منتقل شد. مطالعه Courtois et al. (2003) مطابقت داشت. هفت QTL مکان‌یابی شده برای طول ریشه در روز سی‌وپنجم روی

کروموزوم‌های ۲ (سه مورد)، ۳، ۴، ۶ و ۸ قرار داشت. اثر افزایشی این مکان‌ها از ۹/۹۸ تا ۲۱/۳۲ متغیر بود. qRLD35-6 به عنوان یک QTL بزرگ اثر توانست ۲۱/۳۲ سانتی‌متر طول ریشه را افزایش دهد.

QTL‌های مکان‌یابی شده برای وزن ریشه بر روی کروموزوم‌های دو (سه مورد)، ۴، ۷ و ۱۰ قرار داشتند. QTL‌های qRM-2a، qRM-3 و qRM-4 به‌ترتیب با ضریب تبیین ۲۰/۷، ۱۹/۵ و ۲۰/۱ به‌عنوان QTL‌های بزرگ اثر بیش از ۲۰ درصد از تنوع فنوتیپی وزن ریشه را توجیه کردند.

برای ضخامت ریشه شش QTL روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۴، ۷، ۱۰ و ۱۲ شناسایی شد. حدود ۷۰ درصد از تنوع فنوتیپی ضخامت ریشه در جمعیت مورد مطالعه ناشی از اثر آلل‌های این شش QTL می‌باشد. اثر افزایشی همه آلل‌های کنترل‌کننده ضخامت ریشه از والد عنبربو منتقل شده‌است. qRT-3 که در فاصله نشانگرهای E120-M150-2 و E090-M160-3 قرار داشت با LOD= ۸/۹۸۱ توانست به تنهایی ۳۵ درصد از تنوع فنوتیپی صفت مربوطه را به خود اختصاص دهد. (Price et al. 2002a) به منظور مکان‌یابی صفات مورفولوژی ریشه و توزیع ریشه از ۱۴۰ لاین خالص نوترکیب که از تلاقی ارقام Bala و Azucena به دست آمده بود استفاده نموده و QTL‌های مربوط به ضخامت ریشه را روی کروموزوم‌های ۱، ۴ و ۷ ردیابی کردند.

تحت شرایط نرمال در ناحیه‌ای از کروموزوم دو در فاصله نشانگرهای E070-M140-1-E070-M150-13 برای صفات مختلف از جمله طول ساقه در روز هفتم، طول ریشه روز هفتم، طول ریشه در روز چهاردهم، طول ریشه روز بیست‌وهشتم، طول ریشه روز سی‌وپنجم، وزن ریشه و ضخامت ریشه، QTL مکان-یابی شد. نتایج حاصل نشان‌دهنده وجود اثر پلیوتروپی در این مکان کروموزومی برای صفات مذکور می‌باشد.

مکان‌یابی QTL‌ها در شرایط خشکی

برای طول ساقه در روز هفتم سه QTL روی کروموزوم‌های ۷، ۹ و ۱۰ شناسایی شد که به غیر از qSLD7-10 که آلل سپیدرود باعث کاهش طول ساقه شد در دو QTL دیگر آلل‌های عنبربو طول ساقه را افزایش دادند. برای طول ساقه در روز چهاردهم دو QTL روی کروموزوم‌های ۱ و ۷ ردیابی شد. qSLD14-1 روی

ریشه در روز بیست‌وهشتم) در مطالعه حاضر مطابقت داشت. (2013) Lang et al. با تشکیل جمعیت BC₂F₂ حاصل از تلاقی ارقام OM1490 و WAB880 مکان‌یابی صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج را مورد مطالعه قرار دادند. این محققین از ۲۳۲ نشانگر ریزماهواره برای تهیه نقشه پیوستگی ۲۲۹ لاین استفاده کردند و دو QTL برای طول ریشه روی کروموزوم ۹ شناسایی نمودند.

هشت QTL تشخیص داده شده برای وزن ساقه بر روی کروموزوم‌های ۲ (سه مورد)، ۳، ۴، ۶ (دو مورد) و ۹ قرار داشت. به غیر از QTL‌های qSM-2a، qSM-3 و qSM-4 که آلل سپیدرود وزن ساقه را کاهش داد در سایر QTL‌ها آلل عنبربو وزن ساقه را افزایش داد.

برای صفت وزن ریشه یک QTL کوچک اثر روی کروموزوم ۸ (qRM-8) مکان‌یابی شد که در فاصله نشانگری RM1235-E110-M150-12 قرار داشت. جهت منفی اثر افزایشی نشان می‌دهد که آلل کاهنده صفت وزن ریشه از والد سپیدرود به نتاج منتقل شده است. QTL‌های مکان‌یابی شده برای بیوماس گیاه روی کروموزوم‌های ۱، ۲ (سه مورد)، ۴، ۶ (دو مورد) و ۹ قرار داشتند. در QTL‌های qPM-1، qPM-2a و qPM-4 آلل سپیدرود باعث کاهش بیوماس گیاه شد در حالی که در بقیه، آلل عنبربو بیوماس گیاه را افزایش داد. (2008) Biji et al. یک QTL روی کروموزوم ۶ برای صفت بیوماس در شرایط خشکی شناسایی کردند.

برای ضخامت ریشه چهار QTL بر روی کروموزوم‌های ۲، ۶، ۹ و ۱۰ شناسایی شد که در آن‌ها qRT-2 و qRT-6، سپیدرود باعث کاهش ضخامت ریشه و qRT-9 و qRT-10 عنبربو باعث افزایش ضخامت ریشه شدند. (2006) Nguyen et al. دو QTL برای ضخامت ریشه روی کروموزوم ۴ شناسایی کردند. QTL ردیابی شده در مطالعه آن‌ها با QTL‌های شناسایی شده در مطالعه حاضر مطابقت نداشت که این عدم تطابق ممکن است ناشی از عواملی چون متفاوت بودن جمعیت و والدین باشد.

تنها یک QTL برای سوختگی برگ روی کروموزوم ۶ در فاصله نشانگرهای E120-M160-1 و E120-M160-2 شناسایی شد. این QTL بزرگ اثر توانست ۲۰/۴ درصد از تغییرات سوختگی برگ را توجیه نماید. (2012a) Sabouri et al. نیز دو QTL روی

کروموزوم یک در فاصله نشانگری RM226-E100-M150-1 قرار داشت و qSLD14-7 روی کروموزوم ۷ در فاصله نشانگری RM70-E120-M160-5 واقع بود و آلل کاهش دهنده در این مکان از والد سپیدرود منتقل شد. هر دو QTL طول ساقه در روز بیست‌وهشتم روی کروموزوم سه قرار داشتند که آلل‌های کاهش دهنده از والد سپیدرود به نتاج منتقل شدند. ده QTL مکان‌یابی شده برای طول ساقه در روز سی‌وپنجم بر روی کروموزوم‌های ۱ (دو مورد)، ۲ (سه مورد)، ۴، ۶ (دو مورد)، ۹ و ۱۲ قرار داشتند. به غیر از QTL‌های qSLD35-1، qSLD35-2a و qSLD35-4 که آلل‌های سپیدرود طول ساقه را کاهش دادند در سایر QTL‌ها، آلل‌های عنبربو باعث افزایش طول ساقه شدند. qSLD35-9 به عنوان یک QTL بزرگ اثر با LOD=۵/۵۸۴ در نزدیکی نشانگر E090-M140-14 شناسایی شد.

QTL‌های شناسایی شده برای طول ریشه در روز هفتم روی کروموزوم‌های ۳ و ۸ قرار داشتند. اثر افزایشی این QTL‌ها به ترتیب ۰/۷۱- و ۰/۹۲- سانتی‌متر بود. در مورد هر دو QTL آلل‌های سپیدرود باعث کاهش طول ریشه شدند. در مطالعه Price and Tomas (1997) برای مکان‌یابی رشد ریشه برنج با استفاده از جمعیت F₂ حاصل از دو رقم Azucena و Bala یک QTL برای طول ریشه در روز هفتم روی کروموزوم ۶ با LOD= ۴/۸ در مجاورت نشانگر RZ593 ردیابی شد. برای طول ریشه در روز چهاردهم یک QTL روی کروموزوم ۱۰ شناسایی شد. همچنین (1997) Price and Tomas نیز سه QTL برای این صفت روی کروموزوم‌های ۲، ۶ و ۱۰ شناسایی کردند. برای صفت طول ریشه در روز بیست‌وهشتم، سه QTL (qRL28-2، qRL28-3، qRL28-9) ردیابی شد که بیش‌ترین تغییرات را QTL روی کروموزوم ۹ (qRL28-9) توجیه نمود. (1997) Price and Tomas نیز یک QTL برای طول ریشه در روز بیست‌وهشتم روی کروموزوم ۳ ردیابی کردند (2006) Nguyen et al. با استفاده از ۱۳۵ لاین خالص نوترکیب به دست آمده از برنج‌های آپلند ویتنامی برای ارزیابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات ریشه مرتبط با مقاومت به خشکی پرداختند و چهار QTL برای بیش‌ترین طول ریشه روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۹ و ۱۲ شناسایی کردند که QTL ردیابی شده روی کروموزوم ۹ با qRL28-9 (QTL کنترل‌کننده طول

QTL‌های زیادی برای صفات مختلف مکان‌یابی شد. در شرایط تنش خشکی در فواصل نشانگرهای E070-M140-1-E070-M150-13، RM1359-E070-M150-4 و E080-M140-4-E110-M140-9 مکان‌های ژنی برای طول ساقه در روز سی‌وپنجم، وزن ساقه و بیوماس شناسایی شد. با مقایسه QTL‌های صفات مختلف در شرایط نرمال و تنش فقط qRT-2 (ضخامت ریشه روی کروموزوم ۲) مشترک بود. به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که برای QTL‌هایی که در شرایط محیطی مختلف در نقاط یکسانی ظاهر شدند (مثل qRT-2) اثر متقابل QTL × محیط چندان قابل توجه نبود. در مقابل، در صفاتی که QTL‌های مربوط به آن‌ها در شرایط مختلف محیطی متغیر بودند (مثل سایر QTL‌های این مطالعه) اثر متقابل زیادی بین QTL‌ها و محیط وجود داشت. مکان‌یابی فاصله‌ای صفات در شرایط تنش و بدون تنش نشان داد که QTL‌های qRLD7-4b، qRM-2a و qRM-4 در شرایط نرمال و QTL‌های qSLD35-9، qLF-6 و qLR-6 در شرایط تنش بزرگ اثر بوده و با تبیین بالای ۲۰ درصد از تنوع فنوتیپی اثر بزرگی روی توجیه صفات مرتبط داشتند. بنابراین می‌توان از نشانگرهای مرتبط با آن‌ها برای انتخاب بهترین افراد برای دستیابی به لاین‌های مطلوب و مقاوم به تنش استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر مستخرج از طرح تحقیقاتی شماره ۶/۵۸۱ مصوب تاریخ ۹۰/۱۲/۱ دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشکده گنبد کاووس می‌باشد. لذا از مدیریت پژوهشی دانشگاه و ریاست محترم دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی جهت تامین مالی و از زحمات سرکار خانم مهندس کاتوزی، محبوبه نجار عجم، ملیحه قزلسفلو و جناب آقای دکتر احمد رضا دادرسی تشکر و قدردانی می‌کنیم.

منابع

Basten CJ, Weir BS, Zeng ZB (2001) QTL Cartographer: A Reference Manual and Tutorial for QTL Mapping. North Carolina State Univ. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 230.
Biji KR, Jeyaprakash P, Ganesh SK, Senthil A, Babu RC (2008) Quantitative trait loci linked to plant production

کروموزوم‌های ۱ و ۶ برای سوختگی برگ شناسایی کردند که در مجموع بیش از ۱۵ درصد از تغییرات مربوط به میزان سوختگی برگ را کنترل نمودند.

برای میزان لوله شدن برگ دو QTL تشخیص داده شد. qLR-6 در فاصله نشانگری E090-M150-10-RM5088 توانست تغییرات میزان لوله شدن برگ را به اندازه ۲۰/۶ درصد کنترل کند. qLR-12 با $LOD=15/37$ در نزدیک‌ترین فاصله با نشانگر RM179 قرار داشت. در مجموع آلل‌های افزایش‌دهنده میزان لوله شدن برگ از والد سپیدرود توانستند میزان لوله شدن برگ را افزایش دهند. در مطالعه‌ای که Sabouri et al. (2012) انجام دادند برای لوله شدن برگ سه QTL روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ (دو مورد) ردیابی شد. همچنین Price et al. (2002) مکان‌های مرتبط با اجتناب از خشکی را در برنج‌های آپلند در فیلیپین و شرق آفریقا تشخیص دادند. آن‌ها با استفاده از ۱۷۶ لاین خویش‌آمیخته نو ترکیب حاصل از تلاقی ارقام Azuceana و Bala و نقشه ژنتیکی حاصل از ۱۰۲ نشانگر RFLP و ۳۴ نشانگر AFLP و ۶ نشانگر ریزوماهواره و روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، درجه لوله شدن برگ، سوختگی برگ و محتوای آب نسبی برگ را مکان‌یابی نمودند. Lin (2007) et al. به منظور شناسایی QTL‌های مرتبط با خشکی با استفاده از ۱۲۱ نشانگر SSR از تلاقی ارقام Milyang 23 (هندی) و Taichung 189 (ژاپنی) استفاده کردند. آن‌ها در مجموع چهار QTL روی کروموزوم‌های ۴، ۸، ۱۰ و ۱۲ شناسایی کردند.

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر به منظور تعیین QTL‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج انجام شد. در شرایط نرمال در قسمت‌هایی از کروموزوم‌های ۲، ۴ و ۱۰ به ترتیب در مجاورت نشانگرهای E070-M150-13، RM1359 و E080-M160-10

traits in rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress in a target environment. Journal of Science Asia 34: 265-272.
Bouman BAM, Tuong TP (2001) Field water management to save water and increase its productivity in irrigated lowland rice. Agricultural Water Management 49: 11-30.
Chen X, Temnykh S, Xu SY, Cho YG, McCouch SR (1997) Development of a microsatellite framework map

- providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics 95: 553-567.
- Courtois B, McLaren G, Sinha PK, Prasad K, Yadav, R, Shen L (2000) Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice. Journal of Molecular Breeding 6: 55-66.
- Courtois B, Shen L, Petalcorin W, Carandang S, Mauleon R, Li Z (2003) Locating QTLs controlling constitutive root traits in the rice population IAC 165 × Co39. Euphytica 134: 335-345.
- Gregory, PJ (1994) Root growth and activity. In: Boote KJ, Bennett JM, Sinclair TR, Paulsen GM (Eds) Physiology and determination of crop yield. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI: 65-93.
- Hoad SP, Russell G, Lucas ME, Bingham IJ (2001). The management of wheat, barley, and oat root systems. Advances in Agronomy 74: 193-246.
- Kazemiabarbati H (2008) Specific cultivation. Center of University Press. 315.
- Kondo M, Murty MVR, Aragones DV (2000) Characteristics of root growth and water uptake from soil in upland rice and maize under water stress. Soil Science and Plant Nutrition 46: 721-732.
- Kondo M, Pablico PP, Aragones DV, Agbisit R, Abe J, Morita S, Courtois B (2003) Genotypic and environmental variations in root morphology in rice genotypes under upland field conditions. Plant and Soil 255: 189-200.
- Kosambi DD (1944) The estimation of map distances from recombination values. Annual Eugen 12: 172-175.
- Lafitte HR, Yongsheng G, Yan S, Li ZK (2007) Whole plant responses, key processes, and adaptation to drought stress: the case of rice. Journal of Experimental Botany 58: 169-175.
- Lander ES, Botstein D (1989) Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. Genetics 121: 185-199.
- Lang NT, Nha CT, Ha PTT, Buu BC (2013) Quantitative Trait Loci (QTLs) Associated with drought Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Breeding and Genetics 45: 409-421.
- Lin MH, Lin, GW, Chen JC, Lin YC, Cheng, SU, Liu TH, Jan FJ, Wu ST, Thseng FS, Ku HM (2007) Tagging Rice Drought-related QTL with SSR DNA Markers. Crop Environment and Bioinformatics 4:65-76.
- McCouch SR, Teytelman L, Xu Y, Lobos K, Clare K, Walton M (2002) Development of 2243 new SSR markers for rice by the international rice microsatellite initiative. Proc. First International Rice Congress. China 150-152.
- McCouch SR, Cho YG, Yano M, Paul E, Blintrub, M, Morishima H, Kinoshita T (1997) Report on QTL nomenclature. Rice Genetics Newsletter 14: 11-13.
- Manly KF, Olson JM (1999) Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QTL. Mammalian Genome. 10: 327-334.
- Manschadi AM, Christopher J, Voil P, Hammer GL (2006). The role of root architectural traits in adaptation of wheat to water limited environments. Functional Plant Biology 33:823-837.
- Manske GGB, Vlek PLG (2002). Root architecture wheat as a model plant. Plant roots: the hidden half. Marcel Dekker, New York, USA 249-259.
- Mohamadi BA, Ghannadha MR, Zali AA, Yazdi samadi B, Bern P (2005) Mapping of heat tolerance in wheat. The 4th National Biotechnology Congress Islamic Republic of Iran Kerman, International center for science and high technology and environmental science. (In Farsi)
- Nguyen DT, Nguyen TKL, Pham QC, Tran QT, Le TBT, Henry N (2006) Mapping QTLs Associated with Root Traits Related To drought Resistance in Vietnamese Upland Rice. AJSTD 23: 323-332
- Price AH, Tomos AD (1997) Genetic dissection of root growth in rice (*Oryza sativa* L.). II: mapping quantitative trait loci using molecular markers. Theoretical and Applied Genetics 95:143-152.
- Price AH, Steele KA, Moore BJ Jones RGW (2002a) Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water-deficit regimes. II. Mapping QTL for root morphology and distribution. Field Crop Research 76: 25-43.
- Price AH, Ownsend JT, Jones MP, Audebert A, Courtois B (2002b) Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice grown in the Philippines and West Africa. Plant Molecular Biology 48: 683-695.
- Sabouri H, Sabouri A, Khataminejad R (2012a) Mapping QTLs linked to some traits related to Drought stress in rice. Journal of crop production and processing 2:1-12. (In Farsi)
- Sabouri H, Mohammadinejad G, Ebadi A (2012b) Evaluation of Gense Effects and Providing Linkage Map in Iranian Rice Mapping Population of Garib × khazar cross. Scintific Journal of Agriculture 35: 29-52.
- Saghi Maroof MA, Biyashev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW (1994) Extraordinarily polymorphic microsatellites DNA in barely species diversity, chorosomal location, and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 91: 5466-5570.
- Temnykh S, Park WD, Ayres N, Cartinhour S, Hauck N, Lipovich L, Cho, YG, Ishii T, McCouch SR (2000) Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics 100: 697-712.
- Todaka D, Nakashima K Shinozaki K, Yamaguchi Shinozaki K (2012) Toward understanding transcriptional regulatory networks in abiotic stress responses and tolerance in rice. Rice 5: 6.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Lee TVD, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23: 4407-4414.
- Wang H, Xu X, Zhan X, Zhai R, Wu W, Shen X, Dai G, Cao L, Cheng S (2013) Identification of qRL7, a major quantitative trait locus associated with rice root length in hydroponic conditions. Journal of Breeding Science 63: 267-274.
- Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez KA (1976) Laboratory manual for physiological studies of rice. IRRI, Los banos, Philipines.53.

Locating genes associated with the roots of rice at seedling stage using recombinant lines under normal and drought conditions

Sabouri H^{*1}, Mohammad Alegh Sh²

1. Associate Professor, College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University

2. MSc Student of Biotechnology of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University

* Corresponding Author, Email: hos.sabouri@gmail.com

ABSTRACT

In order to identify markers associated with genes controlling root traits related to drought tolerance under drought stress and normal conditions, 96 lines derived from crossing between Sepidroud and Anbarboo in hydroponic culture and Yoshida nutrient solution with -5 bar osmotic potential were evaluated. A Linkage map including 264 AFLP and 124 SSR markers was constructed that covered 1950.4 cM of rice genome. Average distance between markers was 5.20 cM. Length of shoot and root on 7th, 14th, 21th, 28th and 35th days after planting, shoot weight, root weight, thickness roots, biomass, leaf rolling and leaf frying code were recorded. qRT-2 (roots thickness on chromosome 2) under both condition stress and non-stress were identified. The detection of this QTL under the two different conditions, probably show that it is a stable QTL and environmental conditions did not have any influence on this QTL. Three major QTLs for 7th shoot length, root weight and root thickness between E120-M150-2 and E090-M160-3 markers on chromosome 3 were located under normal conditions. QTLs controlling root length at 7th (qRLD7-4b), qRM-2a and qRM-4 (root weight) under normal conditions, stem length on day 35 (qSLD35-9), leaf frying (qLF-6) and leaf rolling (qLR-6) were detected as major QTL under stress condition that these QTLs accounted for over 20 percent of the phenotypic variations. The markers showed tight linkage with the major QTLs in this research, could be used in marker-assisted selection breeding programs for selection of superior lines and incorporating of favorable alleles into commercial rice varieties.

Key Words

Drought Stress, Mapping, Rice (*Oryza sativa* L.), Root Traits