دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده صفات گیاهچه‌ای در جمعیت نوترکیب برنج ایرانی تحت تنش خشکی

مهناز کاتوزی[۱]، سعید نواب‌پور[۲]، احد یامچی[۳]، سیده ساناز رمضانپور[۲] و حسین صبوری[۴]

۱، ۲ و ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۴- دانشیار، دانشگاه گنبد کاووس، (نویسنده مسوول: hos.sabouri@gmail.com)
تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۹ تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۹

چکیده

برنج یکی از مهمترین محصولات کشاورزی ایران و جهان است. تنش‌های محیطی مانند خشکی تولید این محصول را محدود می‌نمایند. به منظور اشباع نقشه پیوستگی جمعیت نوترکیب حاصل از تلاقی سپید رود و عنبربو آزمایشی با استفاده از ۹۶ لاین نوترکیب و ۴۰ نشانگر ISSR، در دانشگاه گنبد کاووس اجرا شد. جهت مکان‌یابی صفات مرتبط با تنش خشکی در مرحله گیاهچه لاین‌های مذکور در شرایط هیدروپونیک تحت تنش خشکی کشت داده شدند. صفات مورد بررسی شامل وزن ساقه، وزن ریشه، بیوماس، نمره ژنتیکی، سطح برگ، طول ساقه، طول ریشه و ضخامت ریشه بودند. نقشه پیوستگی ۱۷۰۹/۲۹ سانتی مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد. چهار QTL در تنش خشکی بر روی کروموزوم‌های ۳ (دو QTL) ۷ (دو QTL) مکان‌یابی شد. qDRW-3 و qDBM-3 به ترتیب با LOD ۲/۵۱۸ و ۲/۷۲۷ اثر افزایشی بر صفات وزن ریشه و زیست توده داشتند و توانستند به ترتیب ۱۱/٤ و ۱۲/۳ درصد تغییرات فنوتیپی را توجیه نمایند. از نتایج این تحقیق می‌توان در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر جهت بهبود تحمل گیاهچه‌های برنج به تنش‌خشکی پس از تعیین اعتبار مارکرها استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اشباع نقشه ژنتیکی، برنج، تنش خشکی، نشانگر ISSR

مقدمه

برنج به عنوان یک گیاه قادر به رشد در شرایط غرقابی، یکی از حساس‌ترین گیاهان در برابر کمبود آب است و بیشترین نیاز آبی را در بین غلات دارد (۲۶). این گیاه تا رسیدگی فیزیولوژیکی دانه‌ها به حدود ۸ تا ۲۰ هزار متر مکعب آب نیاز دارد (۳). عملکرد در گیاه برآیند صفات مختلف است. تاثیر در هریک از مراحل رشد بر عملکرد برنج ثابت شده است. تحقیقات نشان داد که کاهش عملکرد محصول نه تنها به شدت و مدت تنش رطوبتی بستگی دارد، بلکه به زمان وقوع آن در مراحل مختلف رشد نیز مرتبط است. در برنج QTLهای کنترل کننده عملکرد گیاه تحت شرایط خشکی و سازگار به تنش با QTLهای مرتبط با صفات تحمل ریشه همپوشانی دارند. آلل‌های مطلوب برای ایجاد عملکرد مناسب روی کروموزم ۱ برنج مشاهده شده است (۱۴). استفاده از این QTLها برای تعداد زیادی از ویژگی‌های وابسته به خشکی همانند وزن خشک ریشه، ظرفیت نگهداری آب و نقش برگ‌ها در شرایط خشکی کاربرد دارند. در حال حاضر اصلاح گران به آلل‌های مفید تعیین‌کننده تحمل به خشکی و پیدا کردن ژن‌های مفید برای بدست آوردن عملکرد بالا نیاز دارند (۱۳،۹). باید توجه داشت در برخی موارد ممکن است محل کروموزومی که برای مقاومت گیاه به خشکی مد نظر است، به عنوان یک صفت کاهش دهنده عملکرد نیز عمل نماید. وینیوپراساد و همکاران (۲۲) با استفاده از جمعیت هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی ارقام آزوسینا و IR64 صفات ریشه را در شرایط تنش خشکی مکان‌یابی نمودند. در پژوهش آنها همبستگی بین طول ریشه با عملکرد در شرایط عادی و تنش به ترتیب منفی و مثبت گزارش شد. آنها تنها یک QTL برای افزایش روز تا گلدهی در شرایط غیر تنش شناسایی نمودند که روی حجم ریشه تاثیرگذار بود. همچنین نتایج این تحقیق فرضیه وجود اثرات پلیوتروپی را برای کنترل صفات در شرایط تنش خشکی رد نمود. وینود و همکاران (۲۳) در ارزیابی ۱۲ ژن کاندید چند شکل روی یک جمعیت ۱۴۸ فردی از جمعیت هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی CT9993 و IR62266 دو ژن کاندید EXP15 و EXP13 را پیوسته به صفات تعداد ریشه و محتوای سیلیس آنها در شرایط عادی و تنش خشکی شناسایی نمودند. مک میلان و همکاران (۱۲) اهمیت اثرات متقابل ژنوتیپ و محیط را برای صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج با استفاده از مکان‌یابی QTLها بررسی نمودند. در این بررسی ۱۴۵ QTL روی ۳۷ مکان کروموزومی ردیابی شد. از بین QTLهای ردیابی شده تعداد پنج QTL با محیط اثر متقابل نشان دادند. پرایس و همکاران (۱۶) مکان‌های مرتبط با اجتناب از خشکی را در برنج‌های آپلند در فیلیپین و شرق آفریقا تشخیص دادند. آنها با استفاده از ۱۷۶ لاین خویش آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام Azuceana و Bala و نقشه ژنتیکی حاصل از ۱۰۲ نشانگر RFLP و ۳۴ نشانگر AFLP و شش نشانگر SSR و روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، درجه لوله شدن برگ، سوختگی برگ و محتوای نسبی آب برگ را مکان‌یابی نمودند. در پژوهش آنها شش ناحیه از هفت ناحیه در بر دارنده QTL، بیش از یک صفت را کنترل نمودند که حاکی از وجود همبستگی بین صفات بود. سه QTL نیز فقط در محیط فیلیپین ردیابی شد. QTL مربوط به محتوای نسبی آب برگ روی کروموزوم ۸ ردیابی شد که با QTL مربوط به تنظیم اسمزی هم مکان بود و در مطالعات پیشین نیز شناسایی شده بود. پرایس و همکاران (۱۷) در مطالعه دیگری صفات مربوط به مورفولوژی ریشه را در جمعیت لاین خویش آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی

ارقام Azuceana و Bala استفاده نمودند. صفات مربوط به مورفولوژی ریشه در شرایط کنترل شده گلخانه اندازه‌گیری شد. هفت QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۴، ۷، ۹ و دو QTL روی کروموزوم ۱۱ ردیابی شد. صفات مرتبط با تحمل به خشکی توسط کومار و همکاران (۱۱) نیز مورد تجزیه ژنتیکی قرار گرفت. این تجزیه با استفاده از جمعیت حاصل از تلاقی CT9993-5-10-1 و IR62266-42-6-2 با اعمال خشکی در زمان گلدهی انجام شد. در این مطالعه یک QTL روی کروموزوم ۱ ردیابی شد که ۳۲ درصد از تغییرات عملکرد را در شرایط تنش کنترل نمود. گومز و همکاران (۴) صفات فیزیولوژیک و مورفولوژی مرتبط با تولید محصول در برنج را تحت شرایط خشکی مورد تجزیه قرار دادند. آنها از ۱۷۷ لاین خویش آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام Azuceana و Bala استفاده نمودند. در این مطالعه تنش خشکی در مرحله زایشی به گیاه وارد شد. تعداد ۲۴ QTL در شرایط تنش خشکی در این مطالعه ردیابی شد که از ۴/۶ تا ۳۳/۳ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمودند. سه ناحیه شامل نشانگرهای RM3894، RG409 و G1073 روی کروموزوم‌های ۳ و ۸ با صفت عملکرد ارتباط داشتند که این مکان‌ها QTLهای صفات درجه سوختگی، روز تا ۵۰ درصد گلدهی و تعداد پنجه را هم کنترل نمودند. بابو و همکاران (۱) ارتباط بین صفات ثانویه و عملکرد گیاه برنج را در شرایط تنش خشکی با استفاده از تجزیه QTL مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی از ۱۵۴ فرد هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی CT9993-5-10-1 و IR62266-42-6-2 استفاده شد. در این پژوهش به طور کلی ۴۷ QTL برای صفات مختلف شناسایی شد که از ۵ تا ۵۹ درصد از تغییرات را توجیه نمودند. یک ناحیه روی کروموزوم ۴ QTL بزرگ اثری را شامل شد که صفات ارتفاع بوته و صفات ریشه را کنترل نمود.

هدف از تحقیق حاضر شناسایی ژن‌های کمی کنترل‌کننده صفات گیاهچه‌ای برنج تحت تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش مربوط به مطالعات فنوتیپی در آزمایشگاه گیاه‌شناسی واقع در دانشگاه گنبد کاووس از تاریخ اردیبهشت سال ۱۳۹۲ تا دی‌ماه همان سال به روش گره‌گریگوریو و همکاران (۵) در شرایط کنترل‌شده اجرا شد. در این بخش از تحقیق ۹۶ لاین تصادفی حاصل از تلاقی عنبربو به‌عنوان والد متحمل و سپیدرود به‌عنوان والد حساس به خشکی مورد ارزیابی قرار گرفتند و آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در ۴ تکرار پیاده شد. لاین‌های مذکور برای تنش خشکی تحت پتاسیل اسمزی ۵- بار مانیتول قرار گرفتند. همچنین تمامی لاین‌ها در شرایط بدون تنش (نرمال) نیز به عنوان تیمار شاهد کشت گردیدند.

لاین‌های F_8 مذکور در محلول غذایی یوشیدا و همکاران (۲۷) کشت داده شدند. برای کشت از صفحه‌های یونولیت با ابعاد ۳۳×۲۲×۱/۵ سانتی‌متر استفاده گردید. جهت این عمل ۱۱ مربع ۲×۲ سانتی‌متر در هر ردیف و ۱۰ مربع در هر ستون و در دو طرف صفحه نیز فضایی جهت قرار دادن دسته ۳ سانتی‌متری قرار داده شد. سپس توسط انتهای لوله‌ی آزمایش به ابعاد ۱×۱ سوراخ‌هایی در مربع‌های مذکور ایجاد شد، بعد از آن شبکه نایلونی (Styrofoam، صفحه‌ای از جنس پلاستیک با سوراخ‌های ریز که ریشه‌چه‌ها از آن عبور داده شوند) نیز به ابعاد یونولیت‌های مورد نظر برش داده شدند و به کمک نخ و سوزن زیر این صفحات یونولیت، شبکه نایلونی دوخته شد و دسته‌های مربوطه نیز جهت بلند کردن صفحه‌ها دوخته شدند و از سینی‌هایی به حجم ۱۰ لیتر و به ابعاد ۲۷×۵۳/۵×۸/۵ سانتی‌متر که ضدعفونی شده بود استفاده گردید و هر سینی تا شبکه نایلونی با آب مقطر پر گردید سپس صفحه‌های یونولیت روی سینی‌ها قرار داده شد، در هر سوراخ روی یونولیت سه بذرجوانه زده بوسیله پنس ضدعفونی شده انتقال داده شده و از طرف ریشه‌چه داخل آب قرار گرفتند (۶). بعد از انتقال بذور به سیستم کشت، سینی‌های مربوطه در داخل اتاقک رشد در شرایط (۲۹ درجه سانتی‌گراد روز، ۲۱ درجه سانتی‌گراد شب، رطوبت ۷۰ درصد و شرایط نور طبیعی) قرار داده شدند. قابل ذکر است که فضای داخل اتاقک رشد توسط محلول حاوی ۱۰ میلی‌لیتر فرمالین و دو گرم پرمنگنات پتاسیم به کمک پنبه آغشته شد و پس از سه روز نیز با الکل سفید شستشو داده شد، به این ترتیب کاملاً ضدعفونی گردید. محلول غذایی یوشیدا در pH برابر ۵/۵ به سینی‌ها انتقال داده شد و گیاهچه‌های برنج تا دو هفته در محلول غذایی بدون تنش قرار داده شدند، محلول غذایی هر هفت روز تعویض می‌شد. pH محلول نیز به‌وسیله اضافه نمودن HCl و NaOH در ۵/۵ ثابت نگه داشته شد و هفته‌ای سه بار کنترل گردید، سپس برای اعمال تنش خشکی نیز ۱۴ روز پس از رشد نرمال پتانسل اسمزی محلول غذایی یوشیدا با استفاده از مانیتول به ۵- بار رسانده شد (۲۷). برای تحمل به خشکی بر اساس روش دداتا (۳) مطابق جدول (۱) تعیین شد. صفات وزن ریشه، وزن ساقه، بیوماس، نمره ژنتیکی، سطح برگ، طول ساقه، طول ریشه و ضخامت ریشه اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- نمره‌های مربوط به لوله شدن و درجه سوختگی برگ برای تحمل به خشکی در مرحله گیاهچه (۳)
Table 1. Standard evaluation system for drougth tolerance for leave symptoms at seedling stage

سوختگی برگ	واکنش	
بدون نشانه	بسیار متحمل	۰
خشک شدن جزئی نوک برگ‌ها	متحمل	۱
گسترش یافتن خشکی نوک برگ‌ها به اندازه یک چهارم در سه برگ گیاه	نسبتا متحمل	۳
خشک شدن نصف برگ‌های جوان و نمام برگ‌های پایین	نسبتا حساس	۵
گسترش یافتن خشکی برگ‌ها به اندازه سه چهارم برگ	حساس	۷
گسترش یافتن خشکی به تمام برگ‌ها	بسیار حساس	۹

مطالعات ژنوتیپی

در بهار سال ۹۲ نقشه ژنتیکی تهیه شده توسط صبوری و همکاران (۱۹) با استفاده از ۴۰ نشانگر ISSR (جدول ۲) بر روی ۹۶ تک‌بوته F_8 اشباع شد. مراحل استخراج DNA توسط روش سقایی معروف و همکاران (۲۰) با اندکی تغییر انجام پذیرفت. برای تعیین کیفیت DNA استخراج شده از الکتروفورز افقی استفاده شد و از طریق شدت باندهای تشکیل شده توسط هر نمونه در جریان الکتروفورز کیفیت نمونه‌ها تعیین شد. به این ترتیب که مشاهده یک باند ممتد کشیده و سرتاسری در کل مسیر حرکت DNA در روی ژل، حاکی از شکسته شدن و کیفیت نامطلوب DNA ژنومی استخراج شده است و مشاهده یک باند اضافی در پایین ژل افقی نشان‌دهنده‌ی وجود RNA در نمونه‌ها می‌باشد. مشاهده‌ی باندهای کاملاً واضح و بدون کشیدگی نشان‌دهنده‌ی کیفیت خیلی خوب DNA ژنومی استخراج شده است. در این پژوهش نقشه حاصل از نشانگرهای SSR و AFLP در پژوهش صبوری و همکاران (۱۹) به وسیله نشانگرهای ISSR اشباع شد. به منظور تشخیص نشانگرهای چندشکل، ابتدا واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تنها برای DNA والدینی (عنبربو و سپیدرود) برای ۴۰ آغازگر ISSR (براساس مطالعات پیشین و انتخاب آغازگرهای با چندشکلی بالا) انجام شد. از این تعداد ۳۵ آغازگر چندشکل مناسبی نشان دادند. در مرحله بعد نمونه‌های DNA لاین‌های نوترکیب با استفاده از ۳۵ آغازگر چندشکل که نواربندی واضح‌تری داشتند، تکثیر شدند و فرآورده‌های حاصل به منظور تعیین ژنوتیپ افراد الکتروفورز شدند.

جدول ۲- لیست آغازگرهای ISSR
Table 2. ISSR primers list

شماره	توالی	دمای اتصال	شماره	توالی	دمای اتصال
۱	CAGCAGCAGCAGCAG	54	۲۱	AGAGAGAGAGAGAGAGC	59
۲	CTCTCTCTCTCTCTCTT	45	۲۲	GAGGAGAGAGAGAGAGG	59
۳	CCACCACCACCACCA	47	۲۳	GAGAGAGAGAGAGAGAT	53
۴	ATGATGATGATGATG	42	۲۴	GAGAGAGAGAGAGAGAA	53
۵	CAACAACAACAACAA	47	۲۵	CTCTCTCTCTCTCTCTT	53
۶	ACTGACTGACTGACTG	46	۲۶	CTCTCTCTCTCTCTCTG	48
۷	GTGTGTGTGTGTCC	42	۲۷	CACACACACACACACAT	54
۸	AACAACAACAACAACAACG	43	۲۸	CACACACACACACACAA	54
۹	ACACACACACACACACACTA	50	۳۰	CACACACACACACACAG	54
۱۰	ACACACACACACACACACACG	52	۳۱	GTGTGTGTGTGTGTGTC	59
۱۱	ACAG ACAG ACAG ACAG ACAGC	50	۳۲	GTGTGTGTGTGTGTGTT	59
۱۲	CAGCAGCAGCAGCAGCAGA	52	۳۳	TCTCTCTCTCTCTCTCA	54
۱۳	CTCCTCCTCCTCCTCCTCG	55	۳۴	TCTCTCTCTCTCTCTCC	54
۱۴	CTGTCTGTCTGTCTGTCTGTG	52	۳۵	TCTCTCTCTCTCTCTCG	54
۱۵	GGAAGGAAGGAAGGAAGGAAT	52	۳۶	ACACACACACACACACT	54
۱۶	GTAGTAGTAGTAGTAGTAC	40	۳۷	ACACACACACACACACC	62
۱۷	GTCGTCGTCGTCGTCGTCA	50	۳۸	TGTGTGTGTGTGTGTG	54
۱۸	GTTGTTGTTGTTGTTGTTA	42	۳۹	GAATGAATGAATGAAT	52
۱۹	TCTTCTTCTTCTTCTTCTG	42	۴۰	CCTACCTACCTACCTA	52
۲۰	TGATGATGATGATGATGAA	40			

برای الکتروفورز محصول PCR و آشکارسازیDNA هدف از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد و سپس به نسبت هشت میکرولیتر محصول PCR و دو میکرولیتر محلول رنگی بارگذاری بر روی چاهک‌های ژل بارگذاری شدند. الکتروفورز با ولتاژ ثابت ۷۵ وات به مدت ۶۵ دقیقه انجام شد. برای عکس‌برداری باندها، از دستگاه ژل داک استفاده شد و همچنین از ژل پلی اکریل آمید شش درصد برای جداسازی محصولات PCR استفاده شد. در چاهک ابتدای ژل، سه میکرولیتراز مخلوط (DNA ladder 1Kb + آب دوبار تقطیر+ بافر بارگذاری) به منظور تعیین اندازه قطعات، ریخته شد.

تجزیه داده‌ها

جهت تجزیه داده‌های فنوتیپی (تجزیه واریانس و مقایسه میانگین) از نرم‌افزار SAS-9 استفاده شد. تهیه نقشه با استفاده از توابع کوزامبی (۱۰) انجام شد. همچنین جهت تهیه نقشه پیوستگی از نرم‌افزار Map Manager QTX17 و نهایتا برای انجام مکان‌یابی صفات مورد

بررسی از نرم‌افزار QTL Cartographer 2.5 استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس مرکب لاین‌ها

اختلاف بین لاین‌ها برای کلیه صفات در تنش خشکی معنی‌دار بود (جدول ۳). این نتیجه بیانگر وجود تنوع ژنتیکی برای صفات ارزیابی شده در مرحله گیاهچه‌ای در شرایط تنش خشکی در لاین‌های مورد بررسی است. همچنین تفاوت لاین‌ها از نظر هر خصوصیت در سطح خشکی متفاوت بود. به عبارت دیگر به دلیل پاسخ متفاوت لاین‌ها به سطوح مختلف خشکی، اثر متقابل لاین × خشکی معنی‌دار شد.

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب در شرایط نرمال و خشکی

Table 3. Combined Analysis of variance in drought and normal condition

		میانگین مربعات							
	درجه آزادی	وزن ریشه	وزن ساقه	بیوماس	نمره ژنتیکی	سطح برگ	طول ساقه	طول ریشه	ضخامت
محیط	۱	۵۴/۵۱۸**	۴۹/۳۲۵**	۲۰۷/۵۵۶**	۳۲۷۵/۲۵۵**	۲۶۶۲۴/۲۱۷**	۳۱۴۸۰/۲۶۰**	۲۹۲۹/۱۷۱**	۶۸/۷۵۸**
خطای اول	۶	۰/۰۳۲	۰/۰۵۰	۰/۱۵۳	۴/۰۴۶	۱۹/۵۴۰	۲۱۱۱/۹۶۷	۴۵/۲۰۶	۰/۰۲۴
لاین	۹۵	۰/۶۶۶**	۰/۱۵۹**	۰/۹۷۸**	۲/۰۹۷**	۱۰۵/۸۴۹**	۹۴۷/۹۸۹**	۱۴/۴۳۰**	۰/۱۳۱**
محیط × لاین	۹۵	۰/۷۰۰**	۰/۱۸۴**	۱/۱۱۲**	۲/۰۹۷**	۱۱۸/۸۶۹**	۷۰۸/۷۴۴**	۱۵/۲۲۹**	۰/۱۳۲**
خطا دوم	۵۷۰	۰/۰۲۰	۰/۰۰۴	۰/۰۳۲	۰/۴۱۸	۶/۴۴۱	۳۷۵/۳۹۵	۲/۹۳۴	۰/۰۱۱
ضریب تغییرات		۱۱/۸۶۷	۱۶/۹۳۴	۱۱/۳۴۰	۲۱/۱۱۳	۱۳/۴۸۱	۴۵/۴۱۹	۱۸/۱۴۸	۲۳/۰۸۵

ns، ** و *: به ترتیب نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین لاین‌ها در شرایط خشکی

تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف بین لاین‌ها برای صفات وزن ریشه، وزن ساقه، بیوماس، نمره ژنتیکی، طول ساقه، طول ریشه و ضخامت ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). این نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی بین لاین‌ها از نظر صفات مورد بررسی بود.

در تنش خشکی لاین ۷۳ دارای بیشترین میانگین وزن ریشه، وزن ساقه و بیوماس بود. همچنین این لاین دارای کمترین مقدار نمره ژنتیکی پس از لاین ۷۰ بود که نشان دهنده تحمل بالای این لاین به تنش خشکی می‌باشد. لاین ۵۶ با کمترین میانگین در صفات وزن ریشه، وزن ساقه، بیوماس، سطح برگ، طول ساقه، طول ریشه و ضخامت ریشه، تحمل کمتری نسبت به تنش خشکی نشان داد. زیرا این لاین بالاترین مقدار نمره ژنتیکی را پس از لاین‌های ۲۵، ۶، ۴۷، ۳۶ و ۸ را به خود اختصاص داد.

جدول ۴- تجزیه واریانس ساده در شرایط خشکی

Table 4. Analysis of variance in drought condition

		میانگین مربعات							
	درجه آزادی	وزن ریشه	وزن ساقه	بیوماس	نمره ژنتیکی	سطح برگ	طول ساقه	طول ریشه	ضخامت
تکرار	۳	۰/۰۳۵$^{n.s}$	۰/۰۷۷**	۰/۲۱۱**	۸/۰۹۳**	۲۸/۶۷۳**	۴۲۲۳/۸۸۰**	۹۰/۳۷۹**	۰/۰۲۹$^{n.s}$
لاین	۹۵	۰/۰۲۰**	۰/۰۴۲**	۰/۱۱۳**	۴/۱۹۴**	۱۸/۸۸۶**	۹۵۸/۶۵۶$^{n.s}$	۱۷/۰۸۸**	۰/۰۲۰**
خطا	۲۸۵	۰/۰۰۵	۰/۰۰۷	۰/۰۲۱	۰/۸۳۷	۳/۷۳۷	۷۵۰/۷۱۲	۵/۸۳۲	۰/۰۰۸
ضریب تغییرات		۷/۷۳۷	۶۲/۷۵۱	۱۳/۷۶۵	۱۷/۸۳۹	۱۴/۹۴۳	۷۵/۵۷۲	۳۲/۲۵۷	۵۶/۶۸۴

ns، ** و *: به ترتیب نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ است.

مکان‌یابی صفات کمی

تهیه نقشه ژنتیکی

در پژوهش حاضر نقشه پیوستگی حاصل از ۲۶۱ نوار چندشکل AFLP و ۱۲۳ نشانگر SSR (۱) با استفاده از ۳۵ نشانگر ISSR و ۳۱۱ آلل چند شکل بین والدین و ۹۶ فرد جمعیت F_8 اشباع شد. این نشانگرها به ۱۲ گروه پیوستگی معادل با ۱۲ کروموزوم برنج منتسب شدند که ۱۷۰۹/۲۹ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش دادند و به طور متوسط فاصله‌ی بین دو نشانگر ۵/۲۰ سانتی‌مورگان بود.

مکان‌یابی صفات کمی در شرایط نرمال

اختلاف دو رقم عنبربو و سپیدرود برای صفات وزن ریشه، وزن ساقه، زیست توده، سطح برگ، طول ساقه، طول ریشه و ضخامت در شرایط نرمال معنی‌دار بود (جدول ۵). عنبربو در تمامی صفات مقدار بالاتری داشت.

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی بین والدین در شرایط نرمال
Table 5. Compar mean of traits between parents in normal condition

صفت	عنبربو	سپیدرود	t
وزن ریشه (گرم)	۲/۷۹۹	۰/۲۵۰	۱۲/۹۲۰**
وزن ساقه (گرم)	۰/۲۸	۰/۳۰	۲/۷۴۶**
زیست توده (گرم)	۳/۳۳۳	۰/۳۲۶	۱۰۷۳/۶۴۳**
سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	۱/۴۳	۰/۶۱	۱۱۳/۷۱۴**
طول ساقه (سانتی‌متر)	۱۹/۵	۱۳/۰	۴/۹۳۹*
طول ریشه (سانتی‌متر)	۱۱/۷	۸/۸	۴۷/۶۶۷**
ضخامت (میلی‌متر)	۱/۵۸۸	۰/۴۶۴	۹۴۸/۰۹۴**

** و *: به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ است.

برای صفت وزن ریشه در شرایط نرمال چهار QTL مکان یابی شد که یک QTL برروی هر یک از کـروموزوم‌های ۲، ۷ و دو QTL بر روی کروموزوم ۹ قرار داشتند. qNRW-2 در فاصله نشانگری E080-M160-3-RM6843 با اثر افزایشی ۰/۴۱۳ و نسبت درست‌نمایی ۲/۳۸۵ قرار داشت. هرچند که این QTL دارای بالاترین درجه تبیین نسبت به سایر QTLهای یافت شده برای این صفت می‌باشد ولی به دلیل کم بودن مقدار آن می‌توان آن را جزء QTLهای کوچک اثر دانست. همچنین qNRW-9b با فاصله نشانگری ISSR20-10-E070-M150-7 با اثر افزایشی ۰/۳۵۶- باعث کاهش میزان صفت مذکور در ژنوتیپ‌ها گردید (جدول ۶). برای وزن ساقه سه QTL مکان‌یابی شد (کروموزوم‌های ۱، ۲ و۴) که به ترتیب دارای LOD ۳/۱۳۵، ۵/۰۴۵ و ۴/۸۳۷ می‌باشند. qNSW-2 با فاصله نشانگری RM8254 به میزان ۲۱/۵ درصد تغییرات فنوتیپی را توجیه نموده، اما موجب کاهش این صفت به میزان ۰/۰۴ شد. همچنین qNSW-4 با فاصله نشانگری RM1359- E070-M150-4 مقدار ۲۰/۷ درصد از کل تغییرات را توجیه نمود و اثر افزایشی آن ۰/۰۴۶- بود. qNLA-8 با فاصله نشانگری RM684 -ISSR23-4 تنها QTLی است که برای صفت سطح برگ یافت گردید دارای LOD ۲/۶۰۷ بوده و با درجه تبیین ۱۱/۸ درصد، موجب کاهش سطح برگ به میزان ۰/۱۴- می‌گردد. QTLهای شناسایی شده برای طول ساقه بر روی کروموزوم‌های ۲ (دو QTL)، ۴، ۶ و ۱۰ قرار داشتند. اثر افزایشی هر QTL منفرد از ۰/۰۵۷- تا ۰/۱ متغیر بود. در همه QTLهای شناسایی شده به جز qNSL-10 آلل سپیدرود موجب کاهش طول ساقه شد. QTLهای qNSL-4 و qNSL-6 و به ترتیب با LOD ۲/۸۹۷ و ۳/۷۰۹ هر کدام بیش از ۱۳/۳۵ تغییرات را در جهت منفی و qNSL-10 QTL با LOD ۳/۲۷۹ به میزان ۱۴/۷ درصد از تغییرات را در جهت مثبت توجیه نمود. برای طول ریشه دو QTL بر روی کروموزوم‌های ۹ و ۱۱ با اثر کاهشی آلل سپیدرود شناسایی شد. عمل این ژن به صورت افزایشی و به سمت کاهش طول ریشه بود. این QTLها حدود ۱۳/۲۵ درصد از تغییرات فنوتیپی طول ریشه را توجیه نمودند. ده QTLکنترل کننده ضخامت ریشه بر روی کروموزوم‌های ۵ و ۶ (دو QTL)، ۱، ۲، ۴، ۷، ۹ و ۱۰ قرار داشتند. به جزء QTLهای qNRTH-2، qNRTH-4 و qNRTH-10 سایر QTLهای شناسایی شده موجب کاهش ضخامت ریشه شدند. qNRTH-1، qNRTH-6b و qNRTH-9 به ترتیب با LOD ۳/۱۲۱، ۳/۴۴۳ و ۳/۱۸۹ حدود ۱۴/۴۳ درصد تغییرات را در جهت کاهشی و qNRTH-10 QTL با LOD ۳/۷۱۲، بیش از ۱۶ درصد تغییرات را در جهت افزایشی توجیه کرد. کاتو و همکاران (۸) نیز در شرایط تنش خشکی یک QTL روی کرومزوم ۲ در فاصله نشانگری RM7286-RM213 برای صفت RGR و SWU ردیابی کردند.

به طور کلی برای صفات مورد بررسی در شرایط نرمال ۲۵ QTL شناسایی گردید که دو QTL بزرگ اثر و مربوط به صفت وزن ساقه بودند. لازم به ذکر است که این QTLها دارای اثر افزایشی منفی بودند. برای وزن و ضخامت ریشه یکQTL مشترک بر روی کروموزوم ۲ مکان‌یابی گردید. این QTL در فاصله نشانگری E080-M160-3-RM6843 قرار داشت. دو QTL مشترک برای وزن و طول ساقه مکان‌یابی شد. این QTLها به ترتیب بر روی کروموزوم‌های ۲ و ۴ قرار داشتند. QTL مشترک روی کروموزوم ۴ در حد فاصل نشانگرهای RM1359- E070-M150-4 قرار داشت. این QTL همچنین برای صفت ضخامت ریشه شناسایی شد.QTL ISSR20-10 -E070-M150-6 که روی کروموزوم ۹ قرار داشت بطور مشترک در صفات طول و ضخامت ریشه مکان‌یابی شد.

مکان‌یابی صفات کمی در شرایط تنش خشکی

بررسی مقایسه میانگین والدین برای تمامی صفات نشان داد که اختلاف بین لاین‌ها در سطح احتمال پنج درصد به جز صفت وزن ریشه (سطح احتمال یک درصد) معنی‌دار بود (جدول ۷). در این شرایط عنبربو و سپیدرود به ترتیب به عنوان والد متحمل و تقریبا حساس شناخته شدند.

جدول ۶- مکان، نسبت درست‌نمایی، اثر افزایشی و جهت اثر QTLهای ردیابی شده برای شرایط نرمال
Table 6. Location, LR, additive effects, direction of QTL in normal condition

صفات	QTL	کروموزوم	مکان QTL	نشانگرهای مجاور	LOD	اثر افزایشی	درجه تبیین	جهت آلل
وزن ریشه	*qNRW-2*	۲	۱۰۲	E080-M160-3-RM6843	۲/۳۸۵	۰/۴۱۳	۰/۱۰۸	عنبربو
	qNRW-7	۷	۱۱۴	E070-M140-8-ISSR1-12	۲/۲۹۸	۰/۴۹	۰/۱۰۴	عنبربو
	qNRW-9a	۹	۲۸	RM524-RM7390	۲/۳۶۲	۰/۲۰۷	۰/۱۰۷	عنبربو
	qNRW-9b	۹	۹۲	ISSR20-10-E070-M150-7	۲/۰۴۵	-۰/۳۵۶	۰/۰۹۳	سپیدرود
وزن ساقه	*qNSW-1*	۱	۹۰	ISSR34-1-E080-M150-4	۳/۱۳۵	-۰/۱۴۳	۰/۱۱۴	سپیدرود
	qNSW-2	۲	۱۰۰	RM8254	۵/۰۴۵	-۰/۰۴	۰/۲۱۵	سپیدرود
	qNSW-4	۴	۲۴	RM1359-E070-M150-4	۴/۸۳۷	-۰/۰۴۶	۰/۲۰۷	سپیدرود
سطح برگ	*qNLA-8*	۸	۹۴	ISSR23-4-RM6845	۲/۶۰۷	-۰/۱۴	۰/۱۱۸	سپیدرود
	qNSL-2a	۲	۱۰۰	RM8254	۳/۹۴۵	-۰/۰۵۶	۰/۱۷۲	سپیدرود
	qNSL-2b	۲	۱۵۴	RM7245-RM427	۲/۵۹۴	-۰/۰۴۳	۰/۱۱۷	سپیدرود
طول ساقه	*qNSL-4*	۴	۲۴	RM1359-E070-M150-4	۲/۸۹۷	-۰/۰۵۷	۰/۱۳	سپیدرود
	qNSL-6	۶	۴۲	ISSR27-11-RM276	۳/۰۷۹	-۰/۰۵۶	۰/۱۳۷	سپیدرود
	qNSL-10	۱۰	۱۲۰	ISSR2-10-ISSR33-1	۳/۲۷۹	۰/۱	۰/۱۴۶	عنبربو
طول ریشه	*qNRL-9*	۹	۹۰	E070-M150-6-ISSR20-10	۲/۵۴۹	-۰/۰۴۹	۰/۱۱۵	سپیدرود
	qNRL_11	۱۱	۲۴	E120-M160-11-ISSR20-4	۳/۳۸۱	-۰/۰۳۸	۰/۱۵	سپیدرود
ضخامت	*qNRTH-1*	۱	۹۲	E080-M150-4-E090-M160-8	۳/۱۲۱	-۰/۲۱۱	۰/۱۳۹	سپیدرود
	qNRTH-2	۲	۲۰۴	E080-M160-3-RM6843	۲/۵۶۲	۰/۱۶۱	۰/۱۱۶	عنبربو
	qNRTH-4	۴	۲۴	RM1359-E070-M150-4	۲/۶۱۱	۰/۱۰۹	۰/۱۱۸	عنبربو
	qNRTH-5a	۵	۱۰	E110-M140-8-ISSR19-1	۲/۶۷۴	-۲۶/۵۱۱	۰/۱۲	سپیدرود
	qNRTH-5b	۵	۸۲	ISSR6-4-ISSR25-2	۲/۵۱۵	-۰/۲۶۸	۰/۱۱۴	سپیدرود
	qNRTH-6a	۶	۳۶	ISSR1-2-ISSR4-6	۲/۹۳	-۰/۱۳۸	۰/۱۳۱	سپیدرود
	qNRTH-6b	۶	۱۴۰	E090-M160-2-ISSR14-2	۳/۴۴۳	-۰/۲	۰/۱۵۲	سپیدرود
	qNRTH-7	۷	۱۱۸	E070-M140-9-ISSR13-4	۲/۷۰۵	-۰/۲۳۴	۰/۱۲۲	سپیدرود
	qNRTH-9	۹	۹۰	E070-M150-6-ISSR20-10	۳/۱۸۹	-۰/۱۹۱	۰/۱۴۲	سپیدرود
	qNRTH-10	۱۰	۱۰	ISSR30-1-ISSR12-4	۳/۷۱۲	۱/۴۶۴	۰/۱۶۳	عنبربو

جدول ۷- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی بین والدین در شرایط خشکی
Table 7. Compare mean of traits between parents in drougth condition

صفت	عنبربو	سپیدرود	T
وزن ریشه (گرم)	۰/۳۵	۰/۲۷	۲/۶۴۷*
وزن ساقه (گرم)	۱/۴۸۰	۰/۶۲	۱۲۰/۳۷۰**
زیست توده (گرم)	۱/۶۳۲	۰/۹	۳۱/۲۹۱**
نمره ژنتیکی	۱	۷	۱۸/۳۴۱**
سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	۲۰/۲۴	۲/۶۲۱	۱۱۶۰/۰۰۵**
طول ساقه (سانتی‌متر)	۵۴/۳	۱۲	۱۱۵/۱۵۸**
طول ریشه (سانتی‌متر)	۱۴/۱۱۳	۸/۱	۵۶۱/۸۲۴**
ضخامت (میلی‌متر)	۰/۱۶	۰/۰۳۸	۲۲/۵۱۷**

** و *: به ترتیب نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ است

برای وزن ریشه یک QTL بر روی کروموزوم ۳ در حد فاصل نشانگرهای ISSR28-9 – E090-M140-1 با LOD ۲/۵۱۸ و با اثر افزایشی آلل عنبربو مکان‌یابی گردید. این QTL توانست ۱۱/۴ درصد از تغییرات مربوط به وزن ریشه را در جمعیت مورد مطالعه توجیه نماید (جدول ۸). در مطالعه ای که توسط سویی و همکاران (۲) انجام شد در ناحیه‌ای نزدیک نشانگر RM 262 روی کروموزوم ۲ مکان‌یابی شد که دربرگیرنده QTLهای وزن‌تر ریشه بودند. زو و همکاران (۲۴) نیز QTLی در همان ناحیه برای وزن خشک ریشه ردیابی کردند. اسریویدهایا و همکاران (۲۱) سه QTL برای وزن خشک نسبی ریشه روی کروموزوم‌های ۱، ۷ و ۸ مکان‌یابی نمودند. دو QTL به طور هم‌زمان برای وزن خشک ریشه و وزن خشک نسبی ریشه در شرایط تنش ردیابی شد. در مطالعه مذکور دو QTL برای وزن خشک ریشه در فاصله نشانگری RM106-RM5897 روی کروموزوم ۲ مکان‌یابی گردید. برای زیست توده در خشکی تنها یک QTL بر روی کروموزوم ۳ مکان‌یابی گردید. qDBM-3 با LOD، ۲/۷۲۷ با اثر آلل افزایشی از طرف والد عنبربو توانست ۱۲/۳ درصد تغیرات فنوتیپی زیست توده را توجیه نماید. QTL کنترل‌کننده سطح برگ در خشکی بر روی کروموزوم ۷ قرار داشت این QTL (qDSLA-7) ۱۲ درصد از تغیرات فنوتیپی را با اثر کاهشی آلل سپیدرود توجیه نمود. کاتو و همکاران (۸) نیز یک QTL بر روی کرومزوم ۷ در فاصله نشانگری RM8249-RM5720 مکان‌یابی نمودند که کنترل‌کننده صفت سرعت رشد نسبی گیاه بود.

QTL شناسایی شده برای ضخامت ریشه در خشکی بر روی کروموزوم ۷ با LOD، ۲/۶۱۲ و در حد فاصل نشانگرهای E120-M150-4 -E100-M150-10 قرار داشت. میزان توجیه تغییرات توسط این مکان ۱۱/۸ درصد و با اثر کاهشی آلل سپیدرود بود. لی و همکاران (۶) QTLهایی برای ضخامت ریشه، تعداد ریشه و وزن خشک ریشه در فاصله نشانگری RM1-RM495 بر روی کروموزوم ۱ مکان‌یابی کردند. ردونا و مک‌گیل (۱۸) برای صفت طول مزوکوتیل، پرایس و همکاران (۱۵)، زو و همکاران (۲۵)

QTLی برای طول ساقه و تعداد ریشه در این ناحیه گزارش نمودند.

در این مطالعه به طور کلی برای تنش خشکی چهار QTL شناسایی گردید که دو QTL دارای اثر افزایشی منفی بودند. تمامی این QTLهای مکان‌یابی شده کوچک اثر بودند. برای روی صفات وزن ریشه در خشکی و زیست توده یک QTL مشترک در کروموزوم ۳ مکان‌یابی گردید. احتمال می‌رود اثر پلیوتریوپی در این ناحیه کروموزومی کنترل ژنتیکی این صفات را توجیه نماید. مقایسه مکان‌یابی صفات در دو شرایط نرمال و خشکی نشان داد یک ناحیه کروموزومی روی کروموزوم ۷ وجود دارد که کنترل ژنتیکی صفت ضخامت ریشه را در هر دو شرایط نرمال و خشکی بر عهده دارد. انتظار می‌رود پس از تعیین اعتبار برای QTL مذکور، بتوان با انتخاب برای این ناحیه کروموزومی و روش به کمک نشانگر به‌توان ضخامت ریشه را در هر دو شرایط نرمال و خشکی افزایش داد.

جدول ۸- مکان، نسبت درست‌نمایی، اثر افزایشی، اثر غالبیت و جهت اثر QTLهای ردیابی شده برای صفت خشکی

Table 8. Location, LR, additive effects, direction of QTL in normal condition

صفات	QTL	کروموزوم	مکان QTL	نشانگرهای مجاور	LOD	اثر افزایشی	درجه تبیین	جهت آلل
وزن ریشه	*qDRW-3*	۳	۱۶۸	ISSR28-9 –E090-M140-1	۲/۵۱۸	۰/۰۸۴	۰/۱۱۴	عنبربو
زیست توده	*qDBM-3*	۳	۱۷۰	ISSR28-9-E090-M140-1	۲/۷۲۷	۰/۶۵۴	۰/۱۲۳	عنبربو
سطح برگ	*qDSLA-7*	۷	۵۶	E060-M150-3-RM7179	۲/۶۶۷	−۱/۶۸۹	۰/۱۲	سپیدرود
ضخامت ریشه	*qDRTH-7*	۷	۶	E100-M150-10-E120-M150-4	۲/۶۱۲	−۰/۰۲	۰/۱۱۸	سپیدرود

منابع

1. Babu, R.C., B.D. Nguyen, V. Chamarerk, P. Shanmugasundaram, P. Chezhian, P. Jeyaprakash, S.K. Ganesh, A. Palchamy, S. Sadasivam, S. Sarkarung, L.J. Wade and H.T. Nguyen. 2003. Genetic analysis of drought resistance in rice by molecular markers: association between secondary traits and field performance. Crop Science, 43: 1457-146.
2. Cui, K., J. Huang, Y. Xing, S. Yu, C. Xu and S. Peng. 2008. Mapping QTLs for Seedling Characteristics under Different Water Supply Conditions in Rice (*Oryza sativa* L.). Physiologia Plantarum, 132: 53-68.
3. Dedatta, S.K. 1981. Crop establishment technologies and cultural practices for upland rice. Paper presented at the upland rice workshop, 19 pp.
4. Gomez, S.M., S.S. Kumar, P. Jeyaprakash, R. Suresh, K.R. Biji, N.M. Boopathi, A.H. Price and R. Babu. 2006. Mapping QTLs linked to physio-morphological and plant production traits under drought stress in rice (*Oryza sativa* L.) in the target environment. American Journal Biochemistry and Biotechnology, 2: 161-169.
5. Gregorio, G.B., D. Senadhira and R. Mendoza. 1997. Screening rice for salinity tolerance. IRRI. Dis. Paper No. 22, Los Baños. Philippine, 31 pp.
6. Li, Z., P. Mu, C. Li, H. Zhang, Z. Li, Y. Gao and X. Wang. 2005. QTL Mapping of Root Traits in a Doubled Haploid Population from a Cross between Upland and Lowland Japonica Rice in Three Environments. Theoretical and Applied Genetics, 110: 1244-1252.
7. Karimi, H. 1991. Field Crop. Tehran University Press. Third edition, 387 pp.
8. Kato, Y., S. Hirotsu, K. Nemoto and J. Yamagishi. 2008. Identification of QTLs controlling rice drought tolerance at seedling stage in hydroponic culture. Euphytica, 160: 423-430
9. Kordrostami1, M., B. Rabiei, A. Sabouri and H. Sabouri. 2015. Identification of QTLs Controlling Cooking and Milling Quality Traits in an F2:4 Population of Rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Crop Breeding, 7: 16-26 (In Persian).
10. Kosambi, D.D. 1994. The estimation of map distances from recombination values. Annual Eugen, 12: 172-175.
11. Kumar, R., R. Venuprasad and G.N. Atlin. 2007. Genetic analysis of rainfed lowland rice drought tolerance under naturally-occurring stress in eastern India: Heritability and QTL effects. Field Crops Research, 103: 42-52.
12. MacMillan, K., K. Emrich, H.P. Piepho, C.E. Mullins and A.H. Price. 2006. Assessing the importance of genotype environment interaction for root traits in rice using a mapping population conventional QTL analysis. Theoretical and Applied Genetics, 113: 953-964.
13. Maleki, H.H., N. Abdi, R. Darvishzadeh and M. Jafari. 2016. Mapping QTLs Controlling Drought Tolerance Indices in Sunflower (*Helianthus annus* L.). Journal of Crop Breeding, 8: 228-235 (In Persian).
14. Norton Gareth, J., M.J. Aitkenhead, F.S. Khowaja, W.R. Whalley and A.H. Price. 2008. A bioinformatic and transcriptomic approach to identifying positional candidate genes without fine mapping: an example using rice root-growth QTLs. Genomics, 92: 344-352.
15. Price, A.H., K.A. Steele, B.J. Moore, P.B. Barraclough and L.J. Clark. 2000. A Combined RFLP and AFLP Linkage Map of Upland Rice (*Oryza sativa* L.) Used to Identify QTLs for Root-Penetration Ability. Theoretical and Applied Genetics, 100: 49-56.
16. Price, A.H., J. Townend, M.P. Jones, A. Audebert and B. Courtois. 2002. Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice grown in the Philippines and West Africa. Plant Molecular Biology, 48: 683-695.

17. Price, A.H., K.A. Steele, B.J. Moore and R.G.W. Jones. 2002. Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water deficit regimes mapping quantitative trait loci for root morphology and distribution. Field Crops Research, 76: 25-43.
18. Redona, E.D. and D.J. Mackill. 1996. Mapping Quantitative Trait Loci for Seedling-Vigor in Rice Using RFLPs. Theoretical and Applied Genetics, 92: 395-402.
19. Sabouri, H., A. Biabani, M. Katouzi, A. Sabouri, R. Khatami Nejhad, Sh. Mohammad Alegh, M. Najjar, A. and M. Pirasteh. 2011. Relationship between genotype and phenotype in rice under drought stress. Research work in College of Agriculture Science and Natural Resource. Gonbad Kavous University, 145 pp.
20. Saghaei Maroof, M.A., R.M. Biyashev, G.P. Yang, Q. Zhang and R.W. Allard. 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellites DNA in barely species diversity, chromosomal location and population dynamics. Proceeding of National Academy Science, 91: 5466-5570.
21. Srividhya, A., L.R. Vemireddy, P.V. Ramanarao, S. Sridhar, M. Jayaprada, G. Anuradha, B. Srilakshmi, H.K. Reddy, A.S. Hariprasad and E.A. Siddiq. 2011. Molecular Mapping of QTLs for Drought Related Traits at Seedling Stage under PEG Induced Stress Conditions in Rice. American Journal of Plant Sciences, 2:190-201.
22. Venuprasad, R., H.E. Shashidhar, S. Hittalmani and G.S. Hemamalini. 2002. Tagging quantitative trait loci associated with grain yield and root morphological traits in rice (*Oryza sativa* L.) under contrasting moisture regimes. Euphytica, 128: 293-300.
23. Vinod, M.S., N. Sarma, K. Manjunatha, A. Kanbar, N.B. Prakash and H.E.S. Hashidhar. 2006. Candidate genes for drought tolerance and improved productivity in rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Bioscience, 31: 69-74.
24. Xu, J.C., J.Z. Li, X.W. Zheng, L. XZou and L.H. Zhu. 2001. QTL Mapping of the Root Traits in Rice Seedling. Acta Genetica Sinica, 28: 433-438.
25. Xu, C.G., X.Q. Li, Y. Xue, Y.W. Huang, J. Gao and Y.Z. Xing. 2004. Comparison of Quantitative Trait Loci Controlling Seedling Characteristics at Two Seedling Stages Using Rice Recombinant Inbred Lines. Theoretical and Applied Genetics, 109: 640-647.
26. Yang, J.C., K. Liu, S.F. Zhang, X.M. Wang, Zh.Q. Wang and L.J. Liu. 2008. Hormones in rice spikelets in responses to water stress during meiosis. Acta Agronomica Sinica, 34: 111-118.
27. Yoshida, S., D.A. Forno, J.H. Cock and K.A. Gomez. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. IRRI, 83 pp.

Identification of Genes Controlling Seedling Stage Traits in Iranian Rice Recombinant Lines under Drought Stress Conditions

Mahnaz Katouzi[1], Saeid Navabpour[2], Ahad Yamchi[3], Seyyedeh Sanaz Ramezanpour[2] and Hossein Sabouri[4]

1, 2 and 3- Graduated M.Sc., Associate Professor and Assistant Professor, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University
4- Associate Professor, Gonbad Kavous University (Corresponding Author: hos.sabouri@gmail.com)
Received: July 31, 2015 Accepted: October 31, 2015

Abstract

Rice is one the most important crops in Iran and worldwide. Abiotic stresses including drought, restrict rice production. In order to saturation of linkage map in recombinant lines population caused by Sepidroud × Anbarbou crosses, an experiment was conducted using 96 recombinant lines and 40 ISSR markers at Gonbad Kavous University. 96 Recombinant lines were plant under hydroponic conditions for mapping of traits related to drought stress. Shoot weight, root weight, biomass, genetic score, leaf area, shoot length, root length and root thickness were recorded. Linkage map covered 1709.29 cM of rice genome. Four QTLs mapped on chromosomes 3(2 QTLs) and 7 (2QTLs) in drought. qDRW-3 and qDBM-3 with LOD=2.518 and 2.727 had positive additive effects on root weight and biomass, respectively and explained 11.4 and 12.3% of phenotypic variation. The results of present work can be used for improvement of drought tolerance in rice seedlings after determining marker validation.

Keywords: Abiotic stresses, ISSR, Rice, Saturation of linkage map