تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد سیزدهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۹
۶۰۱-۶۱۱
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2019.2073.1513

مقاله پژوهشی

مکان‌یابی ژن‌های کمی کنترل‌کننده محتوای کلروفیل در شرایط نرمال و تنش شوری در گیاهچه‌های برنج و مقایسه روش‌های مختلف مکان‌یابی QTL

سمیه سنچولی[۱]، محمود قربانزاده نقاب[۲]، حسین صبوری[۳*]، محمد زارع مهرجردی[۲]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، مجتمع آموزش عالی شیروان
۲. دانشیار گروه تولیدات گیاهی، مجتمع آموزش عالی شیروان
۳. دانشیار تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۰۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۸

چکیده

شوری یک محدودیت عمده در توسعه کشت برنج است. بهبود بخشیدن به تحمل به شوری در برنج ازنظر ژنتیکی یک مسئله بسیار مهم در برنامه‌های اصلاحی است. به‌منظور مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده محتوای کلروفیل، ۹۶ لاین خالص نوترکیب برنج ایرانی حاصل تلاقی ارقام ندا × اهلمی‌طارم تحت تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای آزمایشی به‌صورت مرکب در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و دو شرایط کشت نرمال و تنش شوری در دانشگاه گنبدکاووس در سال ۱۳۹۵ در شرایط گیاهچه کشت شدند. مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده محتوای کلروفیل با استفاده از روش‌های مختلف مکان‌یابی شامل SIM-MEL، SIM، CIM، MIM، PMLE، ICIM و STSIM انجام گرفت و با استفاده از هرکدام از این روش‌ها QTLهای مشابه و متفاوتی ردیابی شد. ۴۰ نشانگر SSR، ۱۶ نشانگر ISSR (۷۶ آلل تکثیرشده چند شکل)، ۲ نشانگر IRAP (۷ آلل تکثیرشده چند شکل) و یک نشانگر iPBS (۳ آلل تکثیرشده چند شکل) بر روی ۱۲ کروموزوم برنج توزیع شدند. روش ICIM، CIM و SIM در شرایط نرمال و تنش شوری بیشترین تشابه مکان‌های ژنی ردیابی شده را دارا بودند. qCHL-6 در شش روش مکان‌یابی در موقعیت ۵۲ سانتی‌مورگان از کروموزوم ۶ شناسایی شد؛ بنابراین با استفاده از QTLهای شناسایی‌شده می‌توان پس از تعیین اعتبار ژنوتیپ‌های برتر ازنظر محتوای کلروفیل برای برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر را شناسایی کرد.

واژه‌های کلیدی: **صفات کمی، برنج، کشت هیدروپونیک، QTL**

مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) محصول عمده بیشتر کشورهای آسیایی است که زراعت آن در بیش از نیمی از زمین‌های کشاورزی در این قاره رواج دارد. با رشد جمعیت و کاهش زمین‌های قابل‌کشت و منابع آبی قابل‌استفاده، تنش‌های محیطی نیز افزایش می‌یابد. تنش شوری در مناطق خشک و نیمه‌خشک از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی است که آسیا بیشترین مساحت اراضی شور را به خود اختصاص داده است (Majidimehr and Amiri-Fahliani, 2016). در قاره آسیا، پس از کشورهای شوروی سابق، چین، هندوستان و پاکستان، بیشترین گسترش سطوح خاک‌های مبتلابه شوری و قلیایی در ایران وجود دارد (Akbar and Yabuno, 1977). از کل مساحت کشور ایران، مساحتی در حدود ۵/۲۳ میلیون هکتار، معادل ۲/۱۴ درصد، به درجات متفاوت با مسائل شوری، سدیمی (قلیایی بودن) و ماندایی بودن روبروست که البته همچنان رو به افزایش است و پیش‌بینی می‌شود که این میزان تا ۷۵٪ از کل اراضی فاریاب کشور پیشروی کند (Pazira, 1985). حد بحرانی شوری برای گیاه برنج بین ۳ تا ۴ دسی زیمنس بر متر گزارش‌شده است

* نگارنده پاسخگو: حسین صبوری. پست الکترونیک: hos.sabouri@gmail.com

(Zhangh et al., 2003; Arvin, 2015). یکی از اثرات شوری بر گیاه، کاهش سطح برگ است که عامل اصلی در کاهش فتوسنتز است (Alam et al., 2004).

با پیشرفت‌هایی که درزمینه‌ی اصلاح مولکولی نباتات و استفاده از جمعیت‌های نقشه‌یابی، روش‌های تکنولوژی نشانگرهای مولکولی، نقشه‌های پیوستگی و مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده‌ی صفات کمی (QTL) صورت گرفته، اصلاح برای تحمل به شوری، از طریق افزایش تحمل به تنش شوری و معرفی واریته‌های متحمل از طریق تنش‌های اصلاحی تسهیل شده است (Haq et al., 2008؛ Takehisa et al., 2004). همچنین استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک به‌عنوان عامل اصلی موفقیت، تولید و معرفی ارقام متحمل به تنش شوری مورد شناسایی قرارگرفته است (Munns and Tester, 2008). مکان‌یابی QTLها ابزار مفید و قابل‌دسترسی برای به‌نژادگران گیاهی درزمینه روشن شدن اساس ژنتیکی صفات مرتبط باتحمل به تنش محسوب می‌شود (Rabiei et al., 2014). انجام مهم‌ترین تجزیه‌های مربوط به مکان‌یابی QTLها با استفاده از نرم‌افزار QTL Cartographer انجام می‌شود، اما انجام روش‌های مکان‌یابی پیچیده و زمان‌بر با استفاده از نرم‌افزار Qgene به‌راحتی صورت می‌گیرد (Sabouri et al., 2016).

Single-trait MLE (CIM-MLE) درصورتی‌که هیچ کوفاکتوری انتخاب نشود این روش مشابه روش ارائه‌شده توسط لندر و بوتستین (Lander and Botestein,1989) عمل خواهد کرد (Sabouri et al., 2016).

درروش مکان‌یابی فاصله‌ای چندگانه (Single-trait Multiple IM) اپیستازی بین QTLها و ارزش‌های ژنوتیپی افراد و وراثت‌پذیری کمی به سهولت قابل برآورد است (Kao and Zeng, 1999). روش Single Trait Penalized MLE بر اساس روش ارائه‌شده توسط زو (Xu, 2003) انجام می‌شود که بیشتر در ارتباط با اثرات ژنتیکی قرار می‌گیرد. روش‌های مکان‌یابی فاصله‌ای ممکن است برای ارزیابی اثرات ژنتیکی کل ژنوم محدودیت داشته باشند، چون به ارزیابی مدل‌های چندگانه و انتخاب مدل نیاز دارند (Sabouri et al., 2016). تمام محاسن روش Inclusive Composite Interval Mapping در برخی از موارد به‌ویژه هنگامی‌که از نرم‌افزار QTL Cartographer استفاده می‌شود، اعمال نمی‌گردد (Li and Wang, 2007). تجزیه مکان‌یابی ساده یا Simple Interval Mapping (SIM) دارای قدرت آزمون پایینی است و نمی‌توان تعداد و همچنین موقعیت دقیق QTL را تعیین کرد. همچنین عیب عمده این روش تداخل اثر QTL بافاصله آن از نشانگر است (Haley and Knott, 1992). برای رفع این عیب و تعیین محل دقیق QTL مورد-نظر روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب توسط زنگ (Zeng, 1994) پیشنهاد گردید که دارای کمترین خطا در برآورد اثر QTL اصلی است (Sabouri et al., 2016). همانند مکان-یابی فاصله‌ای این مکان‌یابی می‌تواند در هر نقطه‌ای از ژنوم که تحت پوشش نشانگرها است انجام شود. ازآنجایی‌که آماره آزمون برای هر فاصله تقریباً مستقل است، یک آزمون در هر فاصله به‌احتمال‌زیاد وجود یک QTL ارائه می‌دهد. CIM می‌تواند از نشانگرها با کارایی بیش‌تری به‌عنوان مرز برای مکان‌یابی QTL استفاده کند. زمانی که پیوستگی QTLها به‌صورت ترانس باشد آثار آن‌ها بیش‌ازاندازه برآورد می‌شود (Mohammdi, 2008).

مرادی و عبدالباقی (Moradi and ABDelbagi, 2007) نتیجه گرفتند که کاهش فتوسنتز گیاه برنج می‌تواند به دلیل کاهش تجمع کلروفیل و یا تغییرات ساختمان کلروپلاست در شرایط تنش شوری باشد. ساتو و همکاران (Sato et al., 2003) سه QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۳ و ۱۰ برای محتوای کلروفیل ردیابی نمودند. جینگ و همکاران (Jiang et al., 2012) توانستند سه QTL بر روی کروموزوم ۴ در مرحله زایشی برنج شناسایی کنند. در پژوهش هو و همکاران (Hu et al., 2009) برای محتوای کلروفیل شش QTL در شرایط تنش آب بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ و در شرایط آبیاری مطلوب هفت QTL بر روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۴، ۶ و ۱۰ شناسایی نمودند. همچنین پژوهش‌های دیگری برای شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده محتوای کلروفیل صورت گرفت (This et al., 2000; Weidong et al., 2004; Ping et al., 2004; Shen et al., 2007; Wang et al., 2008; Takai et al., 2010). با توجه به اینکه بسیاری از صفات مهم زراعی توارث کمی دارند، مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی نقش بسیار مهمی در کاربرد اطلاعات ژنومیک در تحقیقات کشاورزی و غیره دارد. ازآنجاکه محتوای کلروفیل از مهم‌ترین صفات فیزیولوژیک مؤثر بر عملکرد در شرایط تنش است، مطالعه حاضر باهدف بررسی روش‌های مختلف مکان‌یابی و مقایسه بین آن‌ها و شناسایی QTLهای مؤثر بر محتوای کلروفیل برگ در شرایط تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورداستفاده در پژوهش حاضر ۹۶ لاین جمعیت F8 حاصل از تلاقی رقم متحمل به شوری اهلمی‌طارم و رقم حساس ندا بود (Sabouri et al., 2008). تلاقی اولیه و نسل‌های در حال تفرق در دانشگاه گنبدکاووس انجام و توسعه پیدا نمود (Sabouri et al., 2007a, b and c; Sabouri et al., 2008). این حاصل از جمعیت لاین‌های نوترکیب نسل هشتم ارقام ندا × اهلمی‌طارم برای تحمل به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای به‌صورت آزمایش مرکب در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و دو شرایط کشت نرمال و تحت تنش در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبدکاووس در سال ۱۳۹۵ به‌صورت هیدروپونیک کشت شدند.

برای کشت بر اساس دستورالعمل موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (Gregorio, 1997) از صفحات یونولیت با ابعاد ۱/۲۵×۳۲×۲۸ و ظروف پلاستیکی ۸ لیتری ضدعفونی شده، استفاده شد. ابتدا بذور با هیپوکلریدسدیم دو درصد ضدعفونی گردیدند و به مدت چهار روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد مدل ۱۶۰۰ SP (ساخت شرکت WEISS TECHNIK) جوانه‌دار شدند. بذرهای جوانه‌زده در روز پنجم به داخل ظروف پلاستیکی حاوی محلول یوشیدا، انتقال داده شدند. سینی‌های مربوطه در اتاق کشت آزمایشگاه گیاه‌شناسی با دمای روز و شب ۲۹/۲۱ و رطوبت نسبی ۷۰ درصد و نور طبیعی (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) قرار داده شدند. محلول غذایی هر هفت روز تعویض می‌شد و pH محلول هفته‌ای سه بار، کنترل و به‌وسیله HCl و NaOH یک نرمال روی ۵/۵ ثابت نگه‌داشته شد. سپس تنش شوری با افزودن NaCl، به محلول یوشیدا اعمال شد. گیاهچه‌ها ابتدا به مدت ۷ روز، به‌وسیله دستگاه EC متر مدل (WWTLF92) تحت تنش ۶ دسی زیمنس بر متر و سپس به مدت ۷ روز نیز تحت هدایت الکتریکی ۱۲ دسی زیمنس بر متر قرار گرفتند. جهت اندازه‌گیری شاخص کلروفیل نیز از هر لاین، ۶ برگ به‌طور تصادفی انتخاب‌شده و با استفاده از دستگاه کلروفیل متر دستی (SPAD 502 Minolta) برای هر برگ در سه نقطه پهنک‌برگ، میزان کلروفیل، قبل و بعد از اعمال تنش، قرائت شد. عدد SPAD نشان‌دهنده میزان محتوای کلروفیل در برگ‌ها است (Rodriguez and Miller, 2000).

به‌منظور استخراج DNA ژنومی از روش CTAB (Saghi Maroof et al., 1994) استفاده شد. برای تعیین غلظت و کیفیت DNA استخراج‌شده از ژل آگارز یک درصد استفاده شد. به این صورت که از الکتروفورز افقی مدل Bioneer استفاده شد. هرکدام از نمونه‌ها در طی الکتروفورز بر روی ژل نوارهایی تشکیل دادند که با استفاده از آن‌ها کیفیت DNA هرکدام از نمونه‌ها بررسی شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۱۰ میکرو لیتر برای هر نمونه DNA انجام شد. به‌این‌ترتیب که ابتدا به میزان ۲/۵ میکرولیتر DNA ژنومی رقیق‌شده، در هر تیوپ PCR تقسیم شد، سپس ۷/۵ میکرو لیتر از محلول PCR (غیر از DNA ژنومی) به هر تیوپ اضافه و پیپتاژ گشت. قابل‌توجه است که برای تهیه مخلوط واکنش در یک میکرو تیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری به ترتیب آب دو بار تقطیر، محلول مادری (با ترکیب Taq DNA Polymerase با غلظت ۰/۰۴ واحد بر میکرو لیتر، بافر PCR، MgCl2 با غلظت ۳ میلی‌مولار، dNTPs، هرکدام با غلظت ۰/۰۴ میلی‌مولار)، آغازگر مستقیم و آغازگر معکوس اضافه شد. سپس مخلوط واکنش با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد و در تیوپ‌های PCR حاوی DNA تقسیم شد.

فراورده‌های واکنش زنجیره پلی‌مراز با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید ۶ درصد تفکیک شدند و رنگ‌آمیزی ژل‌ها با استفاده از روش سریع نیترات نقره صورت گرفت (An et al., 2009).

برای تهیه نقشه ژنتیکی از نرم‌افزار Map Manager QTX 17 مانلی و اولسون (Manly and Olson, 1999) استفاده شد. QTLهای کنترل‌کننده با استفاده از نرم‌افزار QGENE نلسون (Nelson, 1997) شناسایی شدند و نقطه‌ای که واجد بالاترین مقدار LOD بود به‌عنوان ناحیه با بیشترین احتمال وجود QTL شناسایی شد. همچنین نشانگرهای پیوسته با QTLهای کنترل‌کننده به همراه اثرات ژنتیکی افزایشی و میزان تبیین تغییرات فنوتیپی، توسط هریک از QTLهای کنترل‌کننده با استفاده از الگوریتم EM برآورد شدند. سپس جایگاه دقیق QTL نسبت به نشانگرهای طرفین، برحسب سانتی‌مورگان تعیین شد. نام‌گذاری QTLها بر اساس روش مک کوچ و همکاران (Mc Couch et al., 1997) ابتدا حرف q، سپس علامت اختصاری صفت به‌صورت حروف بزرگ نوشته شد و به کمک یک خط تیره از شماره کروموزومی که QTL بر روی آن شناسایی‌شده بود جدا شد.

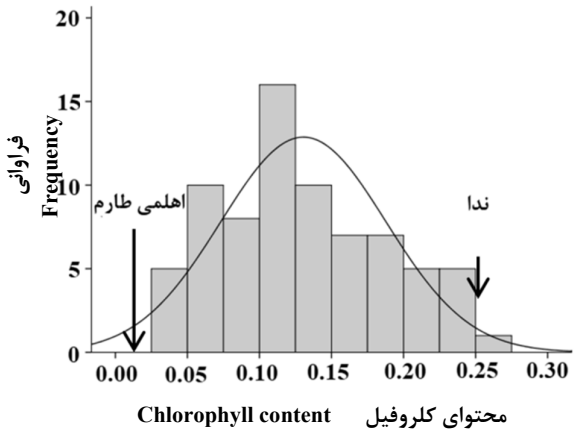
نتایج و بحث

توزیع فراوانی محتوای کلروفیل برگ در شرایط نرمال و تنش شوری

تغییرات پیوسته در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری برای محتوای کلروفیل در والدین مشاهده شد (شکل ۱). پیوسته بودن صفت نشان‌دهنده کمی بودن صفت موردبررسی و دخالت چندین ژن در کنترل این صفت است (Ebadi et al., 2018). تعدادی از لاین‌ها، ارزش‌های فنوتیپی خارج از محدوده والدینی نشان دادند. به‌عبارت‌دیگر ارزش مشاهده‌شده صفت در آن‌ها بیشتر از والد دارای حداکثر مقدار صفت و کمتر از والد دارای حداقل صفت بود. میانگین محتوای کلروفیل در مرحله گیاهچه‌ای برای والدین در شرایط نرمال و تنش شوری در جدول ۱ آمده است.

تهیه نقشه پیوستگی

بعد از تعیین ژنوتیپ افراد، داده‌های حاصل وارد نرم‌افزار MapManager QTX 17 (Manly and Olson, 1999) گردید و نقشه پیوستگی بر اساس ۴۰ نشانگر SSR، 16 نشانگر ISSR (با ۷۶ آلل تکثیرشده چند شکل)، دو نشانگر IRAP (با 7 آلل تکثیرشده چند شکل) و یک نشانگر iPBS (با ۳ آلل تکثیرشده چند شکل) روی ۹۶ فرد جمعیت F8، نشانگرها را به ۱۲ گروه پیوستگی متعلق به ۱۲ کروموزوم برنج با طول نقشه بر اساس تابع کوزامبی (Kosambi, 1994) برابر با ۱۴۹۱ سانتی‌مورگان و فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر با ۱۳/۰۷ سانتی‌مورگان منتسب کرد. با توجه به اینکه فاصله متوسط بین نشانگرها کمتر از ۲۰ سانتی‌مورگان بود، بنابراین با توجه به نظر لندر و بوتستین (Lander and Botestein, 1989)، این نقشه می‌تواند برای مکان‌یابی QTLها مورداستفاده قرار گیرد. این نشانگرها تراکم متفاوتی برای کروموزوم‌های مختلف داشتند، به‌طوری‌که کروموزوم ۸ کمترین تعداد نشانگر را داشت.



شکل ۱. توزیع مقادیر فراوانی محتوای کلروفیل در ارقام ندا و اهلمی‌طارم در شرایط تنش شوری (a) و نرمال (b).

Fig. 1. Distribution of chlorophyll content in Neda and Ahlemi Tarom cultivars under salt stress and normal conditions

جدول ۱. میانگین محتوای کلروفیل والدین در شرایط نرمال و تنش شوری

Table1. Average chlorophyll content of parents under normal and salt stress conditions

صفت Trait	تنش شوری Salt stress			نرمال Normal		
	ندا Neda	اهلمی‌طارم Ahlemi Tarom	معنی‌داری Significant	ندا Neda	اهلمی‌طارم Ahlemi Tarom	معنی‌داری Significant
کلروفیل Chlorophyll	0.810	0.025	**	0.250	0.002	**

مکان‌یابی QTLهای کنترل‌کننده محتوای کلروفیل برگ با روش‌های مختلف ردیابی

با استفاده از روش Single Trait MLE (CIM-MLE) در شرایط نرمال پنج مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۳، ۵، ۶، ۷ و ۸ ردیابی شد که به ترتیب دارای LOD برابر با ۳/۳۲۷، ۴/۵۴۳، ۲/۱۴۶، ۳/۱۶۵ و ۲/۳۳۷ بودند. در شرایط تنش شوری سه QTL روی کروموزوم‌های ۲ و ۶ (دو مورد) شناسایی شد که به ترتیب نزدیک به نشانگرهای ISSR5-3، RM111 و IRAP18-1 قرار داشتند.

تجزیه مکان‌یابی ساده (SIM) در شرایط نرمال سه QTL مشابه روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب و مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب فراگیر بر روی کروموزوم‌های ۲، ۳ و ۸ ردیابی کرد که به نشانگرهای ISSR5-3، ISSR11-2 و ISSR 13-3 نزدیک‌تر بودند. نتایج حاصل از مکان‌یابی با استفاده از روش CIM نشان داد در شرایط نرمال سه مکان ژنی بر روی کروموزوم‌های ۲، ۳ و ۸ ردیابی شد که به ترتیب دارای LOD برابر با ۲/۲۳۳، ۳/۲۲۴ و ۴/۰۴۱ بودند. مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب در شرایط تنش شوری توانست شش QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۶ (دو مورد) و ۷ (دو مورد) ردیابی کند که ۱۲ تا ۱۹ درصد از تغییرات فنوتیپی محتوای کلروفیل را توجیه کردند.

با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای چندگانه (MIM) در شرایط نرمال سه QTL روی کروموزوم‌های ۳، ۵ و ۶ ردیابی شد که به ترتیب در موقعیت‌های ۹۸، ۹۲ و ۰ سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم قرار داشتند. در شرایط تنش شوری دو QTL ردیابی شد که روی کروموزوم ۶ و به ترتیب در نزدیکی نشانگرهای RM111 و IRAP18-1 قرار دارند.

با استفاده از روش PMLE در شرایط نرمال شش مکان ژنی کنترل‌کننده محتوای کلروفیل روی کروموزوم‌های ۳، ۵ (دو مورد)، ۶ (دو مورد) و ۷ ردیابی شد که به ترتیب پیوسته با نشانگرهای ISSR11-2، RM39، ISSR4-3، ISSR4-5، ISSR9-1 و ISSR4-5 بودند. میزان LOD این QTLها در دامنه‌ای از ۲ تا ۵ قرار داشت. روش PMLE در شرایط تنش شوری توانست دو مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۶ و ۹ ردیابی کند که به ترتیب در موقعیت‌های ۵۲/۳ و ۱۶/۲ سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم‌های ۶ و ۹ قرار داشتند. qCHL-6 در نزدیکی نشانگر RM111 با LOD برابر با ۳/۲۶۸ و qCHL-9 پیوسته با نشانگر ISSR20-5 با LOD برابر با ۲/۰۰۷ بود.

روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب فراگیر (ICIM) در شرایط نرمال سه QTL روی کروموزوم‌های ۲، ۳ و ۸ ردیابی کرد که با نتایج مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب تفاوتی نداشت. همچنین میزان LOD، اثر افزایشی و ضریب تبیین نیز در هر دو روش مشابه بود. مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب فراگیر در شرایط تنش شوری پنج QTL روی کروموزوم‌های ۴، ۶ (دو مورد)، ۷ و ۱۰ شناسایی کرد که میزان LOD این QTLها به ترتیب برابر با ۲/۱۹۵، ۳/۳۱۱، ۳/۱۰۶، ۲/۲۰۶ و ۲/۱۶۳ بود. این QTLها توانستند از ۱۲/۶ تا ۱۸/۶ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه کنند. بین سه روش SIM، CIM و ICIM ازنظر محتوای کلروفیل، تفاوتی در QTLها نبود و هر سه روش در شرایط نرمال QTLهای مشابهی را روی کروموزوم‌های ۲، ۳ و ۸ ردیابی کردند؛ اما در شرایط تنش شوری پنج QTL روی کروموزوم‌های ۴، ۶ (دو مورد)، ۷ و ۱۰ ردیابی شد که این QTLها مشابه روش ICIM بود. بر اساس روش Single Trait Shrinkage IM (STSIM) در شرایط نرمال سه QTL روی کروموزوم‌های ۳، ۶ و ۷ ردیابی شد که به ترتیب دارای LOD برابر با ۲/۳۰۹، ۲/۱۲۹ و ۳/۴۴۲ بودند. در شرایط تنش شوری این روش مکان‌یابی توانست یک QTL روی کروموزوم ۶ ردیابی کند که در موقعیت ۵۲ سانتی‌مورگان از ابتدای کروم وزم ۶ قرار داشت. صبوری و همکاران (Sabouri et al., 2008) برای محتوای کلروفیل در مرحله گیاهچه‌ای یک QTL روی کروموزوم ۳ و در مرحله زایشی یک QTL بر روی کروموزوم ۱ شناسایی نمودند.

صبوری و صبوری (Sabouri and Sabouri, 2008) برای محتوای کلروفیل در جمعیت حاصل از تلاقی طارم‌اهلی و خزر، یک QTL بر روی کروموزوم ۳ شناسایی کردند که در پژوهش حاضر روی این کروموزوم هیچ مکان ژنی برای کلروفیل ردیابی نشد. ساتو و همکاران (Sato et al., 2003)، QTLهای کاهش‌دهنده محتوای کلروفیل را در شرایط تنش اشعه ماوراءبنفش روی کروموزوم ۲ ردیابی نمودند. qCHLN-3 و qCHLN-8 در روش‌های CIM، ICIM و SIM در شرایط نرمال، روی کروموزوم‌های ۳ و ۸ شناسایی شدند که ۱۸ تا ۲۲ درصد از تغییرات محتوای کلروفیل را توجیه کردند. در شرایط تنش شوری نیز روش‌های CIM، ICIM و SIM توانستند مکان‌های ژنی با توجیه بیش از ۱۷ درصد از تغییرات محتوای کلروفیل روی کروموزوم‌های ۶ و ۷ ردیابی کنند.

رجبی و بورچارد (Rajabi and Borchard, 2015) در شرایط تنش خشکی در چغندرقند یک مکان ژنی روی کروموزوم ۳ در موقعیت ۱۱۲ سانتی‌مورگان ردیابی کردند. این QTL 26/10 درصد از تغییرات محتوای کلروفیل را توجیه کرد. وانگ و همکاران (Wang et al., 2003) شش مکان ژنی کنترل‌کننده محتوای کلروفیل a و b با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب شناسایی کردند که این QTLها عمدتاً روی کروموزوم ۱ و ۴ توزیع‌شده‌اند. فوکودا و ترا (Fukuda and Terao, 2015) با استفاده از روش مکان-یابی فاصله‌ای مرکب توانستند یک مکان ژنی برای محتوای کلروفیل روی کروموزوم ۱ شناسایی کنند. این QTL با LOD برابر با ۵/۸۵ توانست ۲۱/۱ درصد از تغییرات محتوای کلروفیل را توجیه کند.

جدول ۲.QTL.های ردیابی شده برای محتوای کلروفیل در شرایط نرمال با استفاده از روش‌های مختلف مکان‌یابی.QTL

Table 2. Located QTL for chlorophyll content under normal conditions using different method of locating QTL

روش مکان‌یابی Location method	QTL	نشانگرهای مجاور* Flanking markers*	کروموزوم Chr.	LOD	موقعیت Position	اثر افزایشی Additive effect	ضریب تبیین R^2	جهت آلل Direction of ph
Single Trait MLE	qCHLN-3	ISSR11-2-RM504	3	3.237	92	0.106	-	NAD
	qCHLN-5	ISSR10-2-ISSR4-3	5	4.543	92	-0.104	-	ATM
	qCHLN-6	ISSR9-1-ISSR6-2	6	2.146	90	-0.093	-	ATM
	qCHLN-7	ISSR8-6-RM248	7	3.165	84	-0.113	-	ATM
	qCHLN-8	ISSR4-6-ISSR13-3	8	2.337	24	-0.101	-	ATM
Simple Interval Mapping	qCHLN-2	ISSR8-2-ISSR5-3	2	2.233	6	-0.178	13	ATM
	qCHLN-3	ISSR11-2-RM500	3	3.224	94	0.116	18.2	NAD
	qCHLN-8	ISSR4-6-ISSR13-3	8	4.041	18	-0.204	22.2	ATM
Composite Interval Mapping	qCHLN-2	ISSR8-2-ISSR5-3	2	2.233	6	-0.178	13	ATM
	qCHLN-3	ISSR11-2-RM500	3	3.224	94	0.116	18.2	NAD
	qCHLN-8	ISSR4-6-ISSR13-3	8	4.041	18	-0.204	22.2	ATM
Single Trait Multiple IM	qCHLN-3	ISSR11-2-RM504	3	2.158	98	0.067	-	NAD
	qCHLN-5	ISSR10-2-ISSR4-3	5	6.298	92	-0.108	-	ATM
	qCHLN-6	ISSR2-3	6	3.708	0	0.078	-	NAD
Single Trait Penalized MLE	qCHLN-3	ISSR11-2	3	2.356	89.5	0.057	-	NAD
	qCHLN-5a	RM39	5	2.067	46.9	-0.06	-	ATM
	qCHLN-5b	ISSR4-3	5	4.430	93.2	-0.087	-	ATM
	qCHLN-6a	ISSR4-5	6	3.675	32.5	-0.16	-	ATM
	qCHLN-6b	ISSR9-1	6	4.840	89.2	-0.181	-	ATM
	qCHLN-7	ISSR5-4	7	5.096	101.2	-0.189	-	ATM
Inclusive Composite Interval Mapping	qCHLN-2	ISSR8-2-ISSR5-3	2	2.233	6	-0.178	13	ATM
	qCHLN-3	ISSR11-2-RM500	3	3.224	94	0.116	18.2	NAD
	qCHLN-8	ISSR4-6-ISSR13-3	8	4.041	18	-0.204	22.2	ATM
Single Trait Shrinkage IM	qCHLN-3	ISSR11-2-RM504	3	2.309	98	0.051	-	NAD
	qCHLN-6	ISSR9-1-ISSR6-2	6	2.129	90	-0.083	-	ATM
	qCHLN-7	RM248-ISSR5-4	7	3.442	98	-0.089	-	ATM

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

*Markers lined up are closer to the resective QTL.

در شرایط نرمال QTLهای به‌دست‌آمده در سه روش CIM، ICIM و SIM مشابه بودند. این مکان‌های ژنی روی کروموزوم‌های ۲، ۳ و ۸ قرار داشتند و دارای میزان LOD، اثر افزایشی و ضریب تبیین یکسانی بودند. آلل کاهش‌دهنده محتوای کلروفیل در qCHLN-2 و qCHLN-8 از والد اهلمی‌طارم منتقل شد؛ اما در تنش شوری دو روش ICIM و SIM ازنظر کروموزوم‌های ردیابی شده تشابه داشتند و روش CIM مکان‌های ژنی متفاوتی را ردیابی کرد. لی و وانگ (Li and Wang, 2007) با شبیه‌سازی وسیع با استفاده از دو

ژنوم و مدل‌های ژنتیکی مختلف نشان دادند که روش مکان-یابی فاصله‌ای مرکب فراگیر (ICIM) قدرت شناسایی QTL-ها را افزایش می‌دهد و نرخ شناسایی QTLهای نادرست در آن کاهش‌یافته و اثرات QTLها با اریب کمتری برآورد می-شود.

روش‌های CIM-MLE، PMLE، MIM و SISIM در شرایط نرمال QTLهایی را روی کروموزوم‌های یکسان، اما در موقعیت‌های مختلف ردیابی کردند که گاهی این مکان‌های ژنی در موقعیت‌هایی بسیار نزدیک یکدیگر قرار داشتند. در شرایط تنش شوری شش روش مکان‌یابی به‌جز CIM توانستند یک مکان ژنی را روی کروموزوم ۶ و در موقعیت ۵۲ سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم شناسایی کنند که در روش‌های ICIM و SIM آلل‌های والد ندا باعث افزایش محتوای کلروفیل در این مکان ژنی شدند و در سایر روش‌ها والد اهلمی‌طارم باعث کاهش محتوای کلروفیل شدند. زو (Xu, 2003) نشان داد روش بیسی (Single Trait Penalized MLE) روش مکان‌یابی بهتری را انجام می‌دهد چون برای شناسایی QTL علامت‌های واضح‌تری تولید می-کند.

جدول ۳. QTLهای ردیابی شده برای محتوای کلروفیل در شرایط تنش شوری با استفاده از روش‌های مختلف مکان‌یابی QTL.

Table 3. Located QTL for chlorophyll content under salt stress conditions using different method of locating QTL

روش مکان‌یابی Location method	QTL	نشانگرهای مجاور* Flanking markers*	کروموزوم Chr.	LOD	موقعیت Position	اثر افزایشی Additive effect	ضریب تبیین R^2	جهت آلل Direction of ph
Single Trait MLE	qCHL-2	ISSR5-3- RM236	2	2.197	8	0.198	-	NAD
	qCHL-6a	IRAP17-1-RM111	6	3.254	52	-0.091	-	ATM
	qCHL-6b	ISSR8-4-IRAP18-1	6	2.271	60	0.233	-	NAD
Simple Interval Mapping	qCHL-4	IRAP5-3-ISSR1-4	4	2.195	108	-0.12	12.6	ATM
	qCHL-6a	IRAP17-1-RM111	6	3.311	52	0.143	12.8	NAD
	qCHL-6b	ISSR9-1-ISSR6-2	6	3.106	108	-0.093	18.6	ATM
	qCHL-7	ISSR12-1-ISSR2-2	7	2.206	20	-0.359	17.6	ATM
	qCHL-10	RM294A-RM591	10	3.073	98	-0.087	12.8	ATM
Composite Interval Mapping	qCHL-1	RM10748-RM10773	1	2.33	102	0.023	13.5	NAD
	qCHL-2	ISSR1-1	2	2.198	26	0.022	12.8	NAD
	qCHL-6a	ISSR4-5-IRAP17-1	6	2.104	34	0.045	12.3	NAD
	qCHL-6b	ISSR9-1-ISSR6-2	6	3.292	110	0.108	18.5	NAD
	qCHL-7a	ISSR12-1-ISSR2-2	7	2.991	22	0.057	17	NAD
	qCHL-7b	ISSR4-6-RM500	7	3.268	46	0.026	18.4	NAD
Single Trait Multiple IM	qCHL-6a	IRAP17-1-RM111	6	2.219	52	-0.113	-	ATM
	qCHL-6b	ISSR8-4-IRAP18-1	6	2.267	60	0.225	-	NAD
Single Trait Penalized MLE	qCHL-6	IRAP17-1-RM111	6	3.268	52.3	-0.079	-	ATM
	qCHL-9	ISSR 20-5	9	2.007	16.2	0.103	-	NAD
Inclusive Composite Interval Mapping	qCHL-4	IRAP5-3-ISSR1-4	4	2.195	108	-0.12	12.6	ATM
	qCHL-6a	IRAP17-1-RM111	6	3.311	52	0.143	12.8	NAD
	qCHL-6b	ISSR9-1-ISSR6-2	6	3.106	108	-0.093	18.6	ATM
	qCHL-7	ISSR12-1-ISSR2-2	7	2.206	20	-0.359	17.6	ATM
	qCHL-10	RM294A-RM591	10	2.163	94	-0.166	12.8	ATM
Single Trait Shrinkage IM	qCHL-6	IRAP17-1-RM111	6	3.187	52	-0.079	-	ATM

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

*Markers lined up are closer to the resective QTL

نتیجه‌گیری نهایی

با استفاده از روش‌های مختلف مکان‌یابی شامل SIM-MEL، SIM، CIM، MIM، PMLE، ICIM و STSIM، QTL-های مشابه و متفاوتی ردیابی شد. qCHL-6 در کلیه روش-های مکان‌یابی در موقعیت ۵۲ سانتی‌مورگان از کروموزوم ۶ ردیابی شد و از آن می‌توان در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود. در بین روش‌های موردبررسی، روش

مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب دارای کمترین خطا در برآورد اثر QTL اصلی می‌باشد و می‌توان در هر نقطه از ژنوم که تحت پوشش نشانگرهاست انجام شود و کارایی نشانگرها در این روش بالاتر است. نتایج حاصل از این روش از دقت بالاتری برخوردار می‌باشند و روشی است که در بسیاری از مقالات به‌عنوان مرسوم‌ترین روش به آن اشاره می‌شود و نتایج آن موردبحث قرار می‌گیرد. محققین سازمان تحقیقات کشاورزی و سایر بخش‌های کشاورزی می‌توانند از نتایج این تحقیق برای انتخاب برترین ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش شوری استفاده نمایند.

منابع

Alam, M.Z., Stuchbury, T., Naylor, R.E.L., Rashid, M.A., 2004. Effect of salinity on growth of some modern rice cultivars. Journal of Agronomy. 3, 1-10.

An, Z.W., Xie, L.L., Cheng, H., Zhou, Y., Zhang, Q., He, X.G., 2009. A silver staining procedure for nucleic acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. Analytical Biochemistry. 391, 77-9.

Arvin, P., 2015. Effect of gibberellin on some vegetative traits, chlorophyll paints content and proline in medicinal plants savory (*Satureja hortensis* L.) under salt stress conditions. Journal of Crop Production Research. 7, 89-104. [In Persian with English summary].

Ebadi, A.A., Allahgholipour, M., Sharafi, N., 2018. Analysis of quantitative trait loci for ratooning ability in rils population of rice. Journal of Crop Breeding. 9(24), 158-165.

Fukuda, A., Terao, T., 2015. QTLs for shoot and chlorophyll content of rice seedling grown under low-temperature conditions, using a cross between Indica and Japonica cultivars. Plant Production Science. 18, 128-136.

Gregorio, G.B., 1997. Tagging salinity tolerance genes in rice using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). PhD thesis. University of Philippines in Los Banos. Philippines.

Haley, C.S., Knott, S.A., 1992. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. Heredity. 69, 315-324.

Haq, T. U., Akhtar, J., Gorham, J., Khalid, M., 2008. Genetic mapping of QTLs, controlling shoot fresh and dry weight under salt stress in rice cross between CO39×Moroberekan. Pakistan Journal of Botanical. 40, 2369-2381.

Hu, S.P., Zhou, Y., Zhang, L., Zhu, X.D., Li, L., Luo, L.J., Liu, G.L., Zhou, Q.M., 2009. Correlation and quantitative trait loci analyses of total chlorophyll content and photosynthetic rate of rice (*Oryza sativa* L.) under water stress and well-watered conditions. Journal of Integrative Plant Biology. 51, 879–888.

Jiang, S., Zhang, X., Zhang, F., Xu, Z., Chen, W., Li, Y., 2012. Identification and Fine Mapping of qCTH4, a Quantitative Trait Loci controlling the chlorophyll content from tillering to heading in rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Heredity, 103,720–726.

Kao, C.H., Zeng, Z. B., 1999. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. Genetics. 152, 1203-1216.

Kosambi, D. D., 1944. The estimation of map distances from recombination values. Annuals of Eugene. 12, 172-175.

Lander, E. S., Botestein, R., 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative trait using RFLP linkage maps. Genetics. 121, 185-199.

Li, H. G., Wang, J., 2007. A modified algorithm for the improvement of composite interval mapping. Genetics. 175, 361-374.

Majidimehr, A., Amiri-Fahliani, R., 2016. Analysis of salinity effect on chlorophyll rate, florescence indices and grain yield of some rice cultivars. Journal of Crop Breeding. 8, 183-190. [In Persian with English summary].

Manly, K.F., Olson, J.M., 1999. Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QT. Mammalian Genome. 10, 327-334.

Mc Couch, S. R., Cho, Y. G., Yano, M., Paul, E., Blinstrub, M., 1997. Report on QTL nomenclature. Rice Genetic Newsletter. 14, 11-13.

Mohammdi, S. A., 2008. New method of genetic structure analysis of quantitative traits in plants. P. 183-201. In: Proceedings of the 10th Iranian Congress of Agronomy and Plant Breeding, 18-20 Aug. 2008. Seed and Plant

Improvement Research Institute, Karaj- Iran. [In Persian].

Moradi, F., Abdelbagi, M. I., 2007. Response of photosynthesis, cholorophyll fluorescence and ROS- scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. Annals of Botany. 99, 1161-1173.

Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. Plant Biology. 59, 651-81.

Nelson, J.C., 1997. QGENE: software for marker-based genomic analysis and breeding. Molecular Breeding. 3, 239-245.

Pazira, A., 1985. Short opinion on soil salinity and alkaloid problem: Investigation and improvement methods. Water and Soil Institute of Iran, Tehran, Iran. [In Persian with English summary].

Ping, F., Xiaomin, Y., Riqing, Z., Ping, W., 2004. QTLs for rice leaf chlorophyll content under low N stress. Pedosphere. 14, 145-150

Rabiei, B., Mardani, KH, Sabouri, H., Sabouri, A., 2014. The effect of rice chromosome 1 on traits associated with drought and salinity tolerance at germination and seedling stages. Seed and Plant Improve Journal. 30, 1-16. [In Persian with English summary].

Rajabi, A., Borchard, D., 2015. QTL mapping for root yield and leaf traits in sugar beet (Betavulgaris L.) under drought stress condition. Iranian Journal of Crop Sciences. 17, 46-62. [In Persian with English summary].

Rodriguez, I. R., and Miller, J. L., 2000. Using a chlorophyll meter to determine the chlorophyll concentration, nitrogen concentration, and visual quality of St. Augustine grass. Hortiscience. 35(4), 751–754. 2000

Sabouri, H., Rezai, A.M., Moumeni. A., 2008. Evaluation of salt tolerance in Iranian landrace and improved rice cultivars. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 45, 47-63. [In Persian with English summary].

Sabouri. H., Rezai. A., Moumeni. A., Kavousi. M., Shokri, H., Allagholipour, M., 2010. Evaluation of relationship between traits of Iranian rice (*Oryza sativa*. L.) cultivars under saline condition. Electronic Journal of Plant Production. 2(4), 1-22. [In Persian with English summary].

Sabouri, H., Rezai, A., Moumeni, A., Kavousi, M., 2007a. Investigation of genetic diversity of Iranian rice genotypes under salinity condition: compare means, sensitive and tolerance index. - In: Bocchi, S., Ferrero, A., Porro, A. (eds.), Proceedings of the 4th International Temperate Rice Conference. Pp. 50-51. Tipografia Fiordo, Novara

Sabouri, H., Rezai, A., Moumeni, A., Kavousi, M., 2007b. Investigation of genetic diversity of Iranian rice genotypes under salinity condition: multivariate analysis. In: Bocchi, S., Ferrero, A., Porro, A. (eds.), Proceedings of the 4th International Temperate Rice Conference. Pp. 52-53. Tipografia Fiordo, Novara

Sabouri, H., Rezai, A., Moumeni, A., Kavousi, M., 2007c. Study the variation of physiological and agronomical characters Iranian rice (*Oryza sativa* L.) cultivars in seedling and vegetative stages under salinity condition. In: Bocchi, S., Ferrero, A., Porro, A. (eds.), Proceedings of the 4th International Temperate Rice Conference. Pp. 284-285.Tipografia Fiordo, Novara

Sabouri, H., Biabani, A., Nakhzari, A., Mollashahi, M., Sabouri, A., Katouzi, M., 2008. Genetic analysis of agronomical traits using Diallel methods. Research project. Department of plant production, College of Agriculture Sceince and Natural Resource, Gonbad Kavous University. [In Persian with English summary].

Sabouri, H., Sabouri, A., 2008. New evidence of QTLs attributed to salinity tolerance in rice. African Journal of Biotechnology. 7, 4376–4383.

Sabouri, H., Sabouri, A., Dadras, A. R., 2016. Advanced Quantitative Genetics. University of Gonbad Kavos. [In Persian with English summary].

Sabouri, H., Sabouri, A., Nahvi, M., Dadres, A. R., Katozi, M., 2008. Location of QTL leaf chlorophyll content in seedling and reproductive stages under salt stress in rice. Modern Genetics Journal. 3, 21-30. [In Persian with English summary].

Sabouri, H., 2008. Evaluation of genetic variety of iranain rice germplasma plants for tolerance to salinity and location of related QTL. PhD. thesis. Isfahan University of Technology. [In Persian with English summary].

Saghi Maroof, M.A., Biyaoshev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q., Allard, R.W., 1994. Extra ordinarily polymorphic microsatellites DNA in barley species diversity, chromosomal location, and population dynamics. Processing of the academy of sciences, USA. 91, 4566-5570.

Sato, T., Ueda, T., Fukuta, Y., Kumagai, T., Yano, M., 2003. Mapping of quantitative trait loci associated with ultraviolet-B resistance in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical Appllical Genetics. 170, 1003-1008.

Shen, B., Zhuang, J., Zhang, K., Dai, W., Lu, Q., Ding, J., Zheng, K., 2007. QTL mapping of chlorophyll contents in rice. Agricultureral Sicences in China. 6(1), 17-24.

Takai, T., Kondo, M., Yano, M., Yamamoto, T., 2010. A Quantitative trait locus for chlorophyll content and its association with leaf photosynthesis in rice. Rice. 3, 172–180.

Takehisa, H., Shimodate, T., Fukuta, Y., Ueda, T., Yano, M., Yamaya, T., Kameya, T. Sato, T., 2004. Identification of quantitative trait loci for plant growth of rice in paddy field flooded with salt water. Field Crops Research. 89, 85-95.

This, D., Borries, C., Souyris, I., Teulat, B., 2000. QTL study of chlorophyll content as a genetic parameter of drought tolerance in barley. Barley Genetics Newsletter. 30, 20-23.

Wang, B., Lan, T., Wu, W.R., Li, W.M., 2003. Mapping of QTLs controlling chlorophyll content in rice. Acta Genetica Sinica. 30, 1127–1132.

Wang, F., Wang, G., Li, X., Huang, J., Zheng, J., 2008. Heredity, physiology and mapping of a chlorophyll content gene of rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Plant Physiology. 165(3), 324-330.

Weidong, C., Jizeng, J., Jiyun, J., 2004. Identification and interaction analysis of QTL for chlorophyII content in wheat seedlings. Plant Nutrition and Fertitizer Science. 10, 473-478.

Xu, S., 2003. Estimating polygenic effect using markers of the entire genome. Genetics. 163, 789-801.

Zeng, Z. B., 1994. Precision mapping of quantitative trait loci. Genetics. 136, 1457-1468.

Zhangh, D., Xing, M., God, H., 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. Molecular Ecology.12, 563-584.

University of Birjand

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences
Vol. 12, No. 3, pp. 601-11
Summer 2020
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2019.2073.1513

Original article

Detection of quantitative genes controlling of chlorophyll content in rice seedling under normal and salinity stress and comparison of different QTL mapping methods

S. Sanchouli[1], M. Ghorbanzade Neghab[2], H. Sabouri[3], M. Zare Mehrjerdi[2]
1. M.Sc. Student of Biotechnology, Shirvan Higher Eduction Complex, Shirvan, Iran
2. Associte Professor, Shirvan Higher Eduction Complex, Shirvan, Iran
3. Associte Professor, University of Gonbad-e-Kavous, Gonbad-e-Kavous, Iran

Received 29 November 2018; Accepted 18 January 2019

Abstract
Rice is one of the important crops in the world, especially in Asian countries; salinity is a major limitation in the development of rice cultivation. In order to maaping of QTL related to chlorophyll content in 96 recombinant inbred lines derived from the cross between Neda and Ahlemi Tarom cultivars under salt stress in seedling stage, an experiment was completely randomized design with three replication and two conditions of normal and salt stress cultivar in Gonbad Kavous university in 2016. Locating the genes controlling the chlorophyll content using different location methods in clouding SIM-MEL, SIM, CIM, MIM, PMLE, ICIM and STSIM. These methods detected different QTL. ICIM, CIM and SIM have most closely in genetic location in normal and salt stress conditions. qCHL-6 was identified in six location method at 52 cM position in chromosome 6. So, we can identify the better genotypes in term of chlorophyll content for marker selection programs using this QTL after validations.

***Keywords*:** Hydroponic cultivation, QTL, Quantitative trait, Rice.

*Correspondent author: Hossein Sabouri; E-Mail: hos.sabouri@gmail.com