



شناسایی مکان‌های ژنی مؤثر بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی در جمعیت لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب برنج ایرانی (*Oryza sativa* L.) تحت تنش‌های خشکی و شوری

سمیه سنجولی^۱، محمود قربانزاده نقاب^۲، حسین صبوری^{۳*}، محمد زارع مهرجردی^۴

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

۴. استادیار گروه تولیدات گیاهی، مجتمع آموزش عالی شیروان

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۱۹

چکیده

به منظور مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با تنش‌های اسمزی در مرحله جوانه‌زنی و تعیین سهم هر QTL در تنوع فنوتیپی صفات ۷۴ لاین نسل هشتم تلاقی اهلمی طارم × ندا در دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۳۹۶ مورد مطالعه قرار گرفتند. نقشه پیوستگی بر اساس ۴۰ نشانگر SSR، ۱۶ نشانگر ISSR (با ۷۶ آلل تکثیر شده چند شکل)، دو نشانگر IRAP (۷ آلل تکثیر شده چند شکل) و یک نشانگر iPBS (۲ آلل تکثیر شده چند شکل) روی ۷۴ فرد جمعیت F8، نشانگرها را به ۱۲ گروه پیوستگی متعلق به ۱۲ کروموزوم برنج با طول نقشه برابر با ۱۴۹۱ سانتی‌مورگان و فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر با ۱۳/۰۷ سانتی‌مورگان منتسب کرد. مؤلفه‌های جوانه‌زنی شامل درصد جوانه‌زنی، طول کلئوپتیل، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه ثبت شد. در شرایط نرمال ۹ مکان ژنی ردیابی شد. برای طول ریشه‌چه پنج مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۳، ۵، ۶ و ۷ و برای طول ساقه‌چه چهار مکان ژنی شناسایی شد که روی کروموزوم‌های ۱، ۵ و ۷ قرار داشتند. دو مکان ژنی در شرایط وجود مانیتول برای طول کلئوپتیل روی کروموزوم ۶ ردیابی شد. برای طول ریشه‌چه هفت QTL ردیابی شد که روی کروموزوم‌های ۳، ۴، ۶ و ۷ قرار داشتند. برای طول ساقه‌چه چهار مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۴ و ۶ ردیابی شد که بین ۸ تا ۱۱ درصد از تنوع فنوتیپی صفت را توجیه کردند. دو مکان ژنی برای طول ریشه‌چه روی کروموزوم‌های ۵ و ۸ ردیابی شد در این بین qRASA-8 توانست ۱۴/۹ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه کند. برای طول ساقه‌چه نیز شش مکان ژنی ردیابی شد که روی کروموزوم‌های ۵، ۷ و ۸ قرار داشتند و به ترتیب ۸/۷۵، ۹/۱۵، ۱۱/۲۵، ۹/۸، ۱۳/۶ و ۱۵/۷ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه کردند. در تنش حاصل خشکی حاصل از پلی‌اتیلن‌گلیکول نیز یک مکان ژنی برای درصد جوانه‌زنی روی کروموزوم ۲ و در موقعیت ۷۸ سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم ردیابی شد که ۱۰/۳ درصد از تنوع فنوتیپی صفت را توجیه کرد.

واژه‌های کلیدی: پلی‌اتیلن‌گلیکول، شوری، مانیتول، نقشه پیوستگی، QTL

مقدمه

گیاهی است، چراکه استقرار موفق گیاه و عملکرد نهایی آن را تضمین می‌کند (Hejazi and Kaffashi Sedghi, 2000). استفاده از ارقام با قدرت جوانه‌زنی بالا در نواحی گرمسیری که با تنش خشکی مواجه هستند، امری ضروری است. به طوری که امروزه قدرت جوانه‌زنی بالا یکی از صفاتی است که در ایجاد و توسعه ارقام برنج اصلاح شده مورد توجه قرار

برنج (*Oryza sativa* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی در جهان است و غذای بیش از ۳ میلیارد از مردم جهان را تأمین می‌کند (Bao et al., 2019). خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محدودکننده تولید برنج در اکوسیستم‌های گرمسیری و دیم است (Bimpong et al., 2011). جوانه‌زنی یکی از مهم‌ترین مراحل زیستی و تعیین‌کننده در چرخه رشد گونه‌های

ردیابی کردند. صبوری و همکاران (Sabouri et al., 2010) مکان‌های ژنی مرتبط با سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه را در شرایط تنش اسمزی حاصل از سوربیتول در ارقام برنج ایرانی روی کروموزوم ۱ ردیابی کردند. هو و همکاران (Hu et al., 2007) در جمعیت لاین‌های نوترکیب حاصل از تلاقی IRAT109 و Zhenshan، سه مکان ژنی برای شاخص مقاومت به خشکی و طول کلئوپتیل شناسایی کردند. راناواکی و همکاران (Ranawake et al., 2008) مکان‌های مرتبط با جوانه‌زنی در دماهای پایین را ردیابی کردند و عنوان کردند بازوی بلند کروموزوم ۷ مسئول کنترل خصوصیات مرتبط با جوانه‌زنی در دماهای پایین است.

هدف از اجرای این تحقیق مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با تحمل به تنش اسمزی در مرحله جوانه‌زنی برنج، تهیه نقشه پیوستگی و تعیین سهم هر QTL در تنوع فنوتیپی صفت مربوطه به کمک نشانگرها بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در پژوهش حاضر ۷۴ لاین حاصل از جمعیت لاین‌های نوترکیب نسل هشتم ارقام ندا × اهلمی-طارم بود. سه آزمایش مجزا شامل در شرایط تنش حاصل از مانیتول، پلی‌اتیلن گلایکول و NaCl در قالب طرح کاملاً تصادفی در پتری‌دیش‌هایی به قطر ۹ سانتی‌متر با ۲ تکرار صورت پذیرفت. تعداد ۱۰۰ عدد بذر سالم از ۷۴ لاین جمعیت F8 حاصل از تلاقی اهلمی طارم و ندا انتخاب شدند. بذرها با محلول ۲ درصد هیپوکلریت سدیم برای ۱۰ دقیقه استریل و سپس سه بار با آب مقطر شستشو شدند. بذرها به ظروف پتری استریل شده با اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه، فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه) روی کاغذ صافی استریل قرار داده شدند و تیمارهای مانیتول و پلی‌اتیلن گلایکول برای ایجاد تنش خشکی (۱۵- بار) و NaCl (۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) برای ایجاد تنش شوری اعمال شدند. برای محاسبه مقدار لازم از رابطه وانت‌هوف استفاده شد:

$$\Delta\pi = m \cdot I \cdot R \cdot T \quad [1]$$

که در این رابطه $\Delta\pi$ پتانسیل اسمزی، m مولاریته، I ضریب یونی، R عدد ثابت ۰/۰۸۳ و T دمای کلون است.

پتری‌دیش‌ها درون دستگاه ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد و تاریکی به مدت یک هفته قرار داده شدند. تعداد بذرها جوانه‌زده برای هر یک از لاین‌ها در ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰، ۱۴۴، ۱۶۸ ساعت پس از قرار

می‌گیرد (Sabouri et al., 2008). برخی از گیاهان قادرند در مواجهه با تنش اسمزی میزان پتانسیل اسمزی خود را کاهش دهند و موجب آماس سلولی شوند که حساسیت گیاهان به این کاهش پتانسیل اسمزی با تغییر غلظت نمک تغییر می‌کند. تنظیم اسمزی از طریق ترکیبات آلی نیازمند صرف انرژی است که در حالت عدم حضور تنش می‌تواند به‌صرف رشد برسد، از این‌رو گیاه در شرایط تنش با کاهش رشد روبرو است (Sabouri et al., 2014).

با پیشرفت‌هایی که در زمینه اصلاح مولکولی نباتات و استفاده از جمعیت‌های نقشه‌یابی، روش‌های تکنولوژی نشانگرهای مولکولی، نقشه‌های پیوستگی و مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) صورت گرفته، اصلاح برای تحمل به شوری، از طریق افزایش تحمل به تنش شوری و معرفی واریته‌های متحمل از طریق روش‌های به‌نژادی تسهیل شده است (Haq et al., 2008; Takehisa et al., 2004). همچنین استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک به‌عنوان یکی از عوامل تولید و معرفی ارقام متحمل به تنش شوری مورد شناسایی قرار گرفته است (Munns and Tester, 2008). مکان‌یابی QTL‌ها ابزار مفید و قابل دسترسی برای به‌نژادگران گیاهی در زمینه روشن شدن اساس ژنتیکی صفات مرتبط با تحمل به تنش محسوب می‌شود (Rabiei et al., 2014).

صبوری و همکاران (Sabouri et al., 2014) شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده مؤلفه‌های جوانه‌زنی در جمعیت لاین‌های نوترکیب برنج ایرانی را تحت شرایط مختلف تنش اسمزی با استفاده از ۱۳۶ نشانگر SSR و ۲۱ ترکیب پرایمری چند شکل مورد بررسی قرار دادند و برای طول ریشه‌چه سه QTL، طول کلئوپتیل سه QTL، طول ساقه‌چه پنج QTL و برای درصد جوانه‌زنی دو QTL تحت تنش اسمزی مانیتول مکان‌یابی کردند. QTL‌های شناسایی‌شده برای طول کلئوپتیل روی کروموزوم‌های ۱، ۳ و ۴ قرار داشتند. اثر افزایشی مکان‌های مربوط به طول کلئوپتیل از ۰/۲۴ تا ۰/۴۶ میلی‌متر متغیر بود.

ربیعی و همکاران (Rabiei et al., 2014) شناسایی QTL‌های مرتبط با تحمل به شوری و خشکی در دو مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای جمعیت F2:4 با استفاده از ۱۰۵ نشانگر AFLP و ۱۳۱ نشانگر ریزوماهواره ردیابی کردند که یک QTL برای سرعت جوانه‌زنی، یک QTL برای درصد جوانه‌زنی و یک QTL برای طول ساقه‌چه در کروموزوم ۱

برای تهیه نقشه ژنتیکی از نرم‌افزار Map Manager (Manly and Olson, 1999) و از نرم‌افزار Qgene (Nelson, 1997) برای مکان‌یابی QTLها استفاده شد. نام‌گذاری QTLها نیز بر اساس روش مک کوچ و همکاران (Mc Couch et al., 2008) صورت گرفت. برای تهیه نقشه از تابع کوزامبی (Kosambi, 1994) استفاده شد. حد آستانه LOD برای تهیه نقشه لینکاژی ۳ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

مقایسه میانگین بین لاین‌ها

مقایسه میانگین بین لاین‌ها در شرایط نرمال نشان داد لاین‌های ۱۳ و ۲۲ بیشترین درصد جوانه‌زنی، لاین‌های ۵۳ و ۷۳ بیشترین طول کلئوپتیل، لاین ۲۲ بیشترین طول ریشه‌چه و لاین ۱۲ بیشترین طول ساقه‌چه را دارا بودند. در شرایط تنش حاصل از مانیتول لاین‌های ۶۲، ۵۲، ۵۳، ۵۵ و ۵۴ بیشترین میزان را برای هر چهار صفت درصد جوانه‌زنی، طول کلئوپتیل، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه داشتند و لاین ۲۰ نیز از لاین‌های با کمترین میزان از این صفات بود. در شرایط تنش شوری لاین‌های ۴۹، ۵۶، ۴۸ و ۴۰ به ترتیب برای صفات درصد جوانه‌زنی، طول کلئوپتیل طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه بیشترین میزان را دارا بودند و لاین‌های ۶۶، ۲۳، ۱۵ و ۴ چه بیشترین میزان از صفات دارای کمترین میزان بودند. در شرایط تنش حاصل از پلی‌اتیلن‌گلاکول لاین‌های ۳۵ و ۷۰ به ترتیب دارای بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی بودند. لاین ۶۱ دارای بیشترین طول کلئوپتیل و لاین ۴۰ دارای بیشترین طول ریشه‌چه بود. همچنین لاین‌های ۳۷ و ۴۰ دارای بیشترین طول ساقه‌چه در شرایط تنش حاصل از پلی‌اتیلن‌گلاکول بودند (جدول ۱).

تهیه نقشه پیوستگی

بعد از تعیین ژنوتیپ افراد، داده‌های حاصل وارد نرم‌افزار MapManager QTX 17 (Manly and Olson, 1999) گردید.

گرفتن در پتری دیش، شمارش شدند و ۱۴ روز پس از کشت قرائت طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و طول کلئوپتیل با استفاده از کولیس و به میلی‌متر اندازه‌گیری شد. درصد جوانه‌زنی (PG) بر اساس شاخص جوانه‌زنی که خروج حداقل ۲ میلی‌متر ریشه‌چه از پوسته بذر است، طبق رابطه زیر محاسبه شد (Ranai and De Santana., 2006).

$$PG = Ni/N \times 100 \quad [2]$$

که در آن، PG: درصد جوانه‌زنی، Ni: تعداد بذرها، N: تعداد کل بذرها است.

به‌منظور استخراج DNA ژنومی از روش CTAB^۱ (Saghi Marofofet 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 (ساخت انگلیس) استفاده شد. هر کدام از نمونه‌ها در طی الکتروفورز بر روی ژل نوارهایی تشکیل دادند که با استفاده از آن‌ها کیفیت DNA هر کدام از نمونه‌ها بررسی شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۱۰ میکرولیتر برای هر نمونه DNA انجام شد. به این ترتیب که ابتدا به میزان ۲/۵ میکرولیتر DNA ژنومی رقیق‌شده (۳۰ نانوگرم)، در هر تیوپ PCR تقسیم شد، سپس ۷/۵ میکرولیتر از محلول PCR (غیر از DNA ژنومی) به هر تیوپ اضافه و پیپتاژ گشت. قابل توجه است که برای تهیه مخلوط واکنش در یک میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری به ترتیب آب دو بار تقطیر، محلول مادری (با ترکیب Taq DNA Polymerase محصول شرکت سیناژن با غلظت ۰/۰۴ واحد بر میکرولیتر، بافر PCR، MgCl₂ با غلظت ۳ میلی‌مولار، dNTPs، هر کدام 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.

فرآورده‌های واکنش زنجیره پلی‌مراز با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌امید ۶ درصد تفکیک شدند و رنگ-آمیزی ژل‌ها با استفاده از روش سریع نیترات نقره صورت گرفت (An et al., 2009).

^۱ Cetyl trimethyl ammonium bromide

جدول ۱. مقایسه میانگین بین لاین‌ها برای صفات جوانه‌زنی در شرایط نرمال و تنش‌های شور و خشکی.
Table 1. Comparison between lines for germination traits in normal conditions and salinity and drought stresses

لاین	تنش حاصل از مانیتول										تنش شور										تنش حاصل از یون کلراید									
	نرمال					Mannitol stress					Salt stress					PEG stress														
	درصد جوانه‌زنی	طول کلوتیل	طول ریشه‌چه	طول ساقچه	طول ریشه‌چه	طول کلوتیل	طول ریشه‌چه	طول ساقچه	طول ریشه‌چه	طول کلوتیل	طول ریشه‌چه	طول ساقچه	طول ریشه‌چه	طول کلوتیل	طول ریشه‌چه	طول ساقچه	طول ریشه‌چه	طول کلوتیل	طول ریشه‌چه	طول ساقچه	طول ریشه‌چه	طول کلوتیل	طول ریشه‌چه	طول ساقچه						
Percent of germination	Coleoptile length	Radicle length	Plumule length	Radicle length	Coleoptile length	Radicle length	Plumule length	Radicle length	Coleoptile length	Radicle length	Plumule length	Radicle length	Coleoptile length	Radicle length	Plumule length	Radicle length	Coleoptile length	Radicle length	Plumule length	Radicle length	Coleoptile length	Radicle length	Plumule length							
1	99.33	4.45	10.66	9.8	1.03	1.03	2.58	66.66	1.18	4.5	3.1	77	1.36	1.58	4.8	4.45	1.36	1.58	4.8	4.45	1.36	1.58	4.8	4.45						
2	98.33	4.6	12.33	11.4	1.16	1.16	2	2.36	1.6	4	3.75	77.33	1.36	1.58	4.8	4.45	1.36	1.58	4.8	4.45	1.36	1.58	4.8	4.45						
3	99	3.76	17.33	10.5	1.21	1.83	2.33	76	1.33	3.93	3.95	68	1.38	1.38	3.95	3.3	1.33	1.33	3.93	3.95	1.38	1.38	3.95	3.3						
4	99	4.55	12	10.66	1.33	2.33	2.7	70.66	1.53	4.08	1.43	70.66	1.53	1.7	6.83	4.36	1.33	1.33	4.08	1.43	1.7	1.7	6.83	4.36						
5	95	4.16	14.56	13.83	1.46	3	3.3	77.33	1.4	4.05	2.86	73.33	1.4	1.9	4.08	3.6	1.4	1.4	4.05	2.86	1.9	1.9	4.08	3.6						
6	98.33	4.6	7.53	5.5	1.2	2.83	2.95	68	1.06	4.33	3.63	70.66	1.11	1.11	6.36	3.35	1.06	1.06	4.33	3.63	1.11	1.11	6.36	3.35						
7	97.66	4.6	15.33	9.33	0.96	1.66	1.9	70.66	1.33	4.36	3.6	80	1.06	1.06	5.5	3.31	1.33	1.33	4.36	3.6	1.06	1.06	5.5	3.31						
8	99	4.33	8.86	10.6	0.93	1.66	1.33	68	1.16	4.33	3.36	70.66	2.01	2.01	4.25	3.98	1.16	1.16	4.33	3.36	2.01	2.01	4.25	3.98						
9	95.33	5.18	8.4	11.33	0.73	1.6	1.6	64	1.26	4.58	3.61	77.33	1.45	1.45	5.35	3.53	1.26	1.26	4.58	3.61	1.45	1.45	5.35	3.53						
10	95	4.06	12.4	11.3	0.4	2.46	1.33	72	1.26	3.56	3.93	78.66	1.53	1.53	3.7	3.51	1.26	1.26	3.56	3.93	1.53	1.53	3.7	3.51						
11	95.33	5.33	16.33	10.83	0.56	1.2	0.95	69.33	1.06	4.8	3.66	80	1.93	1.93	5.16	4.11	1.06	1.06	4.8	3.66	1.93	1.93	5.16	4.11						
12	95	5.33	12.33	15.7	0.66	1.36	1.43	62.66	1.8	2.01	3.5	73.33	1.43	1.43	7.16	4.3	1.8	1.8	2.01	3.5	1.43	1.43	7.16	4.3						
13	100	3.68	8.56	8.63	0.4	1.23	1.83	72	1.56	2.11	3.4	76	1.68	1.68	4.58	3.25	1.56	1.56	2.11	3.4	1.68	1.68	4.58	3.25						
14	99.33	5.08	14.66	14.5	0.4	2.33	1.91	78.66	1.5	2.81	4.13	76	1.76	1.76	6.86	4.18	1.5	1.5	2.81	4.13	1.76	1.76	6.86	4.18						
15	98	4.75	9.5	9.5	0.76	3.83	1.91	69.33	1.88	3	2.73	69.33	1.5	1.5	5.66	2.63	1.88	1.88	3	2.73	1.5	1.5	5.66	2.63						
16	99.33	3.63	11.5	11.5	1.16	2.33	1.73	70.66	2.15	4.98	4.2	76	1.26	1.26	4.48	3.68	1.16	1.16	2.15	4.98	1.26	1.26	4.48	3.68						
17	99	3.48	11.66	9.33	0.73	1.05	1.65	77.33	1.71	5.45	2.71	70.66	1.45	1.45	4.13	3.93	0.73	0.73	1.05	1.65	1.45	1.45	4.13	3.93						
18	99.33	5.86	10.66	10.5	0.76	1.06	1.55	70.66	1.6	3.68	4.73	69.33	1.38	1.38	3.08	3.5	1.6	1.6	3.68	4.73	1.38	1.38	3.08	3.5						
19	99.66	3.58	12.33	9.66	1	1.7	1.83	62.66	1.3	0.36	2.33	72	1.28	1.28	6.18	3.78	1	1	0.36	2.33	1.28	1.28	6.18	3.78						
20	99.33	4.55	11.33	9.46	0.83	0.53	1.13	77.33	1.43	3.33	3	74.66	1.4	1.4	6	3.3	0.83	0.83	0.53	1.13	1.4	1.4	6	3.3						
21	99	3.98	13.33	11.06	0.66	0.96	1.43	73.33	1.63	3	2.2	70.66	1.68	1.68	5.53	4.78	0.66	0.66	0.96	1.43	1.68	1.68	5.53	4.78						
22	99.66	3.43	19.33	10.83	1.2	1.23	2.18	74.66	1.1	3.33	2.4	72	1.26	1.26	6.11	3.76	1.2	1.2	1.23	2.18	1.26	1.26	6.11	3.76						
23	99	4.55	11.66	10.66	1.1	1.88	1.91	73.33	1	3.33	2.4	80	1.45	1.45	5.78	5.4	1.1	1.1	1.88	1.91	1.45	1.45	5.78	5.4						
24	96.33	4.7	14.56	12.83	1.2	1.38	1.96	77.33	1.46	1.08	2.3	78.66	1.58	1.58	5.65	5.51	1.2	1.2	1.38	1.96	1.58	1.58	5.65	5.51						
25	99	3.91	7.53	5.83	1.15	2.16	2.21	77.33	1.53	1.83	2.78	77.33	1.51	1.51	4.86	4.06	1.15	1.15	2.16	2.21	1.53	1.53	4.86	4.06						
LSD	2.521	0.802	6.766	0.163	0.561	1.525	0.991	6.766	0.163	0.642	0.561	8.634	0.807	0.807	2.336	1.630	0.561	0.561	0.642	0.561	0.807	0.807	2.336	1.630						

جدول ۱. ادامه
Table 1. Continued

Line	تشنش حاصل از مانیتول Mannitol stress						تشنش شور Salt stress						تشنش حاصل از نیتراتین گلائیکول PEG stress					
	درصد جوانه‌زنی Percent of germination	طول کلونوبیل Coleoptile length	طول ریشه‌چه Radicle length	ساقچه Plumule length	درصد جوانه‌زنی Percent of germination	طول کلونوبیل Coleoptile length	طول ریشه‌چه Radicle length	ساقچه Plumule length	درصد جوانه‌زنی Percent of germination	طول کلونوبیل Coleoptile length	طول ریشه‌چه Radicle length	ساقچه Plumule length	درصد جوانه‌زنی Percent of germination	طول کلونوبیل Coleoptile length	طول ریشه‌چه Radicle length	ساقچه Plumule length		
26	99	4.01	16.5	8.33	62.66	1.23	2.41	2.01	78.66	1.26	1.23	2.41	78.66	1.31	5.18	5.01		
27	98.66	4.5	10.33	10.6	66.66	1.03	2.08	1.85	77.33	1.38	3.86	2.86	78.66	1.26	5.1	4.76		
28	97.66	4.85	8.33	11.66	56	1.3	1.9	1.8	62.66	1.23	1.41	2.61	73.33	1.88	5.38	4.88		
29	96	4.06	11.66	10.96	60	1.13	1.23	1.45	76	1.56	3.13	1.83	78.66	1.33	5.78	4.85		
30	96	6.63	16.9	10.83	61.33	1.23	1.93	1.76	74.66	1.6	3.41	3.25	78.66	1.43	5.65	5.15		
31	95	3.63	15.5	12.03	60	1.5	3.13	2.43	70.66	1.18	1.02	1.95	78.66	1.53	7.36	5.45		
32	99	3.58	16.1	10.23	74.66	1.48	2.53	2.65	70.66	1.46	1.66	1.8	73.33	1.4	8.05	5.61		
33	94.33	5.53	12.51	11.66	76	1.2	1.65	1.41	72	1.23	1.71	2.6	78.66	1.65	6.43	5.05		
34	94.66	4.6	14.6	11.5	60	1.06	1.7	1.46	72	1.38	3	2.63	78.66	1.6	5.91	4.55		
35	98.33	4.65	8.8	8.96	72	1.4	1.26	1.76	69.33	1.03	2.8	2.55	80	1.48	5.83	4		
36	94.66	4.6	8.33	10.4	68	1.1	1.35	1.1	77.33	1.23	2.71	2.66	78.66	1.36	6.85	4.48		
37	96.33	4.5	10.33	6.66	62.66	1.33	1.53	1.36	62.66	1.23	2.16	3.26	77.33	1.55	4.13	6		
38	99	4.5	8.66	7.23	66.66	1.4	1.2	1.46	70.66	1.01	4.13	2.33	77.33	1.63	5.71	5.3		
39	98	3.33	10.66	7.4	56	1.1	1.06	1.16	80	1.35	4.88	4.46	72	1.65	6.53	5.85		
40	99	4.06	8.66	8	60	1.33	1.45	1.33	80	1.68	7.48	6.35	76	1.7	8.5	5.86		
41	95.66	3.53	7.66	6.33	61.33	1.31	1.7	1.31	76	1.75	4.83	4.55	77.33	1.23	6.28	5.46		
42	97.33	3.58	7.33	7.33	60	1.46	1.2	1.61	78.66	1.36	5.75	5.75	76	1.31	6.65	4.75		
43	98.33	4.06	11	7.5	74.66	1.18	1.2	1.18	78.66	1.11	5.6	4.51	78.66	1.96	6.95	5.48		
44	96	3.73	8	7.9	76	1.46	1.3	1.6	73.33	2.23	5.05	5.13	78.66	1.55	6.78	4.46		
45	99	3.96	8.5	3.93	68	1.18	1.2	1.18	78.66	1.26	6.53	5.13	78.66	1.45	4.75	5.35		
46	99	3.96	8.43	5.66	74.66	1.36	1.2	1.43	78.66	1.56	5.81	4.83	76	1.5	4.98	4.75		
47	96	3.7	10.33	7.93	76	1	1.13	1	78.66	1.48	6.2	5.56	76	1.61	7.83	5.41		
48	95	4.06	9.53	7.33	68	1.2	2.75	1.78	73.33	1.15	9.21	5.2	76	1.3	6.2	4.8		
49	96	3.43	10.33	6.86	53.33	1.85	5.56	3.86	80	1.56	6.31	4.96	74.66	1.48	6.03	4.53		
50	96	3.53	7.8	7.86	68	1.38	7.68	2.96	77.33	1.75	7.1	6.21	70.66	1.63	4.3	3.8		
LSD	2.321	0.802	6.766	0.163	0.642	0.561	1.525	0.991	6.766	0.163	0.642	0.561	8.634	0.807	2.336	1.650		

جدول ۱. ادامه
تنش حاصل از پلی‌اتیلن گلازیکول

لاین	تنش حاصل از مانیتول						تنش شوری						تنش حاصل از پلی‌اتیلن گلازیکول						
	درصد جوانه‌زنی	طول کلتوتیل	طول ساقچه	طول ریشه‌چه	طول Radicle Plumule length	طول Coleoptile length	درصد جوانه‌زنی	طول کلتوتیل	طول ساقچه	طول ریشه‌چه	طول Radicle Plumule length	طول Coleoptile length	درصد جوانه‌زنی	طول کلتوتیل	طول ساقچه	طول ریشه‌چه	طول Radicle Plumule length	طول Coleoptile length	
51	99	4.6	4.9	6.46	1.63	3.71	80	1.26	3.86	2.83	3.86	74.66	1.38	5.33	3.86	5.33	1.18	4.36	
52	98	4.6	4.8	7.33	2.05	4.58	78.66	1.31	8.23	4.01	8.23	77.33	1.31	8.23	4.01	8.23	1.18	4.36	
53	97	7.11	9.96	7.33	1.9	6.51	73.33	1.45	4.48	5.46	4.48	73.33	1.1	5.75	4.21	5.75	1.1	5.75	
54	96.33	4.93	8.03	10.33	1.38	5.95	80	1.38	5.95	3.06	5.95	77.33	1.73	4.68	5.81	4.68	1.33	4.45	
55	98.33	4.5	7.66	6.33	1.38	5.48	77.33	1.36	5.75	5.91	5.75	72	1.36	5.75	5.91	5.75	1.63	4.85	
56	98.33	3.43	4.33	6.33	1.45	2.86	68	2.26	8.15	5.26	8.15	76	2.26	8.15	5.26	8.15	1.4	4.16	
57	98.33	4.5	3.66	4.9	1.36	4.45	65.33	1.25	6.88	5.7	6.88	76	1.25	6.88	5.7	6.88	1.45	4.11	
58	95.66	3.33	5	4.46	1.26	3	68	1.13	7.8	5.11	7.8	77.33	1.13	7.8	5.11	7.8	1.36	5.18	
59	96	3.53	2.33	4.5	1.33	3.66	70.66	2.16	6.57	5.56	6.57	78.66	2.16	6.57	5.56	6.57	1.45	5.58	
60	96.66	4.25	2.36	3.9	1.08	4.91	76	1.56	7.85	5.56	7.85	77.33	1.56	7.85	5.56	7.85	1.58	4.75	
61	96	4.5	2.73	3.66	1.5	3.41	64	1.53	4.65	4.46	4.65	80	1.53	4.65	4.46	4.65	3.53	4.05	
62	99	4.35	5.66	4.33	2.03	5.5	80	1.53	4.98	4.36	4.98	77.33	1.53	4.98	4.36	4.98	1.38	5.58	
63	99	3.96	4.33	4.4	1.36	3.51	73.33	1.36	6.28	6.13	6.28	74.66	1.53	6.28	6.13	6.28	1.21	5.96	
64	97.66	4.06	5	5.6	1.58	4.58	77.33	1.15	6.55	5.11	6.55	76	1.15	6.55	5.11	6.55	1.35	3.75	
65	98.66	3.33	4	5.9	1.55	5.31	73.33	1.73	6.91	6.16	6.91	76	1.73	6.91	6.16	6.91	1.4	4.16	
66	99	4	4.33	4.66	1.55	4	74.66	1.23	4.33	2.93	4.33	60	1.23	4.33	2.93	4.33	1.38	5.75	
67	98.66	3.96	8	3.83	2.78	5.08	68	1.43	5	2.73	5	68	1.43	5	2.73	5	1.18	7.03	
68	98.66	4.75	14	13.83	1.33	3.66	49.33	1.36	4.16	3.45	4.16	74.66	1.36	4.16	3.45	4.16	1.38	6.21	
69	95	3.96	4.33	3.9	1.2	4.36	69.33	1.06	5	3.6	5	80	1.06	5	3.6	5	1.33	6.46	
70	98	4.75	9.83	10.16	1.36	3.86	76	1.06	3.5	3.26	3.5	70.66	1.06	3.5	3.26	3.5	1.61	8.08	
71	98	3.96	6.83	11.5	1.36	4.01	69.33	1.43	3.01	2.58	3.01	65.33	1.43	3.01	2.58	3.01	1.5	6.96	
72	98.66	3.81	11.33	8.66	1.41	5.5	66.66	1.3	4	4.2	4	77.33	1.3	4	4.2	4	1.28	5.25	
73	99	6.93	11	10.83	1.46	6.1	76	1.31	3.16	3.83	3.16	76	1.31	3.16	3.83	3.16	1.78	5.31	
74	99	3.81	12.33	10.33	1.61	5.55	60	1.3	4.46	3.91	4.46	80	1.3	4.46	3.91	4.46	1.6	7.91	
LSD	2.521	0.802	6.766	0.163	0.561	1.525	0.642	0.163	0.642	0.561	0.642	0.163	0.163	0.642	0.561	0.642	0.561	0.807	2.336

جوانه‌زنی در شرایط نرمال

برای طول ریشه‌چه پنج مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۳، ۵ (دو مورد)، ۶ و ۷ ردیابی شد که به ترتیب میزان LOD آن‌ها برابر با ۳/۱۸۸، ۳/۹۰۵، ۴/۹۵۱، ۳/۲۰۲ و ۳/۶۴۷ بود (جدول ۲). در این میان qRANO-5b توانست ۱۳/۲۵ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه کند. برای طول ساقه‌چه چهار مکان ژنی شناسایی شد که روی کروموزوم‌های ۱، ۵ (دو مورد) و ۷ قرار داشتند. qPLNO-1 و qPLNO-5b توانستند به ترتیب ۱۱/۶۵ و ۱۲/۲۵ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه کنند. آللهایی که از والد کاهش‌دهنده صفات به ارث رسیده‌اند، منفی و آللهایی که از والد افزایش‌دهنده صفات به ارث رسیده‌اند، مثبت هستند.

نقشه پیوستگی بر اساس ۴۰ نشانگر SSR، ۱۶ نشانگر ISSR (با ۷۶ آلل تکثیرشده چند شکل)، دو نشانگر IRAP (با ۳ آلل تکثیرشده چند شکل) و یک نشانگر iPBS (با ۳ آلل تکثیرشده چند شکل) روی ۷۴ 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 Botstein, 1989)، این نقشه می‌تواند برای مکان‌یابی QTLها مورد استفاده قرار گیرد. این نشانگرها تراکم متفاوتی برای کروموزوم‌های مختلف داشتند، به طوری که کروموزوم ۸ کمترین تعداد نشانگر را داشت.

جدول ۲. QTLهای شناسایی شده برای مؤلفه‌های جوانه‌زنی در جمعیت لاین‌های نوترکیب برنج ایرانی تحت شرایط نرمال

Table 2. Identified QTLs for germination components in the population of Iranian rice recombinant lines under normal conditions

صفت Trait	QTL	نشانگرهای مجاور* Flanking markers*	کروموزوم		موقعیت Position	اثر افزایشی Additive effect	ضریب تیبیین R ²	جهت آلل Direction of ph
			Chr.	LOD				
طول طول	qRANO -3	<u>ISSR11-2-RM504</u>	3	3.188	92	2.166	9	ATM
	qRANO -5a	<u>RM39-RM194</u>	5	3.905	52	-2.758	10.8	NAD
ریشه‌چه Radicle length	qRANO -5b	<u>ISSR4-3-ISSR9-4</u>	5	4.951	94	-2.198	13.25	NAD
	qRANO -6	<u>ISSR9-1-ISSR6-3</u>	6	3.202	122	-6.832	9.05	NAD
ساقه‌چه Plumule length	qRANO -7	<u>ISSR8-6-RM248</u>	7	3.647	82	-2.592	10.2	NAD
	qPLNO-1	<u>RM10748-RM10773</u>	1	4.256	102	-1.633	11.65	NAD
ساقه‌چه Plumule length	qPLNO -5a	<u>RM39-RM194</u>	5	3.443	52	-1.927	9.65	NAD
	qPLNO -5b	<u>ISSR10-2-ISSR4-3</u>	5	4.522	92	-1.625	12.25	NAD
طول	qPLNO -7	<u>ISSR4-6-RM500</u>	7	3.318	46	-1.408	9.35	NAD

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

*Markers lined up are closer to the resective QTL

صفت را توجیه کردند. برای طول ساقه‌چه چهار مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۴ و ۶ ردیابی شد که بین ۸ تا ۱۱ درصد از تنوع فنوتیپی صفت را توجیه کردند. این مکان‌های ژنی به ترتیب دارای LOD 015/3، ۳/۲۲۴، ۴/۰۳ و ۳/۳۹۴ بودند. مردانی و همکاران (Mardani et al., 2013) دو مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۱ و ۴ در شرایط تنش خشکی و یک QTL روی کروموزوم ۴ در شرایط بدون تنش در برنج ردیابی کردند که این QTL به‌تنهایی ۱۵/۳۳ درصد از تنوع فنوتیپی طول کلئوپتیل را توجیه کرد (جدول ۳).

جوانه‌زنی در شرایط تنش مانیتول

دو مکان ژنی در شرایط وجود مانیتول برای طول کلئوپتیل روی کروموزوم ۶ ردیابی شد که به ترتیب در نزدیکی نشانگرهای RM111 و ISSR9-1 قرار داشتند. qCLMA-6a و qCLMA-6b توجیهی بیش از ۹ درصد تغییرات فنوتیپی صفت مربوطه داشتند. برای طول ریشه‌چه هفت QTL ردیابی شد که روی کروموزوم‌های ۳، ۴، ۶ و ۷ قرار داشتند. این مکان‌های ژنی از ۹ تا ۱۶ درصد از تنوع فنوتیپی

جدول ۳. QTL‌های شناسایی شده برای مؤلفه‌های جوانه‌زنی در جمعیت لاین‌های نوترکیب برنج ایرانی تحت شرایط تنش حاصل از مانیتول.
Table 3. Identified QTLs for germination components in the population of Iranian rice recombinant lines under mannitol stress conditions

صفت	QTL	نشانه‌گرهای مجاور*	کروموزوم	موقعیت	اثر افزایشی	ضریب	جهت آلل
trait		Flanking markers*	Chr.	LOD	Additive effect	R ²	Direction of ph
طول کلئوپتیل	qCLMA-6a	<u>IRAP17-1-RM111</u>	6	3.377	52	0.189	ATM
Coleoptile length	qCLMA-6b	<u>ISSR9-1-ISSR6-2</u>	6	3.449	90	0.373	ATM
	qRAMA -3	<u>ISSR11-2-RM504</u>	3	3.84	92	-1.017	NAD
	qRAMA -4a	<u>ISSR8-3-RM252</u>	4	3.363	44	-1.054	NAD
طول	qRAMA -4b	<u>IRAP18-3-ISSR4-1</u>	4	3.211	108	-1.504	NAD
ریشه‌چه	qRAMA -6a	<u>ISSR2-3-ISSR4-5</u>	6	5.387	32	1.784	ATM
Radicle length	qRAMA -6b	<u>IRAP17-1-RM111</u>	6	6.22	52	1.079	ATM
	qRAMA -6c	<u>ISSR9-1-ISSR6-2</u>	6	5.916	116	4.288	ATM
	qRAMA -7	<u>ISSR12-1-ISSR2-2</u>	7	4.343	22	2.077	ATM
طول	qPLMA-4	<u>IRAP18-2-ISSR1-4</u>	4	3.015	106	-0.639	NAD
	qPLMA -6a	<u>ISSR2-3-ISSR4-5</u>	6	3.224	32	0.681	ATM
ساقه‌چه	qPLMA -6b	<u>IRAP17-1-RM111</u>	6	4.03	52	0.429	ATM
Plumule length	qPLMA -6c	<u>ISSR9-1-ISSR6-2</u>	6	3.394	124	1.036	ATM

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

*Markers lined up are closer to the resective QTL

برابر با ۵/۱۰۷ و ۶/۰۵۸ هستند که دارای ضریب تبیین بالایی هستند. صبوری (2010, Sabouri) در بررسی صفات کمی مرتبط با جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری، شش مکان ژنی را ردیابی کردند که از این بین qGR-10 برای سرعت جوانه‌زنی، توانست بیش از ۶۰ درصد از تنوع فنوتیپی صفت را توجیه کند که بالاترین درصد توجیه تغییرات را داشت. ربیعی و همکاران (2014, Rabiei et al.) پژوهشی به‌منظور شناسایی مکان‌های ژنی ناشی از تنش شوری روی کروموزوم ۱ برنج انجام دادند که توانستند در برای طول ریشه‌چه یک مکان ژنی ردیابی کنند.

جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری

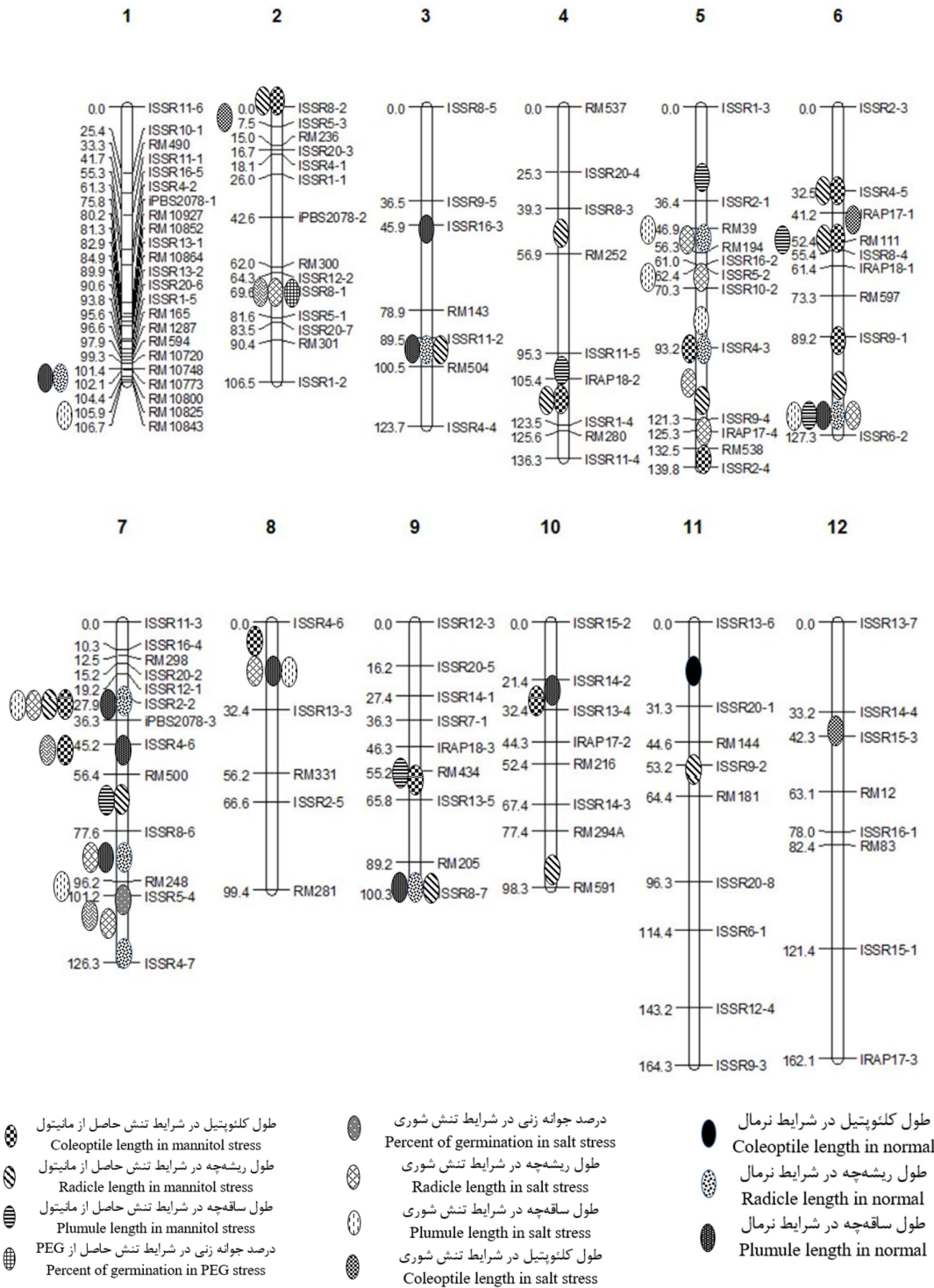
دو مکان ژنی برای طول ریشه‌چه روی کروموزوم‌های ۵ و ۸ ردیابی شد در این بین qRASA-8 توانست ۱۴/۹ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه کند. برای طول ساقه‌چه نیز شش مکان ژنی ردیابی شد که روی کروموزوم‌های ۵ (سه مورد)، ۷ (دو مورد) و ۸ قرار داشتند و به ترتیب ۸/۷۵، ۹/۱۵، ۱۱/۲۵، ۹/۱۸، ۱۳/۶ و ۱۵/۷ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه کردند (جدول ۴). همان‌طور که در جداول ۴ و ۵ قابل مشاهده است qSL-7b و qSL-8 به ترتیب دارای LOD

جدول ۴. QTL‌های شناسایی شده برای مؤلفه‌های جوانه‌زنی در جمعیت لاین‌های نوترکیب برنج ایرانی تحت شرایط تنش شوری
Table 4. Identified QTLs for germination components in the population of Iranian rice recombinant lines under salt stress conditions

صفت	QTL	نشانه‌گرهای مجاور*	کروموزوم	موقعیت	اثر افزایشی	ضریب	جهت آلل
trait		Flanking markers*	Chr.	LOD	Additive effect	R ²	Direction of ph
طول ریشه‌چه	qRASA -5c	<u>ISSR4-3-ISSR9-4</u>	5	3.021	104	1.354	ATM
Radicle length	qRASA -8	<u>ISSR4-6-ISSR13-3</u>	8	5.69	16	2.488	ATM
	qPLSA -5a	<u>RM39-RM194</u>	5	3.098	52	0.811	ATM
	qPLSA -5b	<u>ISSR5-2-ISSR10-2</u>	5	3.245	64	0.962	ATM
طول ساقه‌چه	qPLSA -5c	<u>ISSR10-2-ISSR4-3</u>	5	4.090	88	0.861	ATM
Plumule length	qPLSA -7a	<u>ISSR2-2-iPBS2078-3</u>	7	3.509	28	1.834	ATM
	qPLSA -7b	<u>RM248-ISSR5-4</u>	7	5.107	100	0.932	ATM
	qPLSA -8	<u>ISSR4-6-ISSR13-3</u>	8	6.058	22	1.134	ATM

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

*Markers lined up are closer to the resective QTL



شکل ۱. نقشه پیوستگی و موقعیت QTL‌های شناسایی شده برای صفات مورد بررسی در جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی ندا × اهلمی‌تارم.

Figure 1. Connected map and position of QTLs detected for the studied traits in the population of recombinant inbred lines of the Neda × Ahlemitarom cross.

جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی

برای درصد جوانه‌زنی یک مکان ژنی روی کروموزوم ۲ و در موقعیت ۷۸ سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم ردیابی شد که ۱۰/۳ درصد از تنوع فنوتیپی صفت را توجیه کرد (جدول ۵).

در مطالعه ربیعی و همکاران (Rabiei et al., 2014) در تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول یک مکان ژنی برای درصد جوانه‌زنی روی کروموزوم ۱ ردیابی شد که LOD آن برابر با ۳/۸۶ بود. همچنین برای طول ساقه‌چه روی کروموزوم ۱ یک مکان ژنی با LOD برابر با ۳/۵۶ ردیابی شد.

جدول ۵. QTL‌های شناسایی شده برای مؤلفه‌های جوانه‌زنی در جمعیت لاین‌های نوترکیب برنج ایرانی تحت شرایط تنش PEG.

Table 5. Identified QTLs for germination components in the population of Iranian rice recombinant lines under PEG stress conditions

صفت	موقعیت	کروموزوم	نشانه‌گرهای مجاور*	ضریب تبیین	اثر افزایشی	جهت آلل
trait	QTL	Chr.	Flanking markers*	R ²	Additive effect	Direction of ph
درصد جوانه‌زنی Percent of germination	qPGPEG-2	2	ISSR8-1-ISSR5-1	10.3	2.168	ATM

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

*Markers lined up are closer to the reselective QTL

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌توان وجود اثر پلیوتروپی یا پیوستگی بین ژن‌ها کنترل‌کننده صفات موردبررسی را نشان داد. در شرایط نرمال پنج مکان ژنی برای طول ریشه‌چه و چهار مکان ژنی برای طول ساقه‌چه ردیابی شد. برای طول ریشه‌چه نه مکان ژنی و برای طول ساقه‌چه ۱۱ مکان ژنی ردیابی شد. در شرایط تنش حاصل از مانیتول ۱۳ مکان ژنی ردیابی شد که دو QTL برای طول کلئوپتیل، هفت QTL برای طول ریشه‌چه و چهار QTL برای طول ساقه‌چه بود. در شرایط تنش شوری دو مکان ژنی برای طول ریشه‌چه و شش مکان ژنی برای طول ساقه‌چه ردیابی شد. در

شرایط تنش حاصل از پلی‌اتیلن‌گلایکول یک مکان ژنی برای درصد جوانه‌زنی روی کروموزوم ۲ ردیابی شد. qCLMA-6a، qRAMA-6b و qPLMA-6b روی کروموزوم ۶ و در موقعیت ۵۲ سانتی‌مورگان قرار داشتند. در شرایط نرمال qRANO-5a برای طول ریشه‌چه و qPLNO-5a برای طول ساقه‌چه و در شرایط تنش شوری برای طول ساقه‌چه در موقعیت ۵۲ سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم ۵ قرار داشتند و دارای جایگاه‌های مشترکی در بین نشانه‌گرهای RM49 و RM39 بودند. هم‌مکانی این QTL‌ها در شرایط مختلف تنش اسمزی بیانگر کنترل ژنتیکی یکسان و اثر پلیوتروپیک برای این صفات در مرحله جوانه‌زنی است.

منابع

- Bao, Y., Huang, L., Li, Y., Wang, M., Liang, Z., 2019. How different Nitrogen application rates affect yield composition and Nitrogen uptake of rice (*Oryza sativa* L.) in saline-sodic paddy field. *Polish Journal of Environmental Studies*. 28, 553-564.
- Bimpong, I.K., Serraj, R., Chin, J.H., Ramos, J., Mendoza, E.M.T., Hernandez, J.E., Mendioro, M.S., Brar, D.S., 2011. Identification of QTLs for drought-related traits in alien introgression lines derived from crosses of rice (*Oryza sativa* cv. IR64) × *O. glaberrima* under lowland moisture stress. *Journal of Plant Biology*. 54, 237-250.
- 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.
- Hejazi, A., Kaffashi Sedghi, M., 2000. *Fundamentals of Physiology*. Tehran University Press. [In Persian].
- Hu, S.P., Yang, H., Zou, G.H., Liu, H.Y., Liu, G.L., Mei, H.W., Run, C., Li, M.S., LUO, L.J., 2007. Relationship between coleoptile length

- and drought resistance and their QTL mapping in rice. *Rice Science*. 14, 13-20.
- Kosambi, D.D., 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Annals of Eugene*. 12, 172-175.
- Lander, E.S., Botstein, R., 1989. Mapping mendelian factors underlying quantitative trait using RFLP linkage maps. *Genetics*. 121, 185-199.
- McCouch, S.R., 2008. Gene Nomenclature System for Rice. *Rice* 1, 72-84.
- Manly, K.F., Olson, J.M., 1999. Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QT. *Mammalian Genome*. 10, 327-334.
- Mardani, Z., Rabiei, B., Sabouri, H., Sobouri, A., 2013. Mapping of QTLs of Germination Characteristics under Nonstress and Drought Stress in Rice. *Rice Sciences*. 20, 391-399. [In Persian with English summary].
- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Plant Biology*. 59, 651-81. Homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiology*. 109, 735-742.
- 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 Improvement Journal*. 30, 1-16. [In Persian with English summary].
- Ranai, M.A., De Santana, D.G., 2006. How and why it measure the germination process. *Revista Brasileira de Botanica*. 29, 1-11.
- Ranawake, A.L., Ishii, T., Mori, N., Yoshida, S., Nakamura, C., 2008. Mapping quantitative trait loci for seedling vigor in rice using RFLPs. *Theoretical and Applied Genetics*. 92, 395-402.
- Sabouri, H., 2010. Mapping of QTLs of germination characteristics in rice using of microsatellite markers under saline condition. *Journal of Biology*. 23, 333-342
- Sabouri, H., Biabani, A., Gharavi, A. Gh., Dadras, A.R., Katouzi, M., 2008. Mapping of germination traits in rice using of microsatellite markers under osmotic stress caused by sorbitol. *First Iranian Science and seed Technology Symposium*. Gorgan University of Agriculture Science and Natural Resource. Gorgan. Iran. 12-13 Nov. [In Persian].
- Sabouri, H., Biabani, A., Sabouri, A., Mohammad Esmaili, M., 2010. The study of QTLs related to seed vigour under stress caused to Sorbitol in rice. *Journal of Plant Production*. 17, 123-136.
- Sabouri, H., Mohammad Alegh, S., Biabani, A., Dadras, A., Sabouri, A., Katouzi, M., Najjar Ajam, M., Pirasteh, M., Khatami Nejad, R., 2014. Identification of quantitative trait loci related to germination parameters in rice (*Oryza sativa* L.) recombinant inbred lines under different osmotic stresses. *Crop Biotechnology*. 8, 31-45.
- 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.



Original article

Identification of gene locations affecting germination components in the Iranian recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.) under different drought and salinity stresses

S. Sanchouli¹, M. Ghorbanzade Neghab², H. Sabouri³, M, Zare Mehrjerdi³

1. MSc. Student of Biotechnology, Higher Education Complex of Shirvan, Shirvan, Iran

2. Associate Professor of Plant Production, Higher Education Complex of Shirvan, Shirvan, Iran

3. Associate Professor of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran

4. Assistant Professor of Plant Production, Higher Education Complex of Shirvan, Shirvan, Iran

Received 11 May 2019; Accepted 10 July 2019

Abstract

In order to locate the QTLs associated with germination stresses and determine the contribution of each QTL in phenotypic variation, traits of 74 individuals RIL F8 of crosses of Ahlemi Tarom × Neda. The study was conducted at the University of Gonbad Kavous in 2017. The linkage map was based on 40 SSR markers, 16 ISSR markers (with 76 polymorph alleles), two IRAP markers (7 polymorph alleles) and an iPBS marker (with 3 polymorph alleles) assigned the markers to 12 groups of 12 rice chromosomes with a map length of 1491 cM and a distance between flanked markers of 13.07 cM. The components of germination including germination percentage, coleoptile length, radicle length and plumule length were recorded. Under normal conditions, nine genetic locations were detected. For the length of the roots of five genetic locations on chromosomes 3, 5, 6 and 7, and for the length of the stem, four gene locations were located on chromosomes 1, 5 and 7. Two genetic locations were detected in mannitol for Cleoptil length on chromosome 6. For the root length of the seven QTLs, they were located on chromosomes 3, 4, 6 and 7. For stem length, four gene locations were detected on chromosomes 4 and 6, which justified 8 to 11 percent of the phenotypic variation of the trait. Two genetic locations for root length were detected on chromosomes 5 and 8, while qRASA-8 was able to justify 14.9% of the phenotypic changes of the trait. There were also six genetic locations for stem length, which were located on chromosomes 5, 7 and 8, respectively: 8.75, 9.5, 11.25, 9.8, 13.6 and 15.7% respectively phenotypic changes justify the attribute. In the drought stress condition of polyethylene glycol, a gene site was detected for germination percentage on chromosome 2 and at 78 centimeters from the beginning of the chromosome, which justifies 10.3% of the phenotypic variation of the trait.

Keywords: Contiguity Map, Mannitol, PEG, QTL, Salinity