

## مکان‌یابی QTL‌های مرتبط به صفات مورفوفیزیولوژیک در گیاهچه‌های برنج تحت تنش خشکی

- پروین امانی‌داز<sup>1</sup>، حسین حسینی‌مقدم<sup>2</sup>، حسین صبوری<sup>3\*</sup>، ابراهیم غلامعلی‌پور علمداری<sup>4</sup>، معصومه حسینی<sup>5</sup>، سمیه سنجولی<sup>6</sup>
1. دانشجوی سابق بیوتکنولوژی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس، ایران.
  2. استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس، ایران.
  3. دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس، ایران.
  4. استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس، ایران.
  5. دانشجوی سابق بیوسystematics گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی گرگان، گرگان، ایران.
  6. دانشجوی دکتری زراعت- فیزیولوژی گیاهی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبدکاووس، ایران.  
(تاریخ دریافت: 1398/10/4 - تاریخ پذیرش: 1397/12/7)

### Mapping of QTLs related to morphophysiological traits in rice seedling (*Oryza sativa* L.) under drought condition

Parvin Amani Daz<sup>1</sup>, Hossein Hosseini Moghaddam<sup>2</sup>, Hossein Sabouri<sup>3\*</sup>, Ebrahim gholamalipour Alamdari<sup>4</sup>, Sayedeh Masoomeh Hosseini<sup>5</sup>, Somayeh Sanchouli<sup>6</sup>

1. Former M.Sc. Student in biotechnology, Department of Plant Production, College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kaous University, Gonbad Kaous, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Plant Production, College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kaous, Iran.
3. Associate Professor, Department of Plant Production, College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kaous, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Plant Production, College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kaous, Iran.
5. Former M.Sc. Student in Plant Biosystematics, Gorgan Azad University, Gorgan, Iran.
6. Ph.D. Candidate, Agronomy-Plant Physiology, Department of Plant Production, College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kaous University, Gonbad Kaous, Iran.  
(Received: Dec. 24, 2019 - Accepted: Feb. 25, 2020)

#### Abstract

Identification of the linked markers to drought tolerance genes are needed for the breeding of rice varieties. In order to mapping of QTLs controlling related to drought tolerance, 96 rice Inbred lines caused Ahlamitarom × Neda cross planted as complementary randomized design with 3 replications under drought stress in Gonbad Kavous University lab in 2014. Given the genetic variation among the studied lines, it was possible to the detection of QTLs in this study. In calculating the correlation of traits evaluated under drought stress, the highest correlation was for root diameter with root area density (0.96 \*\*). The results of cluster analysis based on total traits under drought stress, lines assigned to four groups: tolerant, semi-tolerant, semi-sensitive and sensitive. Linkage map provided using F<sub>8</sub> population, 30 SSR markers, and 20 ISSR markers and covered 1413.2 cM with an average distance between two markers 12.18. QTL analysis indicated that containing totally 13 distances were found, in this way, 2 QTL stem length, 1 QTL root number, 3 QTL leaf width, 1 QTL stem weight, 3 QTL leaf surface, 1 QTL stomata density before stress, 1 QTL stomata density after stress, 1 QTL ratio of total stomata surfaces total area after stress were controlled. Of the detected QTLs, qLL-2 and qSA-12, explained a high percentage of phenotypic variation for leaf area and stomata density after stress. The major QTLs detected in this study, can be used in marker-assisted selection breeding programs after validation

**Keywords:** Drought stress, Mapping of quantitative traits, Marker, Rice.

#### چکیده

شناسایی نشانگرهای پیوسته به ژن‌های کنترل کننده تحمل به خشکی از نیازهای اصلاح ارقام برنج با عملکرد زیاد در نواحی خشک می‌باشد. به منظور مکان‌یابی QTL‌های کنترل کننده تحمل به تنش خشکی در برنج، 96 لاین نوترکیب F<sub>8</sub> برنج حاصل از تلاقی اهلمی‌طارم و ندا در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، تحت شرایط تنش خشکی در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در سال 1393 کشت شدند. نظر به وجود تنوع ژنتیکی بین لاین‌های مورد مطالعه، امکان ردیابی QTL‌ها در این بررسی فراهم شد. در محاسبه همبستگی صفات ارزیابی شده در شرایط تنش خشکی، بیشترین همبستگی مربوط به صفات قطر ریشه با چگالی سطح ریشه (0.96\*\*) بود. نتایج تجزیه خوشه‌ای براساس کل صفات در شرایط تنش خشکی، لاین‌های مورد بررسی را در چهار گروه مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس به خشکی قرار داد. نقشه پیوستگی با استفاده از 30 نشانگر SSR و 20 نشانگر ISSR به دست آمد. طول نقشه پیوستگی 1413/2 سانتی‌مورگان با متوسط فاصله 12/18 سانتی‌مورگان بین دو نشانگر مجاور بود. در مجموع 13 فاصله واجد QTL برای صفات ارزیابی شده شناسایی شد که از این تعداد دو QTL طول ساقه، یک QTL تعداد ریشه، سه QTL عرض برگ، یک QTL وزن ساقه، سه QTL سطح برگ، یک QTL تراکم روزنه قبل تنش، یک QTL تراکم روزنه بعد تنش و یک QTL مجموع سطح روزنه‌ها به سطح کل بعد تنش را کنترل نمود. از بین QTL‌های ردیابی شده، qLL-2 و qSA-12 به ترتیب برای سطح برگ و تراکم روزنه بعد از تنش توانستند درصد بالایی از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمایند. از نتایج این پژوهش بعد از تعیین اعتبار می‌توان در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود.

**واژه‌های کلیدی:** برنج، تنش خشکی، مکان‌یابی صفات کمی، نشانگر.

## مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی جهان می‌باشد و غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت جهان است و از لحاظ کشاورزی و تغذیه اهمیت بسیار زیادی دارد. در ایران بعد از گندم، برنج دومین محصول کشاورزی پر مصرف است که مصرف آن بعد از دهه 50 افزایش چشم‌گیری داشته است (Badirdast *et al.*, 2019). به‌طور عمده مناطق رشد برنج در آسیا (130 میلیون هکتار) اغلب با تنش‌های شدید زنده و غیرزنده که رایج‌ترین آن‌ها خشکی است، مورد تهدید قرار می‌گیرند (Gorantla *et al.*, 2007). بنابراین تولید ارقام متحمل به تنش در مراحل مختلف رشد فیزیولوژیکی از چالش‌های اصلی برنامه‌های اصلاحی در دنیا می‌باشد (Khalili and Mohammadi, 2016). گزینش مستقیم برای عملکرد در شرایط تنش خشکی با توجه به وراثت‌پذیری کم، کنترل پلی‌ژنی، اپیستازی، اثر متقابل ژنوتیپ × محیط و QTL × محیط و نیز پیچیده بودن ساز و کارهای تحمل خشکی کارایی چندانی ندارد. بنابراین برای بهبود تحمل به خشکی، شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل و استفاده از نشانگرهای پیوسته با این ژن‌ها می‌تواند علاوه بر تسریع برنامه‌های اصلاحی، کارایی آنها را نیز در جهت تولید ارقام متحمل پر محصول افزایش دهد (Cattivelli *et al.*, 2008).

بسیاری از مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به خشکی مکان‌یابی شده‌اند و ارتباط بین این مکان‌های ژنی و تحمل به خشکی از طریق عملکرد نسبی لاین‌ها در شرایط خشک ارزیابی شده است (Mohammadi *et al.*, 2009).

Katouzi و همکاران (2017) جمعیت نوترکیب حاصل از تلاقی سپیدرود و عنبربو با استفاده از 96 لاین نوترکیب و 40 نشانگر ISSR را مورد بررسی قرار دادند و چهار مکان ژنی برای صفات گیاهچه‌ای

در شرایط تنش خشکی ردیابی کردند که تا 12 درصد از تغییرات فنوتیپی صفات را توجیه کرد. Baisakh و همکاران (2020) هشت مکان ژنی مربوط به صفات عملکردی را در جمعیت حاصل از تلاقی Cocodrie و N22 ردیابی کردند. این QTL‌ها توانستند از 7 تا 37 درصد از تنوع فنوتیپی صفات را در شرایط تنش خشکی توجیه کنند.

Michael Gomez و همکاران (2006) صفات فیزیومورفولوژی و مرتبط با تولید محصول در برنج را تحت شرایط خشکی مورد تجزیه QTL قرار دادند تعداد 24 QTL در شرایط تنش خشکی در این مطالعه ردیابی شدند که از 4/6 تا 33/3 درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمودند. MacMillan و همکاران (2006) نقشه پیوستگی را با استفاده از 102 نشانگر RFLP، 32 نشانگر AFLP و 17 نشانگر SSR با طول 1916 سانتی‌مورگان تهیه نمودند. آن‌ها توانستند در مجموع 145 QTL روی 37 ناحیه از کروموزوم‌های برنج شناسایی کنند که از این تعداد فقط پنج QTL با محیط اثر متقابل نشان دادند. Nguyen و Buu (2010) به کمک 220 لاین BC2F2 از تلاقی ارقام OM1490 و WAB880-1-38-18-20-P1-HB پنج QTL برای تحمل به خشکی در گلدهی، دو QTL برای طول ریشه و دو QTL برای وزن خشک ریشه مکان‌یابی نمودند. Sabouri و همکاران (2012) برای شناسایی QTL‌های برخی صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج از 192 لاین حاصل از تلاقی ارقام شاه‌پسند و IR28 استفاده نمودند و نقشه پیوستگی جمعیت را با استفاده از 33 نشانگر ریزماهواره با طول 366 سانتی‌مورگان تهیه کردند. آن‌ها توانستند 24 QTL شناسایی کنند. Bhattarai و Subudhi (2018) 14 مکان ژنی در مرحله رویشی برای طول ریشه و ساقه و وزن تر و خشک ریشه و ساقه شناسایی نمودند. نظر به اینکه تنش کم‌آبی از مهمترین تنش‌های امروز از اهداف این

مدت 30 روزه شرایط نرمال، از هر تکرار سه نمونه برگ برای اندازه‌گیری طول و عرض روزه در شرایط نرمال گرفته شد و تنش خشکی به مدت 14 روز به صورت عدم آبیاری اعمال شد. در طول دوره آزمایش با فاصله 3، 6، 9 و 13 روز پس از اعمال تنش اقدام به نمونه‌گیری از خاک شد و رطوبت خاک به ترتیب 25، 18، 8 و 5 درصد رطوبت وزنی متناسب با 0/12-، 0/26-، 0/73- و 0/1- مگاپاسکال تخمین زده شد.

پس از پایان تنش دوباره از هر تکرار سه نمونه برگ برای اندازه‌گیری طول و عرض روزه تحت تنش خشکی گرفته شد. سپس صفات طول ساقه، طول ریشه، طول و عرض برگ، تعداد ریشه، حجم ریشه، وزن تر و خشک ساقه و ریشه اندازه‌گیری شد. صفات سطح ریشه (Alizadeh et al., 2006)، سطح برگ (Yoshida et al., 1976)، قطر ریشه و چگالی سطح ریشه (Hajabbasi, 2001) با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند:

$$\pi \times \text{قطر ریشه} \times \text{طول ریشه} = \text{چگالی سطح ریشه} \times \text{سطح ریشه}^{0/5}$$

ریشه

$$\text{طول برگ} \times \text{عرض برگ} \times 0/75 = \text{سطح برگ}^{0/5}$$

برای اندازه‌گیری طول و عرض روزه و تعداد آن در قبل و بعد از تنش، از میکروسکوپ با بزرگنمایی 40 استفاده شد. اندازه‌گیری طول، عرض و تعداد روزه بوسیله نرم‌افزار Image Tools انجام گرفت. صفات تراکم، مساحت روزه و مجموع سطح روزه‌ها به سطح کل نیز با استفاده از فرمول‌های 1 الی 4 بدست آمد (Wang and Clark, 1993).

$$\text{رابطه 1) عرض عکس} \times \text{طول عکس} = \text{مساحت عکس}$$

$$\text{رابطه 2) عرض روزه} \times \text{طول روزه} = \text{مساحت روزه}$$

$$\text{رابطه 3) مساحت عکس} / \text{تعداد روزه} = \text{تراکم}$$

$$\text{رابطه 4) مجموع سطح روزه‌ها} = \text{سطح کل}$$

پژوهش شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده (QTL) خصوصیات مرتبط با تحمل به تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای، تعیین سهم و نحوه اثر QTL‌های شناسایی شده در تغییرات فنوتیپی صفات مورد بررسی و تعیین وراثت‌پذیری صفات و سهم اثر افزایشی آل‌های والدینی برای QTL‌های مکان‌یابی شده در جمعیت برنج با استفاده از نشانگرهای SSR و ISSR بود.

### مواد و روش‌ها

مواد گیاهی شامل 96 لاین نوترکیب F8 حاصل از تلاقی ارقام اهلمی طارم × ندا بود که به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. والدین براساس بررسی‌ها و نتایج Sabouri و همکاران (2009) و Sabouri و همکاران (2010) انتخاب شدند و در دانشگاه گنبد کاووس تلاقی داده شدند و سپس جمعیت‌های در حال تفرق در طی سال‌های 1386 تا 1393 توسعه داده شدند. این آزمایش در اتاق کشت آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در سال 1393 انجام گردید. ابتدا بذور ضدعفونی شده با هیپوکلرید 2 درصد در پتری دیش جوانه‌دار شد. برای کشت از پلیتهایی که دارای 12 ردیف که هر ردیف شامل 6 خانه می‌باشد استفاده شد. سینی‌های مشبک با خاک الک شده پر گردید سپس در داخل حوضچه‌ای که از آجر و نایلون درست شده بود گذاشته شد. با وجود سوراخ‌های که در زیر هر یک از خانه‌های سینی بود خاک اشباع شد سپس بذورهای جوانه زده با پنس ضدعفونی شده منتقل شد، به طوری که از طرف ریشه‌چه داخل خاک قرار گیرند. گیاهچه‌ها در اتاقک رشد با دمای روز 29 و شب 21 و رطوبت نسبی 70 درصد و نور طبیعی و نور لامپ (16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی) به میزان 10000 لوکس به مدت یک ماه قرار داده شدند. پس از پایان

نام‌گذاری QTLها نیز بر اساس روش McCouch و همکاران (1997) صورت گرفت.

## نتایج و بحث

### توزیع فنوتیپی صفات و والدین

توزیع فراوانی ارزش‌های فنوتیپی صفات مورد مطالعه در لاین‌های مورد بررسی به صورت نمودار ستونی (هیستوگرام) نشان داده شد (شکل 1) که توزیع فنوتیپی صفات به جز وزن تر ساقه، سطح ریشه، طول و عرض روزنه قبل از تنش و مساحت روزنه بعد از تنش به صورت پیوسته بود. اهلمی طارم از نظر کلیه صفات مورد بررسی ارزش بیشتری از ندا داشت (جدول 1).

تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در تنش خشکی نشان داد که اختلاف بین لاین‌ها برای کلیه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. این نتیجه بیانگر وجود تنوع ژنتیکی برای صفات ارزیابی شده در مرحله گیاهچه‌ای در لاین‌های مورد بررسی است. واکنش متفاوت ژنوتیپ‌های مورد بررسی نسبت به تنش موجب شد که صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردد. به عبارت دیگر روند تغییرات یا تفاوت ژنوتیپ‌ها از نظر هر خصوصیت در تنش متفاوت بود. معنی‌دار بودن نشان دهنده رفتار متفاوت لاین‌ها در تنش خشکی از نظر صفات فوق است. در شرایط تنش بیشترین ضریب تغییرات مربوط به وزن تر ریشه و کمترین ضریب تغییرات متعلق به طول ریشه می‌باشد که این مطلب نشان می‌دهد در شرایط تنش، لاین‌های مورد بررسی از نظر صفت وزن تر ریشه دارای بیشترین تنوع و از نظر صفت طول ریشه دارای کمترین تنوع می‌باشند (جدول 2).

### مقایسه میانگین

میانگین صفات ارزیابی شده برای پنج درصد لاین‌های برتر در شرایط تنش خشکی نشان داد که لاین 5 از نظر صفات طول ساقه، طول برگ، تعداد

مساحت عکس/ (مساحت روزنه  $\times$  تعداد روزنه) به منظور استخراج DNA ژنومی 96 لاین جمعیت F<sub>8</sub> به همراه والدین آنها از روش CTAB<sup>1</sup> (Saghai-Marooft *et al.*, 1994) استفاده شد. در این راستا برگ‌های یک بوته از هر لاین جمعیت مورد بررسی انتخاب و استخراج انجام شد. برای تعیین غلظت و کیفیت DNA استخراج شده از ژل آگارز یک درصد استفاده شد. به این صورت که از الکتروفورز افقی مدل Bioneer استفاده شد. هر کدام از نمونه‌ها در طی الکتروفورز روی ژل نوارهایی تشکیل دادند که با استفاده از آنها کیفیت DNA هر کدام از نمونه‌ها بررسی شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای 30 نشانگر چند شکل SSR (از بین 123 نشانگر بررسی شده) در حجم 10 میکرولیتر برای هر نمونه DNA انجام پذیرفت. فرآورده‌های واکنش زنجیره پلی‌مراز با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌امید 6 درصد تفکیک شدند و رنگ‌آمیزی ژل‌ها با استفاده از روش سریع نیترات نقره صورت گرفت (An *et al.*, 2009). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز PCR برای 20 نشانگر چند شکل ISSR (از بین 60 نشانگر ISSR) استفاده شد. واکنش PCR برای هر نمونه DNA انجام پذیرفت.

برای تهیه نقشه ژنتیکی از نرم‌افزار Map Manager QTX 17 (Manly and Oslon, 1999) استفاده شد. در نهایت برای مکان‌یابی QTLها از QGENE با روش حداکثر درست‌نمایی استفاده شد. برای یافتن رابطه بین داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی و انجام تجزیه QTL، از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب استفاده شد. تجزیه QTL با استفاده از نرم‌افزار QTL Cartographer (Basten *et al.*, 1997) انجام شد و نقطه‌ای که واجد بالاترین مقدار LOD بود به عنوان ناحیه با بیشترین احتمال وجود QTL شناسایی شد.

1. Cetyl trimethyl ammonium bromide

ریشه و وزن خشک ساقه جزو لاین‌های برتر بود. تنش، عرض روزنه بعد از تنش، مساحت روزنه قبل و لاین 108 از نظر طول ریشه، وزن تر ریشه، قطر ریشه، چگالی سطحی ریشه، طول روزنه قبل از بعد از تنش دارای بیشترین مقادیر بود. لاین 99 از نظر صفات سطح ریشه برتر از سایر لاین‌ها بود.

جدول 1. وراثت‌پذیری، میانگین والدین، میانگین لاین نوترکیب، حداکثر و حداقل، تفکیک متجاوز مثبت و منفی و مقدار چولگی و کشیدگی

صفات Traits	والدین Parent			اختلاف Differences	وراثت‌پذیری Heritability	چولگی Skewness	کشیدگی Kurtosis	تفکیک متجاوز مثبت و منفی Transgressive segregation	حداقل Min	حداکثر Max
	اهلمی ظار م ATM	نبا NDA	میانگین لاین‌های نوترکیب RIL mean							
Stem length (cm) طول ساقه	28.33	10.22	21.092	** <sup>‡</sup>	63.16	0.318	0.484	مثبت	11.444(25) <sup>1</sup>	30.417(5)
Root length(cm) طول ریشه	12.52	4.12	10.077	**	54.55	0.711	0.45	مثبت	4.023(25)	13.333(108)
Root number تعداد ریشه	5.26	1.99	4.471	**	72.15	0.143	0.731	مثبت	2.339(25)	6.167(5)
Leaf length (cm) طول برگ	21.98	6.87	14.983	**	71.43	0.135	1.352 <sup>*</sup>	مثبت	7.342(25)	24(5)
Leaf width (cm) عرض برگ	0.263	0.053	0.163	**	69.28	0.676	0.011	مثبت	0.052(25)	0.342(22)
Root volume (cm <sup>3</sup> ) حجم ریشه	0.061	0.012	0.049	**	72.77	0.850	0.551	مثبت	0.017(30)	0.067(57)
Stem fresh weight (g) وزن تر ساقه	0.151	0.014	0.054	**	70.14	1.603 <sup>**</sup>	3.943	منفی	0.015(28)	0.15(32)
Fresh root weight (g) وزن تر ریشه	0.032	0.003	0.013	**	72.15	0.52	0.467	مثبت	0.003(28)	0.035(108)
Dry shoot weight (g) وزن خشک ساقه	0.026	0.006	0.015	**	69.64	0.093	0.485	منفی	0.008(28)	0.024(5)
Root dry weight (g) وزن خشک ریشه	0.009	0.001	0.005	**	72.10	0.026	0.19	مثبت	0.001(30)	0.01(56)
Leaf area (Cm <sup>2</sup> ) سطح برگ	4.132	0.436	1.828	**	71.90	0.711	0.516	مثبت	0.463(25)	4.328(81)
Root area (cm <sup>2</sup> ) سطح ریشه	3.012	1.087	2.468	**	56.32	0.966 <sup>**</sup>	0.525	مثبت	1.075(30)	3.207(99)
Root diameter (mm) قطر ریشه	1.996	0.333	1.254	**	61.25	0.171	0.631	مثبت	0.357(32)	2.083(108)
Density of the root surface (gr/cm <sup>3</sup> ) چگالی سطح ریشه	82.311	6.841	41.614	**	63.16	0.173	0.626	مثبت	6.853(28)	85.66(108)
Stomach length before stress (μm) طول روزنه قبل تنش	0.051	0.020	0.041	**	8.76	2.205 <sup>**</sup>	5.913 <sup>**</sup>	مثبت	0.001(27)	0.067(108)
Stomach length after stress (μm) طول روزنه بعد تنش	0.049	0.021	0.043	**	67.25	0.74	1.022	مثبت	0.031(48)	0.062(63)
width of stomach before stress (μm) عرض روزنه قبل تنش	0.030	0.001	0.02	**	68.12	2.422 <sup>**</sup>	6.513 <sup>**</sup>	-	0.001(27)	0.03(56)
width of stomach after the stress (μm) عرض روزنه بعد تنش	0.029	0.006	0.017	**	76.91	0.793	1.732	-	0.009(11)	0.029(108)
Stomach area before stress (μm <sup>2</sup> ) مساحت روزنه قبل تنش	0.002	0.0001	0.001	**	78.62	0.663	3.576 <sup>**</sup>	-	0.001(27)	0.002(108)
Stomach area after stress (μm <sup>2</sup> ) مساحت روزنه بعد تنش	0.003	0.0002	0.001	**	69.42	1.084 <sup>**</sup>	1.612	-	0.001(60)	0.001(108)
Stomata density before stress (mm <sup>2</sup> ) تراکم قبل تنش	114.723	23.261	59.358	**	77.28	0.364	1.419	مثبت	0.001(27)	118.834(70)
Stomata density after stress (mm <sup>2</sup> ) تراکم بعد تنش	119.314	28.221	67.964	**	64.28	0.421	-0.34	مثبت	28.294(63)	124.493(90)
مجموع سطح روزنه ها به سطح کل قبل تنش Stomata area to total area before stress	0.114	0.011	0.053	**	82.64	0.733	2.261 <sup>*</sup>	-	0.001(27)	0.11(87)
مجموع سطح روزنه ها به سطح کل بعد تنش Stomata area to total area after stress	7.049	1.752	4.041	**	85.17	0.327	0.457	مثبت	1.756(68)	7.087(90)

<sup>‡</sup> معنی‌دار در سطح یک درصد.

<sup>1</sup> اعداد داخل پرانتز شماره لاین هستند.

جدول 2. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی لاین های F<sub>8</sub> برنج در شرایط تنش خشکی

Sources of variation	df	Mean of square میانگین مربعات						
		Stem length	Root length	Root number	Leaf length	Leaf width	Root volume	Stem fresh weight
منابع تغییر	درجه آزادی	طول ساقه	طول ریشه	تعداد ریشه	طول برگ	عرض برگ	حجم ریشه	وزن تر ساقه
Lines	95	35.93**	10.70**	1.31**	20.18**	0.01**	0.0003**	0.001**
لاین								
Error	192	3.04	0.42	0.13	1.26	0.0005	0.0001	0.0002
خطای آزمایشی								
C. V		8.26	6.45	8.29	7.49	14.86	8.92	30.04
ضریب تغییرات								

\*\* معنی دار در سطح احتمال یک درصد.

ادامه جدول 2. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی لاین های F<sub>8</sub> برنج در شرایط تنش خشکی

Sources of variation	df	Mean of square میانگین مربعات						
		Fresh root weight	Dry shoot weight	Root dry weight	Leaf area	Root area	Root diameter	Density of the root surface
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن آر ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	سطح برگ	سطح ریشه	قطر ریشه	چگالی سطح ریشه
Lines	95	0.0001**	0.00003**	0.001**	1.47**	0.59**	0.43**	955.75**
لاین								
Error	192	0.00002	0.0001	0.001	0.08	0.03	0.04	47.8
خطای آزمایشی								
C. V		34.88	16.86	23.57	15.90	7.35	16.00	16.50
ضریب تغییرات								

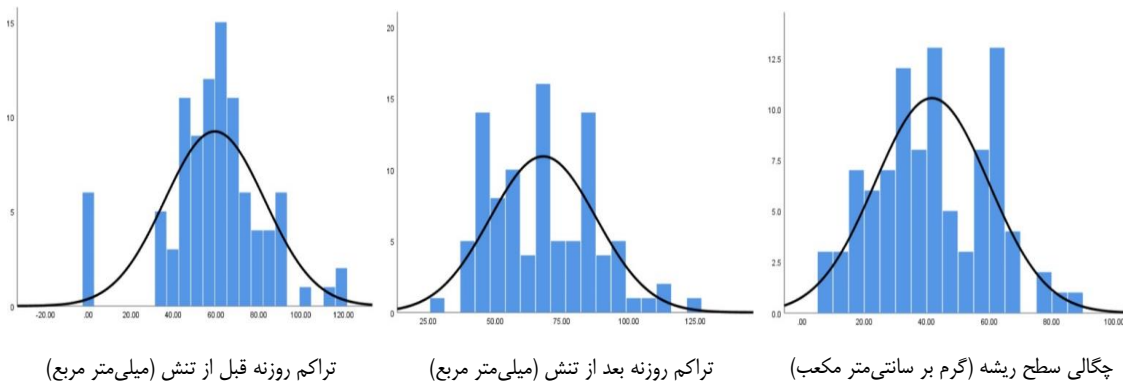
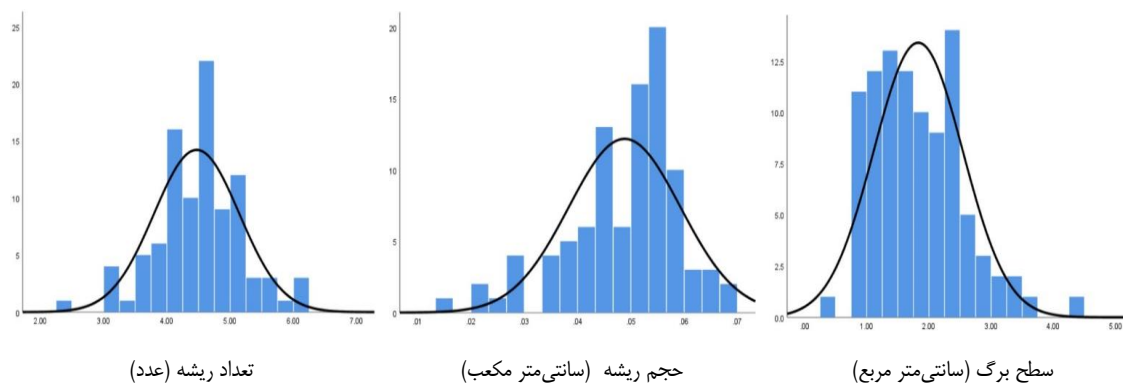
\*\* معنی دار در سطح احتمال یک درصد.

ادامه جدول 2. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی لاین های F<sub>8</sub> برنج در شرایط تنش خشکی

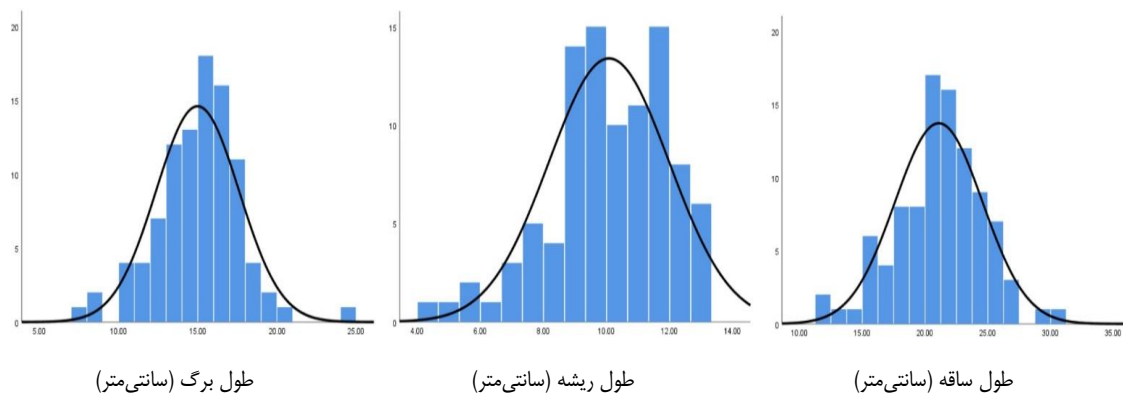
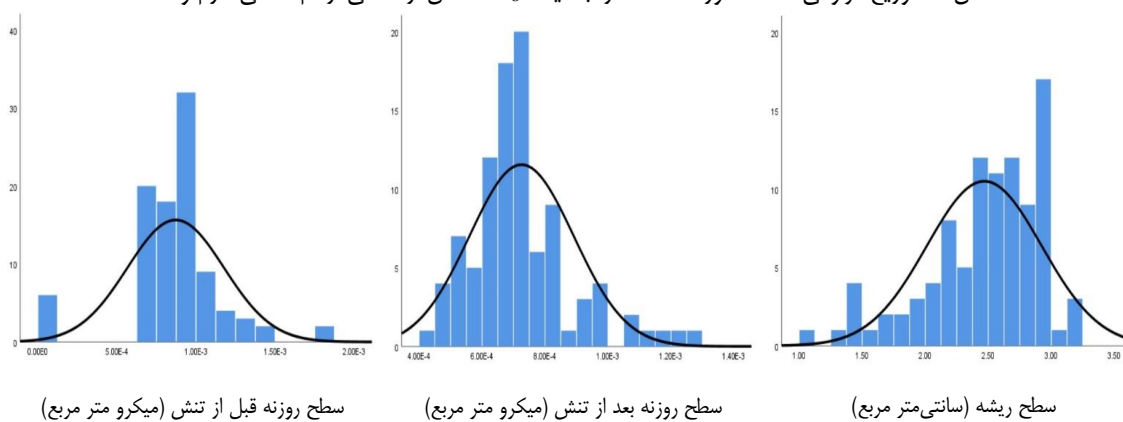
Sources of variation	df	Mean of square میانگین مربعات					
		Stomach length before stress	Stomach length after stress	width of stomach before stress	width of stomach after the stress	Stomach area before stress	Stomach area after stress
منابع تغییر	درجه آزادی	طول روزنه قبل تنش	طول روزنه بعد تنش	عرض روزنه قبل تنش	عرض روزنه قبل تنش	مساحت روزنه قبل تنش	مساحت روزنه قبل تنش
Lines	95	0.0004**	0.0001**	0.0001**	0.00003**	0.0001**	8.42**
لاین							
Error	192	0.0001	0.0001	0.0001	0.001	0.0001	7.66
خطای آزمایشی							
C. V		6.56	6.68	8.57	8.94	11.64	12.03
ضریب تغییرات							

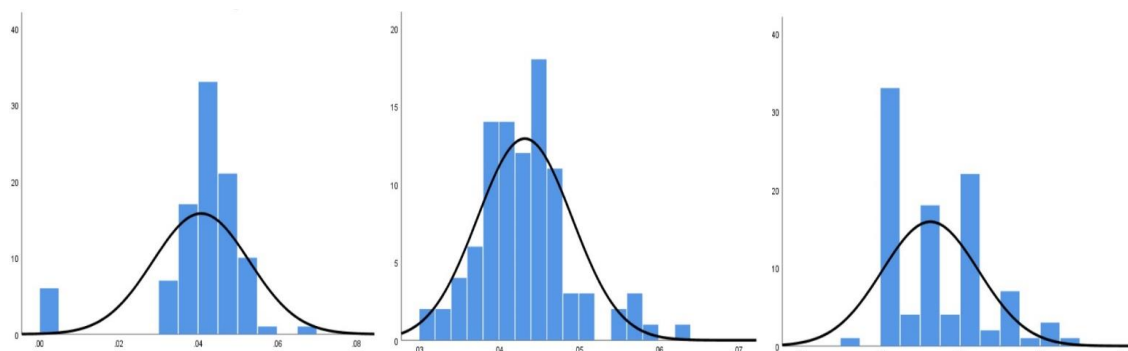
\*\* معنی دار در سطح احتمال یک درصد.





شکل 1. توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در جمعیت  $F_8$  حاصل از تلاقی ارقام اهلمی طارم و ندا.

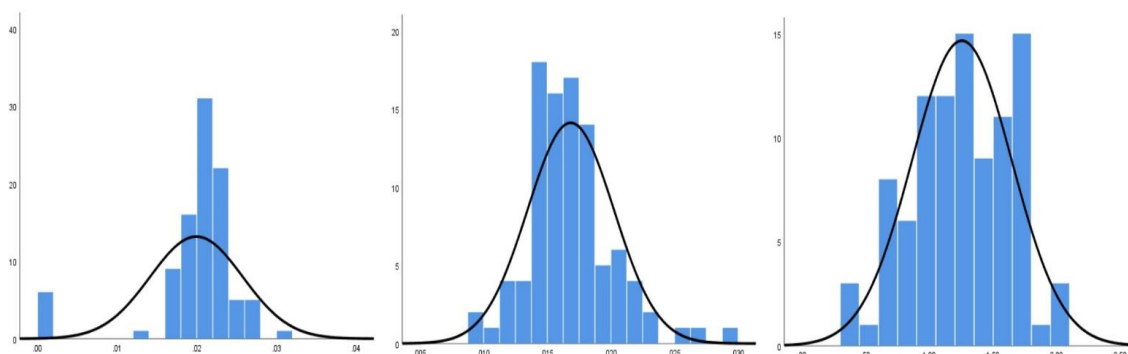




طول روزنه قبل از تنش (میکرو متر)

طول روزنه بعد از تنش (میکرو متر)

عرض برگ (سانتی‌متر)

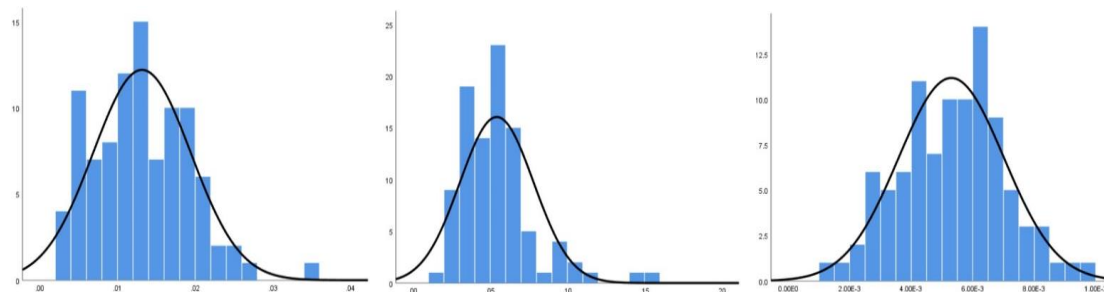


عرض روزنه قبل از تنش (میکرو متر)

عرض روزنه بعد از تنش (میکرو متر)

قطر ریشه (میلی‌متر)

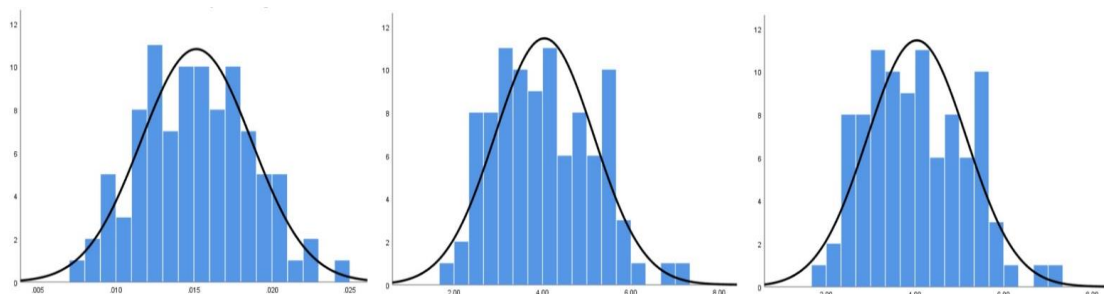
ادامه شکل 1. توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در جمعیت  $F_8$  حاصل از تلاقی ارقام اهلمی طارم و ندا.



وزن تر ریشه (گرم)

وزن تر ساقه (گرم)

وزن خشک ریشه (گرم)



وزن خشک ساقه (گرم)

نسبت سطح روزنه به سطح کل قبل از

نسبت سطح روزنه به سطح کل بعد از

ادامه شکل 1. توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در جمعیت  $F_8$  حاصل از تلاقی ارقام اهلمی طارم و ندا.



(2011) روی برنج در شرایط تنش خشکی، بیشترین ضریب همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات طول ساقه و طول ریشه ( $0/67^{**}$ ) گزارش شد. همچنین آنها همبستگی میان صفات وزن ریشه با صفات طول ساقه، طول ریشه و وزن ساقه را منفی و معنی‌دار اعلام کردند.

#### تهیه نقشه ژنتیکی

نقشه پیوستگی تهیه شده بر اساس 30 نشانگر SSR و 20 نشانگر ISSR (با 60 آلل تکثیر شده چند شکل) روی 96 فرد جمعیت F<sub>8</sub> تهیه شد و نشانگرها را به 12 گروه پیوستگی متعلق به 12 کروموزوم برنج با طول نقشه براساس تابع کوزامبی (Kosambi, 1944) برابر با 1413/2 سانتی-مورگان منتسب کرد که فاصله در بین دو نشانگر مجاور برابر با 12/18 سانتی‌مورگان بود (شکل 2).

#### مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات مورد بررسی

نتایج حاصل از مکان‌یابی ژنی در شرایط تنش خشکی نشان داد که در مجموع 13 فاصله واجد QTL برای صفات ارزیابی شده شناسایی شدند که از این تعداد دو QTL طول ساقه، یک QTL تعداد ریشه، سه QTL عرض برگ، یک QTL وزن ساقه، سه QTL سطح برگ، یک QTL تراکم روزنه قبل تنش، یک QTL تراکم روزنه بعد تنش و یک QTL مجموع سطح روزنه‌ها به سطح کل بعد تنش را کنترل نمود (جدول 3).

دو QTL برای طول ساقه (qSL-4 و qSL-11) مکان‌یابی شدند که روی کروموزوم‌های 4 و 11 و به ترتیب بین نشانگرهای RM252-ISSR11-5 و ISSR6-1-ISSR12-4 قرار داشتند. اثر افزایشی این QTL‌ها به ترتیب برابر با  $-1/62$  و  $-2/39$  بود و

لاین 56 از نظر صفات وزن خشک ریشه، عرض روزنه قبل از تنش برتر از سایر لاین‌ها بود. در تحقیقی، وقتی بوته‌های برنج در محیط تنش خشکی 80 درصد ظرفیت زراعی به مدت 20 روز قرار گرفتند، میزان سطح برگ، ارتفاع، زیست توده، وزن خشک ریشه، وزن تر و خشک گیاهچه در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت (Farooq *et al.*, 2009).

با توجه به نتایج به دست آمده مشخص می‌شود که در بین لاین‌های مورد بررسی، لاین‌های 5 و 108' که دارای بیشترین میانگین از نظر صفاتی مثل تعداد ریشه و قطر ریشه که از مشخصات لاین‌های متحمل به تنش خشکی است (Fukani and Cooper, 1995) را به عنوان لاین‌های متحمل به تنش خشکی به حساب آورد.

#### همبستگی صفات

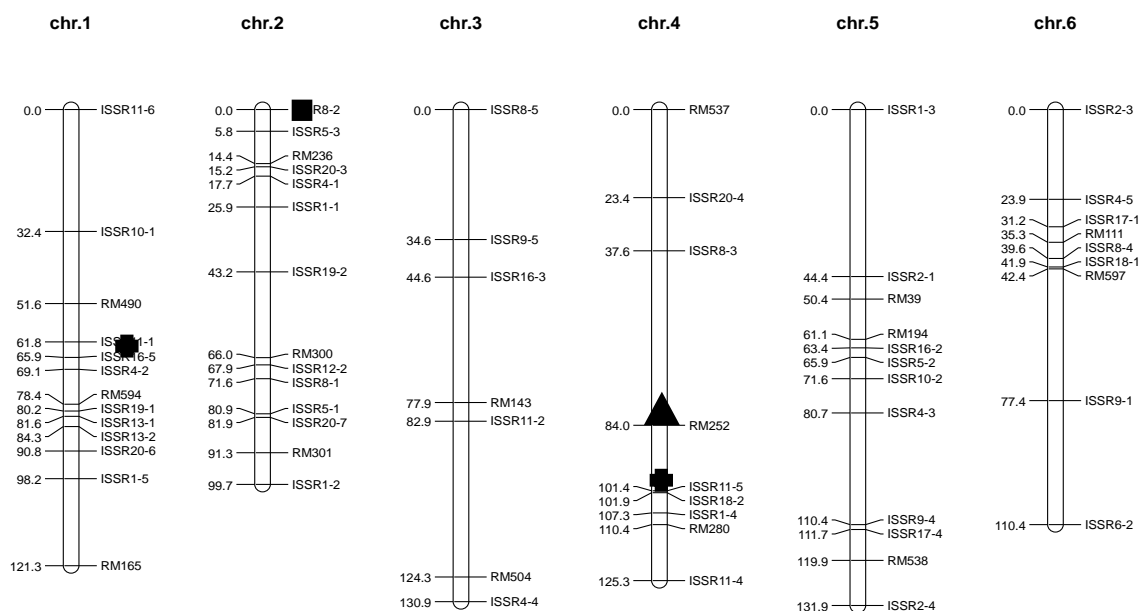
با استفاده از ضرایب همبستگی بین صفات مختلف می‌توان در مورد شاخص‌های انتخاب غیرمستقیم و حذف صفات غیر مؤثر به طور دقیق‌تری تصمیم‌گیری نمود (Gholparvar *et al.*, 2003). در محاسبه همبستگی صفات ارزیابی شده در شرایط تنش خشکی، بیشترین همبستگی مربوط به صفات قطر ریشه با چگالی سطح ریشه و وزن تر ریشه ( $0/96^{**}$ ،  $0/93^{**}$ )، طول برگ با طول ساقه، مساحت روزنه قبل تنش با طول روزنه قبل تنش، مجموع سطح روزنه‌ها به سطح کل بعد تنش با تراکم روزنه‌ها بعد تنش ( $0/93^{**}$ ) بوده است که دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار می‌باشد. مجموع سطح روزنه‌ها به سطح کل با هیچ یک از صفات به غیر از صفت تراکم روزنه‌ها بعد تنش همبستگی معنی‌دار نداشت. در مطالعه Lum و همکاران (2014) در شرایط تنش خشکی، همبستگی میان صفت طول ریشه با طول ساقه در برنج به میزان ( $0/75^*$ ) گزارش شد. در مطالعه Srividhya و همکاران

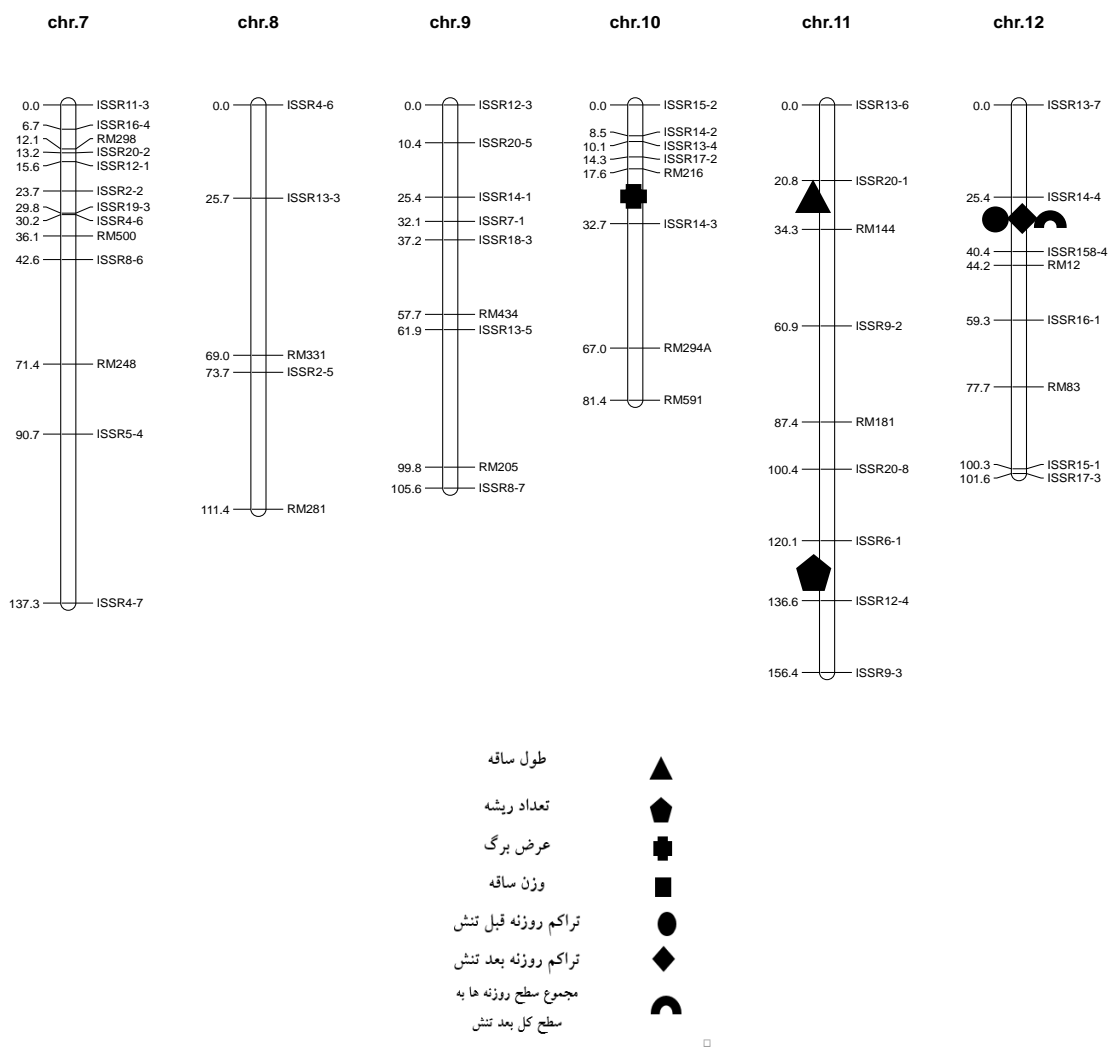
منتقل شد. Nguyen و همکاران (2006) به منظور مکان‌یابی QTL‌های صفات ریشه مرتبط با مقاومت به خشکی از 36 نشانگر SSR و 203 نشانگر AFLP و 135 لاین نوترکیب حاصل از تلاقی دو لاین RDB09 و R2021 استفاده نمودند و توانستند دو QTL روی کروموزوم‌های 1 و 3 شناسایی کنند.

این QTL‌ها در مطالعه حاضر شناسایی نشد. برای صفت عرض برگ، سه QTL روی کروموزوم‌های 1، 4 و 10 مکان‌یابی گردید. -qWL 1 روی کروموزوم 1 در فاصله نشانگری -ISSR4-2، RM594 مکان‌یابی شد و با LOD برابر با 2/10، مقدار 9/6 درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه کرد.

LOD آن‌ها برابر 2/02 و 2/64 بود. در هر دو مکان ژنی آلل‌های والد ندا طول ساقه را کاهش دادند. Subudhi و Bhattarai (2018) پنج مکان ژنی برای طول ساقه روی کروموزوم‌های 1 (دو مورد)، 3 و 4 (دو مورد) در مرحله رویشی در شرایط تنش خشکی شناسایی کردند.

برای صفت تعداد ریشه، یک QTL روی کروموزوم 11 (qRN-11) مکان‌یابی گردید که در فاصله نشانگری 4-ISSR12-1-ISSR6 قرار داشت و با LOD برابر با 2/08، 9/5 درصد از واریانس فنوتیپی تعداد ریشه را توجیه نمود. اثر افزایشی این QTL برابر 0/39- بود که جهت منفی آن نشان می‌دهد که آلل‌های کاهش دهنده از والد ندا به نتاج





شکل 2. نقشه پیوستگی جمعیت F<sub>8</sub> برنج حاصل از تلاقی ارقام اهلمی‌طارم و ندا بر اساس 30 نشانگر SSR و 20 نشانگر ISSR

جدول 3. QTL‌های ردیابی شده در شرایط تنش خشکی در جمعیت F<sub>8</sub> حاصل از تلاقی ارقام ندا و اهلمی‌طارم.

صفات	QTL	نشانگرهای مجاور*	LOD کروموزوم	موقعیت (سانتی‌مورگان)	ضریب تبیین اثرافزایشی موقعیت	ضریب آل**	ATM (اهلمی‌طارم)	NAD (ندا)
طول ساقه	qSL-4	RM252- <u>ISSR11-5</u>	4	2.02	94	-1.62	9.2	NAD
	qSL-11	<u>ISSR6-1</u> -ISSR12-4	11	2.64	128	-2.39	11.9	NAD
تعداد ریشه	qRN-11	<u>ISSR6-1</u> -ISSR12-4	11	2.08	126	-0.39	9.5	ATM
عرض برگ	qWL-1	ISSR4-2- <u>RM594</u>	1	2.10	76	23.07	9.6	ATM
	qWL-4	ISSR18-2- <u>ISSR1-4</u>	4	2.35	106	20.64	10.7	ATM
	qWL-10	RM216- <u>ISSR14-3</u>	10	2.05	32	42.03	9.4	ATM
وزن ساقه	qSW-2	<u>ISSR5-3</u> -RM236	2	2.65	10	12.93	12	ATM
سطح برگ	qLL-1	ISSR4-2- <u>RM594</u>	1	2.19	76	-0.27	10	NAD
	qLL-2	<u>ISSR5-3</u> -RM236	2	2.99	8	0.47	13.4	ATM
	qLL-10	RM216- <u>ISSR14-3</u>	10	2.56	32	0.55	11.6	ATM
تراکم روزنه قبل تنش	qSB-12	<u>ISSR14-4</u> -ISSR15-4	12	2.36	26	15.15	10.7	ATM
تراکم روزنه بعد تنش	qSA-12	<u>ISSR14-4</u> -ISSR15-4	12	2.72	30	11.69	12.3	ATM
مجموع سطح روزنه‌ها به سطح کل بعد تنش	qTS-12	ISSR14-4- <u>ISSR15-4</u>	12	2.40	34	0.45	10.9	ATM

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

\*\* NAD (ندا)، ATM (اهلمی‌طارم).

طارم باعث افزایش تعداد روزنه بعد از تنش شدند. QTL کنترل‌کننده مجموع سطح روزنه‌ها به سطح کل بعد تنش روی کروموزوم 12 در فاصله نشانگرهای ISSR14-4-ISSR15-4 قرار داشت و توانست با LOD برابر با 2/40، 10/9 درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت را کنترل نماید. اثر افزایشی این QTL، 0/45 بود که آل‌های والد اهلمی طارم در جهت افزایش این صفت اثر داشتند. در این مطالعه در ناحیه‌ای از کروموزوم 1 در فاصله نشانگری ISSR4-2-RM594 مکان‌های ژنی صفات عرض برگ و سطح برگ، در کروموزوم 11 در فاصله ISSR6-1-ISSR12-4 مکان‌های ژنی صفات تعداد ریشه و طول ریشه و همچنین در کروموزوم 12 در فاصله نشانگرهای ISSR14-4 و ISSR15-4 مکان‌های ژنی صفات تراکم روزنه قبل از تنش، تراکم روزنه بعد از تنش و مجموع مجموع سطح روزنه‌ها به سطح کل بعد تنش مشترک بود. هم‌مکانی این صفات نشان دهنده کنترل ژنتیکی یکسان آن‌ها در شرایط تنش خشکی می‌باشد. وجود همبستگی معنی‌دار بین صفات می‌تواند به وسیله پلیوتروپی و یا پیوستگی شدید بین ژن‌های کنترل‌کننده آنها توصیف شود. Paterson و Lander (1991) نشان داد که صفات همبسته اغلب به وسیله QTL‌هایی کنترل می‌شود که در نواحی مشابهی روی کروموزوم قرار دارند. Cheng و همکاران (2008) پلیوتروپی ژن را عامل اصلی کنترل ژنتیکی صفات مرتبط با جوانه‌زنی عنوان کردند. صفات همبسته می‌توانند به وسیله QTL‌های با اثرات پلیوتروپیک و یا پیوستگی شدید کنترل شوند که پیدا کردن خوشه‌های شامل چند QTL پس از تایید نهایی، می‌تواند در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر بسیار مفید باشند (Sabouri *et al.*, 2011). Mardani (2012) در مطالعه QTL‌های مرحله جوانه‌زنی برنج برای صفات وزن تر ریشه‌چه و سرعت

اثر افزایشی این QTL برابر با 23/07 بود که آل‌های افزایش دهنده از والد اهلمی طارم بود. qWL-4 روی کروموزوم 4 در فاصله نشانگرهای ISSR18-2-ISSR1-4 شناسایی شد و با LOD برابر 2/35، 10/7 درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمود. اثر افزایشی این QTL برابر با 20/64 بود. qWL-10 در فاصله نشانگرهای RM216 و ISSR14-3 روی کروموزوم 10 قرار داشت. در هر سه QTL آل‌های والد اهلمی طارم باعث افزایش صفت مذکور شدند. برای صفت سطح برگ، سه QTL روی کروموزوم‌های 1، 2 و 10 مکان‌یابی گردید. qLL-1 روی کروموزوم 1 در فاصله نشانگری ISSR4-2-RM594 مکان‌یابی شد و با LOD برابر با 2/19، مقدار 10 درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه کرد. اثر افزایشی این QTL برابر با 0/27- بود. qLL-2 روی کروموزوم 2 در فاصله نشانگرهای ISSR5-3-RM236 شناسایی شد و با LOD برابر 2/99، 13/4 درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمود. اثر افزایشی این QTL برابر با 0/47 بود. qLL-10 در فاصله نشانگرهای RM216- ISSR14-3 روی کروموزوم 10 مکان‌یابی شد و با LOD 2/56 مقدار 11/6 درصد از واریانس فنوتیپی صفت مذکور را توجیه نمود. اثر افزایشی این QTL برابر با 0/55 بود که از آل‌های والد اهلمی طارم به نتاج منتقل شده بود. برای صفت تراکم روزنه قبل تنش، یک QTL روی کروموزوم 12 مکان‌یابی شد. qRSD-12 در فاصله نشانگری ISSR14-4-ISSR15-4 شناسایی شد. اثر افزایشی و LOD آن به ترتیب برابر 15/15 و 2/36 بود. برای صفت تراکم روزنه بعد تنش، یک QTL روی کروموزوم 12 شناسایی شد. qRW-1 در فاصله نشانگری ISSR14-4-ISSR15-4 قرار داشت. اثر افزایشی و LOD آن به ترتیب برابر 11/69 و 2/72 بود و در آن آل‌های والد اهلمی-

هستند.

در مجموع برای 24 صفت مرتبط با تحمل به خشکی، تعداد 13، QTL شناسایی شد. قابل ذکر است که از 12 کروموزوم برنج، کروموزوم‌های 1، 2، 4، 10، 11 و 12 حامل QTL‌های کنترل کننده صفات مورد مطالعه در این تحقیق بودند. در این مطالعه در ناحیه‌ای از کروموزوم 1 در فاصله نشانگری ISSR4-2-RM594 مکان‌های ژنی صفات عرض برگ و سطح برگ، در کروموزوم 11 در فاصله ISSR6-1-ISSR12-4 مکان‌های ژنی صفات تعداد ریشه و طول ریشه و همچنین در کروموزوم 12 در فاصله نشانگرهای ISSR14-4 و ISSR15-4 مکان‌های ژنی صفات تراکم روزنه قبل از تنش، تراکم روزنه بعد از تنش و مجموع مجموع سطح روزنه‌ها به سطح کل بعد تنش مشترک بود. هم‌مکانی این صفات نشان دهنده کنترل ژنتیکی یکسان آن‌ها در شرایط تنش خشکی می‌باشد. QTL‌هایی که در نواحی مشابه با مطالعات قبلی شناسایی شده، می‌توانند به عنوان QTL‌های دارای اعتبار معرفی کرد، چرا که در بین جمعیت‌های مختلف تکرارپذیر بودند و مناسب برای برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر می‌باشند.

## REFERENCES

- Alizadeh A (2006) Crop-water relations. Mashhad, Iran (In Persian).
- An ZW, Xie LL, Cheng H, Zhou Y, Zhang Q, He XG (2009) A silver staining procedure for nucleic acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. *Anal. Biochem.* 391:77-9.
- Badirdast H, Salehi-Lisar, SY, Sabouri H, Movafeghi, A, Gholamalali pour Alamdari, E (2019) Genetic Diversity of Rice Germplasm under Flooding and Drought Stress. *Journal of Crop Breeding* 11 (31): 209-225. (In Persian).
- Baisakh N, Yabes J, Gutierrez A, Mangu V, Ma P, Famoso A, Pereira A (2020) Genetic Mapping Identifies Consistent Quantitative Trait Loci for Yield Traits of Rice under Greenhouse Drought Conditions. *Genes*. 11 (62): 1-13.
- Basten CJ, Weir BS, Zeng ZB (1997) QTL Cartographer: A reference manual and tutorial for QTL mapping: North Carolina state university, USA. P. 163.
- Bhattarai U, Subudhi PK (2018) Identification of drought responsive QTLs during vegetative growth stage of rice using a saturated GBS-based SNP linkage map. *Euphytica* 214:38-49.
- Cattivelli L, Reza F, Badeck FW, Mazzucotelli A.M, Masterangelo E,

جوانه‌زنی روی کروموزوم شماره 3، در حد فاصل نشانگرهای E36-M61-1-E36-M61-11 یک مکان ژنی مشترک را شناسایی نمود اما این صفات همبستگی غیر معنی‌دار (0/004-) را داشتند و بقیه QTL‌های شناسایی شده برای این دو صفت در نواحی دیگر بر همدیگر منطبق نبودند. سپس عنوان کردند که این دو صفت از هم مستقل می‌باشند. در این مطالعه چندین انطباق QTL‌ها را برای صفات مختلف در بعضی نقاط مشترک مشاهده شد. میزان همبستگی بین دو صفت عرض برگ و سطح برگ برابر با 0/314 بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که گیاهچه‌های با عرض برگ بیشتر تحمل بیشتری به خشکی خواهند داشت. میزان همبستگی بین دو صفت تعداد ریشه و طول ساقه برابر با 0/583 بود که می‌توان گفت گیاهچه‌های با تعداد ریشه بیشتر، طول ساقه بیشتری خواهند داشت و تحمل آن‌ها به خشکی بیشتر خواهد بود. صفت تراکم بعد تنش با صفت مجموع سطح روزنه‌ها به سطح کل همبستگی بالای نشان داد (0/932)، اما صفت تراکم قبل تنش با صفت تراکم بعد تنش و همچنین صفت تراکم قبل تنش با صفت مجموع سطح روزنه‌ها به سطح کل با اینکه مکان ژنی مشترک برای آن‌ها یافت شد اما همبستگی معنی‌داری نداشتند، پس می‌توان گفت این صفات از هم مستقل

- Francia C, Tondelli A, Stanca B (2008) Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crop Res.* 105: 1-14.
- Cheng HT, Jiang H, Xue DW, Guo LB, Zeng DL, Zhang GH, Qian Q (2008) Mapping of QTL underlying tolerance to alkali at germination and early seedling stages in rice. *Acta Agronomica Sinica.* 34:1719-1727.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29: 185-212.
- Fukai S, Cooper M (1995) Development of drought-resistant cultivars using physiomorphological traits in rice. *Field Crops Research*, 40(2): 67-87.
- Gholparvar AR, Ghanadha MR, Zali AA, Ahmadi A (2003) Evaluation of some morphological traits as selection criteria in breeding wheat. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 4 (3): 202-208. (In Persian).
- Gorantla M., Babu PR, Reddy Lachagari VB, Reddy AMM, Wusirika R, Bennetzen JL, Reddy AR (2007) Identification of stress-responsive genes in an indica rice (*Oryza sativa* L.) using ESTs generated from drought-stressed seedlings. *Journal of Experimental Botany.* 58: 253-265.
- Hajabbasi MA (2001) Tillage effects on soil compactness and wheat root morphology. *Journal of Agricultural Science Technology.* 3: 67-77.
- Katouzi M, Navabpour S, Yamchi A, Ramezanpour SS, Sabouri H (2017) Identification of Genes Controlling Seedling Stage Traits in Iranian Rice Recombinant Lines under Drought Stress Conditions. *Journal of Crop Breeding.* 9 (21): 1-9. (In Persian).
- Khalili M, Mohammadi SA (2016) Mapping QTLs associated with wheat seed germination under normal and drought stress conditions. *Crop Biotechnology.* 4 (9): 1-14. (In Persian).
- Kosambi DD (1944) The estimation of map distances from recombination values. *Annals of Eugenics.* 12:172-175.
- Lum MS, Hanafi MM, Rafii YM, Akmar ASN (2014) Effect of drought stress on growth proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 24 (5): 1487-1493.
- MacMillan K, Emrich K, Piepho HP, Mullins CE, Price AH (2006) Assessing the importance of genotype× environment interaction for root traits in rice using a mapping population. II: Conventional QTL analysis. *Theoretical and Applied Genetics.* 113: 953-964.
- Manly KF, Oslon M (1999) Overview of QTL mapping software and introduction to map manager QT. *Mammalian genome.* 10: 327-334.
- Mardani Z (2012) Identification of continuous molecular markers with salinity genes in germination stage in rice. Master's Thesis. University of Guilan. (In Persian).
- McCouch SR, Cho YG, Yano M, Paul E, Blinstrub M (1997) Report on QTL nomenclature. *Rice Genetic Newsletter.* 14: 11-13.
- Michael Gomez S, Satheesh Kumar S, Jeyaprakash P, Suresh R, Biji KR, Manikanda Boopathi N, Price AH, Babu RC (2006) Mapping QTLs Linked to Physio-Morphological and Plant Production Traits under Drought Stress in Rice (*Oryza sativa* L.) in the Target Environment. *Journal of Biochemistry and Biotechnology.* 2 (4): 161-169.
- Mohammadi M, Taleei A, Zeinali H, Naghavi MR, Baum M (2009) Mapping QTLs Controlling Drought Tolerance in a Barley Doubled Haploid population. *Seed and Plant Production Journal.* 24: 1-15. (In Persian).
- Nguyen DT, Nguyen TKL, Pham QC, Tran QT, Le TBT, Henry N (2006) Mapping QTLs Associated with Root Traits Related To drought



- Resistance in Vietnamese Upland Rice. *Journal on Science and Technology for Developmen.* 23(4): 323-332.
- Nguyen TL, Buu CB (2010) Quantitative trait loci influencing drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Omon Rice.* 17: 22-28.
- Paterson A, Lander S (1991) Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations and environments. *Genetics.* 127: 181- 197.
- Sabouri A, Rabiei B, Toorchi M, Aharizad S, Moumeni A (2012) Mapping quantitative trait loci associated with cooking qualities in Iranian Rice Cultivar, *Australian Journal of Crop Science.* 6(5): 808-814.
- Sabouri A, Sabouri H, Mohammadinejad Gh, Biabani A (2011) Genetic analysis of yield components and rice cultivars using QTL mapping. Eleventh Congress of Agronomy and Plant Breeding. Tehran, Shahid Beheshti University. (In persian).
- Sabouri H, Biabani A, Nakhzari Moghaddam A, Mollashahi M, Sabouri A, Katouzi M (2010) Genetic analysis of rice agronomically traits using Diallel method. Final report of project. Gonbad Kavous University.
- Sabouri H, Nakhzari Moghaddam A, Katouzi M, Ebadi A (2009) Genetic analysis of agronomical and quality traits in Iranian germplasm. Final report of project. Gonbad Kavous University.
- Saghai Maroof MA, Biyaoshev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW (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.
- Srividhya A, Vemireddy LR, Ramanarao PV, Sridhar S, Jayaprada M, Anuradha G, Srilakshmi B, Reddy HK, Hariprasad AS, Siddiq EA (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.
- Wang H, Clarke JM (1993) Genotypic, interplant and environmental variation in stomatal frequency and size in wheat. *Canadian Journal of Plant Science,* 13: 671-678.
- Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez KA (1976) Laboratory manual for physiological studies of rice IRRI, Los Banos, Philippines.