

Mapping of QTLs Affecting Salinity Tolerance in Iranian Rice Population at Germination Stage

Mohammad Javad Behrozbeh

M.Sc. student of Biotechnology Crop, Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Gonbad, Iran. University Gonbad.
khayam_javad@yahoo.com

Hussein Sabouri

* Genetic biometrics Ph.D, Associate Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agricultural and Natural resources Sciences, Gonbad Kavous University, Iran, Email:
hos.sabouri@gmail.com

Hossein Hosseini Mghaddam

Horticulture biotechnology Ph.D, Assistant Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agricultural and Natural resources Sciences, Gonbad Kavous University.Iran.
hhm548@yahoo.com

Ali Nakhzari Moghaddam

Crop physiology Ph.D, Assistant Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agricultural and Natural resources Sciences, Gonbad Kavous University.Iran.
a_nakhzari@yahoo.com

Ali Rahemi Karizaki

Crop physiology Ph.D, Assistant Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agricultural and Natural resources Sciences, Gonbad Kavous University.Iran.
alirahemi@yahoo.com

Mohsen Rezaie

M.Sc. student of Biotechnology Crop, Department of Plant Production, Faculty of Agricultural and Natural Resources Sciences, Gonbad Kavous University.Iran. mrseven7474@gmail.com

Abstract

Objective

This experiment was conducted for developing of linkage map using SSR and ISSR markers in Iranian rice population, mapping of QTLs involved in salinity tolerance, and also evaluation of salinity tolerance in studied genotype.

Materials and Methods

In order to determine the salinity tolerance QTLs in a germination stage on an Iranian rice population (caused Ahlami Tarom \times Neda cross), a factorial experiment was performed based on a randomized complete block design with three replications under three salinity levels of NaCl (0, 12, 22 dS.m⁻¹).

Results

The difference between populations in different levels of salinity was significant for all germination traits. Under normal conditions, 4, 1, 2 and 1 QTLs were detected for radicle weight, plumule weight, germination percentage and germination rate, respectively. In 12 dS.m⁻¹, 1, 1, 1, 2, 1 and 1 QTL for seedling weights, plumule weight, radicle length, coleoptile, germination percentage and germination rate. In 22 dS.m⁻¹, 2, 1, 1 and 1 QTL were located for radicle weight, plant length, germination percentage and germination rate.

Discussion

The major effects of QTLs in this study played an important role in salinity tolerance and can be studied in marker assisted selection programs in rice under saline conditions.

Keywords: Germination, Rice, Quantitative trait loci, Marker assisted selection.

Citation: Behrozbeh MJ, Sabouri H, Hosseini Mghaddam H, Nakhzari Mghaddam A, Rahemi Karizaki A, Rezaie M (2019) Mapping of QTLs Affecting Salinity Tolerance in Iranian Rice Population at Germination Stage. *Agricultural Biotechnology Journal* 11 (2), 1-22.

Agricultural Biotechnology Journal 11 (2), 1-22.

DOI: 10.22103/jab.2019.12378.1058

Received: March 16, 2019; Accepted: June 12, 2019

© Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society

مکان‌یابی QTL‌های دخیل در تحمل شوری در جمعیت برنج ایرانی در مرحله جوانه زنی

محمد جواد بهروزیه

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی در کشاورزی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد

کاووس. ایمیل: khayam_javad@yahoo.com

حسین صبوری

دانشیار گروه تولیدات گیاهی، عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس. تلفن: ۰۹۱۱۱۴۳۸۹۱۷.

ایمیل: hos.sabouri@gmail.com

حسین حسینی مقدم

استادیار گروه تولیدات گیاهی، عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس. ایمیل:

hhm548@yahoo.com

علی نخزری مقدم

استادیار گروه تولیدات گیاهی، عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس. ایمیل:

a_nakhzari@yahoo.com

علی راحمی کاریزکی

استادیار گروه تولیدات گیاهی، عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس. ایمیل:

alirahemi@yahoo.com

محسن رضایی

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی در کشاورزی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد

کاووس. ایمیل: mrseven7474@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۵، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۲

چکیده

هدف: هدف از پژوهش حاضر، تهیه نقشه پیوستگی نشانگرهای SSR و ISSR در جمعیت برنج ایرانی و مکان‌یابی QTL‌های دخیل در تحمل شوری و همچنین ارزیابی تحمل ژنوتیپ‌های مورد بررسی به تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها: به منظور شناسایی QTL‌های تحمل به تنش شوری آزمایشی در مرحله جوانه‌زنی بر روی یک جمعیت برنج ایرانی (حاصل از تلاقی اهلی طارم × ندا) به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه سطح تیمار شوری (0 NaCl، 12، 22 دسی‌زیمنس بر متر) و سه تکرار انجام شد.

نتایج: اختلاف بین لاین‌های جمعیت در سطوح مختلف شوری برای کلیه صفات مرتبط با جوانه‌زنی معنی‌دار بود. در شرایط نرمال، ۱، ۲ و ۱ QTL به ترتیب برای وزن ریشه‌چه، وزن ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی ردیابی شد. در تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۱، ۱، ۱، ۱، ۲ و ۱ QTL برای وزن گیاهچه، وزن ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول کلتوپتیل، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی مشخص شد و در شوری ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر، به ترتیب ۱، ۱، ۱ و ۱ QTL برای وزن ریشه‌چه، طول گیاهچه، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی مکان‌یابی شد.

نتیجه‌گیری: QTL‌های بزرگ اثر در این پژوهش نقش مهمی را در تحمل به شوری ایفا نمودند و می‌توانند در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر جوانه‌زنی برنج در شرایط شور مورد بررسی قرار گیرند.

کلمات کلیدی: جوانه‌زنی، برنج، مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی، انتخاب به کمک نشانگر

مقدمه

تنش شوری رشد گیاهان را با ایجاد مکانیسم‌های متعدد مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تحت تاثیر قرار می‌دهد. تحمل به نمک یک صفت پیچیده می‌باشد که توسط عوامل ژنتیکی و فیزیولوژیکی و مجموعه مکانیسم‌های کمکی مختلف که اکثراً چندژنی هستند کنترل می‌شود (Mishra, 1996; Mishra et al. 1998; Singh et al. 2001). تنوع مبنای همه‌گزینه‌ها بوده و انتخاب ژنوتیپی نیز نیازمند تنوع می‌باشد. بدیهی است که با بالا رفتن تنوع ژنتیکی در یک جامعه حدود انتخاب وسیع‌تر می‌شود (Abozari-Gazafrodi et al. 2008). برنج دارای تنوع بالایی برای تحمل شوری است (Flowers and Yeo, 1981; Lisa et al. 2004). به عنوان مثال نشان داده شده است که دو رقم Pokkali (بسیار مقاوم به شوری) و IR29 (بسیار حساس) تفاوت زیادی با یکدیگر در پاسخ به شوری دارند. از این رو، قرار دادن برنج در گروه گیاهان حساس به شوری صحیح نبوده و این گیاه توانایی افزایش معنی‌دار مقاومت در برابر شوری را دارد، به خصوص با وجود بانک ژن برنج که بیش از ده هزار ژنوتیپ از سراسر جهان را حفظ می‌کند. همچنین تمایز بین پاسخ به شوری و قلیائیت مهم است، برنج به مقدار زیادی متحمل به قلیائیت بوده و تحمل بسیار کمتری به شوری دارد (Mishra, 1996). برنج محصولی موثر برای اصلاح خاک‌های سدیمی

است (Singh, 1994) و به دلیل متحمل بودن به غرقاب و دامنه تحمل آن به شوری می‌تواند در بعضی مکان‌ها در خاک‌های شور ساحلی هم کشت گردد (Singh et al. 2009; Lafite et al. 2004). بیش‌تر تحقیقات مربوط به شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده شوری در برنج، در مرحله گیاهچه‌ای و مراحل تکاملی گیاه بوده است (Prasad et al. 2000; Flowers et al. 2007; Lee et al. 2007; Koyama et al. 2001) و این در حالی است که تعداد تحقیقات کمتری در مرحله جوانه‌زنی بذر برنج صورت گرفته است. گیاه برنج با اینکه به شوری حساس است ولی در مرحله جوانه‌زنی، نسبتاً متحمل است. به عنوان مثال آزمایشی برای ارزیابی قابلیت جوانه‌زنی ارقام مختلف برنج با استفاده از نمک تنها (نمک طعام) با غلظت ۱/۶ درصد (۲۸ دسی-زیمنس بر متر) و نمک معمولی که در خاک‌های شور هند وجود دارد (محلولی از نمک شامل CaCl_2 ، NaCl ، MgCl_2 و Na_2SO_4 به نسبت ۱:۴:۵:۱۰) انجام گرفت. برخی از ارقام در بیش از دو برابر شوری آب دریا جوانه زدند؛ که غلظتی بسیار فراتر از تحمل آن در طول رشد رویشی می‌باشد (Sankar et al. 2006). Zeng et al. (2004) با استفاده از نشانگرهای ریزماهورای در جمعیت خویش آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی بین دو وارسته برنج Lemont و Teqing برای صفت سرعت جوانه‌زنی بعد از ۷ روز، توانستند دو QTL روی کروموزوم‌های ۳ و ۷ که به ترتیب ۵/۲ و ۱۲/۷ درصد از کل تغییرات فنوتیپی را توجیه می‌کردند، تعیین نمایند. در پژوهشی Jing et al (2008) با هدف تعیین QTL‌های مرتبط با خواب بذر در برنج، از نشانگرهای ریزماهوره در جمعیت BC_1F_1 حاصل از تلاقی برگشتی $(\text{Akihikari} \times \text{Ludao}) \text{F}_1$ با والد Akihikari استفاده کردند و توانستند چهار QTL برای خواب بذر به ترتیب با ۷/۸، ۷/۱، ۵/۵ و ۴/۵ درصد از کل تغییرات فنوتیپی را روی کروموزوم‌های ۱، ۲ و ۶ (دو QTL) تعیین نمایند. در تحقیقی Wang et al. (2010) از یک جمعیت خویش آمیخته نوترکیب به دست آمده از تلاقی بین یک وارسته مقاوم به شوری (Jiucaiging) و یک وارسته حساس به شوری IR26، جهت تعیین QTL‌های کنترل کننده جوانه‌زنی بذر برنج تحت شرایط کنترل شده و تنش شوری استفاده کردند. روش مکان‌یابی فاصله‌ای چندگانه (MIM)^۱، در مجموع چهار QTL برای صفت درصد جوانه‌زنی در شرایط کنترل (آب مقطر) روی کروموزوم‌های ۴ (دو QTL) و ۱۰ با توجیه فنوتیپی ۳۵/۵ درصد تعیین نمودند. همچنین ۴ QTL برای درصد جوانه‌زنی تحت شرایط تنش شوری روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۷ و ۹ با توجیه تنوع فنوتیپی به ترتیب ۹/۶، ۳۶/۵، ۱۱/۳ و ۴۳/۷ درصد از کل تغییرات، را شناسایی نمودند. یکی از برنامه‌های کاربردی در مطالعه صفات کمی در دهه اخیر، مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی^۲ است. به طور کلی روش‌های به کار رفته در شناسایی و مکان‌یابی جایگاه صفات کمی به دو گروه اصلی نقشه‌یابی پیوستگی^۳ و نقشه‌یابی عدم تعادل لینکازی^۴ یا نقشه‌یابی ارتباطی^۵ تقسیم می‌شوند (Agha-ali et al. 2016). با توجه به اهمیت تنش شوری و ماهیت کمی بودن

¹ Multiple Interval Mapping

²-QTL Mapping

³- Linkage Mapping

⁴- Linkage Disequilibrium Mapping

⁵-Association Mapping

این صفت، یکی از اهداف این تحقیق شناسایی QTL های کنترل کننده صفات مرتبط با تحمل به شوری در مرحله جوانه زنی و تعیین سهم هر QTL در توجیه تنوع فنوتیپی صفات در جمعیت مورد مطالعه بود.

مواد و روش‌ها

جهت ثبت داده‌های فنوتیپی مرحله جوانه‌زنی آزمایشی در تابستان سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه گیاهشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس اجرا شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در پتری‌دیش‌هایی به قطر ۹ سانتی‌متر با سه سطح تیمار (نرمال)، ۱۲ و ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر در سه تکرار صورت پذیرفت. پتری‌دیش‌ها درون دستگاه ژرمیناتور Weiss Technik (ساخت آلمان) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد به مدت یک هفته قرار داده شدند. چون دستگاه دارای سه طبقه بود و هر طبقه به عقیده نگارنده گان نور یکسانی دریافتن نمی‌کردند، روی شیب دریافتی نور بلوک بندی انجام شد. تیمارها شامل محلول آب نمک NaCl خالص با قابلیت هدایت الکتریکی صفر، ۱۲ و ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر بودند. ۱۰۰ عدد بذر سالم از هر یک از ۹۶ لاین جمعیت F8 حاصل از تلاقی اهلی طارم و ندا انتخاب شدند. بذرها با محلول دو درصد هیپوکلریت سدیم برای ۱۰ دقیقه استریل و سپس سه بار با آب مقطر شستشو شدند. بذرها بر روی ظروف پتری-دیش دارای کاغذ صافی استریل شده قرار داده شدند. و بعد از اعمال تنش شوری در سطوح ۱۲ و ۲۲ دسی‌زیمنس پتری‌دیش‌های سه تیمار مورد بررسی درون دستگاه ژرمیناتور درون هر پتری‌دیش پنج میلی‌لیتر محلول آب نمک اضافه شد. تعداد بذرها جوانه‌زده برای هر یک از لاین‌ها در ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰، ۱۴۴ و ۱۶۸ ساعت پس از قرار گرفتن در پتری‌دیش شمارش شده و ۱۴ روز پس از کشت طول گیاهچه، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و طول کلئوپتیل با استفاده از کولیس (بر حسب میلی‌متر) اندازه‌گیری شد. برای صفات وزن گیاهچه، وزن ریشه‌چه، وزن ساقه‌چه از ترازوی با دقت یک ده هزارم گرم استفاده شد. درصد جوانه‌زنی بر اساس شاخص جوانه‌زنی که خروج حداقل دو میلی‌متر ریشه‌چه از پوسته بذر می‌باشد طبق رابطه زیر محاسبه شد (Glenn, 2008).

$$GP\% = Ni/N \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه GP نشان دهنده درصد جوانه زنی، Ni تعداد بذرها جوانه‌زده در روز i ام و N تعداد کل بذرها است. همچنین برای محاسبه سرعت جوانه‌زنی از رابطه Javadi et al. (2013) استفاده شد.

$$GRV = X1/Y1 + (X2-X1)/Y2 + \dots + (Xn-Xn-1)/Yn \quad \text{رابطه (۲)}$$

در رابطه دو Yn نشان دهنده تعداد روز از ابتدای کشت تا روز n و Xn تعداد بذور جوانه‌زده در روز n و GR نرخ جوانه‌زنی بود. به منظور ارزیابی‌های مولکولی، ۹۶ لاین حاصل از تلاقی ارقام اهلی طارم و ندا به همراه والدین با کمک ۳۰ نشانگر SSR و ۱۵ نشانگر ISSR چند شکل مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای استخراج DNA نمونه‌های برگ‌ی مربوط به ۹۶ لاین از

⁶ Germination percentage

⁷ Germination Rate

جمعیت F8، به همراه نمونه‌های برگ‌های بوته‌های والدینی به وسیله نیتروژن مایع در هاون چینی آسیاب شدند. استخراج DNA به روش CTAB (Khumallambam et al. 2013) انجام گرفت و تعیین کیفیت DNA با استفاده از الکتروفورز افقی و ژل آگارز انجام گرفت. برای انتخاب نشانگرهای ریزماهواره مناسب از پایگاه اطلاعات ژنتیکی Gramene (2015) استفاده شد. معیار انتخاب آغازگرهای SSR به ترتیب میزان اطلاعات چندشکلی (PIC)، میزان هتروزیگوسیتی و تعداد آل مشاهده شده بود. نشانگرهای SSR نیز به صورت تصادفی روی هر کروموزوم به صورت جداگانه انتخاب شدند با توجه به نظر لندر و بوتستین (Lander and Botstein. 1989) چون میانگین فاصله بین دو نشانگر در تحقیق حاضر کمتر از ۲۰ سانتی مورگان بود این تعداد نشانگر برای نقشه‌یابی مناسب تشخیص داده شد. تکثیر DNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر مدل BIORAD (iCycler) ساخت کشور آمریکا و در حجم ۱۰ میکرولیتر برای هر نمونه DNA انجام پذیرفت. واکنش PCR نشانگرهای SSR در ۳۲ چرخه انجام شد. مرحله واسرشته‌سازی اولیه یک چرخه ۲/۵ دقیقه‌ای با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد بود. سپس ۳۰ چرخه سه مرحله‌ای یعنی واسرشته‌سازی DNA یک دقیقه، اتصال آغازگرها ۳۰ ثانیه و سنتز ۳۰ ثانیه به ترتیب در دماهای ۹۵، ۵۰ و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای نشانگرهای SSR انجام گرفت. در مرحله آخر هم تکثیر نهایی محصولات PCR در یک چرخه پنج دقیقه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. واکنش PCR نشانگرهای ISSR شامل ۳۷ چرخه و پنج مرحله بود. واسرشته‌سازی اولیه DNA در یک چرخه پنج دقیقه‌ای و با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از آن سه مرحله واسرشته‌سازی DNA، اتصال آغازگرها و سنتز هر کدام در یک دقیقه و ۳۵ چرخه به ترتیب در دمای ۹۵، ۴۲ الی ۵۴ و ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام گرفتند. تکثیر نهایی نیز در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در یک چرخه پنج دقیقه‌ای صورت پذیرفت. در این مطالعه از دستگاه الکتروفورز عمودی مدل Clevear VS20 (ساخت کشور دانمارک) و برای تفکیک و نمایش جایگاه‌های نشانگرها از ژل پلی‌آکریل‌امید با غلظت شش درصد استفاده گردید. نمایان‌سازی باندها با روش موسوم به رنگ‌آمیزی سریع نقره ۱۰ انجام شد. برای تهیه نقشه پیوستگی ژنتیکی در جمعیت مورد مطالعه با توجه به وراثت هم‌بارز نشانگرهای SSR، ابتدا برای هر مکان ژنی نشانگر، نوارهای والدینی در افراد F8 شناسایی و ژنوتیپ هر فرد مشخص شد و سپس ماتریس داده‌های ژنوتیپی جمعیت به ابعاد ۹۶×۴۵ به دست آمد (A) برای افرادی که یک نوار مشابه با والد P1 یا اهلی طارم داشتند، B برای افرادی که یک نوار مشابه با والد P2 یا ندا داشتند). نقشه ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزارهای Map Manager و Mapmaker/EXP ایجاد شدند. برای تخصیص هر یک از آغازگر به کروموزوم مربوطه، گروه‌های پیوستگی بدست آمده با نقشه‌های ژنتیکی ارائه شده توسط Chen et al. (2007) و McCouch et al. (1997) مقایسه شدند. برای تبدیل نسبت‌های نوترکیبی بین نشانگرها به واحد نقشه (سانتی‌مورگان) از تابع Kosambi (1944) استفاده گردید. روش‌های آماری متداول در محاسبه نقشه پیوستگی بیشتر شامل روش‌های آماری چند متغیره می‌شوند که مهم‌ترین آن‌ها عبارت‌اند از تجزیه رگرسیون پیش برنده، که با استفاده از میانگین صفات مورد بررسی محاسبه

⁸-Cetyl trimethyl ammonium bromide

⁹ Polymorphism information content

¹⁰-Rapid Silver Staining

شد به این منظور دو صفت درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در دو مرحله جداگانه به عنوان متغیر وابسته و سایر صفات به عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند (Farshadfar, 2010). داده‌های حاصل از بررسی لاین‌ها در مرحله جوانه‌زنی با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه واریانس و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی قرار گرفتند. تجزیه واریانس برای صفات مختلف در شوری‌های مختلف جوانه‌زنی (شاهد، شوری ۱۲ و ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر) با استفاده از نرم‌افزار SAS در قالب طرح فاکتوریل انجام شد. میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. QTL‌های کنترل‌کننده صفات‌های مورفولوژیکی با استفاده از نقشه پیوستگی تهیه شده شناسایی شدند. مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب با استفاده از نرم‌افزار QTL Cartographer انجام شد. سپس منحنی‌های درست‌نمایی (LOD یا LRT) رسم شد و نقاط اوج منحنی‌ها به عنوان مکان QTL‌ها شناسایی گردید. برآورد پارامترها در این روش با استفاده از الگوریتم EM^{۱۲} و به کمک نرم‌افزار QTL Cartographer انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها: تغییرات صفات در مرحله جوانه‌زنی در سه سطح نرمال، شوری ۱۲ و ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر ابتدا مورد تجزیه فاکتوریل قرار گرفتند. نظر به معنی‌دار شدن منبع تغییرات لاین × شرایط محیطی، برش دهی در هر سطح از تنش انجام شد. جدول تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط نرمال و شوری ۲۲ دسی‌زیمنس نشان داد که کلیه صفات در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند. همچنین در شرایط شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، همه صفات مورد ارزیابی به جز صفت درصد جوانه‌زنی، دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بودند. در بررسی مقایسه میانگین صفات تحت شرایط نرمال و دو سطح تنش شوری ۱۲ و ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر با استفاده از روش آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد بین صفات اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. برای همه صفات به جز صفت درصد جوانه‌زنی میانگین در شرایط نرمال نسبت به دو سطح شوری دیگر دارای اختلاف معنی‌دار بود و بیشترین میانگین برای هر صفت در مرحله نرمال مشاهده گردید. برای صفت درصد جوانه‌زنی بین دو شرایط نرمال و شوری سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر اختلاف معنی‌دار نبود، این امر نشان دهنده این است که گیاه برنج مقاومت خوبی در مرحله جوانه‌زنی به تنش شوری دارد. تنش شوری عموماً باعث تاخیر در جوانه‌زنی، کاهش درصد جوانه‌زنی، کاهش سرعت جوانه‌زنی و کاهش رشد گیاهچه می‌شود (Munns and Termaat, 1986; Saadati et al. 2004). در واقع سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور از مهم‌ترین عواملی است که تحت تاثیر شوری قرار می‌گیرد.

¹¹ Logarithm of odds

¹² Expectation Maximization

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی

Table 1. Analysis of variance of the studied traits

نرمال (Normal)							
میانگین مربعات (MS)							
طول ریشه چه Radicle length	وزن ساقه چه Plumule weight	وزن ریشه چه Radicle weight	وزن گیاهچه Seedling weight	درجه آزادی df	منابع تغییر	Source of variation	
653.11**	0.16**	0.05**	0.04**	95	لاین	line	
103.84**	0.00ns	0.00ns	0.00ns	2	بلوک	Block	
6.09	0.00	0.00	0.00	190	خطا	Error	
4.16	31.90	6.34	2.17		ضریب تغییرات %	CV	
سرعت جوانه زنی Germination rate	درصد جوانه زنی Germination percentage	طول گیاهچه Seedling Length	طول کلوتیل Coleoptile length	طول ساقه چه Plumule length	درجه آزادی df	منابع تغییر	Source of variation
1.67**	93.85**	1515.99**	73.62**	346.96**	95	لاین	line
		176.88**	9.71**	13.18 ^{ns}	2	بلوک	Block
0.04	0.99	11.42	1.12	5	190	خطا	Error
1.22	1.02	3.32	6.14	5.21		ضریب تغییرات %	CV

* معنی دار در سطح ۵ درصد، ** معنی دار در سطح ۱ درصد، ns عدم معنی داری، اعداد تا دو رقم اعشار نشان داده شده اند

* Significant at level 5%, ** Significant at 1% level, ns insignificant, Numbers are shown in two decimal places

ادامه جدول ۱.

Table 1. Continued

شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (Salinity 12 dS.m ⁻¹)							
میانگین مربعات (Ms)							
طول ساقچه Plumule length	طول ریشه چه Radicle length	وزن ساقچه Plumule weight	وزن ریشه چه Radicle weight	وزن گیاهچه Seedling weight	درجه آزادی df	منابع تغییر	Source of variation
35.90*	866.71**	0.01**	0.01**	0.03**	95	لاین	line
27.39*	76.68**	0.00 ^{ns}	0.00*	0.00**	2	بلوک	Block
4.146	5.92	1.25	1.11	1.19	190	خطا	Error
5.657	4.80	11.58	7.92	4		ضریب تغییرات %	CV

سرعت جوانه‌زنی Germination rate	درصد جوانه زنی Germination percentage	طول گیاهچه Seedling Length	طول کتوتیل Coleoptile length	طول ساقچه Plumule length	درجه آزادی df	منابع تغییر	Source of variation
3.333*	29.79 ^{ns}	196.00**	61.51**	35.90**	95	لاین	line
0.000 ^{ns}	22.03 ^{ns}	194.57**	0.791 ^{ns}	27.39**	2	بلوک	Block
0.008	1.43	11.73	1.195	4.146	190	خطا	Error
0.63	1.31	4.26	6.877	5.657		ضریب تغییرات %	CV

* معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد، ns عدم معنی‌داری، اعداد تا دو رقم اعشار نشان داده شده‌اند

* Significant at level 5%, ** Significant at 1% level, ns insignificant, Numbers are shown in two decimal places

ادامه جدول ۱.

Table 1. Continued

شوری ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر (Salinity 22 dS.m ⁻¹)							
میانگین مربعات (MS)							
طول ریشه چه Radicle length	وزن ساقه‌چه Plumule weight	وزن ریشه‌چه Radicle weight	وزن گیاهچه Seedling weight	درجه آزادی df	منابع تغییر	Source of variation	
114.72**	0.01**	0.00 ^{ns}	0.02**	95	لاین	line	
2.19 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.00 ^{ns}	2	بلوک	Block	
0.87	0.00	0.00	0.00	190	خطا	Error	
8.94	50.28	7.64	1.73		ضریب تغییرات %	CV	
سرعت جوانه‌زنی Germination rate	درصد جوانه زنی Germination percent	طول گیاهچه Seedling Length	طول کلوتیل Coleoptile length	طول ساقه‌چه Plumule length	درجه آزادی df	منابع تغییر	Source of variation
5.05**	136.82**	425.52**	91.30**	141.4**	95	لاین	line
0	0	6.68 ^{ns}	1.01 ^{ns}	1.34 ^{ns}	2	بلوک	Block
0	1.28	1.76	0.51	0.88	190	خطا	Error
0.64	1.34	5.42	16.66	6.74		ضریب تغییرات %	CV

* معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح ۱ درصد، ns عدم معنی‌داری، اعداد تا دو رقم اعشار نشان داده شده‌اند

* Significant at level 5%, ** Significant at 1% level, ns insignificant, Numbers are shown in two decimal places

جدول ۲-مقایسه میانگین برای صفات تحت شرایط نرمال و دو سطح تنش شوری ۱۲ و ۲۲ دسی زیمنس در متر

Table 2. Comparison of mean for traits under normal conditions and two levels of salinity stresses of 12 and 22 dS.m⁻¹

طول ریشه چه Root length	وزن ساقه چه Plumule weight	وزن ریشه چه Root weight	وزن گیاهچه Seedling weight	معیار Conditions
59.282a	0.027a	0.010a	0.079a	نرمال Normal
50.607b	0.021b	0.007b	0.068b	شوری ۱۲ دسی زیمنس 12 dS.m ⁻¹
10.461c	0.009c	0.002c	0.047c	شوری ۲۲ دسی زیمنس 22 dS.m ⁻¹
1.405	0.001	0.002	0.001	HSD

سرعت جوانه زنی Germination rate	درصد جوانه زنی Germination percentage	طول گیاهچه Seedling Length	طول کتوتیل Coleoptile length	طول ساقه چه Plumule length	معیار Conditions
5.431a	98.33a	10.795a	17.941a	42.569a	نرمال Normal
4.631b	93.906a	86.604b	15.895b	35.996b	شوری ۱۲ دسی زیمنس 12 dS.m ⁻¹
4.434c	84.583c	24.420c	4.913c	13.958c	شوری ۲۲ دسی زیمنس 22 dS.m ⁻¹
0.001	7.729	1.916	0.686	0.719	HSD

*معنی دار در سطح ۵ درصد، ** معنی دار در سطح ۱ درصد، ns عدم معنی داری

* Significant at level 5%, ** Significant at 1% level, ns insignificant

جهت گزینش صفاتی که نقش مهمتری در مقاومت لاینها به جوانه زنی در تنش شوری داشتند، از رگرسیون مرحله ای به روش پیش برنده استفاده شد. برای این منظور دو صفت درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی در دو مرحله جداگانه به عنوان متغیر

وابسته و سایر صفات به عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند. برای صفت سرعت جوانه زنی در شرایط نرمال دو متغیر درصد جوانه زنی و طول ساقه چه بیشترین درصد (۰/۴۷) از تغییرات را توجیه نمودند. در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر دو متغیر مستقل درصد جوانه زنی و طول ساقه چه ۰/۷۸۶ درصد از تغییرات را توجیه کرده و در سطح شوری ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر متغیر درصد جوانه زنی به تنهایی ۰/۸۹۲ درصد از تغییرات را توجیه نمود. صفت مستقل سرعت جوانه زنی نیز در هر سه مرحله به ترتیب میزان ۰/۳۸۵، ۰/۷۵۱ و ۰/۹۴۴ درصد از تغییرات را توجیه نمود (جدول ۳).

مکان‌یابی مکان‌های ژنی موثر بر مولفه‌های جوانه‌زنی: نقشه پیوستگی تهیه شده بر اساس ۳۰ نشانگر SSR و

۱۵ نشانگر ISSR (با ۶۰ آلل تکثیر شده چند شکل) روی ۹۶ فرد جمعیت F8، نشانگرها را به ۱۲ گروه پیوستگی متعلق به ۱۲ کروموزوم برنج با طول نقشه بر اساس تابع Kosambi (1944) برابر با ۱۴۱۱/۳ سانتی‌مورگان و فاصله در بین دو نشانگر مجاور برابر با ۱۵/۳۴ سانتی‌مورگان منتسب کرد. حداکثر طول پیوستگی در کروموزوم شماره ۱۱ با ۱۵۶/۳ سانتی‌مورگان و حداقل ۸۱/۳ سانتی‌مورگان در کروموزوم شماره ۱۰ بود. مقایسه نقشه ژنتیکی تهیه شده در این مطالعه با سایر محققین که روی جمعیت‌های برنج ایرانی کار کرده اند (Sabouri et al. 2008; Rabii et al. 2014) نشان داد که این نقشه از نظر طول با آنها متفاوت می‌باشد. این تفاوت را می‌توان به نوع جمعیت، پیش زمینه ژنتیکی جمعیت‌های به کار رفته و همچنین نوع و تعداد نشانگرهای به کار رفته در مطالعات آنها نسبت داد. برای صفت وزن تر ریشه‌چه در شرایط نرمال چهار QTL شناسایی شدند که QTL qWRN6a، qWRN6b و qWRN6c بر روی کروموزوم شماره شش بودند. موقعیت qWRN6a بین دو نشانگر RM111-4-8-4 ISSR به فاصله ۳۸ سانتی‌مورگان وجود داشت. مقدار اثر افزایش ۰/۳۷۶ و در جهت آلل اهلی که میزان ۳/۲ درصد تغییرات فنوتیپی را توجیه نمود. qWRN6b بین نشانگرهای ISSR8-4-RM597 در فاصله ۴۲ سانتی‌مورگان و اثر ناچیز ۰/۵ درصدی در توجیه فنوتیپی این صفت داشت. qWRN6c بین دو نشانگر RM597-1-9-1 ISSR به فاصله ۷۶ سانتی‌مورگان قرار داشت و میزان ۱/۱ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه کرد. qWRN7 نیز بر روی کروموزوم شماره هفت به فاصله ۲۴ سانتی-مورگان بین دو نشانگر ISSR2-2-4-6 ISSR قرار گرفت که حدود ۰/۳ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت وزن ریشه‌چه را توجیه نمود.

برای وزن تر ریشه‌چه در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر هیچگونه QTL مشاهده نشد. برای همین صفت در سطح تنش شوری ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر qRWS22-6 و qRWS22-7 نیز مشابه QTL‌های مرحله نرمال شناسایی گردیدند که از لحاظ موقعیت کروموزومی و نشانگری شبیه هم بودند. این دو QTL نیز به ترتیب بر روی کروموزوم‌های شش و هفت بین نشانگرهای RM597-1-9-1 و ISSR2-2-4-6 به فاصله ۷۶ و ۲۴ سانتی‌مورگان قرار گرفتند. مقدار LOD برای qRWS22-6 برابر با ۵/۳۶۱ و برای qRWS22-7 ۵/۹۸۳ بود. مقدار اثر افزایشی هر دو QTL ۰/۱۵ و به ترتیب ۰/۷ و ۱/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت فوق را تبیین نمودند.

جدول ۳- نتایج رگرسیون مرحله ای. سرعت جوانه زنی به عنوان متغیر وابسته و صفات دیگر به عنوان متغیر مستقل در آزمایش جوانه زنی سطوح نرمال، ۱۲ و ۲۲ دسی زیمنس در متر

Table 3. Stage regression results. Germination rate as dependent variable and other traits as independent variable in germination experiment at three levels of normal, 12 and 22 dS/m

مرحله level	متغیر وارد شده به مدل variable entered into the model	ضریب رگرسیون regression coefficient	خطای استاندارد standard error	F	ضریب تبیین R ²
نرمال	درصد جوانه زنی Germination percentage	0.620	0.01	58.731	0.385**
Normal	طول ساقچه Plumule length	0.686	0.05	41.369	0.471**
شوری ۱۲ دسی زیمنس	درصد جوانه زنی Germination percentage	0.866	0.004	282.754	0.751**
12 dS.m ⁻¹	طول ساقچه Plumule length	0.866	0.005	170.528	0.786**
شوری ۲۲ دسی زیمنس	درصد جوانه زنی Germination percentage	0.892	0.004	774.037	0.892**
22 dS.m ⁻¹					
نرمال	سرعت جوانه زنی Germination rate	0.620	0.629	58.731	0.385**
Normal					
شوری ۱۲ دسی زیمنس	سرعت جوانه زنی Germination rate	0.866	0.707	282.754	0.751**
12 dS.m ⁻¹					
شوری ۲۲ دسی زیمنس	سرعت جوانه زنی Germination rate	0.891	0.486	774.037	0.944**
22 dS.m ⁻¹					

* معنی دار در سطح ۵ درصد، ** معنی دار در سطح ۱ درصد، ns عدم معنی داری

* Significant at level 5%, ** Significant at 1% level, ns insignificant

در کل برای تمامی QTL‌های شناسایی شده صفت وزن تر ریشه‌چه مقدار توجیه فنوتیپی صفت بسیار پایین بود و همه QTL‌ها کوچک اثر بودند. در تحقیقی مشابه نیز عنوان شد که QTL‌های تعیین شده برای صفت وزن تر ریشه جزء QTL‌های کوچک اثر محاسبه می‌شوند. با توجه به اینکه بخش زیادی از تغییرات فنوتیپی صفت توجیه نشده باقی می‌ماند، احتمالاً QTL‌های دیگری در کنترل این صفت دخالت داشته‌اند (Mardani, 2011). محققان دیگری با استفاده از جمعیت F2:3 بدست آمده از تلاقی دو رقم ایندیکا (طارم محلی و خزر)، با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره، دو QTL را برای وزن تر ریشه روی کروموزوم ۳ تعیین نمودند.

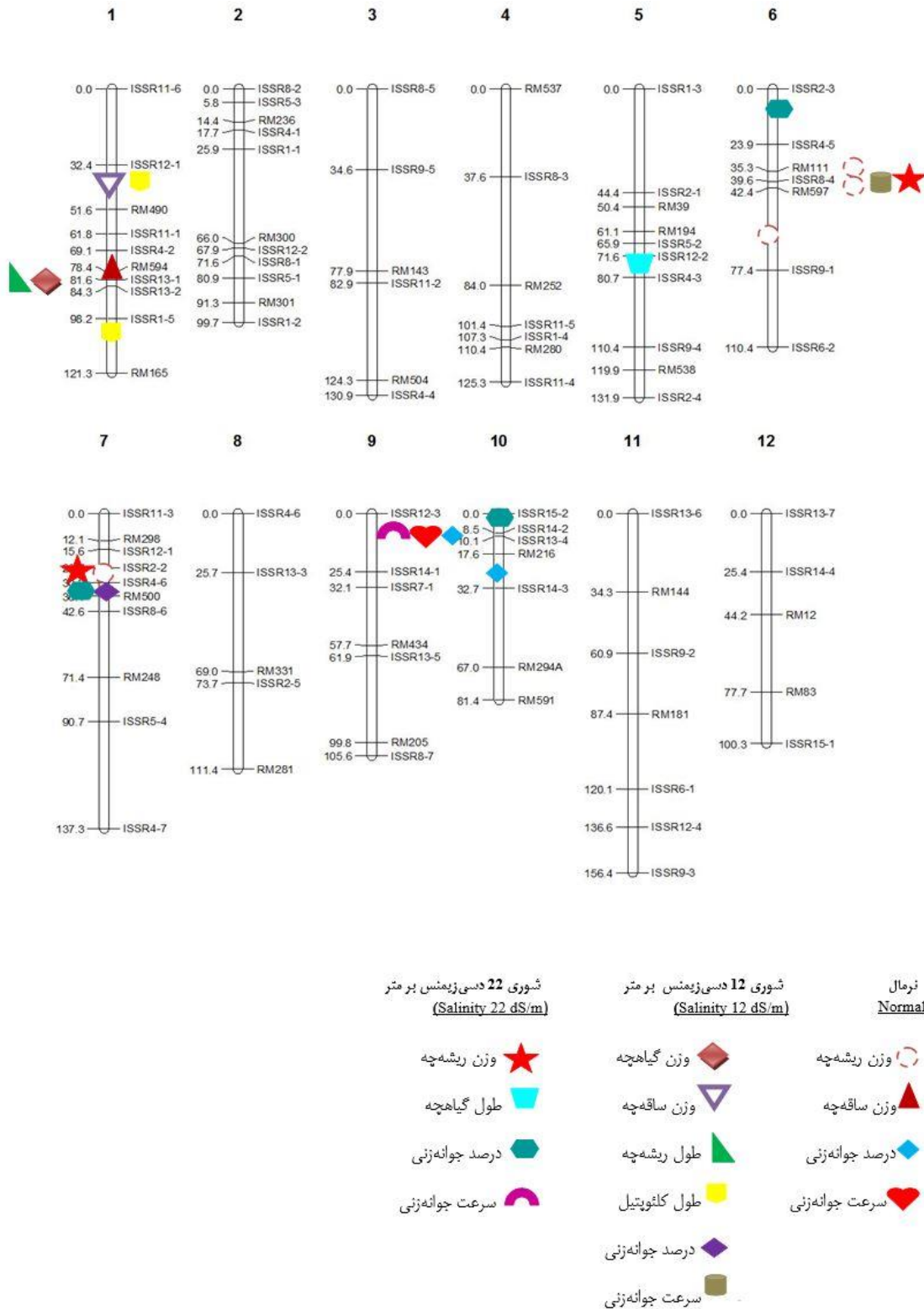
qWSN3 بر روی کروموزوم شماره سه به فاصله ۸۴ سانتی‌مورگان و بین دو نشانگر ISSR11-2-RM504 قرار گرفت و دارای اثر افزایشی ۰/۰۳۹ بود. این QTL مقدار ۵/۵ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را در شرایط نرمال تبیین نمود که یک QTL کوچک اثر می‌باشد. qSWS12-1 نیز برای شرایط شوری ۱۲ دسی‌زیمنس برای همین صفت بر روی کروموزوم شماره یک بین دو نشانگر RM594-ISSR13-1 به فاصله ۸۰ سانتی‌مورگان قرار گرفت و مقدار ۸/۲ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه کرد. در آزمایشی با استفاده از جمعیت خویش‌آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی بین CO39 (ایندیکا) و Moroberekan (ژاپونیکا)، جهت بررسی QTL‌های کنترل‌کننده وزن تر و خشک ساقه تحت تنش شوری در برنج، توانستند برای صفت وزن تر ساقه بر روی کروموزوم‌های یک و ۱۲ QTL‌هایی با LOD به ترتیب ۴/۷ و ۳/۸ و نیز مقدار توجیه ۲۱ و ۱۲/۳ درصد از واریانس فنوتیپی کل را شناسایی کنند (Haq et al., 2010). در تحقیق دیگری، Sabouri & Sabouri (2008) دو QTL در رابطه با وزن تر ساقه بر روی کروموزوم‌های ۱ و ۳ تعیین نمودند. QTL‌ها به ترتیب دارای اثر افزایشی ۱/۰۱- و ۱/۰۴- و توجیه فنوتیپی ۲۲/۴۴ و ۲۲/۹۷ بودند.

تنها یک QTL برای وزن تر گیاهچه و فقط در شرایط تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس مکان‌یابی گردید. qPWS12-1 بر روی کروموزوم شماره یک بین دو نشانگر ISSR13-1-ISSR13-2 به فاصله ۸۲ سانتی‌مورگان قرار گرفت. این QTL مقدار ۱۱/۵ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت مذکور را توجیه نمود.

صفت طول ریشه‌چه فقط در شرایط شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر یک QTL نشان داد. qRLS12-1 بر روی کروموزوم شماره یک بین نشانگرهای ISSR13-ISSR1-5 و به فاصله ۸۴ سانتی‌مورگان واقع شد. محققان توانستند دو QTL برای طول ریشه‌چه با توجیه فنوتیپی ۱۰/۵ و ۱۲/۸ و اثرات افزایشی ۰/۹۹ و ۱۰/۲ تعیین نمایند که بر روی کروموزوم‌های یک و دو قرار داشتند (Wang et al., 2010).

برای صفت طول کلئوپتیل نیز فقط در شرایط شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر دو QTL شناسایی شد، qCLS12-1 و qCLS12-11 به ترتیب بر روی کروموزوم‌های یک و ۱۱ قرار داشتند. مقدار LOD برای qCLS12-1 ۳/۳۰۴ و اثر افزایشی ۰/۰۵ داشت که مقدار ۱۱/۱ درصد از تغییرات فنوتیپی طول کلئوپتیل را توجیه نمود. qCLS12-11 نیز در فاصله نشانگری ISSR12-4-ISSR9-3 به میزان ۱۳۸ سانتی‌مورگان و دارای LOD ۲/۰۴ بود. Mardani (2011) با استفاده از روش مکان-

یابی فاصله‌ای مرکب برای جمعیت برنج نسل F3 حاصل از تلاقی رقم‌های غریب و سپیدرود توانست دو QTL بر روی کروموزوم‌های چهار و ۱۱ شناسایی کند. qCL-4 QTL کوچک اثر بود و مقدار ۹/۷۲ درصد از تغییرات فنوتیپی را تبیین کرد. در حالی که QTLqCL-11 مقدار ۲۴/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت مذکور را توجیه نمود که یک QTL بزرگ اثر محسوب شد. تحت شرایط نرمال نیز، هفت QTL برای طول کلئوتیل بر روی کروموزوم‌های یک (دو مورد)، دو (دو مورد)، هفت، ۱۱ و ۱۲ شناسایی کردند که دارای ۱۲/۱۶ درصد توجیه فنوتیپی صفت بود (Oh et al. 2007). در پژوهش حاضر نیز بر روی کروموزوم شماره ۱۱ یک QTL تعیین شد. برای صفت طول گیاهچه فقط در شرایط تنش شوری ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر، یک QTL با مقدار LOD برابر با ۲/۳۶۳ و اثر افزایشی ۰/۰۹۷- شناسایی شد. qPLS22-5 بین دو نشانگر ISSR10-2-ISSR4-3 بر روی کروموزوم شماره پنج مشخص شد که توانست حدود هفت درصد از تغییرات فنوتیپی صفت فوق را تبیین کند که یک QTL کوچک اثر محسوب شد. در کل برای صفت‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی در هر سه سطح آزمایش QTL‌هایی شناسایی شدند. برای درصد جوانه‌زنی در شرایط نرمال دو QTL (qGPN10b و qGPN10a) بر روی کروموزوم شماره ۱۰ به ترتیب بین فواصل نشانگری ISSR15-2-ISSR14-2 و ISSR14-2-ISSR13-4 شناسایی شدند. مقدار اثر افزایشی ۰/۱۳۴- داشت و حدود ۵/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی را تبیین نمود. qGPN10b اثر افزایشی ۰/۱۳۴- بر روی صفت اعمال کرد و دارای توجیه ۵/۳ درصد از کل تغییرات فنوتیپی صفت بود. برای همین صفت در شرایط شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر qGPS12-7 بر روی کروموزوم شماره هفت به فاصله ۲۴ سانتی‌مورگان بین دو نشانگر ISSR4-6-RM500 قرار داشت. اثر افزایشی آن ۰/۲۸۶- با توجیه ۰/۵ درصد از تغییرات فنوتیپی بود که یک QTL کوچک اثر محسوب شد. در نهایت برای همین صفت در شرایط شوری ۲۲ دسی‌زیمنس، سه QTL بر روی کروموزوم‌های شش، هفت و ۱۰ شناسایی شدند. qGPS22-7 در دو سطح تنش شوری ۱۲ و ۲۲ دسی‌زیمنس نمایان شد که در شرایط شوری ۲۲ دسی‌زیمنس بر متر دارای اثر افزایشی ۰/۱۵۸- و مقدار LOD برابر با ۵/۴۷۹ بود و حدود ۰/۷ درصد از تغییرات صفت را تبیین نمود. qGPS22-6 با اثر افزایشی ۰/۱۳- مقدار ۱/۲ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را تبیین کرد که بین دو نشانگر ISSR2-3-ISSR4-5 قرار داشت. qGPS22-10 بر روی کروموزوم شماره ۱۰ در فاصله شش سانتی‌مورگان بین دو نشانگر qGPS22-10 با مقدار LOD ۱۱/۱۴۸ قرار گرفت. برای سرعت جوانه‌زنی در شرایط نرمال qGSN10 بر روی کروموزوم شماره ۱۰ به فاصله ۸ سانتی‌مورگان بین دو نشانگر ISSR14-2-ISSR13-4 قرار داشت. مقدار LOD برابر با ۶/۱۹۴ و اثر افزایشی ۰/۱۵۲- بود. در شرایط شوری ۱۲ دسی‌زیمنس qGSS12-6 بر روی کروموزوم شماره شش با فاصله ۷۶ سانتی‌مورگان بین نشانگرهای RM597-ISSR9-1 مشخص شد که مقدار LOD آن برابر با ۱۶/۰۷۲ و اثر افزایشی ۰/۳۶۷- بود. آخرین QTL شناسایی شده برای این صفت در این مطالعه QTLqGSS22-10 بر روی کروموزوم شماره ۱۰ بین دو نشانگر ISSR13-4-RM216 به فاصله ۱۰ سانتی‌مورگان موقعیت‌یابی شد (جدول ۴).



شکل ۱- نقشه پیوستگی بر اساس ۳۰ نشانگر SSR و ۱۵ نشانگر ISSR (۶۰ آلل چند شکل) روی ۹۶ فرد جمعیت F_۸ اهلمی طارم × ندا

Figure 1. Linkage map based on 30 SSR markers and 15 ISSR markers (60 polymorphic alleles and 96 individuals of Ahlami Taroum × Neda F₈ population)

جدول ۴- QTL های شناسایی شده در مرحله جوانه زنی

Table 4 - QTLs detected at the germination stage

Directed allele	جهت آل	R ²	اثر افزایشی Incremental effect	LOD	نشانه‌های مجاور Adjacent markers	Chromosome فاصله Interval	QTL	Trait	
				Normal	نرمال				
Ahlami	اهلمی	0.032	0.376	3.481	RM111-ISSR8-4	38	6	qWRN6a	
Neda	ندا	0.005	-0.588	5.317	ISSR8-4-RM597	42	6	qWRN6b	وزن ریشه‌چه Root weight
Ahlami	اهلمی	0.011	0.593	5.937	RM597-ISSR9-1	76	6	qWRN6c	
Ahlami	اهلمی	0.003	0.567	6.361	ISSR2-2-ISSR4-6	24	7	qWRN7	
Neda	ندا	0.055	0.039	2.115	ISSR11-2-RM504	84	3	qWSN3	وزن ساقه‌چه Plumule weight
Neda	ندا	0.045	-0.134	30.832	ISSR14--ISSR15-2 2	2	10	qGPN10a	درصد جوانه‌زنی Germination percentage
Neda	ندا	0.053	-0.134	35.218	ISSR14-2-ISSR13-4	8	10	qGPN10b	
Neda	ندا	0.014	-0.152	6.194	ISSR14-2-ISSR13-4	8	10	qGSN10	سرعت جوانه‌زنی Germination rate
شوری 12 دسی‌زیمنس بر متر (Salinity 12 dS.m ⁻¹)									
Neda	ندا	0.115	-0.032	2.259	ISSR13-1- ISSR13-2	82	1	qPWS12-1	وزن گیاهچه Seedling weight
Ahlami	اهلمی	0.082	0.054	2.105	RM594-ISSR13-1	80	1	qSWS12-1	وزن ساقه‌چه Plumule weight
Neda	ندا	0.071	-0.05	2.106	ISSR13-ISSR1-5	84	1	qRLS12-1	طول ریشه‌چه Radicle length
Ahlami	اهلمی	0.111	0.05	3.304	ISSR1-5-RM165	120	1	qCLS12-1	طول کلنوپتیل Coleoptile length
Ahlami	اهلمی	0.053	-0.064	2.04	ISSR12-4- ISSR9-3	138	11	qCLS12-11	
Neda	ندا	0.005	-0.287	21.250	ISSR4-6-RM500	24	7	qGPS12-7	درصد جوانه‌زنی Germination percentage
Neda	ندا	0.003	-0.367	16.072	RM597-ISSR9-1	76	6	qGSS12-6	سرعت جوانه‌زنی Germination rate
شوری 22 دسی‌زیمنس بر متر (Salinity 22 dS.m ⁻¹)									
Ahlami	اهلمی	0.007	0.015	5.361	RM597-ISSR9-1	76	6	qRWS22-6	وزن ریشه‌چه Radicle weight
Ahlami	اهلمی	0.014	0.015	5.983	ISSR2-2-ISSR4-6	24	7	qRWS22-7	
Neda	ندا	0.07	-0.097	2.363	ISSR10-2- ISSR4-3	72	5	qPLS22-5	طول گیاهچه Seedling length
Neda	ندا	0.012	-0.13	5.15	ISSR2-3-ISSR4-5	22	6	qGPS22-6	
Neda	ندا	0.007	-0.158	5.479	ISSR4-6-RM500	24	7	qGPS22-7	درصد جوانه‌زنی Germination percentage
Neda	ندا	0.022	-0.146	11.148	ISSR15-2- ISSR14-2	6	10	qGPS22-10	
Neda	ندا	0.031	-0.203	6.92 7	ISSR13-4- RM216	10	10	qGSS2-2-10	سرعت جوانه‌زنی Germination rate

منابع

- ابوذری گزارفودی ابوذر، هنرنزاد رحیم، فتوکیان محمد حسین (۱۳۸۷) بررسی تنوع ژنتیکی ارقام برنج با استفاده از داده‌های صفات مورفولوژیکی. مجله پژوهش و سازندگی. ۱۱۷-۱۱۰، (۱)۲۱.
- آقا علی زهرا، درویش زاده رضا، فرناز گودرزی (۱۳۹۵) تجزیه ارتباط صفات مورفولوژیک در کرچک (*Ricinus communis* L) با استفاده از نشانگرهای ISSR. مجله تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۲۴(۱)، ۷۹-۹۱.
- جوادی حامد، ثقه الاسلامی محمدجواد، موسوی سید غلامرضا (۱۳۹۳) بررسی اثر شوری بر جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه چهار گونه گیاه دارویی. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. ۱۱۲(۱)، ۶۴-۵۳.
- حسینی سالکده قاسم، نقدی محمدرضا، قره‌یاضی بهزاد (۱۳۹۳) نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۴۱ صفحه.
- ربیعی بابک، مردانی زهرا، قمی خدیجه و همکاران (۱۳۹۳) اثر کروموزوم شماره یک برنج بر صفات مرتبط با تحمل به شوری و خشکی در مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای. مجله به‌نژادی نهال و بذر. ۳۰(۱)، ۱-۱۶.
- صیوری حسین، رضایی عبدالمجید، مومنی علی (۱۳۸۷) ارزیابی تحمل به شوری در ارقام بومی و اصلاح شده برنج ایرانی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۱۲(۴۵)، ۶۳-۴۷.
- فرشادفر عزت‌الله (۱۳۸۹) مباحث نوین در ژنتیک بیومتری. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی. ۵۲۱ صفحه.
- مردانی زهرا (۱۳۹۰) شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن‌های تحمل به شوری در مرحله جوانه زنی برنج. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه گیلان.
- میرمحمدی‌میبدی علی محمد، قره‌یاضی بهزاد (۱۳۸۱) جنبه‌های فیزیولوژیک و به‌نژادی تنش شوری در گیاهان. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ۲۸۸ صفحه.

References

- Chen H, An R, Tang JH et al. (2007) Over-expression of avacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in an upland rice. *Mol Breed* 19, 215-225.
- Flowers TJ, Koyama ML, Flowers SA et al. (2000) QTL: Their place in engineering tolerance of rice to salinity. *J Exp Bot* 51, 99-106.
- Flowers TJ, Yeo AR (1981) Variability in the resistance of sodium chloride salinity within rice (*Oryzasativa* L.) varieties. *New Phytologist* 81, 363-373.
- Glenn A (2008) Allelopathic interference of invasive *Acacia dealbata* on the rice seedling growth, 5th World Congress on Allelopathy, New York, USA.
- Gramene (2015) <http://www.Gramene.org/microsat/ssr.html>.
- Gupta PK, Rustgi S, Kulwal PL (2005) Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: Present status and future prospects. *Plant Mol Bio* 57, 461-485.
- Haq TU, Akhtar J, Gorham J, Steele KA (2010) Dynamic quantitative trait loci for salt stress components on chromosome 1 of rice. *Func Plant Bio* 37, 634-645.
- Jing W, Jiang L, Zhang WW et al. (2008) Mapping QTL for Seed Dormancy in Weedy Rice. *Acta Agron Sinica* 34, 737-742.

- Kanbar A, Shashidhar HE, Hittalmani S (2002) Mapping of QTL associated with root and related traits in DH population of rice (*Oryza sativa* L.). Indian J Genet Plant Breed 62, 287-290.
- Khumallambam DD, Kshetrimayum P, Nandeibam SS, Huidrom SD (2013) An efficient protocol for total DNA extraction from the members of order Zingiberales-suitable for diverse PCR based downstream applications. Springer Plus 2, 1-9.
- Kosambi DD (1944) The estimation of map distances from recombination values. Annu Eug 12, 172-175.
- Koyama ML, Levesley A, Koebner RMD et al. (2001) Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. Plant Physiol 125, 406-422.
- Lafite HR, Ismail A, Bennet J (2004) Abiotic stress tolerance in rice for Asia: Progress and the future. New directions for a diverse planet. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress. Brisbane, Australia.
- Lander ES, Botstein D (1989) Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. Genet 121, 185-99.
- Lee SY, Ahn JH, Cha YS et al. (2007) Mapping QTLs related to salinity tolerance of rice at the young seedling stage. Plant Breed 126, 43-46.
- Lisa LA, Seraj ZI, Elahi CMF et al. (2004) Genetic variation in microsatellite DNA, physiology and morphology of coastal saline rice (*Oryzasativa* L.) landraces of Bangladesh. Plant and Soil 263, 213-228.
- McCouch SR, Cho YG, Yano PE et al. (1997) Report on QTL nomenclature Rice Genet. Newsletter 14,11-13.
- Mishra B, Singh RK, Jetly V (1998) Inheritance pattern of salinity tolerance in rice. J Genet Breed 52, 325-331.
- Mishra B (1996) Highlights of Research on Crops and Varieties for Salt Affected Soils. Karnal, India: CSSRI.
- Munns R, Termaat A (1986) Whole-plant responses to salinity. Aust J Plant Physiol 13, 143-160.
- Oh SJ, Kwon CW, Choi DW et al. (2007) Expression of barley HvCBF4 enhances tolerance to abiotic stress in transgenic rice. Plant Biotech J 15, 646-656.
- Prasad SR, Bagali P, Hittalmani S, Shashidhar HE (2000) Molecular mapping of quantitative trait loci associated with seedling tolerance to salt stress in rice (*Oryza sativa* L.). Current Sci78, 162-164.

- Sankar PD, Subbaraman N, Narayanan SL (2006) Ranking of salt tolerant rice lines based on germination and seedling growth under salt stress conditions. *Field Crops Res* 7, 798–803.
- Singh KN (1994) Crops and agronomic management. In: Rao E.A., ed. *Salinity Management for Sustainable Agriculture 25 Years of Research at CSSRI*. Karnal, India: Central Soil Salinity Research Institute. pp. 124–144.
- Singh RK, Redoña E, Gregorio GB et al. (2009) Right rice in the right place: Systematic exchange and farmer-centered evaluation of rice germplasm for salt-affected areas. In: Hoanh C.T., Szuster B., Kam S.P., Noble A., and M I.A., eds. *Tropical Deltas and Coastal Zones Community, Environment and Food Production at the Land-Water Interface*. CABI Publishing.
- Singh RK, Mishra B, Jetly V (2001) Segregations for alkalinity tolerance in three rice crosses. *Sabrao J Breed Genet*. 33, 31–34.
- Wang ZF, Wang JF, Bao YM et al. (2010) Inheritance of Rice Seed Germination Ability under Salt Stress. *Rice Sci* 17, 105-110.
- Zeng LH, Kwon TR, Liu XA et al. (2004) Genetic diversity analyzed by microsatellite markers among rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different adaptations to saline soils. *Plant Sci* 166, 1275–1285.

