Archive of SID

شماره ۷۰، بهار ۱۳۸۵

در زراعت و باغبانی

مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات مورفولوژیکی در یک جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب (RIL) خردل وحشی در شرایط تنش خشکی

• **عرت‌الله فرشادفر**، استاد دانشکده کشاورزی رازی
• **محسن فرشادفر**، استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه

تاریخ دریافت: بهمن ماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: بهمن ماه ۱۳۸۴

E-mail: mohsen_farshadfar@ yahoo.com

چکیده

به منظور مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات مورفولوژیکی گیاه خردل وحشی در شرایط تنش خشکی تعداد ۹۳ لاین اینبرد نوترکیب (RIL) حاصل از تلاقی دو اکوتیپ کلمبیا و نیدرزنز در دو شرایط آبی و تنش در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. در طول دوره رشد صفات تعداد برگ، اندازه رزت، ارتفاع گیاه، تعداد شاخه، تعداد کپسول وتاریخ گلدهی مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه QTL (Quantitative Trait Loci) با استفاده از نتایج صفات مورفولوژیکی و ۵۳ نشانگر SSR نشان داد که در شرایط تنش خشکی سه QTL ص بر روی کروموزوم‌های ۱و۴ صفت تاریخ گلدهی را کنترل می‌کنند. ارتفاع گیاه توسط یک QTL کنترل می‌شود که بر روی کروموزوم شماره یک قرار دارد. این QTL، حدود ۳۶ درصد از واریانس ژنتیکی را کنترل می‌کند. تعداد برگ و اندازه رزت هر یک توسط دو QTL کنترل می‌شوند که بر روی کروموزوم شماره۱ قرار گرفته‌اند. تعداد شاخه با ۸۹ درصد از واریانس ژنتیکی وتعداد کپسول با ۴۷ درصد از واریانس ژنتیکی، نیز هر یک توسط یک QTL کنترل می‌شوند که بر روی کروموزوم شماره یک قرار دارند.

کلمات کلیدی: خردل وحشی، تنش خشکی، لاین‌های اینبرد نوترکیب، تجزیه QTL

Pajouhesh & Sazandegi No 70 pp: 23-27

QTL analysis of morphological traits in *Arabidopsis thaliana* using recombinant inbred lines under water stress condition

By: E. Farshadfar, Professor of Plant Breeding, College of Agriculture, Razi University
M. Farshadfar, Assistant Professor of Plant Breeding, Kermanshah Research Centre of Agriculture and Natural Resources

To locate QTLs controlling morphological characters of *Arabidopsis thaliana* under waterstress condition, 93 recombinant inbred lines resulted from the cross between two ecotypes of Colombia and Niederzenz were tested using factorial experiment in a randomized complete block design with five replications. The characters: number of leaves,

www.SID.ir

Archive of SID

size of rosette, plant height, number of branches, number of silique and flowering time were measured during the experiment. The results of analysis of variance showed significant differences between ecotypes for all the characters measured indicating the presence of genetic variation. The results of QTL analysis using marker regression indicated that under water stress condition flowering time is controlled by 3 QTLs located on the chromosomes 1 and 4. Plant height is controlled by one QTL located on chromosome 1. Number of leaf and the size of rosett are controlled by two QTLs located on chromosome 1. Number of branch and silique are also controlled by one QTL located on chromosome 1. The contribution of QTLs controlling flowering time, plant heigh number of leaf, size of rosett, number of branch and number of silique in the total genetic variance was almost 90%, 72%, 89% and 47%, respectively.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, Water stress, Recombinant inbred lines, QTL analysis.

مقدمه

اگر چه بیشتر پیشرفت‌هایی که در قرن گذشته صورت گرفته است مربوط به تغییرات ساختمانی در ژن‌های اصلی است، اما بیشترتغییرات طبیعی مشاهده شده در گیاهان زراعی، مربوط به تغییرات کوچک ژنتیکی در تعداد زیادی از ژن‌هاست. تجزیه QTL[1] اصطلاحی است که برای مطالعه این تغییرات بکار می‌رود و هدف از آن مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی (QTL)، و تعیین اثرات متقابل بین QTL ها می‌باشد (۶، ۸، ۱۰، ۱۵، ۱۹). نظر به اینکه بیشتر صفات زراعی اقتصادی، کمی هستند، لذا شناسایی QTLها امکان بهره‌وری مستقیم از آنها را در برنامه‌های اصلاحی فراهم می‌آورد و از این نظر دارای ارزش اقتصادی بالایی هستند (۱۳). با استفاده از نقشه‌های کروموزومی لینکاژهای حاصل از نشانگرهای DNA امکان مکان‌یابی محل QTLها میسر می‌گردد. نظر به اینکه این نشانگرها تقریباً در کلیه جمعیت‌ها (حتی انسان) چند شکل هستند، لذا هر جمعیتی را می‌توان در معرض تجزیه QTL قرار داد (۱۸). از اطلاعات حاصل از تجزیه QTLها، امکان طراحی مؤثر برنامه‌های اصلاحی میسر می‌گردد. یکی از راه‌هایی که امروزه پیشنهاد شده است گزینش به کمک نشانگرها است (MAS)[2]، که ابزار مفیدی برای پیشرفت سریع ژنتیکی در صفات کمی می‌باشد (۲). ساکس (۱۷) برای اولین بار همبستگی بین یک نشانگر ژنتیکی با صفت کمی را در گیاهان برای وزن دانه و رنگ دانه در لوبیا مطرح کرد. یکی از گیاهانی که به عنوان گیاه مدل برای تجزیه QTL و تهیه نقشه نشانگرهای مولکولی زیاد مورد استفاده قرار گرفته است گیاه خردل وحشی گیاهی است دیپلوئید با اندازه کوچک ژنوم(۲n=۱۰=۲X) و دوره نسل کوتاه (۳،۱۴). هدف از این آزمایش مکان‌یابی QTLهای کنترل کننده بعضی از صفات مورفولوژیک وتعیین سهم آنها در واریانس ژنتیکی کل و پی بردن به میزان نوترکیبی بین نشانگرها و QTLها در شرایط تنش خشکی به منظور استفاده از آنها در MAS می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: تعداد ۹۹ لاین اینبرد نوترکیب (RIL) ، F_{10} حاصل از تلاقی دو اکوتیپ کلمبیا (Col) و نیدرزنز (Nd) استفاده شد و آنها در معرض رژیم آبی (قطع آب دو هفته بعد از جوانه زدن) قرار داده شدند. لاین‌های اینبرد نوترکیب در گلدان‌های ۶۰ میلی‌متری حاوی مخلوط کمپوست قرار گرفته و در اطاقک رشد با درجه حرارت ۲۲ درجه سانتیگراد و طول روز ۱۶ ساعت قرار گرفتند. گلدان‌ها در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، با ۵ تکرار مرتب شدند و صفات تعداد برگ، اندازه رزت، تاریخ گلدهی، ارتفاع گیاه، تعداد کپسول و تعداد شاخه در آنها اندازه‌گیری شد.

به منظور تجزیه QTL از نقشه گروه لینکاژ ۵۳ نشانگر SSR استفاده شد (۵)، به طوری که نشانگرها در ۵ گروه لینکاژی برای کروموزوم‌ها به ترتیب زیر: برای کروموزوم شماره۱ تا ۵ به‌ترتیب از ۱۳، ۸، ۹، ۷ و ۱۶ نشانگر SSR استفاده شد. استخراج DNA از رگه‌های اینبرد نوترکیب و تجزیه SSR با استفاده از روش Chenchu (۵) انجام شد. گروه بندی لینکاژی با استفاده از نشانگر SSR که دارای چند شکلی در بین والدین و جمعیت بودند انجام شد. از برنامه رایانه‌ای Join Map گروه بندی لینکاژی انجام شد. با استفاده از نتایج گروه‌بندی لینکاژی، صفات مورفولوژیکی و استفاده از برنامه رایانه‌ای QTL CAFÉ ، QTLهای کنترل کننده صفات اندازه‌گیری شده و سهم هر QTL در واریانس ژنتیکی با استفاده از روش Simple Composite Interval Mapping به دست آمد. به منظور به دست آوردن و اریانس ژنتیکی کل (Vg = ۲ Va) از امید ریاضی (EMS) جدول تجزیه واریانس که با استفاده از برنامه Minitab به دست آمده بود استفاده شد. سپس سهم هر QTL (α) با استفاده از فرمول، $a= Q^{+}Q^{+} - Q^{-}Q^{-}/2$ در واریانس ژنتیکی کل به دست آمد. برای محاسبه اثرات تجمعی صفاتی که با بیش از یک QTL کنترل می‌شوند از فرمول زیر استفاده شد/

$$۲v\alpha=\alpha_{۱}^{۲}+\alpha_{۲}^{۲}+۲(۱+۲R)\ \alpha_{۱}\alpha_{۲}$$

که در آن Va واریانس افزایشی، $\alpha_{۱}$ اثر افزایشی QTL اول، $a_{۲}$ اثر افزایشی QTL دوم و R نوترکیبی است که از فرمول $R=(۱-e^{-cm/۵۰})/۲$ به دست می‌آید.

نتیجه و بحث

تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده برای لاین‌های اینبرد نوترکیب در رژیم‌های مختلف آبی تفاوت بسیار معنی‌داری بین آنها نشان داد

www.SID.ir

Archive of SID

(جـدول۱) که بیانگر وجود تفـرق متفاوت به تغییـرات محیطی و امکان استفاده از آنها برای مطالعات مولکولی بعدی است. اثر متقابل لاین، رژیم آبی نیز برای کلیه صفات (بهجز تاریخ گلدهی) معنیدار شد که حساسیت لاینهـا به تنش محیطی را نشـان میدهـد. وجود تفاوت معنـیدار بین اکوتیپهای خردل وحشی و لاینهای اینبرد نوترکیب حاصل از دو اکوتیپ کلمبیـا و نیدرزنز برای صفات درصد جوانه زدن، تعداد برگ، تعداد رزت، ارتفاع گیاه، تعداد کپسـول و تعداد شاخه توسـط Hasasneh (۶) گزارش شده است.

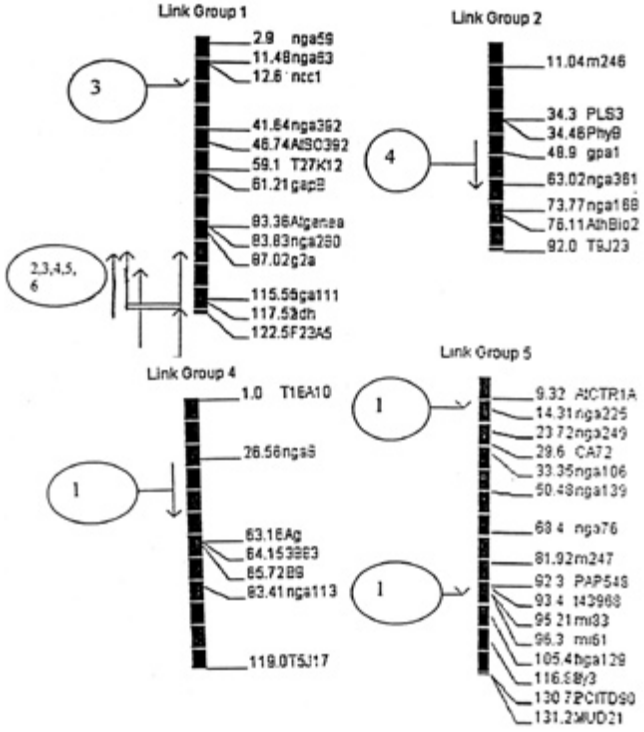
تجزیه QTL

به منظور مکانیابی QTLهای کنترل کننده صفات اندازهگیری شـده و برآورد اثر آنها از روش رگرسـیون نشانگر (۶، ۹) استفاده شد. دررگرسیون نشـانگر یک مـدل بر کلیـه میانگین نشـانگرهای موجود بـر روی یک کروموزوم معین بصورت همزمان برازش داده میشود، و سپس با استفاده از حداقل مربعات وزنی آزمونهای معنی انجام میشـود (۷). نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون نشانگر در جدول۲ آمده است.

نظر به اینکه رگرسیون برای ارتفاع گیاه، تعداد شاخه و تعداد کپسول بر روی کروموزوم شـماره یک معنیدار شده است، لذا نشان میدهد که QTLهـای کنتـرل کننده این صفات بر روی کروموزوم شـماره یک قرار دارنـد و به علاوه اثر آنها نیز معنیدار اسـت. همچنین باقیمانده برای مدل یک QTLای صفات یاد شـده معنیدار نشد که بیانگر آن است که صفات یاد شـده فقط توسـط یک QTL کنترل میشوند. رگرسـیون نشانگر برای دو صفـت تعـداد برگ و اندازه رزت در مدل دو QTLهای کنترل کننده تعـداد برگ بر روی کروموزم یـک و دو QTL کنترل کننده اندازه رزت بر روی کرموزومهای یک و دو قرار گرفته و دارای اثر افزایشی مثبت و معنیدار هستند. رگرسیون نشانگر برای تاریخ گلدهی نیز برای مدل بیش از دو QTL معنیدار شـده و باقیمانده آن معنیدار نیسـت که نشـان میدهد سـه QTLکنترل کننده تاریخ گلدهی بر روی کرموزومهای۴ و ۵ قرار دارند و بعلاوه دارای اثر افزایشـی معنیدار هستند. نتایج حاصل از تجزیهQTL، تعداد و سـهم QTLهای کنتـرل کننده صفات مورد مطالعه در جدول۳ آمده است.

تعداد QTL های کنترل کننده تاریخ گلدهی، ارتفاع گیاه، تعداد برگ، اندازه رزت، تعداد شـاخه و تعداد کپسـول بهترتیب برابر، ۳،۱،۲،۲،۱ و۱ میباشـد (جدول ۳). محـل کروموزومی QTL های کنتـرل کننده صفات یاد شـده برای تاریخ گلدهی کروموزومهای ۴و۵، ارتفاع گیاه کروموزوم ۱، تعـداد برگ کروموزوم ۱، اندازه رزت کروموزومهای ۱و۲، تعداد شـاخه کروموزوم ۱ و تعداد کپسـول نیز کروموزوم شـماره یک میباشد. سهم QTLهـای کنترل کننده صفات مذکـور در واریانس ژنتیکی برای تاریخ گلدهـی ۹۰درصـد، ارتفاع گیاه۳۶ درصد، تعداد بـرگ۷۲ درصد، اندازه رزت۸۹ درصد، تعداد شاخه۷۸ درصد و تعداد کپسول۴۷ درصد میباشد. محتملتریـن مکان QTL بـرای تاریخ گلدهی بـر روی کروموزوم۴ برابر ۴۶ سـانتی مورگان و کرومـوزوم۵ برابر ۸۸ سـانتیمورگان، برای ارتفاع گیاه۱۱۸ سـانتیمورگان، تعداد برگ۲۰ سـانتی مورگان، اندازه رزت۴۸ سـانتی مورگان، تعداد شـاخه و تعداد کپسـول نیز ۱۱۸ سـانتیمورگان میباشـد. نقشـه۵ گروه لینکاژ برای صفات اندازهگیری در شـکل۱ نشان داده شده است.

Taji و همـکاران (۱۸) تعداد ۲۵ ژن القاءکننده مقاومت به خشـکی و تاریخ گلدهی را با اسـتفاده از لاینهای اینبرد نوترکیب و نشـانگرRFLP مشـخص و نقشـه آنها را تعیین نمودند. نظر به اینکه نقـش این ژنها در خردل وحشـی دقیقاً مشـخص نبود لذا نقشه آنها را با نقشه جهشهای



شکل-۱ محل کروموزومی QTLهای کنترل کننده صفات مورد مطالعه در خردل وحشی در شرایط تنش خشکی

حاصل از تنش خشـکی مقایسـه نمودند و پیشـنهاد کردند که بیشـتر ژنهـای کنترل کننده مقاومت به خشـکی بر روی کرومـوزوم۱و ۵ قرار دارد. Welin و همـکاران (۲۰)، Hasasneh (۶)، و Chenchu (۵) بـا اسـتفاده از لاینهای اینبرد نوترکیب و در شـرایط تنش آبی و استفاده از نشـانگرهایSsR نتیجه گرفتند که تاریخ گلدهی، ارتفاع بوته، تعداد شـاخه، تعداد کپسـول و اندازه رزت بهترتیب توسـط ۳،۱،۱،۱ و ۲ QTL کنترل میشوند که بر روی کروموزومهای۱، ۲، ۴ و ۵ قرار دارند و بین ۲۷ تـا ۸۹ درصد از واریانس ژنتیکی را توضیح میدهند. Alonso و همکاران (۱) تاریخ گلدهی را در خردل وحشـی مورد مطالعه قرار داد و پیشـنهاد نمود که تعداد سه QTL این صفت را کنترل میکنند. اولین نقشه ژنتیکی خردل وحشی با استفاده از جمعیت F2 به دست آمد (۴، ۱۴). به منظور تهیه نقشـه بهتر خصوصاً از نظر ترتیب نشـانگرها، لازم اسـت که تهیه نقشـه نشـانگرها در یک جمعیت باشـد، به همین دلیل بود که Reiter و همکاران (۱۶) Lister و Dean (۱۱) لاینهای اینبرد نوترکیب را بوجود آوردند که سبب تهیه نقشه دائمی جمعیتها میشوند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول-۱ تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده لاین‌های اینبرد نوترکیب در رژیم‌های مختلف آبی

		میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجات آزادی	تعداد برگ	اندازه رزت	تاریخ گلدهی	ارتفاع گیاه	تعداد کپسول	تعداد شاخه
لاین‌های اینبرد	۹۲	۷/۲۴**	۴۱۸/۹**	۷۹/۳۴**	۴۴۲۶**	۸۳۳۲**	۱۰/۰۴
رژیم آبی	۱	۳۱۳/۶۳**	۵۴۲۸۸**	۲۴/۲۵**	۹۱۲۰۲۲**	۸۶۳۹۸۱**	۱۱۸۳۴**
لاین و رژیم آبی	۹۲	۳/۰۰۱**	۳۵۲/۸**	۷/۰۰۸ Ns	۴۵۷۶**	۸۵۸۳**	۱۰/۱۲
اشتباه	۵۱۳	۳۲/۲	۲۲۸/۶	۶/۸۴	۲۰۳۸	۵۴۲۷	۶/۹۳

**-* به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال۵ درصد و یک درصد ns=؛ معنی‌دار نیست.

جدول۲ - نقشه‌یابی QTLهای کنترل کننده صفات مورد مطالعه با استفاده از رگرسیون نشانگر

		میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجات آزادی	تعداد برگ	اندازه رزت	تاریخ گلدهی	ارتفاع گیاه	تعداد کپسول	تعداد شاخه
رگرسیون	۱	۵۲۴۹/۵۶**	۴۳/۴۸**	۱۸۳/۶۵**	۲۲۷/۷۵**	۱۵/۰۷**	۲۸/۰۱*
باقیمانده	۱۱	۲۲۱/۶۷**	۰/۲۴ ns	۲/۷۹ ns	۷/۱۱ ns	۰/۱۸۲ ns	۱/۹۴ ns
اشتباه	۸۰	۱۰۷/۸۷	۰/۴۹	۲/۰۳	۰/۸۳	۰/۳۰۷	۰/۸۵

*و، ** ، -ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال۵ درصد و یک درصد و معنی‌دار نیست.

جدول۳ - تعداد، محل و سهم QTLهای کنترل کننده صفات مورد مطالعه درلاین‌های اینبرد نوترکیب خردل وحشی در شرایط تنش خشکی

شماره	صفت	تعدادQTL	شماره کروموزوم	درصد واریانس افزایشی	محتمل ترین مکان QTL برروی کروموزوم به سانتی مورگان (cM)
۱	تاریخ گلدهی	۳	۴ و ۵	۹۰	۴۶ و ۸۸
۲	ارتفاع گیاه	۱	۱	۳۶	۱۱۸
۳	تعداد برگ	۲	۱	۷۲	۲۰
۴	اندازه رزت	۲	۱ و۲	۸۹	۴۸
۵	تعداد شاخه	۱	۱	۷۸	۱۱۸
۶	تعداد کپسول	۱	۱	۴۷	۱۱۸

www.SID.ir

Archive of SID

نشـانگرهای مولکولی که معمولاً در خردل وحشـی اسـتفاده می‌شد RFLP بـود که هم بـارز و قابل اعتماد بود اما بسـیار پرزحمت (۴، ۱۲). نشـانگرهای مبتنی بر PCR دارای سـرعت بیشتری بوده و نیاز به مقدار کمی DNA دارند، اما در خردل وحشی نشانگرهای PCR یا غالب هستند و قابلیت تکرار ندارند مانند RAPD (۱۶) و یا اینکه بسیار پلیمرفیک بوده و هم بارز هستند مانند SSR (۲) که در این آزمایش از SSR استفاده شد و تنها محدودیت آن است که تعداد محدودی قابل دسترس می‌باشد.

سهم QTL کنترل کننده ارتفاع گیاه۳۶ درصد است که نشان می‌دهد سهم آن در اثر افزایشی زیاد نیست، به همین صورت سهم QTLکنترل کننده تعداد کپسول در واریانس افزایشی چندان زیاد نیست. این QTLها دارای اثر افزایشی بر روی ارتفاع و تعداد کپسـول هستند زیرا علامت QTL مثبت است / تعداد برگ و اندازه رزت هر یک با دو QTL کنترل می‌شوند که به‌ترتیب۷۲ درصد و ۷۸ درصد واریانس افزایشی را در بر می‌گیرند. لازم به ذکر است که هنگامی‌که دو یا چند QTL بر روی کروموزوم هستند، سهم مورد انتظار آنها در واریانس افزایشی به علت عدم تعادل لینکاژ برابر حاصل جمع اثرات انفرادی آنها نیست (۹). نظر به اینکه QTLهای کنترل کننده ارتفاع گیاه و تعداد کپسـول سـهم چندانی در اثر افزایشـی این دو صفت ندارند، لذا احتمالاً QTLهای بیشـتری در کنترل این صفات دخالت دارند اما سـهم آنها چندان زیاد نیست که بتوان آن را برآورد کرد. دلیل این امر آن اسـت که اسـتفاده از نشانگرهای مولکولی و روش‌هـای آماری برای برآورد تعـداد و محل QTLها تابع اندازه آزمایش و حجم آثار انفرادی ژن‌هاست و به همین دلیل معمول ابرآوردها کمتر از حد ۱ است و آندسته ازQTL هایی به دست می‌آیند که اثرات بزرگتری دارند. با توجه به پیچیده بودن صفات مورفولوژیکی تعمیم نتایج قابل اعتماد QTL برای MAS احتیاج به تکرار آزمایش می باشد که انشاءالله انجام خواهد گرفت.

پاورقی‌ها

1- Quantitative trait loci

2- Marker assisted selection

منابع مورد استفاده

1- Alonso-Blanco, C. Eiassl, S. Coupland, G., and Koorneef, M.1998; Analysis of natural allelic variantion at flowering time loci in Landsberg erecta and cape Verde Island ecotypes of Arabidopsis. thaliana. Genetics. 149:749-764.

2- Bell, C.J., and Ecker, J.R. 1994; Assignment of 30 micro satellite loci to the linkage map of Arabidopsis. Genomics. 19:137-144.

3- Bergelson, J., Stahl, E., Dudek, S. and Kreitman, M. 1997; Genetic variation with in and among populations of *Arabidopsis thaliana*. Genetics. 148: 1311-1323.

4- hang, C., Bowman, J., Dejohn, A.W., Lander, E.S., and Meyerwitz, E.M. 1988; Restriction fragment lenght polymorphism. Acda. Sci. USA:85,6856-6860.

5- Chenchu, P. 1999; QTL analysis in Arabidopsis thaliana by recombinant inbred lines of Niederzenz and Columbia. M. Sc Thesis. School of Biosciences. University of Birmingham.UK.

6- Hasasneh, H. 2001; Selection under drought conditions in *Arabidopsis thaliana*. M. Sc.Thesis School of Biosciences, University of Birmingham. UK.

7- Kearsey, M.J. 1998; The principles of QTL analysis (a minimal mathematics J. of Experimental Botany. 49(327):1619-1623.approach).

8- Kearsey, M.J. and Farquhar. A.G.L. 1998; QTL analysis in plants; where are we now? Heredity. 80:137-142.9- Kearsey, M.J. and Pooni. H.S.1998; The Genetical Analysis of Quantitative Traits.Chapman and Hall. Oxford. UK.

10- Kristin, S., Brothers, M. and Kelly. J.D. 1997; Marker-Assisted Selection to improve drought resistance in common bean. Crop Sci. 37:51-60.

11- Lister, C., and Dean, C. 1993; Recombinant inberd lines for mapping RFLP and phenotypic markers in *Arabidopsis thaliana*. Plant Journal. 4:745-750.

12- Liu, Y.G., Mitsukama, N., Lister, C., Lammer, D., Turner, J. and Estelle. M. 1993; Isolation and mapping of a new set of 129 RFLP markers in *Arabidopsis thaliana* using recombinant inbred lines. Plant Journal, 10:733-736.

13- Mather, K. 1949; Biometrical genetics. 1st Edn. Methuen, London.

14- Nam, H.G., Giravdat, J., B. Moonan, F. Loose, Hauge, B.M., and Goodman, H.M. 1989; Restriction fragment length polymorphism linkage map of *Arabidopsis thaliana*. Plantcell:1:699-705.

15- Nienhuis, J., R. Sills., B. Martin and G. King. 1994; Variance for water use efficiency among ecotypes and recombinant inbred lines of *Arabidopsis thaliana*. American journal of Botany. 81(8):943-947.

16- Reiter, R.S., William, J.G., Feldman, K., Rafalski, J., Tingey, S. and scolnik, P.A. 1992; Glohal and local genome mapping in *Arabidosis thaliana* by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNA. Proc. Natl. Acad Sci. USA. 89:1477-1481.

17- Sax, K. 1923; The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. Genetics. 8: 552-560.

18- Taji, T., M. Seki, Y.S. Kazuko, H, Kamada, J. Givaudat and K, Shinozaki. 1999; Mapping of 25 drought-inducible genes, RD and ERD in *Arabidopsis thaliana*. Plant CellPhysiol. 40(1):119-123.

19- Van Berloo, R. and P. Stam. 1999; Comparison between marker-assisted selection and phenotypical selection in a set of *Arabidopsis thaliana* recombinant inbred lines. Theor. Appl. Genet. 98:113-118.

20- Welin, B., Olson, and Palva, E.T. 1995; Structure and Organization of two closely related low-temperature-indnced genes in *Arabidopsis thaliana*. Plant Mol. Biol. 29:391-395.

www.SID.ir