



مطالعه QTL های مرتبط با بنیه بذر در عکس العمل به تنش اسمتیک به دست آمده از سوربیتول در برنج

* حسین صبوری^۱، عباس بیابانی^۱، عاطفه صبوری^۲ و مجید محمد اسمعیلی^۳

^۱استادیار، گروه تولیدات گیاهی، مجتمع آموزش عالی گنبد، ^۲استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه گیلان
^۳استادیار، گروه منابع طبیعی، مجتمع آموزش عالی گنبد
تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۳۱؛ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱/۲۸

چکیده

به منظور تجزیه ژنتیکی بنیه بذر برنج در شرایط تنش اسمتیک به دست آمده از سوربیتول، ارقام طارم محلی (متحمل به تنش‌های اسمزی) و خزر (حساس به تنش‌های اسمزی) تلاقی داده شدند. نقشه پیوستگی براساس نشانگرهای ریزماهواره با استفاده از ۷۴ نشانگر چندشکل در دو والد و ۱۹۲ فرد جمعیت F_2 تهیه گردید. سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در ۲۰ فرد از هر خانواده در نسل F_3 اندازه‌گیری شد. مکان‌های ژنی مرتبط با این صفات با روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب ردیابی گردیدند. نقشه، پیوستگی ۱۲۳۱/۵۰ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد. از بین QTL های ردیابی شده $qGR-1b$ روی کروموزوم ۱ و $qRL-12a$ روی کروموزوم ۱۲ به ترتیب با ۲۳ و ۲۵ درصد تغییرات فنوتیپی سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه را توجیه نمودند. آلل‌های والد طارم محلی در $qRL-12a$ طول ریشه‌چه‌ها را به اندازه ۶/۷۰ میلی‌متر افزایش دادند. QTL های بزرگ اثر مکان‌یابی شده برای طول ساقه‌چه در این مطالعه روی کروموزوم ۵ و ۱۲ قرار داشتند. بالا بودن درصد توجیه $qGR-1b$ ، $qRL-12a$ ، $qRL-5a$ و $qSL-12$ آن‌ها را کاندید بسیار مناسبی برای برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر در جمعیت‌های برنج ایرانی ساخت.

واژه‌های کلیدی: برنج (*Oryza sativa* L.)، جوانه‌زنی، نقشه‌یابی صفات کمی، ریزماهواره

* مسئول مکاتبه: hos.sabouri@gmail.com

مقدمه

پس از گندم و ذرت برنج یکی از مهم‌ترین غله تامین‌کننده غذا در جهان می‌باشد، به طوری که غذای بیش از نیمی از جمعیت جهان را فراهم می‌کند (یوشیدا، ۱۹۸۱). قدرت جوانه‌زنی بذر برنج یکی از صفات مفید برای گیاه در شرایط عادی و تنش می‌باشد (پترسون و همکاران، ۱۹۷۸؛ مک‌کنزی و همکاران، ۱۹۸۰) و توان بالای قدرت جوانه‌زنی بذور یک ژنوتیپ، کمک زیادی در جلوگیری از رشد علف‌های هرز نیز می‌نماید، بنابراین استفاده از ارقام دارای قدرت جوانه‌زنی بالا در نواحی گرمسیری که با تنش خشکی مواجه هستند لازم به نظر می‌رسد (پترسون و همکاران، ۱۹۷۸؛ یوشیدا، ۱۹۸۱). به طوری که امروزه توان جوانه‌زنی بالا یکی از صفاتی است که در ایجاد و توسعه ارقام برنج اصلاح شده مورد توجه قرار می‌گیرد (ژنگ و همکاران، ۲۰۰۵؛ ژنگ و همکاران، ۲۰۰۶) و ادغام ژن‌های مرتبط با قدرت جوانه‌زنی بالا در ارقام اصلاح شده برنج امری ضروری به نظر می‌رسد. مطالعات ردونا و مک‌گیل (۱۹۹۶)، ژنگ و همکاران (۲۰۰۵)، وان و همکاران (۲۰۰۶) و ژنگ و همکاران (۲۰۰۶) کمی بودن صفات مرتبط با جوانه‌زنی بذر را در برنج را اثبات کردند. درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، اندازه جنین، ذخایر پروتئینی درون بذر پس از جذب آب، صفاتی هستند که در راستای بهبود بنیه بذر مورد توجه محققان بوده است. به‌رغم وجود تنوع ژنتیکی برای قدرت جوانه‌زنی و صفات مرتبط با جوانه‌زنی در برنج، اصلاح‌کنندگان این گیاه تاکنون موفقیت چشم‌گیری در بهبود این صفات از طریق روش‌های کلاسیک نداشته‌اند (میورا و همکاران، ۲۰۰۲)، اما با رشد چشم‌گیر استفاده از نشانگرهای مولکولی از دهه ۷۰ ابزار قدرتمندی برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی صفات کمی مرتبط با جوانه‌زنی فراهم شده است (مگونجا و همکاران، ۱۹۹۳؛ ریبات و هوسینگتن، ۱۹۹۸؛ مک‌گیل و همکاران، ۱۹۹۹). ردونا و مک‌گیل (۱۹۹۶) در دو درجه حرارت ۱۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد، سیزده QTL^۱ را ردیابی نمودند که چهار QTL طول ساقه‌چه روی کروموزوم‌های ۱، ۳ و ۹ قرار داشتند. دو QTL طول ریشه‌چه روی کروموزوم‌های ۱ و ۲ ردیابی شدند و دو QTL برای طول کلئوپتیل روی کروموزوم‌های ۳ و ۶ تشخیص داده شدند. دونگ و همکاران (۲۰۰۳) گزارش نمودند که QTL‌های مرتبط با عرض جنین روی کروموزوم‌های ۲، ۸ و ۱۰ قرار داشته و به ترتیب ۱۳/۵، ۱۵/۷ و ۱۵ درصد از تغییرات عرض جنین را توجیه می‌نمایند. نظر به توجیه بالای

صفت عرض جنین در مطالعه دونگ و همکاران (۲۰۰۳)، این محققان QTL های شناسایی شده در مطالعه خود را کاندید خوبی برای برنامه انتخاب به کمک نشان گر (MAS)^۱ معرفی نمودند. ژنگ و همکاران (۲۰۰۵) QTL های مرتبط با سرعت جوانه زنی را در ۹، ۷ و ۱۱ روز پس از آغاز آزمون جوانه زنی ردیابی نمودند. QTL های کوچک اثر مرتبط با سرعت جوانه زنی در این سه مرحله با هم منطبق نبودند. وان و همکاران (۲۰۰۶) پنج QTL را برای خواب بذر روی کروموزوم های ۱، ۳، ۵ و ۷ گزارش نمودند. در همه QTL ها به جز یک QTL آلل های والد ان ۲۲^۲ در جمعیت تلاقی برگشتی (نانجینگ ۳۵/ان ۲۲/ نانجینگ ۳۵) خواب بذر را افزایش دادند. کانبر و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند که QTL های مرتبط با طول ساقه چه (۱- qsl و ۲- qsl) بزرگ اثر (به ترتیب با توجه ۳۸/۲۷ و ۲۶/۴۰ درصد از تغییرات) بوده و روی کروموزوم ۲ قرار داشتند. ژنگ و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که سه QTL کنترل کننده توان ذخیره ای بذر روی کروموزوم های ۹، ۱۱ و ۱۲ قرار داشته و در مجموع ۳۵/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی کل را توجیه می نمایند. صبوری (۲۰۱۰) در بررسی مکان های کنترل کننده صفات کمی مرتبط با جوانه زنی جمعیت F_۲ طارم محلی × زر تحت شرایط شوری NaCl، چندین QTL برای کنترل صفات یاد شده ردیابی نمودند. از بین QTL های ردیابی شده برای سرعت جوانه زنی در این مطالعه، qGR-10 روی کروموزوم ۱۰ با ۶۰/۹۷ درصد تبیین تغییرات فنوتیپی، بالاترین درصد توجیه تغییرات را داشت. اثر افزایشی ناحیه ای از ژنوم برنج روی کروموزوم ۷، مثبت و در جهت افزایش سرعت جوانه زنی بود. بین QTL های ردیابی شده برای طول ریشه چه qRL-8 با تبیین ۴۰/۲۱ درصد بالاترین درصد تبیین تغییرات فنوتیپی کل را داشت. آلل های والد طارم در qRL-1 و qRL-10 طول ریشه چه ها را به ترتیب به اندازه ۰/۳۱ و ۰/۸۸ میلی متر افزایش دادند. همه QTL های بزرگ اثر مکان یابی شده برای طول ساقه چه در این مطالعه روی کروموزوم یک قرار داشتند. با توجه به این که کشت برنج در برخی از استان های کشور مانند اصفهان و گرگان تحت تأثیر تنش های اسمتیک خشکی و شوری قرار دارد، تجزیه ژنتیکی صفات مرتبط با جوانه زنی در شرایط تنش اسمتیک لازم به نظر می رسد. هدف مطالعه حاضر تعیین ساختار ژنتیکی و نوع اثرات حاکم بر خصوصیات مرتبط با جوانه زنی در جمعیت برنج ایرانی تحت تنش اسمزی به وجود آمده توسط سوربیتول بود.

1- Marker Assisted Selection

2- N22

3- Nanjing35

مواد و روش‌ها

جهت مکان‌یابی صفات مرتبط با جوانه‌زنی در جمعیت برنج ایرانی تحت تنش اسمزی، دو والد طارم محلی (متحمل به تنش اسمزی) به‌عنوان والد پدری با خزر (حساس به تنش اسمزی) تلاقی داده شدند. والدین تلاقی براساس آزمایش‌های سال‌های ۲۰۰۸-۲۰۰۹ برنامه چالش جهانی آب و غذا انتخاب شدند (صبوری و همکاران، ۲۰۰۷a؛ صبوری و همکاران، ۲۰۰۷b؛ صبوری و همکاران، ۲۰۰۷c؛ صبوری و همکاران، ۲۰۰۹a؛ صبوری و همکاران، ۲۰۰۹b). برای تهیه جمعیت F_2 ، بذور F_1 در سال ۱۳۸۴ در مؤسسه تحقیقات برنج کشور کشت شدند. ۲۰ بوته از هر فامیل F_3 و والدین برای ثبت داده‌های فنوتیپی در سال ۱۳۸۶ کشت شد. سه خصوصیت سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در ۱۰۰ بذر به‌دست آمده از هر بوته (۲۰ بوته) موردنظر از هر خانواده F_3 و والدین بررسی شد و از میانگین داده‌های هر خانواده برای تجزیه و تحلیل استفاده گردید. بذور پس از استریل شدن با محلول ۰/۶ درصد هیپوکلرید سدیم^۱ به پتری‌دیش‌های استریل منتقل گردیدند. درون پتری‌دیش‌ها کاغذهای صافی جای‌گذاری شده و درون هر یک ۵ میلی‌لیتر آب با هدایت الکتریکی ۸ دسی‌زیمنس بر متر به‌دست آمده از سوربیتول^۲ وجود داشت. پس از ۲۴، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۴۴ ساعت قرار گرفتن در پتری‌دیش‌ها تعداد بذور جوانه‌زده برای هر بوته خانواده‌های F_3 جهت محاسبه سرعت جوانه‌زنی ثبت شدند. برای محاسبه سرعت جوانه‌زنی از فرمول مگاویر (۱۹۶۲) استفاده شد:

تعداد روز تا اولین شمارش/تعداد گیاهچه‌های طبیعی+...+تعداد روز تا شمارش آخر/تعداد گیاهچه‌های طبیعی در زمان قرائت آخرین تعداد بذور جوانه زده، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه اندازه‌گیری شد. همه عملیات مربوط به ثبت داده‌های فنوتیپی در دستگاه ژرمناتور و براساس استاندارد انجمن بین‌المللی تجزیه بذر ASOA (۱) انجام شد. DNA ژنومی از برگ‌های بوته‌های F_2 براساس روش پیشنهادی توسط ساقی معروف و همکاران (۱۹۹۴) استخراج شد. در ارزیابی اولیه ۳۶۵ آغازگر ریزوماهواره^۳ با توجه به نقشه ژنتیکی چن و همکاران (۱۹۹۷)، تمیخ و همکاران (۲۰۰۰) و مک‌کوچ و همکاران (۲۰۰۲) به‌نحوی انتخاب شد که اولاً به‌طور متوسط ۱۰ سانتی‌مورگان از هم فاصله داشته باشند و ثانیاً روی ۱۲ کروموزوم برنج پراکنده شده باشند. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز روی ژل‌های

1- NaClO

2- C₆H₁₄O₆

3- Simple Sequence Repeat

توالی یاب ۶ درصد پلی‌اکریلامید (باسام و همکاران، ۱۹۹۱؛ کرسنه و همکاران، ۲۰۰۱) ارزیابی شدند. نقشه ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار مپ منیجر کیو تی ایکس ۱۷^۱ (مانلی و اولسون، ۱۹۹۹) و فاصله ژنتیکی براساس نوترکیبی و با استفاده از تابع کوزامبی (۱۹۴۴) محاسبه شدند. برای مشخص نمودن QTLها از مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (لندر و بوتیستین، ۱۹۸۹) استفاده شد. حد بحرانی برای تشخیص QTLها، ۲/۵ در نظر گرفته شد. مکان، نسبت درست‌نمایی و پارامترهای ژنتیکی مرتبط با هر کدام از QTLهای ردیابی شده در هر کدام از روش‌های اعمال شده با استفاده از نرم‌افزار کیو تی ال کارتوگرافر ۲/۵^۲ (باستین، ۲۰۰۱) تخمین زده شدند.

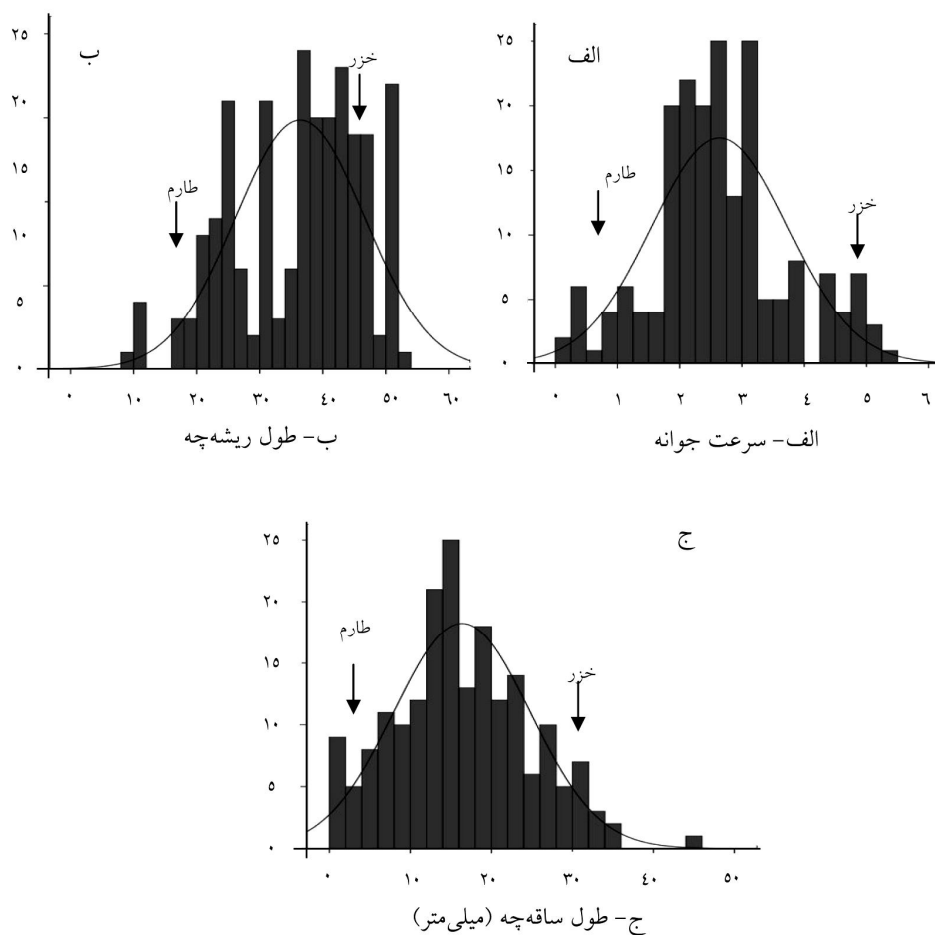
نتایج و بحث

سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه طارم محلی بیش‌تر از خزر بود (شکل ۱). تغییرات فنوتیپی برای سرعت جوانه‌زنی طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، پیوسته و کمی بودن آن‌ها را برای طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نشان داد (شکل ۱).

۷۴ نشانگر چندشکل در ۱۲ گروه پیوستگی معادل تعداد کروموزوم‌های برنج قرار گرفتند (شکل ۲). نقشه پیوستگی ۱۲۳۱/۵۰ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد. نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب، دو QTL را برای سرعت جوانه‌زنی شناسایی نمود (جدول ۱ و شکل ۳). به این صورت که QTLهای سرعت جوانه‌زنی روی کروموزوم ۱ (qGR-1a و qGR-1b) قرار داشتند. آلل‌های والد خزر در جهت کاهش سرعت جوانه‌زنی عمل نمودند و به‌طور متوسط ۱۳ درصد سرعت جوانه‌زنی را کاهش دادند. نوع عمل ژن در qGR-1a به‌صورت غالبیت ناقص بود، در حالی که در qGR-1b فوق‌غالبیت حاکم بود. بالاترین درصد توجیه تغییرات فنوتیپی متعلق به qGR-1b و به اندازه ۲۳ درصد بود (جدول ۱). ژنگ و همکاران (۲۰۰۵) QTLهای مرتبط با سرعت جوانه‌زنی را روی کروموزوم‌های ۱، ۴ و ۷ ردیابی نمودند. بالا بودن درصد توجیه qGR-1b آن را کاندید بسیار مناسبی برای برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر در جهت انتخاب منفی ساخت. خصوصیات مرتبط با جوانه‌زنی مانند سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه تأثیر زیادی روی بسیاری از جنبه‌های تولید برنج و رشد گیاهچه‌های برنج به‌خصوص در مناطق خشک اعم از گرم و سرد دارد.

1- Mapmanager QTbX17

2- QTL Cartographer v 2.5



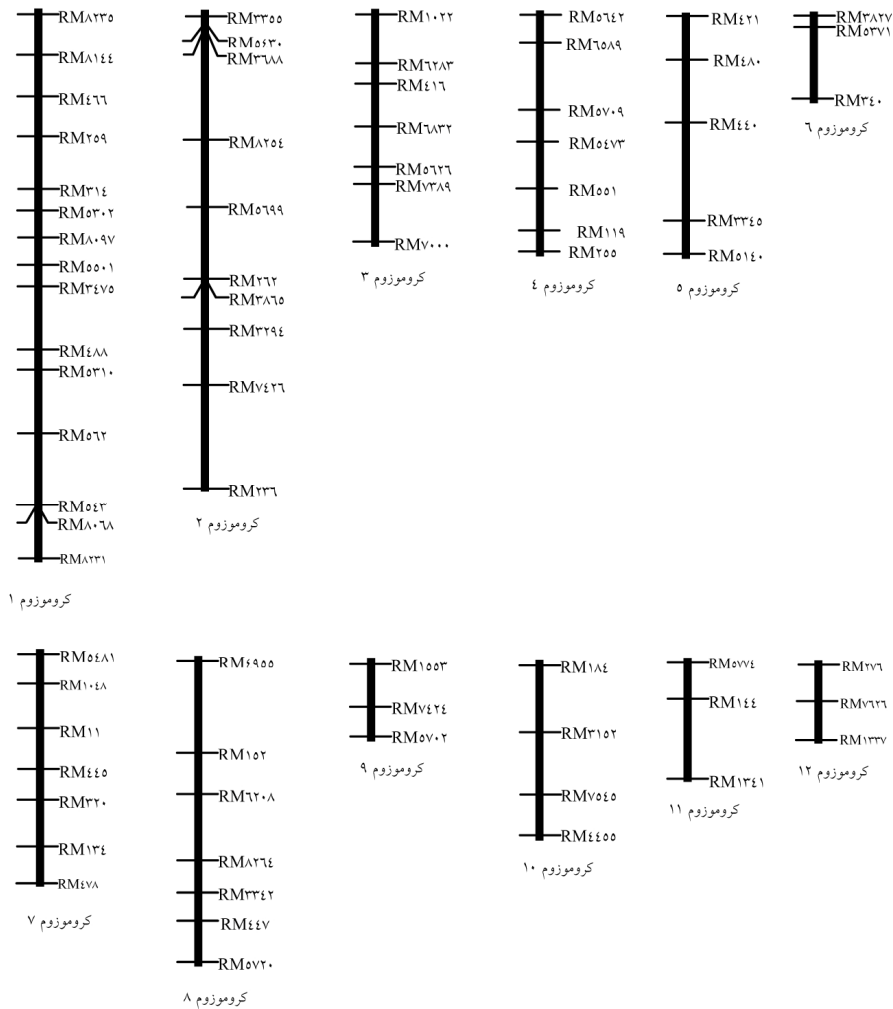
شکل ۱- توزیع فراوانی صفات مرتبط با جوانه‌زنی در جمعیت $F_{2,3}$ تلاقی طارم محلی و خزر.

شناسایی الگوی ژنتیکی صفات مرتبط با جوانه‌زنی با استفاده از ژرم پلاسماهای متنوع به فهم مکانیسم ژنتیکی این صفات در بذر کمک خواهد کرد تا بتوان مدیریت کارایی را در تولید برنج و نگهداری ژرم پلاسما ایفا خواهد نمود. کانبار و همکاران (۲۰۰۶) روی کروموزوم ۷ اما در فاصله‌ای دورتر و در انتهای کروموزوم، دو QTL برای نسبت وزن ریشه‌چه به ساقه‌چه گزارش نمودند. ردونا و مک‌گیل (۱۹۹۶) نیز برای طول مزوکوتیل یک QTL بزرگ اثر با ۲۸/۵ درصد روی کروموزوم ۷، و در

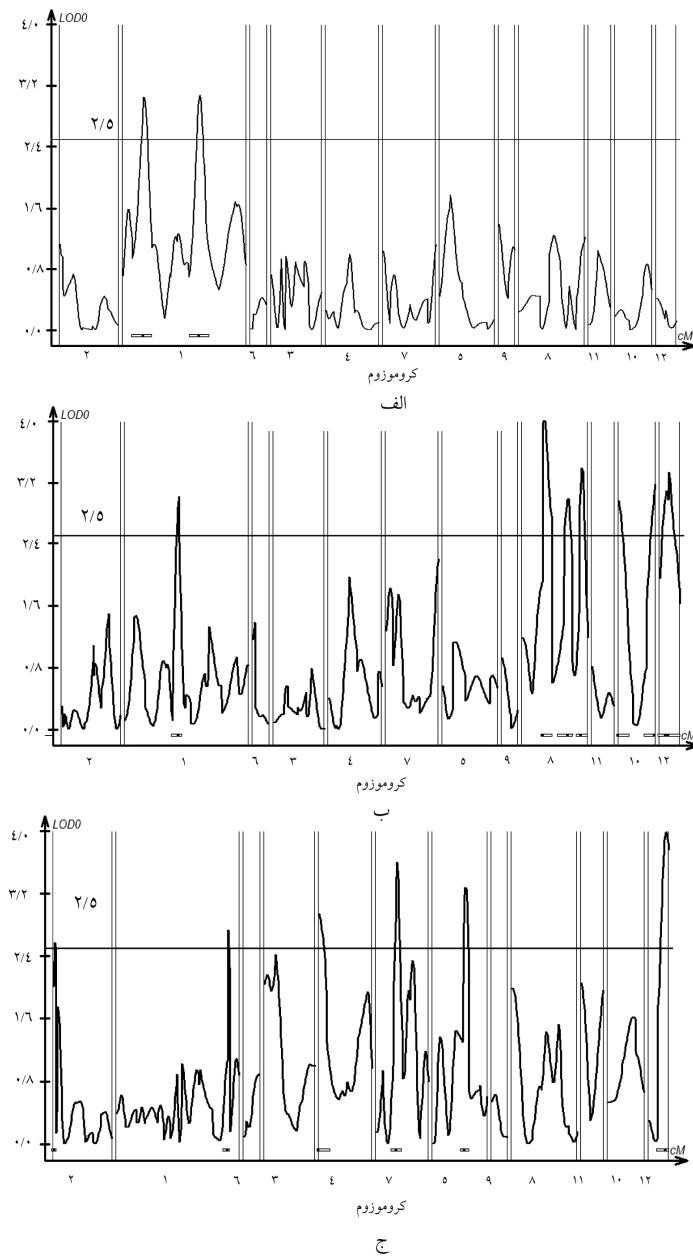
ناحیه‌ای که QTL‌های مطالعه حاضر ردیابی شد، گزارش نمودند. میورا و همکاران (۲۰۰۲) روی کروموزوم ۷ و بین نشانگرهای R۱۳۵۷ و C۸۴۷ یک QTL کوچک اثر و ۶/۸ درصد تبیین تغییرات فنوتیپی برای خواب بذر و در جهت کاهش دوره خواب گزارش نمودند.

جدول ۱- QTL‌های شناسایی شده برای صفات مرتبط با جوانه‌زنی.

واریانس بیان شده (درصد)	اثر غالبیت	اثر افزایشی	نسبت درست‌نمایی	نقطه اوج (cM)	نشانگرهای مجاور	کروموزوم	QTL	صفات
۱۹	۶/۴۴	-۸/۴۶	۱۴/۰۲	۴۵/۱	RM۴۶۶-RM۲۵۹	۱	qGR-۱a	سرعت
۲۳	۲۵/۶۰	-۲۳/۲۶	۱۴/۱۶	۱۶۵/۱	RM۳۴۷۵-RM۴۸۸	۱	qGR-۱b	جوانه‌زنی
۶	۱/۴۵	۵/۲۱	۱۱/۱۳	۱۱۵/۴	RM۵۳۰۲-RM۵۵۰۱	۱	qRL-۱	
۷	۰/۵۸	-۵/۷۱	۱۸/۴۶	۴۶	RM۱۵۲-RM۶۲۰۸	۸	qRL-۸a	
۹	۰/۲۱	۵/۸۳	۱۳/۷۴	۹۸/۱	RM۸۳۶۴-RM۳۳۴۲	۸	qRL-۸b	
۱۰	۲/۶۵	-۹/۵۶	۱۵/۶۰	۱۲۶/۸	RM۴۷۷-RM۵۷۲۰	۸	qRL-۸c	طول
۱۷	۳/۰۶	۱/۹۶	۱۳/۶۰	۰	RM۱۸۴-RM۳۱۵۲	۱۰	qRL-۱۰a	ریشه‌چه
۱۷	۴/۳۷	-۶/۲۳	۱۴/۶۲	۷۸/۱	RM۷۵۴۵-RM۴۴۵۵	۱۰	qRL-۱۰b	
۲۵	-۴/۷۹	۶/۶۹	۱۴/۲۲	۱۴	RM۲۷۶-RM۷۶۲۶	۱۲	qRL-۱۲a	
۱۸	-۴/۸۲	۵/۳۱	۱۵/۳۵	۱۹/۶	RM۷۶۲۶-RM۱۳۳۷	۱۲	qRL-۱۲b	
۱۴	۰/۸۷	-۹/۶۶	۱۱/۸۵	۴	RM۳۳۵۵-RM۵۴۳۰	۲	qSL-۲	
۱۴	۱/۱۸	۴/۰۳	۱۲/۵۷	۲۴۰/۱	RM۵۶۲-RM۸۰۶۸	۱	qSL-۱	
۱۶	-۳/۳۱	-۰/۳۱	۱۳/۵۵	۰	RM۵۶۴۲-RM۶۵۸۹	۴	qSL-۴	طول
۲۳	۲/۲۱	۲/۱۶	۱۶/۵۵	۴۵	RM۱۱-RM۴۴۵	۷	qSL-۷	ساقه‌چه
۴۲	-۰/۷۴	-۱/۵۹	۱۵/۰۷	۷۰/۷	RM۴۴۰-RM۳۳۴۵	۵	qSL-۵	
۳۲	۰/۵۸	۳/۱۶	۱۵/۳۲	۳۷/۵	RM۷۶۲۶-RM۱۳۳۷	۱۲	qSL-۱۲	



شکل ۲- نقشه پیوستگی به دست آمده از ۷۴ نشانگر چندشکل و ۱۹۲ فرد در جمعیت F_۱ طارم محلی × خزر.



شکل ۳- موقعیت مکان‌های ردیابی شده برای کنترل صفات مرتبط با جوانه‌زنی تحت تأثیر سوربیتول.
 الف- سرعت جوانه‌زنی، ب- طول ریشه‌چه و ج- طول ساقه‌چه.

نقشه‌یابی فاصله‌ای ساده تنها هشت QTL برای طول ریشه‌چه گزارش نمود. این QTLها با نسبت qRL درست‌نمایی ۱۱/۱۳-۸۱/۴۶، توانستند درصد بالایی از تغییرات فنوتیپی را توجیه کنند. بین QTLهای یاد شده qRL-۱۲a با تبیین ۲۵ درصد بالاترین درصد تبیین تغییرات فنوتیپی کل را داشت. آل‌های والد طارم در qRL-۱، qRL-۸b، qRL-۱۰a، qRL-۱۲a، qRL-۱۲b و qRL-۱۲b طول ریشه‌چه‌ها را افزایش دادند، در حالی که آل‌های qRL-۸a و qRL-۸c و qRL-۱۰b از والد خزر طول ریشه‌چه را کاهش دادند. عمل ژن در qRL-۱۰a به صورت فوق غالبیت بود، در حالی که در سایر مکان‌ها عمل ژن به صورت غالبیت ناقص بود. غالبیت در همه QTLهای مرتبط با طول ریشه‌چه جز qRL-۱۲a و qRL-۱۲ در جهت افزایش افزایش طول ریشه‌چه بود. از بین QTLهای ردیابی شده در این مطالعه qRL-۱ روی کروموزوم یک با دو QTL ردیابی شده برای طول ریشه‌چه در مطالعه ردونا و مک‌گیل (۱۹۹۶) مطابقت داشت. از آنجا که ردونا و مک‌گیل (۱۹۹۶) از نشانگرهای RFLP استفاده نمودند، مقایسه دقیق مکان QTLهای ردیابی شده در دو مطالعه مشکل می‌باشد. کانبار و همکاران (۲۰۰۶) QTLهای مرتبط با طول ریشه‌چه را روی کروموزوم‌های ۵ و ۱۲ ردیابی نمودند.

برای طول ساقه‌چه شش QTL ردیابی شد. سه QTL از بین آن‌ها در مجموع توانستند ۸۵ درصد از تغییرات فنوتیپی کل را توجیه نمایند. اثر افزایشی برای QTLهای qSL-۷ و qSL-۱۲ در جهت افزایش طول ساقه‌چه و برای qSL-۵ در جهت کاهش طول ساقه‌چه بود. عمل ژن در همه QTLهای شناسایی شده جز (qSL-۷ و qSL-۴) به صورت غالبیت ناقص بود. QTLهای بزرگ اثر مکان‌یابی شده برای طول ساقه‌چه در این مطالعه روی کروموزوم ۵، ۷ و ۱۲ قرار داشتند. ردونا و مک‌گیل (۱۹۹۶) روی کروموزوم‌های ۳ و ۹ نیز QTLهایی برای طول ساقه‌چه گزارش نمودند. صبوری (۲۰۱۰) خصوصیات مرتبط با جوانه‌زنی را در جمعیت F_۲ طارم محلی در خزر در شرایط تنش شوری به دست آمده از NaCl بررسی نمودند. در این بررسی دو QTL روی کروموزوم ۱ برای سرعت جوانه‌زنی، چهار QTL برای طول ریشه‌چه و سه QTL برای طول ساقه‌چه ردیابی شد که هیچ‌کدام با QTLهای این مطالعه هم‌پوشانی نداشت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ژن‌ها و QTLهایی که برای صفات مختلف جوانه‌زنی برنج ردیابی می‌شوند بستگی به شرایطی دارد که گیاه در آن قرار می‌گیرد و در شرایط عادی و انواع مختلف تنش‌ها نواحی مختلفی از ژنوم برنج مسئول کنترل صفات خواهد بود و ما توانستیم QTLهای بیان شده در شرایط تنش به دست آمده از سوربیتول را مکان‌یابی نماییم.

امروزه با پیشرفت علوم مهندسی ژنتیک دانشمندان سعی در انتقال ژن‌های مؤثر از ارقام مفید به ارقام پرمحصول و جدید دارند. همچنین استفاده از روش انتخاب به کمک نشانگر نیز راه جدیدی را در جهت انتخاب ارقام برتر در زمینه‌های مختلف ژنتیکی فراهم نموده است. این بررسی با شناسایی $qGR-1b$ ، $qRL-12a$ و $qSL-5$ ، $qSL-12$ و $qSL-7$ که درصد تغییرات فنوتیپی بالایی را توجیه نمودند، زمینه را برای استفاده از روش‌های یاد شده فراهم می‌نماید. با توجه به این‌که $qSL-12$ و $qRL-12b$ توانستند درصد قابل توجهی از تغییرات مرتبط با طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه را توجیه نمودند و از طرف دیگر اثر افزایشی هر دو QTL در جهت افزایش طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه می‌باشد، QTL‌های یاد شده می‌توانند به‌عنوان نواحی هدف در برنامه‌های هرمی‌سازی ژن‌ها در بالا بردن تحمل گیاه به تنش‌های اسمتیک در مرحله جوانه‌زنی در نظر گرفته شوند.

منابع

1. Association of Official Seed Analysis. 2000. Rule of Testing Seed. Proceeding of the Association Seed Analysis, 60: 39.
2. Bassam, B.J., Caetano-Anolles, G. and Gresshoff, P.M. 1991. Fast and Sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.* 196: 80-83.
3. Basten, C.J., Weir, B.S. and Zeng, Z.B. 2001. QTL Cartographer: A Reference Manual and Tutorial for QTL Mapping. North Carolina State Univ. Press. Rigny. NC. USA, 230p.
4. Chen, X., Temnykh, S., Xu, Y., Cho, Y.G. and McCouch, S.R. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 95: 553-567.
5. Creste, S., Tulmann Neto, A. and Figueira, A. 2001. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Mol. Biol. Reporter.* 19: 299-306.
6. Dong, Y., Tsuzuki, E., Kaminuten, H., Terao, H. and Lin, D. 2003. Mapping of QTL for embryo size in rice. *Crop Sci.* 43: 1068-1071.
7. Kanbar, A., Janamatti, M., Sudheer, E., Vinod, M.S. and Shashidhar, H.E. 2006. Mapping QTLs underlying seedling vigour traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Current Sci.* 90: 24-27.
8. Kosambi, D.D. 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugen.* 12: 172-175.
9. Lander, E.S. and Botstein, D. 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 121: 185-199.

10. McKenzie, K.S., Rutger, J.N. and Paterson, M.L. 1980. Relation of seedling vigor to semi dwarfism, early maturity, and pubescence in closely related rice lines. *Crop Sci.* 20: 169-172.
11. Mackill, D.J., Nguyen, H.T. and Zhan, J. 1999. Use of molecular markers in plant improvement programs for rainfed lowland rice. *Field Crops Res.* 64: 177-185.
12. Maguire, J.D. 1962. Seed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 2: 176-177.
13. Manly, K.F. and Olson, J.M. 1999. Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QTX. *Mammalian Genome*, 10: 327-334.
14. McCouch, S.R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K., Clare, K. and Walton, M. 2002. Development of 2243 new SSR markers for rice by the international rice microsatellite initiative, P 150-152. *Proceeding of the First International Rice Congress.* Shanghai. China.
15. Mgonja, M.A., Ladeinde, T.A. and Akenova, M.E. 1993. Genetic analysis of mesocotyl length and its relationship with other agronomic characters in rice (*Oryza sativa* L.) *Euphytica.* 72: 189-195.
16. Miura, K., Lin, S.Y., Yano, M. and Nagamine, T. 2002. Mapping quantitative trait loci controlling seed longevity in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 104: 981-986.
17. Peterson, M.L., Jones, D.B. and Rutger, J.N. 1978. Cool temperature screening of rice lines for seedling vigor. *Resour.* 27: 269-274.
18. Redona, E.D. and Mackill, D.J. 1996. Mapping quantitative trait loci for seedling vigor in rice using RFLPs. *Theor. Appl. Genet.* 92: 395-402.
19. Ribaut, J.M. and Hoisington, D. 1998. Marker-assisted selection: New tools and strategies. *Trends Plant Sci.* 3: 236-239.
20. Sabouri, H., Rezai, A., Moumeni, A. and Kavousi, M. 2007a. Investigation of genetic diversity of Iranian rice genotypes under salinity condition: compare means, sensitive and tolerance index. In: Bocchi, S., Ferrero, A., Porro, A., *Proceedings of the 4th International Temperate Rice Conference*, P 50-51. Tipografia Fiordo s.r.l., Galliate, Novara. Italy.
21. Sabouri, H., Rezai, A., Moumeni, A. and Kavousi, M. 2007b. Investigation of genetic diversity of Iranian rice genotypes under salinity condition: multivariate analysis. In: Bocchi, S., Ferrero, A., Porro, A., *Proceedings of the 4th International Temperate Rice Conference*, P 52-53. Tipografia Fiordo s.r.l., Galliate, Novara. Italy.
22. Sabouri, H., Rezai, A., Moumeni, A. and Kavousi, M. 2007c. Study the variation of physiological and agronomical characters Iranian rice (*Oryza sativa* L.) cultivars in seedling and vegetative stages under salinity condition, P 284-285. In: Bocchi, S., Ferrero, A., Porro, A., *Proceedings of the 4th International Temperate Rice Conference.* Tipografia Fiordo s.r.l., Galliate, Novara. Italy.

23. Sabouri, H., Rezai, A., Moumeni, A., Kavousi, M., Katouzi, M. and Sabouri, A. 2009a. QTLs mapping of physiological traits related to salt tolerance at young seedling rice (*Oryza sativa* L.). *Biologia Plantarum*, 53: 4. 657-662.
24. Sabouri, H. and Biabani, A. 2009b. Toward the mapping of agronomic characters on a rice genetic map: Quantitative Trait Loci analysis under saline condition. *Biotechnology*, 8: 144-149.
25. Sabouri, H. 2010. Mapping of QTLs of germination characteristics in rice using of microsatellite markers under saline condition. *J. Biol.* (In Press)
26. Saghi Maroof, M.A., Biyashev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q. and Allard, R.W. 1994. Extraordinarily polymorphic micro satellites DNA in barely species diversity, chromosomal location, and population dynamics, P 5466-5570. *Proceeding of the Academy of Sciences, USA*.
27. Temnykh, S., Park, W.D., Ayres, N., Cartinhour, S., Hauck, N., Lipovich, L., Cho, Y.G., Ishii, T. and McCouch, S.R. 2000. Mapping and genome organization of micro satellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 100: 697-712.
28. Wan, J.M., Liang, L., Tang, J.Y., Wang, C.M., Hou, M.Y., Jing, W. and Zhang, L.X. 2006. Genetic dissection of the seed dormancy traits in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Sci.* 170: 786-792.
29. Zeng, D.L., Guo, L.B., Xu, Y.B., Yasukumi, K., Zhu, L.H. and Qian, Q. 2006. QTL analysis of seed storability in rice. *Plant Breed.* 125: 57-60.
30. Zhang, Z.H., Yu, S.B., Yu, T., Huang, Z. and Zhu, Y.G. 2005. Mapping quantitative trait loci (QTLs) for seedling Vigor using recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crop Res.* 91: 161-170.
31. Yoshida, S. 1981. *Fundamentals of rice crop science*. Intl. Rice Res. Inst., Los Banos, Philippines. International Rice Research Institute Press, Pp: 20-47.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Plant Production, Vol. 17(2), 2010
www.gau.ac.ir/journals

The study of QTLs related to seed vigour under stress caused to Sorbitol in rice

***H. Sabouri¹, A. Biabani¹, A. Sabouri² and M. Mohammad Esmaili³**

¹Assistant Prof., Dept. of Plant Production, Gonbad High Education Center,

²Assistant Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, University of Guilan,

³Assistant Prof., Dept. of Natural Resources, Gonbad High Education Center

Received: 20,4,2009 ; Accepted: 17,4,2010

Abstract

In order to genetic analysis of rice seed vigour, a cross was carried out between Tarom Mahalli (tolerant to osmotic stress) and Khazar (sensitive to osmotic stress) crosses. Linkage map based on SSR markers was derived using 74 polymorphic markers and 192 F₂ individuals. Germination rate, radicale and plumule length were recorded from 20 plants per 192 F₃ families. The loci related to germination traits, were detected using of composite interval mapping. This map covered 1231.5 cM of the genome. qGR-1b on chromosome 1 and qRL-12a on chromosome 12 explained 23% and 25% of phenotypic variability related to germination rate and radical length, respectively. The allele from Tarom Mahalli parent in qRL-12a increased root length, 6.70 mm. Major QTLs related to shoot length were detected on chromosomes of 5 and 12. qGR-1b, qRL-12a, qRL-5 and qSL-12 could be used as a potential candidate to be genetically manipulated by marker-assisted selection in rice germination traits breeding methods.

Keywords: Rice (*Oryza sativa* L.), Germination, QTL mapping, SSR

* Corresponding Author; Email: hos.sabouri@gmail.com