

«مقاله پژوهشی»

تعیین جایگاه‌های ژنومی مرتبط با آرایش سیستم ریشه برنج با استفاده از متاآنالیز QTL

پریسا دریانی^۱، هادی درزی رامندی^۲، سارا دژستان^{۱*}، زهرا سادات شوبر^{۲*}

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲. گروه زیست‌شناسی سیستم‌ها، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۴ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰)

Identification of genomic regions associated with root system architecture in rice using meta-analysis of QTL

Parisa Daryani^{1,2}, Hadi Darzi Ramandi², Sara Dezhsetan^{1*}, Zahra-Sadat Shobbar^{2*}

1. Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

2. Department of Systems Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

(Received: Sep. 26, 2021 - Accepted: Feb. 19, 2022)

Abstract

The root system architecture and the related traits are important factors for moisture uptake from deep soils. Information on QTLs controlling rice root system architecture was collected from the related papers and databases. A genome-wide meta-analysis was conducted on the QTLs using data from 28 independent QTL mapping studies in 38 different rice populations. Among the 312 QTL regions that were mapped on the reference genetic map, 84 and 228 QTL regions were identified under normal moisture conditions and drought stress, respectively. After projection and displaying the QTLs on the reference consensus map, the meta-QTL analysis was performed using BioMercator software version 4.2. A total of 69 significant MQTLs regions were detected on the 12 rice chromosomes. The identified meta-QTL regions included 5-32 initial QTLs and reflecting multiple QTLs for 3-5 traits associated with root architecture. After evaluating the confidence intervals and the number of initial QTLs for each meta-QTL region, 23 meta-QTL regions were selected as the most important ones and the genes located in the MQTL regions were identified. *WRKY*, *ARF*, *IAA*, *EXPA*, *WOX*, *HOX*, *YUCCA*, *RHL* and *NAC* were among the important candidate genes involved in rice root system architecture, which were located in the MQTL regions. Interestingly, 60 MQTLs were co-located with SNP peak positions reported in rice genome-wide association studies (GWAS) for root morphological traits. The promising candidate genes and MQTLs can be used for genetic engineering and MQTL-assisted breeding of root traits to improve yield potential, stability and efficiency in water deficit environments for rice.

Keywords: Candidate genes, Drought stress, MQTL regions, Root morphological traits, GWAS.

چکیده

آرایش سیستم ریشه و صفات مرتبط با آن برای جذب رطوبت از خاک‌های عمیق اهمیت زیادی دارند. اطلاعات مربوط به QTL‌های مرتبط با آرایش سیستم ریشه‌ای برنج از مقالات و پایگاه داده‌های مرتبط جمع‌آوری شدند. متاآنالیز در سطح کل ژنوم روی این QTL‌ها با استفاده از داده‌های ۲۸ مطالعه مستقل مکان‌یابی QTL در ۳۸ جمعیت مختلف برنج انجام شد. از میان ۳۱۲ ناحیه QTL که روی نقشه ژنتیکی مرجع قرار گرفتند، ۸۴ و ۲۲۸ ناحیه QTL به ترتیب در شرایط عادی رطوبتی و تنش خشکی شناسایی شده بودند. پس از انتقال QTL‌ها روی نقشه توافقی، متاآنالیز QTL با به کارگیری نرم‌افزار BioMercator انجام شد. در مجموع تعداد ۶۹ ناحیه MQTL معنی‌دار روی ۱۲ کروموزوم برنج شناسایی شدند. نواحی MQTL شامل ۵ تا ۳۲ QTL اولیه و منعکس‌کننده QTL‌های متعدد برای سه تا پنج صفت مرتبط با آرایش ریشه بودند. پس از بررسی فواصل اطمینان و تعداد QTL‌های اولیه برای هر یک از نواحی MQTL، ۲۳ ناحیه به‌عنوان مهم‌ترین نواحی MQTL گزینش و ژن‌های واقع در محدوده این MQTL‌ها شناسایی شدند. از جمله ژن‌های کاندیدای دخیل در آرایش سیستم ریشه برنج که در نواحی MQTL قرار داشتند می‌توان به ژن‌هایی از خانواده‌های *ARF*، *WRKY*، *IAA*، *EXPA*، *WOX*، *HOX*، *YUCCA*، *RHL* و *NAC* اشاره کرد. جایگاه ۶۰ MQTL با موقعیت SNP‌های گزارش‌شده در مطالعات ارتباطی کل ژنوم (GWAS) برای صفات ریختی ریشه در برنج همپوشانی داشتند. ژن‌های منتخب امیدبخش و نواحی MQTL می‌توانند برای مهندسی ژنتیک و به‌نژادی مبتنی بر MQTL با هدف بهبود پتانسیل عملکرد، پایداری و کارایی در محیط‌های مواجه با کم‌آبی در برنج مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، ژن‌های نامزد، نواحی MQTL، صفات ریختی ریشه، مطالعات ارتباطی کل ژنوم

مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات غذایی جهان است و خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش رشد و عملکرد برنج و در نتیجه کاهش تولید جهانی آن محسوب می‌شود. برآوردها نشان می‌دهد که تا سال ۲۰۵۰ میلادی بیش از ۵۰ درصد از زمین‌های قابل کشت جهان تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند (Singhal et al., 2016).

از میان خصوصیات مختلف در گیاهان، توزیع سیستم ریشه‌ای (RSA)^۱ از عوامل اصلی تعیین‌کننده توانایی جذب آب، مواد مغذی خاک و در نتیجه میزان رشد در آن‌ها است. با توجه به تغییرات آب و هوایی و اثرات تنش‌های محیطی از جمله خشکی بر رشد گیاهان، بهینه‌سازی آرایش سیستم ریشه از طریق اصلاح ژنتیکی، به‌عنوان یک رویکرد مهم برای افزایش تولید محصولات زراعی شناخته شده است که در نتیجه باعث بهبود دسترسی بهتر ریشه به لایه‌های مختلف خاک برای جذب آب و عناصر غذایی لازم می‌شود. برنج به‌عنوان غذای اصلی نیمی از جمعیت جهان، با توجه به عمق کم ریشه آن، نسبت به تنش خشکی حساس می‌باشد. بنابراین افزایش تحمل به خشکی در آن یک راهبرد مهم برای ایجاد ثبات تولید در برنج است (Uga et al., 2015; Bishopp & Lynch, 2015; Guseman et al., 2017).

آرایش سیستم ریشه (RSA) شامل فرایندهای متعدد از جمله میزان رشد و طول ریشه، تعداد و طول انشعاب‌های ریشه، زاویه و گستردگی انشعاب‌های آن می‌باشد. تاکنون گزارش‌های متعددی درباره صفات RSA برای رشد ریشه اصلی، ریشه‌های فرعی و انشعاب‌ها در برنج انجام شده و نقش‌های کلیدی برخی ژن‌های درگیر و شبکه‌های ژنی در ارتباط با RSA را مشخص کرده‌اند (Uga et al., 2015).

Uga و همکاران در گزارشی (۲۰۱۱) توانستند با

بررسی جمعیت حاصل از دو رقم Kinandang Patang (ریشه عمیق و متحمل به خشکی) و IR64 (ژنوتیپ تجاری با ریشه سطحی و حساس به خشکی) و با استفاده از مکان‌یابی QTL، یک ناحیه ژنی مهم به نام *Dro1* (*Deeper Rooting 1*) را که در زاویه ریشه درگیر بود را شناسایی کنند. آن‌ها در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند که با انتقال این مکان ژنی از رقم Kinandang Patong به رقم IR64 موفق شدند زاویه ریشه‌های جانبی را نسبت به ریشه اصلی افزایش و ریشه‌های عمیق‌تر با گستردگی بیشتر تولید کنند. عملکرد برنج تراریخته در مزرعه و در شرایط تنش خشکی متوسط بسیار موفقیت‌آمیز بود به‌طوری که عملکرد دانه تا حدود ۳۰ درصد افزایش نشان داد (Uga et al., 2013). ویسووا و همکاران (۱۹۹۸) روی بازوی بلند کروموزوم ۱۲ یک QTL به نام *pup1* مکان‌یابی کردند که با افزایش طول ریشه و کارایی جذب فسفر مرتبط بود. Gamuyao و همکاران (۲۰۱۲) این ژن را تعیین و ویژگی کردند و آن را *PSOLI*^۲ نامیدند با انتقال این ژن از یک وارسته قدیمی به نام Kasalath به کولتیوار IR64 باعث تغییر در آرایش ریشه با افزایش وزن خشک ریشه، افزایش طول و گستردگی سطح سیستم ریشه‌ای شدند. Li و همکاران (۲۰۱۵) یک ناحیه QTL کنترل‌کننده ضخامت و طول ریشه به نام *qRT9* را شناسایی کردند که یک عامل رونویسی bHLH^۳ به نام *OsbHLH120* را رمز می‌کند.

یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تحمل به خشکی در برنامه‌های به‌نژادی برنج، ارزیابی صفات ریشه در شرایط نرمال رطوبتی و تنش خشکی است. ساختار ریشه در گیاهان و صفات مرتبط با آن در سازگاری و رشد مطلوب در شرایطی که محدودیت منابع آب و جذب مواد غذایی وجود دارد از اهمیت بالایی

2. Phosphorus-Starvation Tolerance 1
3. Helix-Loop-Helix

1. Root system architecture

ولی مقایسه این نتایج نشان داده است که QTL‌های متفاوتی برای یک صفت در محیط‌های مختلف گزارش شده است (Chen *et al.*, 2013). با استفاده از داده‌های حاصل از مجموعه بزرگی از مطالعات مکان‌یابی QTL در آزمایش‌های مستقل، روش متآنالیز QTL را می‌توان به‌طور موثری برای تعیین تعداد و موقعیت دقیق QTL‌های توافقی به کار برد. انجام این روش همچنین می‌تواند با کاهش فاصله اطمینان^۱ برای مکان‌های ژنی، دقت و اعتبار نتایج را افزایش دهد. متآنالیز به‌عنوان یک روش بهینه ادغام داده‌ها از منابع مختلف در یک مطالعه واحد و تعیین مکان مشترک بین ژن‌ها و QTL‌ها است (Goffinet & Gerber, 2000). در سال‌های اخیر از روش متآنالیز برای مطالعه صفات مرتبط با ریخت‌شناسی ریشه در غلات استفاده شده است. چندین مطالعه متآنالیز QTL برای عملکرد دانه در برنج (Swamy *et al.*, 2011)، صفات ریشه در برنج (Courtise *et al.*, 2009; Daryani *et al.*, 2022؛)؛ صفات ریختی (Mirdar Mansuri *et al.*, 2019)؛ ریشه در گندم نان (Darzi-Ramandi *et al.*, 2017)؛ صفات ریشه در سویا (Prince *et al.*, 2015)؛ تحمل به تنش‌های غیر زیستی در جو (Zhang *et al.*, 2016)؛ و صفات ریشه در ذرت (Guo *et al.*, 2018) گزارش شده است. در بررسی ژن‌های کاندیدای مهم برنج در شرایط تنش خشکی، صفات ریشه از قبیل حداکثر طول ریشه، حجم ریشه و وزن خشک ریشه در زمان رسیدگی گیاه منجر به شناسایی ژن‌های مهمی از جمله *Nall*، *OsPID*، *WOX11*، *DRO1* و *OsJAZ1* شد که در جهت بهبود صفات ریختی ریشه و تحمل به شرایط کم‌آبی می‌توانند مؤثر واقع شوند (Li *et al.*, 2017).

اهداف این پژوهش شامل گردآوری، تجمیع و

برخوردار می‌باشد (Sharma *et al.*, 2011). با توجه به این‌که تکنیک‌های ارزیابی صفات ریشه مشکل، زمان‌بر و در شرایط مزرعه با خطای زیادی همراه هستند، نسبت به اندام‌های هوایی توجه کمتری به آن شده است (Manschadi *et al.*, 2008). با وجود پیچیدگی در کنترل ژنتیکی صفات ریختی ریشه، پیشرفت‌هایی با استفاده از مکان‌یابی نواحی QTL برای معرفی ژنوتیپ‌های جدید در گونه‌های زراعی مختلف حاصل شده است. گزینش مبتنی بر نشانگر برای QTL‌های کنترل‌کننده صفات ریشه برای بهبود سیستم ریشه‌ای و افزایش عملکرد در شرایط آبی محدود در ارقام مختلف برنج (Steele *et al.*, 2007)، جو (Burton *et al.*, 2014)؛ و گندم دوروم (Maccaferri *et al.*, 2015) موفقیت‌آمیز بوده است. سیستم ریشه در گیاهان، همانند سایر صفات تحت‌تاثیر ژن‌های زیادی می‌باشد، بنابراین شناسایی مکان‌های ژنی مرتبط با صفات ریشه می‌تواند تا حد زیادی محققان به‌نژادی را در بهبود صفات ریشه کمک کند. مطالعات QTL نشان‌دهنده هم‌مکانی ژن‌های مرتبط با ریشه با ژن‌های عملکرد در گیاهان زراعی می‌باشد که این امر حاکی از نقش احتمالی صفات ریشه در تعیین عملکرد نهایی گیاه است (Steele *et al.*, 2007). مکان‌یابی کلاسیک ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی با استفاده از جمعیت‌های مشتق‌شده از دو والد دارای محدودیت‌هایی است. اول این‌که این مطالعات فقط آلل‌های تفکیک‌شده در دو والد را شناسایی می‌کند (Chen *et al.*, 2013). دومین عامل محدودکننده برای شناسایی QTL‌ها با استفاده از جمعیت‌های در حال تفرق، تفاوت در وضوح نقشه‌های ژنتیکی می‌باشد (Chen *et al.*, 2013). سوم این‌که بسیاری از مطالعات مرتبط با QTL در یک یا چندین محیط مختلف انجام شده است، اگرچه این مطالعات توانسته به شناسایی مکان‌های کنترل‌کننده بیانجامد

اطمینان هر QTL، موقعیت QTL روی کروموزوم و تعداد جمعیت استخراج شد. متآنالیز برای QTL‌هایی انجام شد که موقعیت روی نقشه، مقادیر LOD و R^2 آن‌ها در دسترس بودند. در مواردی که فاصله اطمینان QTL در مقالات ذکر نشده بود، فاصله اطمینان ۹۵ درصد برای هر QTL استخراج شده با توجه به نوع و اندازه جمعیت بر اساس روابط زیر برآورد گردید:

$$\text{for } F_2 \text{ and } BCCI = \frac{530}{(R^2 \times N)} \quad (۱)$$

$$\text{for DH lines } CI = \frac{287}{(R^2 \times N)} \quad (۲)$$

$$\text{for RILs and NILs } CI = \frac{163}{(R^2 \times N)} \quad (۳)$$

در این روابط N تعداد جمعیت، R^2 میزان تبیین واریانس فنوتیپی و CI فاصله اطمینان برای هر QTL بر اساس واحد سانتی‌مورگان می‌باشد. رابطه ۱ برای محاسبه فاصله اطمینان جمعیت‌های F_2 و BC توسط Darvasi & Soller (۱۹۹۷) ارائه شده است. از رابطه ۲ برای جمعیت لاین‌های DH (Guo *et al.*, 2006) و رابطه ۳ برای جمعیت لاین‌های RILs و NILs (Visscher & Goddard, 2004) استفاده گردید.

انتخاب نقشه پیوستگی مرجع

در این مطالعه از نقشه پیوستگی ایرمی ۲۰۰۳ (McCouch, 2002) به‌عنوان نقشه مرجع استفاده شد. این نقشه شامل ۱۶۶۳ نشانگر SSR به همراه ۱۳ ژن با طول ۱۷۹۴/۷ سانتی‌مورگان با متوسط فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر ۲/۴ سانتی‌مورگان می‌باشد. پس از انتخاب نقشه مرجع، موقعیت‌یابی مجدد QTL‌ها روی نقشه توافقی انجام شد و فاصله اطمینان هر QTL برآورد گردید.

متآنالیز QTL‌ها

پس از موقعیت‌یابی QTL‌ها روی نقشه مرجع، متآنالیز با توجه به خوشه‌های QTL روی هر کروموزوم با استفاده از نرم‌افزار BioMercator V4.2 (Arcade *et al.*, 2004) که حاوی

شناسایی دقیق QTL‌های مرتبط با آرایش سیستم ریشه‌ای روی کروموزوم‌های برنج با استفاده از روش متآنالیز QTL می‌باشد. با وجود مطالعات مختلف، به‌کارگیری روش متآنالیز QTL برای صفات ریختی ریشه در برنج محدود بوده و مطالعات انجام شده تا سال ۲۰۰۷ می‌باشند. در این مطالعه تمامی منابع QTL ریشه از سال ۲۰۰۱ تا ۲۰۲۰ جمع‌آوری شد که حاوی اطلاعات جدید از QTL‌های کنترل‌کننده ریشه در برنج است. همچنین در این مطالعه ژن‌های کاندیدای نواحی MQTL استخراج و آنالیز هستی‌شناسی و عملکرد ژن‌های کاندیدا انجام گرفت. نتایج حاصل می‌تواند در تسهیل مقایسه قابل اعتماد QTL‌های مرتبط با صفات موردنظر در برنج، مطالعه جامع ژن‌های مؤثر در صفات ریختی ریشه و همچنین شناسایی محل دقیق ژن‌های منتخب شناسایی‌شده و پیش‌بینی عملکرد آن‌ها مؤثر واقع شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری اطلاعات QTL‌های کنترل‌کننده صفات ریشه از مطالعات مستقل

با جستجوی مقالات منتشر شده از سال ۲۰۰۱ تا ۲۰۲۰ برای QTL‌های مرتبط با صفات آرایش سیستم ریشه در برنج تحت شرایط نرمال رطوبتی و تنش خشکی، یک بررسی جامع انجام شد (جدول ۱). تعداد ۳۱۲ ناحیه QTL مرتبط با صفات ریختی ریشه برنج در جمعیت‌های مختلف (با استفاده از نشانگرهای SSR) استخراج شدند. تعداد نه صفت مرتبط با خصوصیات ریشه در شرایط نرمال رطوبتی و تنش خشکی شامل تعداد ریشه (RN)، طول ریشه (RL)، ضخامت ریشه (RT)، حجم ریشه (RV)، نسبت طول ریشه به ساقه (RSR)، وزن تر ریشه (RFW)، وزن خشک ریشه (RDW)، سرعت رشد ریشه (RGR) و مساحت سطح ریشه (RSA) مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات هر QTL از جمله شماره کروموزوم، نوع صفت، میزان تبیین واریانس فنوتیپی (R^2)، مقدار LOD، فاصله

برآورد می‌گردد. QTLها به شکلی خوشه‌بندی می‌شوند که نقطه پیک^۵ QTLها در فاصله اطمینان MQTL قرار گیرد. همچنین QTLهایی که سهم عضویت آنها در محدوده MQTL از ۶۰ درصد بیشتر بود، به همان MQTL منتسب داده شدند.

شناسایی ژن‌های نواحی MQTL

برای شناسایی ژن‌های قرار گرفته در نواحی MQTL شناسایی‌شده، نشانگرهای کناری مربوطه روی نقشه ژنتیکی استفاده شده مشخص شدند (Temnykh *et al.*, 2001) (<http://archive.gramene.org/>) (markers/microsat/Oryza sativa). سپس موقعیت‌های فیزیکی نشانگرهای کناری روی ژنوم مرجع Japonica group (IRGSP-1.0) تعیین شدند (Kawahara *et al.*, 2013). با استفاده از موقعیت‌های فیزیکی نشانگرهای کناری هر MQTL روی نقشه مرجع فیزیکی در تارنما Biomart ([https://plants.ensembl.org/biomart/](https://plants.ensembl.org/biomart/martview/)) ژن‌های منتخب شناسایی شدند.

آنالیز هستی‌شناسی (GO-Analysis)

ژن‌های موجود در نواحی MQTL با استفاده از پایگاه AgriGO 2.0 مبتنی بر وب (systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2/) توسط ابزار تجزیه و تحلیل (SEA)^۶ بر اساس تنظیم پارامترها (i) $P < 0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری و (ii) آزمون دقیق فیشر^۷ با استفاده از روش تنظیم پیشنهاد شده توسط بنجامین-یکوتیلی^۸ برای کنترل میزان هم‌پوشانی کاذب در چندین آزمون وابسته در زیرگروه‌های عملکردهای مولکولی، فرآیندهای زیستی و اجزای سلولی طبقه‌بندی شدند.

الگوریتم‌های برنامه Meta QTL است (Sosnowski *et al.*, 2012; Veyrieras *et al.*, 2007) انجام شد. با توجه به تعداد QTLها روی کروموزوم‌ها، از دو روش مختلف متاآنالیز استفاده شد. در شرایطی که تعداد QTLهای اولیه کمتر از ۱۰ بود، متاآنالیز با استفاده از روش پیشنهاد شده توسط Gerber و Goffinet انجام شد. برای هر ناحیه MQTL نرم‌افزار v4.2 BioMercator با استفاده از مدل‌های ۱، ۲، ۳ و ۴، محتمل‌ترین آرایش احتمالی QTLها را در یک توزیع گائوسین^۱ در نظر می‌گیرد که سطح معنی‌داری با استفاده از روش حداکثر درست‌نمایی^۲ تعیین می‌شود. سپس یک معیار آماری از نوع آکائیک بهترین مدل را مشخص می‌نماید. معیار آکائیک معیاری برای سنجش نیکویی برازش است. برای تعیین مطلوب‌ترین مدل بایستی مدلی گزینش شود که دارای کمترین مقدار AIC است. در مواردی که تعداد QTLها در یک کروموزوم بیشتر از ۱۰ QTL بود روش پیشنهادی Veyrieras و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. براساس این روش، دو مرحله جهت متاآنالیز QTL انجام می‌شود. در مرحله اول، QTLهای جمع‌آوری‌شده روی هر کروموزوم با پارامترهای پیش‌فرض نرم‌افزار خوشه‌بندی می‌شوند، سپس تعداد و موقعیت ژنتیکی MQTLهای بالقوه بر اساس معیارهای گزینش مدل از جمله AIC، AIC₃ و AIC_c، معیار اطلاع‌بیزی (BIC)^۳ و معیار AWE^۴ برآورد می‌شود. مدلی با حداقل مقادیر معیارهای برآورد شده انتخاب می‌شود که حداقل در ۳ معیار از ۵ معیار به‌عنوان مدل بهینه MQTL انتخاب شده باشد. در مرحله بعدی، فاصله اطمینان و موقعیت هر MQTL بر اساس مدل بهینه انتخاب‌شده

5. Peak

6. Singular enrichment analysis

7. Fisher's

8- Benjamini-Yekutieli

1. Gaussian distribution

2. Maximum likelihood

3. Bayesian information criterion

4. Approximate weight of evidence

ترسیم نواحی MQTL

موقعیت ژنتیکی نواحی QTL و MQTL‌های شناسایی شده روی ۱۲ کروموزوم برنج با استفاده از نرم‌افزار MapChart ترسیم شد. علاوه بر این، برای نمایش نمودارهای مربوطه از بسته گرافیکی ggplot2 در محیط R استفاده شد.

مقایسه اطلاعات مطالعات ارتباطی کل ژنوم برای صفات ریشه با MQTL‌های شناسایی شده

مطالعات ارتباطی کل ژنوم (GWAS)^۱ مرتبط با صفات مورفولوژیکی ریشه در برنج جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفت (Daryani et al., 2022) و نقطه پیک نشانگرهای SNP مرتبط با صفات ریشه برای شناسایی همپوشانی با نواحی MQTL بررسی شدند. ژن‌های واقع در محدوده نقطه پیک (+/- 25 kb) نشانگرهای SNP مرتبط با صفات ریشه با توجه به موقعیت فیزیکی آن‌ها در ژنوم مرجع برنج (*Oryza sativa Japonica* group, IRGSP-1.0) استخراج شدند. برای پیشنهاد فهرست کوتاهی از مهم‌ترین ژن‌های نامزد دخیل در آرایش سیستم ریشه برنج، از اشتراک ژن‌های واقع در نواحی MQTL با فاصله اطمینان کمتر از ۲ سانتی مورگان و ژن‌هایی که به دقت در موقعیت‌های پیک SNP‌های مرتبط با صفات آرایش ریشه قرار داشتند، استفاده شد.

نتایج و بحث

آماره‌های توصیفی و پراکنش QTL‌های اولیه روی کروموزوم‌های برنج

گزارش‌های موجود در مقالات و پایگاه‌های داده برنج (http://qtaro.abr.affrc.go.jp) برای جمع‌آوری اطلاعات QTL‌های مرتبط با صفات RSA برنج در شرایط نرمال رطوبتی و خشکی مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). تعداد ۲۸ مطالعه مستقل که شامل

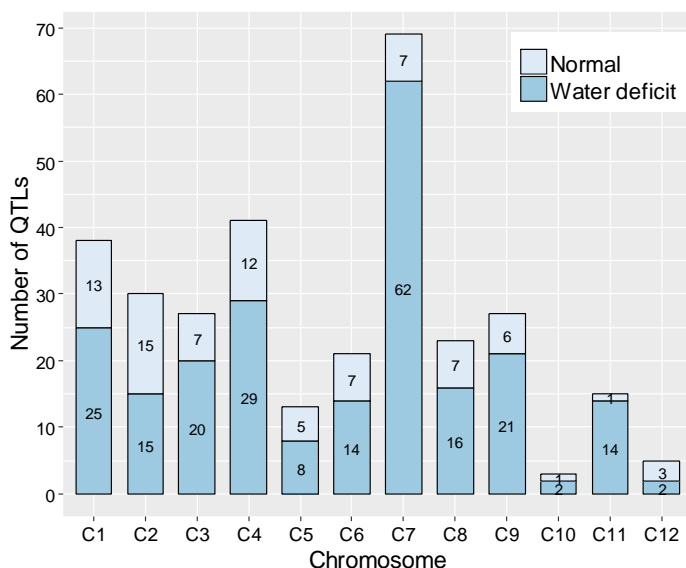
۳۲ ژنوتیپ متنوع والدی و ۶۱۶۶ نتاج حاصل بود برای استخراج اطلاعات استفاده شدند. اندازه جمعیت‌های نقشه‌یابی شده از ۴۶ تا ۴۸۰ لاین و در نسل‌های مختلف متغیر بود (Singh et al., 2012; Catolos et al., 2017). در این مطالعه روش متآنالیز بر اساس ۳۱۲ ناحیه QTL مرتبط با صفات RSA که از ۴۷۱ QTL اولیه انتخاب شده بودند انجام شد. از میان ۳۱۲ ناحیه QTL، به ترتیب ۸۴ (۲۷ درصد) و ۲۲۸ (۷۳ درصد) ناحیه QTL متعلق به شرایط نرمال رطوبتی و تنش خشکی بودند (شکل ۱). مطالعه حاضر شامل جمعیت‌های F_2 (۱ جمعیت)، تلاقی برگشتی (۵ جمعیت)، لاین‌های خویش‌آمیخته نو ترکیب^۲ (۱۴ جمعیت)، هاپلوئید مضاعف‌شده (۶ جمعیت) و لاین‌های کم و بیش ایزوژن^۳ (۶ جمعیت) بود (جدول ۱). الگوی توزیع و پراکنش QTL‌های اولیه روی دوازده کروموزوم برنج نشان داد که بیشترین فراوانی QTL‌های اولیه مربوط به کروموزوم‌های C4 (n=۴۱) و C1 (n=۳۸) و کمترین آن مربوط به کروموزوم‌های C10 (n=۳) و C12 (n=۵) و C5 (n=۱۳) بود (جدول ۲). QTL‌ها با ترکیبات مختلفی از صفات متنوع ریشه، روی کروموزوم‌های برنج به‌طور غیر یکنواخت توزیع شدند. تعداد QTL‌های اولیه برای هر یک از صفات RSA، از ۷ ناحیه برای مساحت سطح ریشه تا ۷۲ ناحیه برای طول ریشه متغیر بود و به دنبال آن ۴۹ (۱۵/۷ درصد) QTL برای صفات وزن ریشه (وزن تر و خشک ریشه) قرار داشت (شکل ۲ الف؛ جدول ۳). نسبت واریانس فنوتیپی (R^2) QTL‌های جمع‌آوری شده از ۲ تا ۴۴/۷ درصد با میانگین ۱۱/۶ درصد (شکل ۲ الف) و نمره LOD در محدوده ۲/۱ تا ۳۱/۳ با مقدار متوسط ۵/۲ متغیر بودند (شکل ۲ ب). نسبت واریانس فنوتیپی تبیین

2. Recombinant inbred lines
3. Near isogenic line

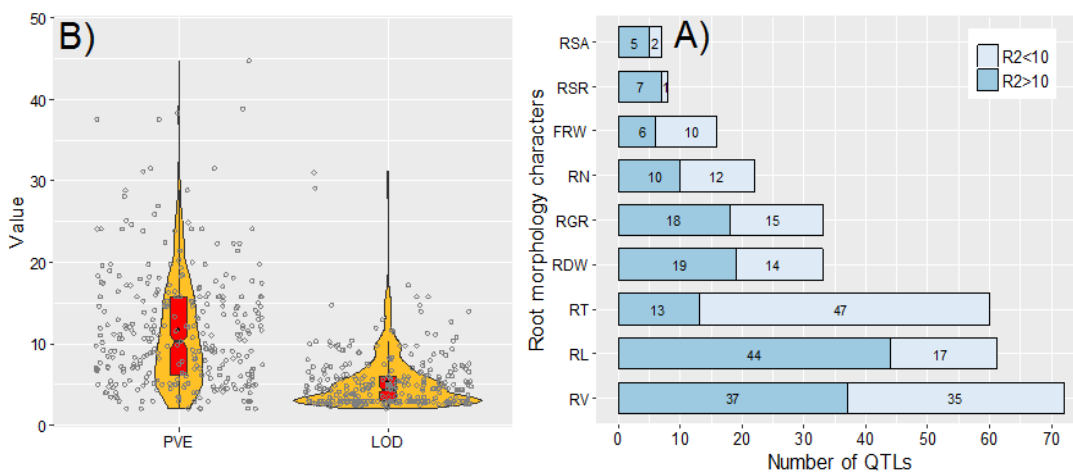
1. Genome Wide Association Study

(۵۱ درصد)، مقادیر R^2 بیشتر از ۱۰ درصد نشان دادند (شکل ۲). مهم‌ترین QTL با سهم بالا مقادیر R^2 مربوط به صفت وزن خشک ریشه (RDW) با واریانس فنوتیپی ۴۴/۷ درصد بود (Liang et al., 2013).

شده توسط هر یک از ۳۱۲ ناحیه QTL برای رتبه‌بندی آن‌ها از نظر تمام صفات RSA مورد استفاده قرار گرفت. در مجموع تعداد ۱۵۳ ناحیه QTL (۴۹ درصد) از ۳۱۲ ناحیه QTL، مقادیر R^2 کمتر از ۱۰ درصد نشان دادند، درحالی‌که ۱۵۹ QTL



شکل ۱. توزیع QTL‌های اولیه روی کروموزوم‌های برنج در شرایط رطوبتی و تنش خشکی



شکل ۲. اطلاعات QTL‌های اولیه جمع‌آوری شده از ۲۸ مطالعه مکان‌یابی QTL برای صفات ریختی ریشه. الف) تعداد QTL‌ها با درصد واریانس فنوتیپی کمتر و بیشتر از ۱۰ درصد ($R^2 < 10$ و $R^2 \geq 10$) به تفکیک صفات ریختی ریشه. RV: حجم ریشه؛ RL: طول ریشه؛ RT: ضخامت ریشه؛ RDW: وزن خشک ریشه؛ RGR: سرعت رشد ریشه؛ RN: تعداد ریشه؛ FRW: وزن تر ریشه؛ RSR: نسبت طول ریشه به ساقه و RSA: مساحت سطح ریشه. ب) ویولن پلات جهت بررسی پراکنش مقادیر واریانس فنوتیپی (R^2) و مقادیر LOD در QTL‌های جمع‌آوری شده

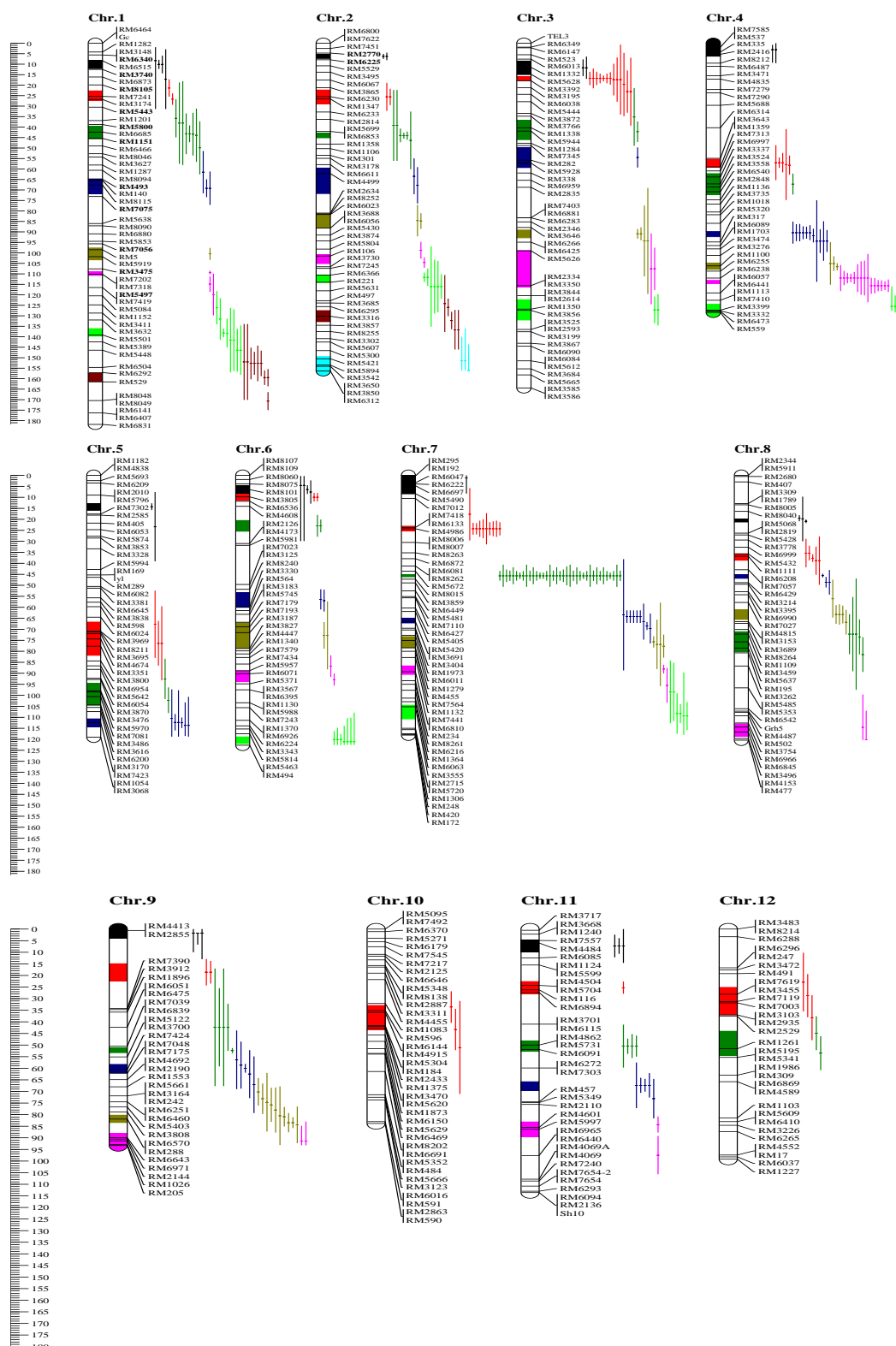
متاآنالیز QTL‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با آرایش سیستم ریشه برنج

در مجموع تعداد ۶۹ ناحیه MQTL از ۳۱۲ QTL اولیه برای صفات RSA با حداقل تعداد یک MQTL روی هر یک از دوازده کروموزوم برنج شناسایی شدند (شکل ۳؛ جدول ۳). نواحی MQTL بر اساس کمترین مقادیر AIC با اطمینان ۹۵ درصد روی همه کروموزوم‌های برنج مشخص شدند. تعداد MQTL‌ها در هر کروموزوم از یک تا نه MQTL متفاوت بود. بیشترین و کمترین تعداد MQTL به ترتیب برای کروموزوم ۲ با ۹ MQTL و کروموزوم ۱۰ با ۱ MQTL شناسایی گردید. داده‌های QTL ادغام شده نشان داد که همه کروموزوم‌های برنج در کنترل ژنتیکی صفات مختلف ریشه نقش دارند، در حالی که کروموزوم ۱۰ فقط حاوی QTL‌های مرتبط با حجم ریشه (RV) بود. تعداد QTL‌های اولیه در هر ناحیه MQTL از دو QTL در ۲۴ ناحیه MQTL تا ۳۲ QTL در ناحیه MQTL7-3 واقع روی کروموزوم ۷ با فاصله اطمینان ژنتیکی ۰/۸۱ سانتی‌مورگان، شامل صفات وزن خشک ریشه، تعداد ریشه، حجم ریشه و تعداد ریشه متغیر بود. فاصله اطمینان در تمام نواحی MQTL از میانگین فاصله اطمینان QTL‌های منتسب به آن MQTL کمتر بود. فواصل فیزیکی ۲۰ ناحیه MQTL (جدول ۳) کمتر از یک مگا باز برآورد شد که این نواحی MQTL را می‌توان به‌عنوان نواحی ژنومی مهم جهت انتخاب ژن‌های نامزد و استفاده در به‌نژادی مبتنی بر نشانگر برای بهبود صفات ریختی ریشه در برنج به کار کرد.

نواحی MQTL7-3 و MQTL4-7 دارای بیشترین تعداد QTL اولیه، واقع روی کروموزوم‌های C7 و C4 به ترتیب با ۳۲ و ۱۵ ناحیه QTL بودند. تعداد صفات ریشه منتسب به نواحی MQTL از یک صفت ریشه در ۱۵ ناحیه MQTL تا پنج صفت ریشه در هفت ناحیه MQTL متغیر بود. مهمترین

نواحی MQTL با بیشترین تعداد QTL و تنوع وسیعی از صفات مختلف ریشه روی کروموزوم‌های C3، C4 و C7 در ژنوم برنج واقع بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که نواحی QTL مرتبط با صفت حجم ریشه در ۴۲ ناحیه MQTL وجود داشت و به دنبال آن QTL‌های مرتبط با صفات طول ریشه در ۳۲ ناحیه MQTL، ضخامت ریشه در ۲۶ ناحیه MQTL، سرعت رشد ریشه در ۲۲ ناحیه MQTL، وزن خشک ریشه در ۲۱ ناحیه MQTL، وزن تر ریشه در ۱۱ ناحیه MQTL، تعداد ریشه در ۱۰ ناحیه MQTL، مساحت سطح ریشه در ۲ ناحیه MQTL و نسبت طول ریشه به ساقه در ۶ ناحیه MQTL مشاهده گردید (شکل ۳ و جدول ۳). فاصله اطمینان (CI) MQTL‌های شناسایی شده از ۰/۸۱ تا ۱۷/۳۵ سانتی‌مورگان با میانگین ۵/۹۳ سانتی‌مورگان به دست آمد که به‌طور میانگین ۳/۲۴ برابر کوچک‌تر از میانگین فاصله اطمینان QTL‌های اولیه بودند.

تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن‌های واقع در نواحی MQTL شناسایی شده برای صفات ریشه
تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن (GO) برای ژن‌های شناسایی شده واقع در ۶۹ ناحیه MQTL مرتبط با آرایش سیستم ریشه انجام شد. مهم‌ترین فرآیندهای زیستی دخیل شامل فرآیندهای متابولیک ترکیبات مختلف نیتروژن، تنظیم‌کننده‌های زیستی، فرآیندهای تغییرات پروتئین، رونویسی، متابولیک فسفات، فرآیندهای متابولیک RNA و فرآیندهای متابولیک کربوهیدرات بودند. اصلی‌ترین اجزای سلولی درگیر در صفات ریشه، هسته سلول و سپس ریبوزوم‌ها بود. از مهم‌ترین عملکردهای مولکولی می‌توان به گروه فعالیت هیدرولازها، اتصال به یون‌ها، فعالیت فسفوترانسفرازها، اتصال به نوکلئوزید پورین و اتصال به آدنیل ریبونوکلئوتید اشاره کرد (شکل ۴).



شکل ۳. موقعیت QTL‌های اولیه و MQTL‌های شناسایی شده برای صفات مرتبط با آرایش سیستم ریشه‌ای روی کروموزوم‌های برنج. رنگ‌های مختلف روی کروموزوم نشان‌دهنده نواحی MQTL و خطوط عمودی در کنار کروموزوم‌ها بیانگر QTL‌های مرتبط با ناحیه MQTL مورد نظر می‌باشد. همچنین نشانگرهای مولکولی در سمت راست و موقعیت آن‌ها در سمت چپ کروموزوم بر اساس سانتی‌مورگان نشان داده شده است.

جدول ۱. QTL‌های جمع‌آوری شده برای صفات ریختی مرتبط با آرایش سیستم ریشه در برنج

منابع	والدین جمعیت	اندازه جمعیت	تعداد QTL‌های اولیه	نوع نشانگر	نوع جمعیت
Catolos <i>et al.</i> , (2017)	IR64-21 × Dular	480	6	SSRs	RIL
Courtois <i>et al.</i> , (2003)	IAC 165 × Co39	142	43	RFLP, SSRs	RIL
Ding <i>et al.</i> , (2011)	Zhenshan 97 × IRAT109	120	6	SSRs	NIL
Emrich <i>et al.</i> , (2008)	Bala × Azucena	168	9	SSRs	RIL
Horii <i>et al.</i> , (2006)	Akihikari × IRAT109	106	6	SSRs	BC ₁ F ₄
Ikeda <i>et al.</i> , (2007)	Yumenohatamochi × Otomemochi	98	20	SSRs	RILs F ₈
Niones <i>et al.</i> , (2015)	Nipponbare × CSSL47	155	4	SSRs	F ₂
Kamoshita <i>et al.</i> , (2002)	CT9993 × IR62266	220	2	AFLP, RFLP, SSRs	DH
Li <i>et al.</i> , (2015)	IRAT109 × Yuefu, IL392/ Yuefu	116	1	SSRs	BC ₃ F ₃
Li <i>et al.</i> , (2006)	IR64-21 × Dular	441	89	SSRs	BC ₃ F ₃
Li <i>et al.</i> , (2011)	IRAT109 × Yuefu	430	30	SSRs	BC ₃ F ₃
Liang <i>et al.</i> , (2013)	Xieqingzao B/Zhonghui 9308	226	49	SSRs	RIL, BCF ₁
Nguyen <i>et al.</i> , (2004)	CT9993 × IR62266	154	41	AFLP, RFLP, SSRs	DH
Obara <i>et al.</i> , (2011)	Taichung 65 × IRGC 104038	161	8	RFLP, SSRs	HIF-NIL
Price <i>et al.</i> , (2002)	Bala × Azucena	205	8	RFLP, SSRs	RILs F ₆
Qu <i>et al.</i> , (2008)	IRAT109 × Yuefu	120	114	SSRs	RIL
Sandhu <i>et al.</i> , (2013)	HKR47 × MAS26, MASARB25 × Pusa Basmati 1460	206	17	SSRs	RIL
Singh <i>et al.</i> , (2012)	CT9993 × IR68766, IR66366 × IR66876, CT9993 × IR68566	46	2	SSRs	DH, NIL, RIL
Srividya <i>et al.</i> , (2011)	IR64 × INRC10192	140	19	SSRs	RIL
Steele <i>et al.</i> , (2007)	Kalinga III × Azucena	120	12	SSRs	NIL
Suji <i>et al.</i> , (2012)	CT9993 × IR20	100	5	SSRs	NIL
Uga <i>et al.</i> , (2010)	IR64 × 9 Kinandang	96	1	SSRs	BC2F ₃
Uga <i>et al.</i> , (2015)	IR64 × Kinandang Patong	121	3	SNP, SSR	NIL
Venuprasad <i>et al.</i> , (2002)	IR64 × Azucena	260	4	SSRs	DH
Xu <i>et al.</i> , (2004)	Zhenshan97 × Minghui63	240	33	SSRs	RIL
Yue <i>et al.</i> , (2005)	Zhenshan97 × IRAT109	240	79	SSRs	RIL
Zheng <i>et al.</i> , (2006)	IR64 × Azucena, IR1552iA × uen, Balal × Azucena	109	16	SSRs	DH
Zhou <i>et al.</i> , (2016)	128 CSSLs × Nipponbare	128	7	SNP, SSRs	RIL

جدول ۲. توزیع QTL‌های اولیه مرتبط با صفات مختلف ریشه در ۱۲ کروموزوم برنج

صفات ریشه	کروموزوم												تعداد کل QTL	درصد QTL	تعداد ^b MQTL
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
وزن تر ریشه (RFW)	1	7	-	2	-	2	1	1	1	-	1	-	16	5.1	11
وزن خشک ریشه (RDW)	3	5	2	2	1	3	12	3	2	-	-	-	33	10.6	21
سرعت رشد ریشه (RGR)	2	2	6	4	-	1	6	3	1	-	7	1	33	10.6	22
طول ریشه (RL)	8	3	4	8	3	5	17	4	6	-	3	-	61	19.6	32
تعداد ریشه (RN)	1	2	2	5	-	-	7	2	3	-	-	-	22	7.1	10
مساحت سطح ریشه (RSA)	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	7	2.2	2
نسبت طول ریشه به ساقه (RSR)	5	-	-	-	-	1	-	2	-	-	-	-	8	2.6	6
ضخامت ریشه (RT)	8	7	5	8	5	6	4	3	11	1	1	1	60	19.2	26
حجم ریشه (RV)	10	4	8	12	4	3	15	5	3	2	3	3	72	23.1	42
تعداد کل QTLs	38	30	27	41	13	21	69	23	27	3	15	5	312	-	-
درصد QTLs	12.2	9.6	8.7	13.1	4.2	6.7	22.1	7.4	8.7	1.0	4.8	1.6	-	-	-
تعداد کل MQTLs ^a	8	9	7	7	4	7	7	6	6	1	5	2	69	-	-
درصد MQTLs (%)	11.6	13.0	10.1	10.1	5.8	10.1	10.1	8.7	8.7	1.4	7.2	2.9	-	-	-

(a) تعداد کل MQTL‌های مشخص شده در هر کروموزوم؛ (b) تعداد MQTL برای هر صفت.

RN: تعداد ریشه، RL: طول ریشه، RT: ضخامت ریشه، RV: حجم ریشه، RSR: نسبت طول ریشه به ساقه، RFW: وزن تر ریشه، RDW: وزن خشک ریشه، RGR: سرعت رشد ریشه، RSA: مساحت سطح ریشه.

ریشه همپوشانی داشتند (جدول ۳). در مجموع ۸۱۶ ژن برنج در موقعیت‌های همپوشان بین پیک SNP (25 kb - / +) و MQTL‌ها قرار داشتند، گفتنی است ۹۸ ژن دقیقاً در موقعیت نواحی SNP گزارش شده قرار گرفتند (جدول ۳). در پژوهش حاضر، ژن‌هایی که دقیقاً در موقعیت‌های پیک SNP و MQTL زیر دو سانتی‌مورگان قرار داشتند، به‌عنوان ژن‌های نامزد جدید در نظر گرفته شدند (جدول ۴). این ۸ ژن جدید نامزدهای برای بررسی صفات آرایش ریشه هستند.

اعتبارسنجی MQTL‌ها با مطالعات مربوط به GWAS

همپوشانی قابل توجهی بین MQTL‌های شناسایی شده از طریق متاآنالیز و SNP‌های شناسایی شده با استفاده از روش GWAS مرتبط با صفات ساختار ریشه، در ژنوم برنج وجود داشت. جالب است که، از تعداد ۶۹ ناحیه MQTL شناسایی شده، ۶۰ MQTL با ۳۳۱ جایگاه SNP گزارش شده در مطالعات GWAS برنج برای صفات مورفولوژیکی

جدول ۳. نتایج متاآنالیز QTLهای کنترل کننده صفات مرتبط با آرایش سیستم ریشه در برنج و فهرست ژن‌های شناسایی شده در پاسخ به تنش خشکی در نواحی ژنی MQTL

نواحی MQTL	کروموزوم	موقعیت کروموزوم (cM)	فاصله اطمینان ۹۰ درصد	نسبت MQTL به MQTL	فاصله فیزیکی (bp)	نشانگرهای کاری	تعداد QTLs	صفات	موقعیت SNP	تنش خشکی	ژنهای داخل در تحمل
MQTL ₁	1	10.19	3.8	4.66	1253692-2800122	RM6340-RM3740	4	RV, RDW, RSR, RT	1294894	LEA20	
MQTL _{1.2}	1	25.01	4.59	1.50	4317171-5566582	RM6120-RM1118	2	RV, RDW	4417384, 4421833	YUCCA4, OXCYP96E1	
MQTL _{1.3}	1	42.61	5.95	4.10	7347906-8900311	RM3598-RM8222	8	FRW, RV, RT, RL	7832347, 7934211, 7936332		
MQTL _{1.4}	1	68.22	7.05	2.10	11566994-15101846	RM3412-RM7075	3	RV, RT, RV	11112944, 12113021, 12280117, 15656480, 145452161, 14531199	MA359, OAO1g021900, OAO1g03538700	
MQTL _{1.5}	1	100.4	5.7	0.0	23546900-25067465	RM6334-RM1349	1	RL	23698267, 23703957, 24677879		
MQTL _{1.6}	1	109.78	1.74	5.55	26035846-26900487	RM3475-RM5461	3	RSR, RT	26643853		OAO1g0786800, OAO1g0819000
MQTL _{1.7}	1	137.87	3.56	5.35	33283139-34895434	RM18002-RM8084	8	RDW, RSR, RN, RV, RL	33364795, 34578789, 34890451, 34896521		
MQTL _{1.8}	1	159.31	3.68	4.57	39197170-40664037	RM6827-RM529	9	RGR, RV, RL	39255482, 39902281, 40526762, 40415038		OAO1CS5, OAO1g0901550, OASAU3
MQTL _{2.1}	2	6.29	1.99	1.48	805956-1611373	RM2770-RM6225	2	FRW, RV	4411482, 5180480, 5206561, 4871223, 5710011, 5708779		EXPA23, YUCCA2, EXPA13, EXPA14, EXPA22, EXPA23, EXPA24
MQTL _{2.2}	2	25.6	6.69	1.57	4407919-5798042	RM3732-RM6247	2	RL			
MQTL _{2.3}	2	44.05	2.11	8.52	9032703-10184766	RM7288-RM1358	6	FRW, RDW, RGR, RT, RN	9261836, 10134429		
MQTL _{2.4}	2	65.58	12.17	1.41	181699413-20520593	RM6844-RM2634	2	FRW	18820014, 19681113, 20455211, 20945601		RAD23, GH2, OAS304R, RLC1, OAO2g0202250
MQTL _{2.5}	2	84.75	6.7	1.67	20750000-22434805	RM8252-RM6056	2	RV, FRW	21071869, 21497578, 22040041, 22324519		HAM2, MAC32, GLR1.2, IAA9, PNB54
MQTL _{2.6}	2	102.98	4.28	1.54	24786277-36260956	RM6617-RM3730	2	RT, RL	24961280, 24788036, 24998179, 25407440, 25154659, 25228346, 25266938, 25551591, 25990556		OAO2g0571900, OAO2g0574500
MQTL _{2.7}	2	112.29	3.62	5.20	26665006-27620000	RM1385-RM221	6	RV, FRW, RGR, RDW	14542161, 14531199		
MQTL _{2.8}	2	130.11	5.31	3.06	29857077-31209427	RM5303-RM3857	5	RV, RDW, RT	26335526, 27157986, 27406953		OAGELP41
MQTL _{2.9}	2	153.86	8.85	1.82	34708035-35450234	RM5916-RM3850	3	RDW, RN	30110608, 30762847, 31652149		OAO2g0724600
MQTL _{3.1}	3	11.7	6.43	1.45	1745654-3162662	RM6297-RM4683	2	RGR	35453974		OAO2g0825600
MQTL _{3.2}	3	10.19	3.8	4.66	1253692-2800122	RM6340-RM3740	4	RV, RDW, RSR, RT	1294894		
MQTL _{3.3}	3	25.01	4.59	1.50	4317171-5566582	RM6120-RM1118	2	RV, RDW	4417384, 4421833		
MQTL _{3.4}	3	42.61	5.95	4.10	7347906-8900311	RM3598-RM8222	8	FRW, RV, RT, RL	7832347, 7934211, 7936332		COW1, YUCCA8, MAL7
MQTL _{3.5}	3	68.22	7.05	2.10	11566994-15101846	RM3412-RM7075	3	RV, RT, RV	11112944, 12113021, 12280117, 15656480, 14542161, 14531199		YUCCA4, OXCYP96E1
MQTL _{3.6}	3	100.4	5.7	0.0	23546900-25067465	RM6334-RM1349	1	RL	23698267, 23703957, 24677879		
MQTL _{3.7}	3	109.78	1.74	5.55	26035846-26900487	RM3475-RM5461	3	RSR, RT	26643853		
MQTL _{3.8}	3	137.87	3.56	5.35	33283139-34895434	RM18002-RM8084	8	RDW, RSR, RN, RV, RL	33364795, 34578789, 34890451, 34896521		OAO1g0786800, OAO1g0819000
MQTL _{3.9}	3	159.31	3.68	4.57	39197170-40664037	RM6827-RM529	9	RGR, RV, RL	39255482, 39902281, 40526762, 40415038		OAO1CS5, OAO1g0901550, OASAU3
MQTL _{4.1}	4	6.29	1.99	1.48	805956-1611373	RM2770-RM6225	2	FRW, RV	4411482, 5180480, 5206561, 4871223, 5710011, 5708779		
MQTL _{4.2}	4	25.6	6.69	1.57	4407919-5798042	RM3732-RM6247	2	RL			
MQTL _{4.3}	4	44.05	2.11	8.52	9032703-10184766	RM7288-RM1358	6	FRW, RDW, RGR, RT, RN	9261836, 10134429		
MQTL _{4.4}	4	65.58	12.17	1.41	181699413-20520593	RM6844-RM2634	2	FRW	18820014, 19681113, 20455211, 20945601		EXPA23, EXPA24, RAD23, GH2, OAS304R, RLC1, OAO2g0202250
MQTL _{4.5}	4	84.75	6.7	1.67	20750000-22434805	RM8252-RM6056	2	RV, FRW	21071869, 21497578, 22040041, 22324519		
MQTL _{4.6}	4	102.98	4.28	1.54	24786277-36260956	RM6617-RM3730	2	RT, RL	24961280, 24788036, 24998179, 25407440, 25154659, 25228346, 25266938, 25551591, 25990556		OAO2g0571900, OAO2g0574500
MQTL _{4.7}	4	112.29	3.62	5.20	26665006-27620000	RM1385-RM221	6	RV, FRW, RGR, RDW	26335526, 27157986, 27406953		
MQTL _{4.8}	4	130.11	5.31	3.06	29857077-31209427	RM5303-RM3857	5	RV, RDW, RT	30110608, 30762847, 31652149		OAGELP41
MQTL _{4.9}	4	153.86	8.85	1.82	34708035-35450234	RM5916-RM3850	3	RDW, RN	35453974		OAO2g0724600
MQTL _{5.1}	5	11.7	6.43	1.45	1745654-3162662	RM6297-RM4683	2	RGR			OAO2g0825600

نواحی متا که **Bold** شده‌اند نشان‌دهنده وجود نقاط SPN در این متاها می‌باشد. ژن‌های که **Bold** و به رنگ سبز نشان داده شده وجود ژن در روی قطعه پیک SNP می‌باشد

ادامه جدول ۳: نتایج متآنالیز QTL‌های کنترل کننده صفات مرتبط با آرایش سیستم ریشه در برنج و فهرست ژن‌های شناسایی شده در پاسخ به تنش خشکی در نواحی MQTL

نواحی MQTL	کروموزوم	موقعیت (cM)	فاصله المپاریت ^۱ درصد	فاصله المپاریت ^۲ (cM)	کاهش نسبت MQTL به QTL	فاصله فیزیکی (kb)	شماره کلونی	تعداد QTLs	صفات	موقعیت SNP	ژنهای داخل در کنترل تنش خشکی
MQTL _{L14}	11	11.6	5.23	1464758-3025484	4.55	RM1240-RM6085	3	RV, RL	2838776	PAP21B, MAC17, Os1.g0158600, Os1.g0158666	
MQTL _{L12}	11	29.55	5.35	3808966-6007711	0.00	RM5599-RM441	1	RGR	3825399, 3835000, 5272788, 5573158, 5573158, 3809635	MAC127, MAC128, MAC129, MAC25, rNBS10, Os1.g0302500	
MQTL _{L13}	11	54.75	4.59	8005730-16400673	2.42	RM6115-RM6272	4	RGR	11344358, 12253007, 14305996, 9967921	Os1.g0580500, Os1.g0581700, Os1.g0590400, Os_F0718, Os6HLH061, U6, Os1.g0618500, Os1.g0621500	
MQTL _{L14}	11	71.92	3.73	16396823-20398922	3.16	RM7303-RM457	5	RV, RGR, RL	16461809, 17952751, 16559637, 17111220, 17843772, 18101744, 18912865, 19218089, 19910326, 20207370, 20481199, 20690875, 21809621, 21967265, 21915814, 22420158, 22510193	Os1.g0475200, Os1.g0485200, OsRAM1	
MQTL _{L15}	11	90.55	6.96	19220450-24248130	1.68	RM2110-RM6965	2	FRW, RT	22356921, 22356921, 22973837, 23136796, 24219246, 22579249, 23171855, 2322786, 2234389, 2323640395, 23680929, 24081705	Os1.g0580500, Os1.g0581700, Os1.g0590400, Os_F0718, Os6HLH061, U6, Os1.g0618500, Os1.g0621500	
MQTL _{L21}	12	40.98	15.02	3581777-7463326	1.40	RM491-RM3103	3	RT, RV	3847039, 3972058, 4885489	YUCCA11, CDPK29, CML28	
MQTL _{L22}	12	59.2	11.7	9094177-19219802	1.25	RM3246-RM5195	2	RGR, RV	16592156, 17607622, 17780100, 17977281, 18332837, 13233910, 10117463	CDPK27, ARP24, MAC139, Os1.2.g0467300, Os1.2.g048300, Os1.2.g0482500	
MQTL _{L14}	11	11.6	5.23	1464758-3025484	4.55	RM1240-RM6085	3	RV, RL	13741013, 14321014, 15665309, 15821748, 16073321, 17646958, 17977193, 18334133, 18809049, 9940244, 10002797	PAP21B, MAC17, Os1.g0158600, Os1.g0158666	
MQTL _{L12}	11	29.55	5.35	3808966-6007711	0.00	RM5599-RM441	1	RGR	2838776	OsSTA25	
MQTL _{L13}	11	54.75	4.59	8005730-16400673	2.42	RM6115-RM6272	4	RGR	3825399, 3835000, 5272788, 5573158, 5573158, 3809635	MAC127, MAC128, MAC129, MAC25, rNBS10, Os1.g0302500	
MQTL _{L14}	11	71.92	3.73	16396823-20398922	3.16	RM7303-RM457	5	RV, RGR, RL	16461809, 17952751, 16559637, 17111220, 17843772, 18101744, 18912865, 19218089, 19910326, 20207370, 20481199, 20690875, 21809621, 21967265, 21915814, 22420158, 22510193	Os1.g0475200, Os1.g0485200, OsRAM1	
MQTL _{L15}	11	90.55	6.96	19220450-24248130	1.68	RM2110-RM6965	2	FRW, RT	22356921, 22356921, 22973837, 23136796, 24219246, 22356921, 22356921, 22973837, 23136796, 24219246	Os1.g0580500, Os1.g0581700, Os1.g0590400, Os_F0718, Os6HLH061, U6, Os1.g0618500, Os1.g0621500	
MQTL _{L21}	12	40.98	15.02	3581777-7463326	1.40	RM491-RM3103	3	RT, RV	2323640395, 23680929, 24081705	YUCCA11, CDPK29, CML28	
MQTL _{L22}	12	59.2	11.7	9094177-19219802	1.25	RM3246-RM5195	2	RGR, RV	16592156, 17607622, 17780100, 17977281, 18332837, 13233910, 10117463, 10264831, 11451940, 1185335, 12634682, 12737215, 13233910, 1323261, 13741013, 14321014, 15665309, 15821748, 16073321, 17646958, 17977193, 18334133, 18809049, 9940244, 10002797	CDPK27, ARP24, MAC139, Os1.2.g0467300, Os1.2.g048300, Os1.2.g0482500	

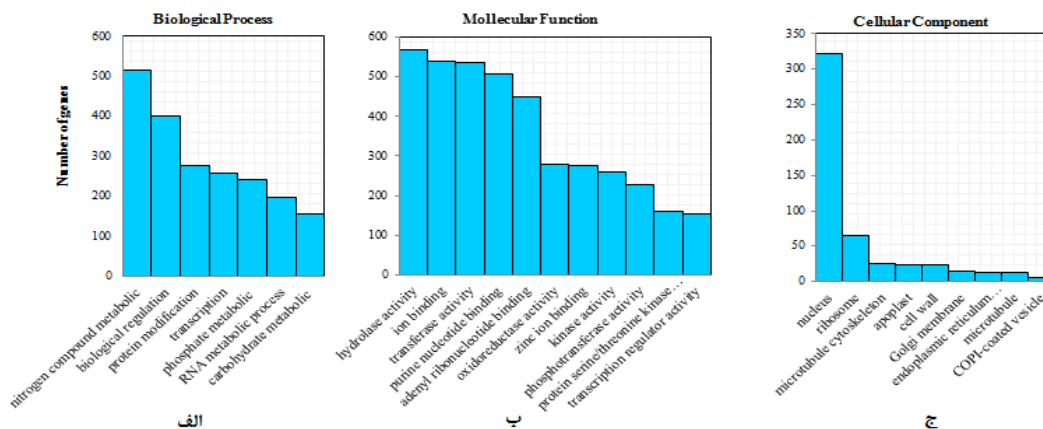
نواحی متنا که **Bold** شده‌اند نشان دهنده وجود نقاط SPN در این متناها می‌باشد. ژن‌های که **Bold** و به رنگ سبز نشان داده شده وجود ژن در روی نقطه پیک SNP می‌باشد

جدول ۴. ژن‌های نامزد در نقطه پیک SNP و نواحی MQTL زیر دو سانتی‌مورگان برای صفات آرایش سیستم ریشه

ژن (RAP ID)	اسم ژن	توصیف ژن	ابتدای ژن (bp)	انتهای ژن (bp)	منابع GWAS	کروموزوم
<i>Os08g0203350</i>		Conserved hypothetical protein	6006493	6007052	Mai <i>et al.</i> 2020	8
<i>Os08g0206600</i>		Similar to AICARFT/IMPCHase bienzyme family protein	6218688	6224037	Wang <i>et al.</i> 2018	8
<i>Os08g0206650</i>		Hypothetical protein	6218749	6223799	Wang <i>et al.</i> 2018	8
<i>Os08g0220600</i>	<i>OsVILA</i>	Fibronectin, type III domain containing protein	7339066	7348077	Wang <i>et al.</i> 2018	8
<i>Os08g0223766</i>		Similar to H0702G05.10 protein	7495162	7500893	Wang <i>et al.</i> 2018	8
<i>Os08g0223833</i>		Similar to H0702G05.10 protein	7501641	7510161	Wang <i>et al.</i> 2019	8
<i>Os08g0224100</i>	<i>OsDPK1</i>	Similar to Serine/threonine protein kinase-like protein	7553773	7558719	Wang <i>et al.</i> 2020	8
<i>Os08g0224150</i>		Hypothetical protein	7554714	7558408	Wang <i>et al.</i> 2021	8

ادامه جدول ۴. ژن‌های نامزد در نقطه پیک SNP و نواحی MQTL زیر دو سانتی‌مورگان برای صفات آرایش سیستم ریشه

ژن (RAP ID)	اسم ژن	توصیف ژن	موقعیت پیک SNP (bp)	P-value	صفات	MQTL با همپوشانی
<i>Os08g0203350</i>		Conserved hypothetical protein	6006794	0.00047458	Root length	MQTL ₈₋₃
<i>Os08g0206600</i>		Similar to AICARFT/IMPCHase bienzyme family protein	6219098	0.00000375	Root length	MQTL ₈₋₃
<i>Os08g0206650</i>		Hypothetical protein	6218102	0.00000375	Root length	MQTL ₈₋₃
<i>Os08g0220600</i>	<i>OsVILA</i>	Fibronectin, type III domain containing protein	7339871	0.00000804	Root number	MQTL ₈₋₃
<i>Os08g0223766</i>		Similar to H0702G05.10 protein	7499172	0.00000555	Root length	MQTL ₈₋₃
<i>Os08g0223833</i>		Similar to H0702G05.10 protein	7507854	0.00000126	Root length	MQTL ₈₋₃
<i>Os08g0224100</i>	<i>OsDPK1</i>	Similar to Serine/threonine protein kinase-like protein	7556832	0.00000158	Root length	MQTL ₈₋₃
<i>Os08g0224150</i>		Hypothetical protein	7556832	0.00000158	Root length	MQTL ₈₋₃



شکل ۴. تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن‌های واقع در نواحی MQTL مرتبط با آرایش سیستم ریشه؛

الف) فرآیندهای زیستی، ب) عملکرد مولکولی، ج) اجزای سلولی

در آینده‌ای نزدیک تولید محصولات زراعی با دو چالش بزرگ مواجه خواهد بود: ۱- رشد روزافزون جمعیت جهان که نیاز به تولید غلات را افزایش می‌دهد و ۲- تغییرات اقلیمی و گرم شدن کره زمین که منجر به افزایش شدید خشکسالی و گرما خواهد شد. بنابراین، افزایش ظرفیت ژنتیکی گیاهان برای بهره‌برداری از منابع خاک (آب و مواد مغذی) یک هدف اصلی است و برای نیل به این هدف به‌نژادی ساختار ریشه گیاه یک صفت ایده‌آل برای اصلاح‌گران می‌باشد (Lobet *et al.*, 2013). همچنین، ارتباط QTL‌های کنترل‌کننده صفات ریشه و سایر صفات زراعی اثبات شده است و بیانگر نقش آرایش سیستم ریشه در عملکرد گیاه است

(Maccaferri *et al.*, 2016). آرایش سیستم ریشه برنج تأثیر زیادی بر عملکرد و سازگاری گیاه با تنش خشکی دارد. شناسایی نواحی MQTL درگیر با چندین صفت ریشه می‌تواند برای هرمی کردن و استفاده در گزینش مبتنی بر نشانگر (MAS) استفاده شود. در این پژوهش، تعداد ۲۸ مطالعه مکان‌یابی QTL برای صفات ریشه برنج در شرایط تنش خشکی و رطوبتی با استفاده از متآنالیز QTL ادغام شدند که منجر به شناسایی ۶۹ ناحیه MQTL روی کروموزوم‌های مختلف برنج گردید. طول کل نقشه پیوستگی مورد استفاده در این تحقیق برابر با ۱۷۹۴/۷ سانتی‌مورگان بود. پنج ناحیه MQTL به نام‌های MQTL4-7، MQTL7-3،

در آینده‌ای نزدیک تولید محصولات زراعی با دو چالش بزرگ مواجه خواهد بود: ۱- رشد روزافزون جمعیت جهان که نیاز به تولید غلات را افزایش می‌دهد و ۲- تغییرات اقلیمی و گرم شدن کره زمین که منجر به افزایش شدید خشکسالی و گرما خواهد شد. بنابراین، افزایش ظرفیت ژنتیکی گیاهان برای بهره‌برداری از منابع خاک (آب و مواد مغذی) یک هدف اصلی است و برای نیل به این هدف به‌نژادی ساختار ریشه گیاه یک صفت ایده‌آل برای اصلاح‌گران می‌باشد (Lobet *et al.*, 2013). همچنین، ارتباط QTL‌های کنترل‌کننده صفات ریشه و سایر صفات زراعی اثبات شده است و بیانگر نقش آرایش سیستم ریشه در عملکرد گیاه است

پروتئین‌کینازهای وابسته به کلسیم^۲ و پروتئین‌های شبه‌کلسی‌نورین^۳، اصلی‌ترین گیرنده‌های کلسیمی در سلول‌های گیاهی هستند که نقش مهمی در انتقال پیام‌های مرتبط با کلسیم دارند (Shao *et al.*, 2008). در این مطالعه ژن‌های کالمودولین یافت شده شامل *CML14* در *MQTL5.3*، *CML30* در *MQTL1.6*، *CML32* در *MQTL8.1*، *CML28* در *MQTL1.12* بودند. ژن‌های پروتئین‌کینازهای وابسته به کلسیم *CDPK4*، *CDPK9*، *CDPK12*، *CDPK17*، *CDPK19*، *CDPK22*، *CDPK27* و *CDPK29* به ترتیب در نواحی *MQTL2.1*، *MQTL3.4*، *MQTL4.2*، *MQTL7.1*، *MQTL7.3*، *MQTL9.4*، *MQTL12.1* و *MQTL12.2* شناسایی شدند. با توجه به مطالعه‌ای که در گزارش‌های قبلی *MQTL* صفات ریشه صورت داشتیم و به بررسی ژن‌های دارای بیان افتراقی در نواحی *MQTL* پرداختیم. ژن‌های *CDPK4*، *CDPK12*، *CDPK17* و *CDPK19* ژن‌های کاندیدای مشترک بین داده‌های *MQTL*، ریزآرایه و توالی‌یابی ترانسکریپتوم بودند و تنظیم بیان افزایشی داشتند (Daryani *et al.*, 2022). با بررسی مطالعات GWAS در این مطالعه ژن *CDPK17* در موقعیت‌های همپوشان بین پیک SNP (-25 kb / +) و *MQTL*ها قرار داشت.

ژن‌های انتقال‌دهنده‌های پتاسیم

بر اساس نتایج این مطالعه، ناحیه *MQTL7.3* واقع روی کروموزوم C7 در بردارنده یک عضو از خانواده ژن‌های انتقال‌دهنده پتاسیم به نام ژن *HAK14*^۴ در برنج است و ناحیه *MQTL7.4* روی کروموزوم C7، دارای ژن دیگری از این خانواده به نام *HAK7*

MQTL4-5، *MQTL3-2* و *MQTL7-2* دارای بیشترین فراوانی QTL بودند که تعداد QTLها از ۱۰ تا ۳۲ ناحیه QTL متغیر بود و کنترل‌کننده سه تا پنج صفت مختلف ریشه بودند. نتایج نشان داد که *MQTL7-3* (۰/۸۱ سانتی‌مورگان)، *MQTL8-1* (۱/۳۵ سانتی‌مورگان)، *MQTL7-4* (۱/۶۲ سانتی‌مورگان)، *MQTL1-6* (۱/۷۴ سانتی‌مورگان) و *MQTL3-2* (۱/۷۸ سانتی‌مورگان) دارای کمترین فواصل اطمینان بودند که برای مطالعات دقیق مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات ریشه در برنج کاربردی هستند. ژن‌های واقع در محدوده نواحی *MQTL*، در این پژوهش مشخص شدند و نقش آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت که در ادامه به تعدادی از مهمترین آن‌ها اشاره خواهد شد.

۱- عوامل ترانس‌سای پیام‌های مولکولی

ژن‌های انتقال‌دهنده پیام، پروتئین‌هایی را رمز می‌کنند که عهده‌دار درک پیام منتقل‌شده در محیط اطراف سلول و راه‌اندازی آبشار پیام‌رسانی هستند. به تعدادی از مهم‌ترین خانواده‌های ژن‌های انتقال‌دهنده پیام شناسایی‌شده در *MQTL*های مختلف این پژوهش اشاره خواهد شد.

ژن‌های انتقال‌دهنده‌های کلسیم

نقطه آغاز هرگونه سازگاری گیاه در برابر تنش، درک محرک‌های محیطی با سازوکارهای مختلف است. در این میان، سازوکارهای مرتبط با مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به کلسیم، اهمیت ویژه‌ای دارند. نقش غلظت و الگوی توزیع کلسیم داخل سلول در انتقال پیام‌های تنشی در گیاهان بخوبی اثبات شده است (Shao *et al.*, 2008). در این میان، کالمودولین‌ها^۱،

2. Calcium-dependent protein kinase
3. Calcineurin B-Like proteins
4. High-affinity Potassium (K⁺) Transporter 14

1. Calmodulin

می‌باشد. ژن جهش‌یافته *AtKUP/HAK/KT* در آرابیدوپسیس یک انتقال‌دهنده پتاسیم است و بر فرآیندهای تکاملی تأثیر می‌گذارد و عمدتاً در انقباض طولی سلول و رشد تارهای کشنده ریشه مؤثر است (Gierth & Maser, 2007). ژن دیگری از این خانواده به نام *HAK10* روی کروموزوم C6 در ناحیه MQTL6.3 و ژن *HAK12* در کروموزوم C8 در ناحیه MQTL8.2 قرار دارد. در گیاهان، نقش این ژن جذب پتاسیم خاک و احتمال دارد توزیع اکسین ریشه می‌باشد (Gierth & Maser, 2007).

ژن‌های گیرنده سرین / ترئونین پروتئین کیناز گیرنده‌های کینازی غنی از تکرار لوسین (-LRR RLKها) بخش بزرگی از خانواده RLKها را در ژنوم گیاهی تشکیل می‌دهند و شامل سه دامنه متفاوت، یک دامنه LRR خارج سلولی، یک دامنه تراغشایی و یک دامنه سرین / ترئونین کیناز سیتوپلاسمی هستند. LRR-RLKها نقش کلیدی در مسیرهای مختلف انتقال پیام‌های دخیل در رشد و توسعه گیاه دارند (Shiu and Bleeker, 2001). در این پژوهش، گیرنده‌های کینازی LRR، *rNBS10* (MQTL2.2) و *rNBS41* (MQTL11.3) شناسایی گردید که در توسعه مریستم‌های آپیکالی ریشه و ساقه مؤثر هستند (DeYoung et al., 2006). همچنین، این گیرنده با انتقال پیام کینازی در افزایش طول ریشه موئی نقش دارد. در مطالعه حاضر بیشترین گیرنده سرین / ترئونین کیناز در نواحی MQTL، جزو خانواده‌های ژنی RLCKها^۱ بودند (جدول ۳). گیرنده سرین / ترئونین کیناز *ACTPK1* در ناحیه MQTL2.1، ژن *PP2C49* در ناحیه MQTL5.2 و ژن *SHR5* در ناحیه MQTL8.2 در لیگنین شدن دیواره سلولی ریشه نقش دارند که در تحمل به تنش خشکی مؤثر است. از دیگر خانواده‌های ژنی گیرنده‌های سرین / ترئونین

۲- عوامل رونویسی

از مهمترین عوامل رونویسی در این مطالعه مربوط به صفات ریشه می‌توان به خانواده ژنی NAC مانند ژن *NAC5* در MQTL11.2 اشاره کرد که نقش‌های تنظیمی مختلفی در فرایندهای مهم زیستی نظیر نمو و پاسخ به تنش به عهده دارند. این خانواده ژنی در نواحی MQTL شناسایی شدند (جدول ۳). بیان *OsNAC5* باعث افزایش قطر ریشه همراه با افزایش قطر آوند چوبی می‌گردند. افزایش قطر ریشه با افزایش ۲۰ تا ۷۰ درصدی محصول نهایی و تحمل به خشکی در ارتباط است (Jeong et al., 2013). ژن‌های خانواده NAC در فرایندهای تنظیمی نظیر نمو بذر و جنین، تشکیل مریستم انتهایی ساقه، پیری برگ، تقسیم سلولی، تشکیل دیوار ثانویه و ریشه‌های جانبی، پیام‌رسانی اکسین، رشد فیبر و همچنین در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی درگیر هستند (Jeong et al., 2013).

در این مطالعه، ناحیه MQTL4.3 با تعداد پنج ناحیه QTL درگیر با صفات حجم ریشه، سرعت رشد ریشه و ضخامت ریشه و ناحیه MQTL5.3 با تعداد دو ناحیه QTL کنترل‌کننده صفات حجم ریشه و طول ریشه با دارابودن ژن‌های *WOX4*^۲ و *WOX9C* روی صفات رشد و توسعه ریشه نقش مهمی دارند (جدول

2. Plasmolysis

3. WUSCHEL-related Homeobox 7

1. Receptor for Activated C Kinase

به تریپتوفان و در واکنش به تنش‌های محیطی نقش دارند (Woo *et al.*, 2007). این خانواده ژنی در رشد سریع ریشه اصلی و تشکیل تارهای کشنده مؤثر هستند. همچنین، بیان بالای IAA در رونویسی ژن اُکسین نقش دارد (Woo *et al.*, 2007). در این پژوهش، ژن‌های *YUCCA4* (MQTL1.2)، *YUCCA12* (MQTL2.2)، *YUCCA11* (MQTL3.1) و *YUCCA12* (MQTL12.1) در نواحی MQTL شناسایی شدند (جدول ۳).

OsWRKY76 که در MQTL9-3 قرار دارد، رشد ریشه‌های جانبی را در برنج تنظیم می‌کند، و از این طریق موجب رشد ریشه و افزایش تحمل به محیط‌های شور و خشک می‌شود (Yamamoto *et al.*, 2018).

۳- عوامل عملکردی

ژن‌های عملکردی پروتئین‌هایی را رمز می‌کنند که در انتهای مسیر قرار دارند و بسیاری از خصوصیات و مکانیسم‌های مقاومت به خشکی را باعث می‌شوند. در این مطالعه، در محدوده ناحیه MQTL2.2 ژن‌های خانواده Expansin شناسایی شدند (جدول ۳) که در طول شدن ریشه و افزایش تعداد ریشه نقش دارند (Cho & Cosgrove, 2002). رشد و نمو گیاه از طریق تغییرات در دیواره سلولی از جمله سست شدن و جمع شدن مجدد انجام می‌گیرد (جدول ۳). پروتئین‌هایی در دیواره سلولی وجود دارند که نقش مهمی در تنظیم توسعه‌پذیری دیواره سلولی ایفا می‌کنند. پروتئین‌های Expansin یک عامل کلیدی در سست کردن دیواره سلولی و تنظیم‌کنندگی توسعه‌پذیری سلول هستند که در کنترل فرآیندهای رشد گیاه لازم هستند (Cho & Cosgrove, 2002). بیان بیش از اندازه ژن *OsEXPA8* سبب افزایش طول ریشه اولیه و تعداد ریشه‌های جانبی می‌شود

۳). خانواده ژنی *WOX*، تحمل به خشکی برنج را از طریق توسعه سیستم ریشه افزایش می‌دهد (Zhao *et al.*, 2015) (جدول ۳).

اُکسین نقش مهمی در تنظیم مراحل مختلف رشد و نمو گیاهان دارد. مطالعات نشان داده است که اُکسین این فرآیندها را با استفاده از ژن‌های پاسخ‌گو به اُکسین (ARF) تنظیم می‌کند. اعضای خانواده ARF در تنظیم بیان ژن‌های پاسخگو به اُکسین نقش کلیدی دارند (Ellis *et al.*, 2005). ژن‌هایی که توسط اُکسین با افزایش یا کاهش تنظیم روبه‌رو می‌شوند دارای موتیف AUXRE در راه‌انداز خود بوده (AUX/IAA) که به عوامل رونویسی خانواده ARF متصل می‌شود (Ellis *et al.*, 2005; Wang & Estelle, 2014). بررسی ژن‌های ARF در گیاهان بیانگر نقش تنظیمی آن‌ها در فرایندهای مهم گیاهی است. به‌عنوان مثال در سویا تنظیم *ARF8* برای تشکیل گره و نمو ریشه جانبی الزامی است و در برنج حضور *ARF 12* و *ARF16* برای پاسخگویی به کمبود آهن با تنظیم توزیع مجدد اُکسین ضروری می‌باشد (Van *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2015). ژن‌های *ARF* و *AUX/IAA* در مسیر پیام‌رسانی اُکسین از اهمیت بسزایی برخوردار هستند و باعث تنظیم بیان ژن‌های درگیر در رشد و توسعه گیاه می‌شوند. تشکیل ریشه جانبی برنج به اُکسین IAA و پیام‌رسانی ARF نیاز دارد (Yamauchi *et al.*, 2019). عوامل رونویسی *ARF1* (MQTL11.4)، *ARF16* (MQTL1.3)، *ARF20* (MQTL7.2)، *ARF7* (MQTL6.4) و *ARF24* (MQTL12.2) در این پژوهش شناسایی شدند. ژن‌های *ARF1* و *ARF7* در موقعیت‌های همپوشان بین پیک SNP (+/-25 kb) و MQTLها قرار داشتند. اعضای خانواده (YUCCA) ۱، در مسیر بیوسنتز IAA وابسته

1. Auxin Response Factors
2. Yucca of monoxygenase

فاصله اطمینان QTL‌های اولیه بودند. نواحی MQTL شناسایی شده شامل ۵ تا ۳۲ QTL اولیه و منعکس‌کننده QTL‌های متعدد برای سه تا پنج صفت مرتبط با آرایش ریشه نظیر تعداد ریشه (RN)، طول ریشه (RL)، ضخامت ریشه (RT)، حجم ریشه (RV)، نسبت طول ریشه به ساقه (RSR)، وزن تر ریشه (RFW)، وزن خشک ریشه (RDW)، سرعت رشد ریشه (RGR) و مساحت سطح ریشه (RSA) بودند. از جمله ژن‌های کاندیدای دخیل در آرایش سیستم ریشه برنج که در نواحی MQTL قرار داشتند می‌توان به ژن‌های *WRKY76* (رشد ریشه جانبی)، *ARF1* (پیام‌رسانی مسیر اکسین در تشکیل ریشه جانبی)، *IAA8* (اکسین مؤثر در تشکیل ریشه جانبی)، *EXPA8* (افزایش طول ریشه اولیه و تعداد ریشه‌های جانبی)، *WOX4* و *WOX9* (رشد و توسعه ریشه)، *HOX11* (رشد و توسعه ریشه جانبی از طریق مسیر پیام‌رسانی جاسمونیک‌اسید)، *YUCCA8* (مسیر بیوسنتز اکسین)، *RHL* (شکل‌گیری و رشد تارهای کشنده ریشه)، *CRL6* (تشکیل ریشه گرهی) و *NAC5* (قطر ریشه) اشاره کرد. همپوشانی قابل توجهی بین MQTL‌های شناسایی شده با استفاده از متاآنالیز SNP‌های شناسایی شده با استفاده از روش GWAS مرتبط با صفات *RSA*، در ژنوم برنج وجود داشت. ۸ ژن که در MQTL‌های با فاصله اطمینان زیر دو سانتی‌مورگان و موقعیت‌های پیک SNP قرار داشتند، به‌عنوان ژن‌های نامزد جدید دخیل در صفات آرایش ریشه برای بررسی‌های بیشتر پیشنهاد می‌شوند.

سپاسگزاری

این پژوهش بخشی از پروژه تحقیقاتی مصوب در پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران به شماره ۱۲-۰۵-۰۵-۰۱۱-۰۳۲-۹۵۰۶۰۷-۹۶ و ستاد توسعه زیست‌فناوری با کمک مالی شماره ۹۷۰۸۰۱ می‌باشد که بدین وسیله مورد تشکر و قدردانی قرار می‌گیرد.

(ZhiMing et al., 2011). ژن‌های موجود در ناحیه MQTL2.2 شامل *EXPA13*، *EXPA14*، *EXPA22*، *EXPA23* و *EXPA24* بودند (جدول ۳). همچنین، ژن‌های *EXPA16*، *EXPB11*، *EXPB14* و *EXPA32* نیز شناسایی شدند (جدول ۳). اکثریت اعضای این خانواده ژنی در کروموزوم C2 قرار داشتند. بنابراین، به نظر می‌رسد کروموزوم C2 در طول شدن ریشه نقش اساسی ایفا کند. ناحیه MQTL12.1 در برگ‌برنده صفات ضخامت ریشه و حجم ریشه و ژن مهم *RHL* بود (جدول ۳). ژن *OsRHL1* کنترل‌کننده شکل‌گیری و رشد تارهای کشنده ریشه است (Ding et al., 2009). با انجام متاآنالیز QTL نقش نواحی کروموزومی در کنترل تعدادی از صفات مختلف ریشه مشخص گردید. تجزیه و تحلیل متاآنالیز QTL ریشه برنج گامی مؤثر در گزینش مبتنی بر نشانگر است و اطلاعات پایه‌ای در جهت شناسایی ژن‌های کاندیدای مؤثر بر رشد و نمو ریشه برنج فراهم می‌آورد.

اولین ژن رشد ریشه گره‌ای که شناسایی شد *CRL6* هستند (Inukai et al., 2005). در این مطالعه *CRL2* (M-QTL1.8)، *CRL1a* (M-QTL2.8)، *CRL1* (M-QTL3.1)، *OsCRL5* (M-QTL3.6)، *CRL4/OsGNOM1* (M-QTL7.1)، *CRL6* (M-QTL7.4) و *CRL6* (M-QTL12.2) یافت شدند که ژن *CRL6* در موقعیت‌های همپوشان بین پیک SNP (+/-25 kb) و MQTL‌ها قرار داشت. شواهد ارائه می‌دهد که *CRL6* از طریق مسیر سیگنال‌دهی اکسین در رشد ریشه گره‌ای نقش دارد (Wang et al., 2016).

در این پژوهش، ۶۹ ناحیه MQTL معنی‌دار روی ۱۲ کروموزوم برنج شناسایی شدند که فاصله اطمینان آن‌ها به‌طور میانگین ۳/۲۴ برابر کوچک‌تر از میانگین

REFERENCES

- Arcade, A., Labourdette, A., Falque, M., Mangin, B., Chardon, F., Charcosset, A., & Joets, J. (2004). BioMercator: integrating genetic maps and QTL towards discovery of candidate genes. *Bioinformatics*, 20(14), 2324-2326.
- Arifuzzaman, M., Sayed, M.A., Muzammil, S., Pillen, K., Schumann, H., Naz, A. A., & Léon, J. (2014). Detection and validation of novel QTL for shoot and root traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Molecular Breeding*, 34(3), 1373-1387.
- Bishopp, A., & Lynch, J. P. (2015). The hidden half of crop yields. *Nature Plants*, 1(8), 1-2.
- Burton, A. L., Johnson, J., Foerster, J., Hanlon, M. T., Kaepler, S. M., Lynch, J. P., & Brown, K. M. (2015). QTL mapping and phenotypic variation of root anatomical traits in maize (*Zea mays* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 128(1), 93-106.
- Chen, H. C., Song, J., Williams, C. M., Shuford, C. M., Liu, J., Wang, J. P.,... & Chiang, V.L. (2013). Monolignol pathway 4-coumaric acid: Coenzyme a ligases in populus. trichocarpa: Novel specificity, metabolic regulation, and simulation of coenzyme a ligation fluxes. *Plant Physiology*, 161(3), 1501-1516.
- Cho, H. T., & Cosgrove, D. J. (2002). Regulation of root hair initiation and expansin gene expression in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 14(12), 3237-3253.
- Catolos, M., Sandhu, N., Dixit, S., Shamsudin, N. A., Naredo, M. E., McNally, K.L.,... & Kumar, A. (2017). Genetic loci governing grain yield and root development under variable rice cultivation conditions. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1763.
- Courtois, B., Shen, L., Petalcorin, W., Carandang, S., Mauleon, R., & Li, Z. (2003). Locating QTLs controlling constitutive root traits in the rice population IAC 165×Co39. *Euphytica*, 134(3), 335-345.
- Courtois, B., Ahmadi, N., Khowaja, F., Price, A. H., Rami, J. F., Frouin, J.,... & Ruiz, M. (2009). Rice root genetic architecture: meta-analysis from a drought QTL database. *Rice*, 2(2), 115-128.
- Darvasi, A., & Soller, M. (1997). A simple method to calculate resolving power and confidence interval of QTL map location. *Behavior Genetics*, 27(2), 125-132.
- Daryani, P., Darzi Ramandi, H., Dezhsetan, S., Mirdar Mansuri, R., Hosseini Salekdeh, G., & Shobbar, Z. S. (2022). Pinpointing genomic regions associated with root system architecture in rice through an integrative meta-analysis approach. *Theoretical and Applied Genetics*, 135(1), 81-106.
- Darzi-Ramandi, H., Shariati J, V., Tavakol, E., Najafi-Zarini, H., Bilgrami, S. S., & Razavi, K. (2017). Detection of consensus genomic regions associated with root architecture of bread wheat on groups 2 and 3 chromosomes using QTL meta-analysis. *Australian Journal of Crop Science*, 11(7), 777-785.
- DeYoung, B. J., Bickle, K. L., Schrage, K. J., Muskett, P., Patel, K., & Clark, S. E. (2006). The CLAVATA1-related BAM1, BAM2 and BAM3 receptor kinase-like proteins are required for meristem function in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 45(1), 1-16.
- Ding, W., Yu, Z., Tong, Y., Huang, W., Chen, H., & Wu, P. (2009). A transcription factor with a bHLH domain regulates root hair development in rice. *Cell research*, 19(11), 1309-1311.
- Ding, X., Li, X., & Xiong, L. (2011). Evaluation of near-isogenic lines for drought resistance QTL and fine mapping of a locus affecting flag leaf width, spikelet number, and root volume in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 123(5), 815-826.

- Ellis, C.M., Nagpal, P., Young, J.C., Hagen, G., Guilfoyle, T.J., Reed, & J.W. (2005) Auxin response factor1 and auxin response factor2 regulate senescence and floral organ abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 132, 4563-4574.
- Emrich, K., Price, A., & Piepho, H.P. (2008) Assessing the importance of genotype×environment interaction for root traits in rice using a mapping population III: QTL analysis by mixed models. *Euphytica*, 161(1), 229-240.
- Gamuyao, R., Chin, J. H., Pariasca-Tanaka, J., Pesaresi, P., Catausan, S., Dalid, C.,... & Heuer, S. (2012). The protein kinase Pst11 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. *Nature*, 488(7412), 535-539.
- Gierth, M., & Mäser, P. (2007). Potassium transporters in plants— involvement in K⁺ acquisition, redistribution and homeostasis. *FEBS Letters*, 581(12), 2348-2356.
- Goffinet, B., & Gerber, S. (2000). Quantitative trait loci: a meta-analysis. *Genetics*, 155(1), 463-473.
- Guo, B., Sleper, D. A., Lu, P., Shannon, J. G., Nguyen, H. T., & Arelli, P. R. (2006). QTLs Associated with Resistance to Soybean Cyst Nematode in Soybean Meta-Analysis of QTL Locations-Retracton. *Crop Science*, 46(1), 202-202.
- Guo, J., Chen, L., Li, Y., Shi, Y., Song, Y., Zhang, D.,... & Li, C. (2018). Meta-QTL analysis and identification of candidate genes related to root traits in maize. *Euphytica*, 214(12), 1-15.
- Guseman, J. M., Webb, K., Srinivasan, C., & Dardick, C. (2017). DRO 1 influences root system architecture in *Arabidopsis* and *Prunus* species. *The Plant Journal*, 89(6), 1093-1105.
- Horii, H., Nemoto, K., Miyamoto, N., & Harada, J. (2006). Quantitative trait loci for adventitious and lateral roots in rice. *Plant Breeding*, 125(2), 198-200.
- Ikeda, H., Kamoshita, A., & Manabe, T. (2007). Genetic analysis of rooting ability of transplanted rice (*Oryza sativa* L.) under different water conditions. *Journal of experimental botany*, 58(2), 309-318.
- Inukai, Y., Sakamoto, T., Ueguchi-Tanaka, M., Shibata, Y., Gomi, K., Umemura, I.,... & Matsuoka, M. (2005). Crown rootless1, which is essential for crown root formation in rice, is a target of an AUXIN RESPONSE FACTOR in auxin signaling. *The Plant Cell*, 17(5), 1387-1396.
- Jeong, J. S., Kim, Y. S., Redillas, M. C., Jang, G., Jung, H., Bang, S. W.,... & Kim, J.K. (2013). *OsNAC5* overexpression enlarges root diameter in rice plants leading to enhanced drought tolerance and increased grain yield in the field. *Plant Biotechnology Journal*, 11(1), 101-114.
- Kamoshita, A., Zhang, J., Siopongco, J. D. L. C., Sarkarung, S., Nguyen, H. T., & Wade, L. J. (2002). Effects of phenotyping environment on identification of quantitative trait loci for rice root morphology under anaerobic conditions. *Crop Science*, 42(1), 255-265.
- Kawahara, Y., de la Bastide, M., Hamilton, J. P., Kanamori, H., McCombie, W. R., Ouyang, S.,... & Matsumoto, T. (2013). Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data. *Rice*, 6(1), 1-10.
- Khowaja, F. S., Norton, G. J., Courtois, B., & Price, A. H. (2009). Improved resolution in the position of drought-related QTLs in a single mapping population of rice by meta-analysis. *BMC Genomics*, 10(1), 1-14.
- Li, J., Zhu, S., Song, X., Shen, Y., Chen, H., Yu, J.,... & Deng, X. W. (2006). A rice glutamate receptor-like gene is critical for the division and survival of individual cells in the root apical meristem. *The Plant Cell*, 18(2), 340-349.

- Li, H., Zhou, S. Y., Zhao, W. S., Su, S. C., & Peng, Y. L. (2009). A novel wall-associated receptor-like protein kinase gene, *OsWAK1*, plays important roles in rice blast disease resistance. *Plant Molecular Biology*, 69(3), 337-346.
- Li, J., Wang, D., Xie, Y., Zhang, H., Hu, G., Li, J.,... & Li, Z. (2011). Development of upland rice introgression lines and identification of QTLs for basal root thickness under different water regimes. *Journal of Genetics and Genomics*, 38(11), 547-556.
- Li, W. T., Liu, C., Liu, Y. X., Pu, Z. E., Dai, S. F., Wang, J. R.,... & Wei, Y. M. (2013). Meta-analysis of QTL associated with tolerance to abiotic stresses in barley. *Euphytica*, 189(1), 31-49.
- Li, J., Han, Y., Liu, L., Chen, Y., Du, Y., Zhang, J.,... & Zhao, Q. (2015). qRT9, a quantitative trait locus controlling root thickness and root length in upland rice. *Journal of Experimental Botany*, 66(9), 2723-2732.
- Li, X., Guo, Z., Lv, Y., Cen, X., Ding, X., Wu, H.,... & Xiong, L. (2017). Genetic control of the root system in rice under normal and drought stress conditions by genome-wide association study. *PLoS Genetics*, 13(7), e1006889.
- Liang, Y. S., Zhan, X. D., Wang, H. M., Gao, Z. Q., Chuan Lin, Z., Chen, D. B.,... & Cheng, S. H. (2013). Locating QTLs controlling several adult root traits in an elite Chinese hybrid rice. *Gene*, 526(2), 331-335.
- Lobet, G., Draye, X., & Périlleux, C. (2013). An online database for plant image analysis software tools. *Plant Methods*, 9(1), 1-8.
- Maccaferri, M., El-Feki, W., Nazemi, G., Salvi, S., Canè, M. A., Colalongo, M. C.,... & Tuberosa, R. (2016). Prioritizing quantitative trait loci for root system architecture in tetraploid wheat. *Journal of Experimental Botany*, 67(4), 1161-1178.
- Manschadi, A. M., Hammer, G. L., Christopher, J. T., & Devoil, P. (2008). Genotypic variation in seedling root architectural traits and implications for drought adaptation in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and soil*, 303(1), 115-129.
- Mirdar Mansuri, R., Shobbar, Z. S., Babaeian Jelodar, N., Ghaffari, M. R., Nematzadeh, G. A., & Asari, S. (2019). Dissecting molecular mechanisms underlying salt tolerance in rice: a comparative transcriptional profiling of the contrasting genotypes. *Rice*, 12(1), 1-13.
- Mao, S.L., Wei, Y. M., Cao, W., Lan, X. J., Yu, M., Chen, Z. M.,... & Zheng, Y. L. (2010). Confirmation of the relationship between plant height and Fusarium head blight resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.) by QTL meta-analysis. *Euphytica*, 174(3), 343-356.
- Marone, D., Russo, M. A., Laidò, G., De Vita, P., Papa, R., Blanco, A.,... & Mastrangelo, A. M. (2013). Genetic basis of qualitative and quantitative resistance to powdery mildew in wheat: from consensus regions to candidate genes. *BMC Genomics*, 14(1), 1-17.
- McCouch, S. R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K. B., Clare, K., Walton, M.,... & Stein, L. (2002). Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research*, 9(6), 199-207.
- Niones, J. M., Inukai, Y., Suralta, R. R., & Yamauchi, A. (2015). QTL associated with lateral root plasticity in response to soil moisture fluctuation stress in rice. *Plant and Soil*, 391(1), 63-75.
- Nguyen, T.T.T., Klueva, N., Chamareck, V., Aarti, A., Magpantay, G., Millena, A. C. M.,... & Nguyen, H. T. (2004). Saturation mapping of QTL regions and identification of putative candidate genes for drought tolerance in rice. *Molecular Genetics and Genomics*, 272(1), 35-46.

- Obara, M., Takeda, T., Hayakawa, T., & Yamaya, T. (2011). Mapping quantitative trait loci controlling root length in rice seedlings grown with low or sufficient supply using backcross recombinant lines derived from a cross between *Oryza sativa* L. and *Oryza glaberrima* Steud. *Soil Science and Plant Nutrition*, 57(1), 80-92.
- Price, A. H., Steele, K. A., Moore, B. J., & Jones, R. G. W. (2002). Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water-deficit regimes: II. Mapping quantitative trait loci for root morphology and distribution. *Field Crops Research*, 76(1), 25-43.
- Prince, S. J., Song, L., Qiu, D., Maldonado dos Santos, J. V., Chai, C., Joshi, T.,... & Nguyen, H. T. (2015). Genetic variants in root architecture-related genes in a Glycine soja accession, a potential resource to improve cultivated soybean. *BMC Genomics*, 16(1), 1-20.
- Zhao-ming, Q., Ya-nan, S., Qiong, W., Chun-yan, L., Guo-hua, H., & Qing-shan, C. (2011). A meta-analysis of seed protein concentration QTL in soybean. *Canadian Journal of Plant Science*, 91(1), 221-230.
- Qu, Y., Mu, P., Zhang, H., Chen, C. Y., Gao, Y., Tian, Y.,... & Li, Z. (2008). Mapping QTLs of root morphological traits at different growth stages in rice. *Genetica*, 133(2), 187-200.
- Sandhu, N., Torres, R. O., Sta Cruz, M. T., Maturan, P. C., Jain, R., Kumar, A., & Henry, A. (2015). Traits and QTLs for development of dry direct-seeded rainfed rice varieties. *Journal of Experimental Botany*, 66(1), 225-244.
- Shao, H. B., Song, W. Y., & Chu, L. Y. (2008). Advances of calcium signals involved in plant anti-drought. *Comptes Rendus Biologies*, 331(8), 587-596.
- Sharma, S., Xu, S., Ehdaie, B., Hoops, A., Close, T. J., Lukaszewski, A. J., & Waines, J. G. (2011). Dissection of QTL effects for root traits using a chromosome arm-specific mapping population in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 122(4), 759-769.
- Singh, S., Pradhan, S. K., Singh, A. K., & Singh, O.N. (2012). Marker validation in recombinant inbred lines and random varieties of rice for drought tolerance. *Australian Journal of Crop Science*, 6(4), 606.
- Singhal, P., Jan, A. T., Azam, M., & Haq, Q. M. R. (2016). Plant abiotic stress: a prospective strategy of exploiting promoters as alternative to overcome the escalating burden. *Frontiers in Life Science*, 9(1), 52-63.
- Srividya, A., Ramanarao, P. V., Sridhar, S., Jayaprada, M., Anuradha, G., Srilakshmi, B.,... & Vemireddy, L. R. (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(02), 190.
- Shiu, S. H., & Blecker, A. B. (2001). Receptor-like kinases from Arabidopsis form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(19), 10763-10768.
- Sosnowski, O., Charcosset, A., & Joets, J. (2012). BioMercator V3: an upgrade of genetic map compilation and quantitative trait loci meta-analysis algorithms. *Bioinformatics*, 28(15), 2082-2083.
- Steele, K. A., Virk, D. S., Kumar, R., Prasad, S. C., & Witcombe, J. R. (2007). Field evaluation of upland rice lines selected for QTLs controlling root traits. *Field Crops Research*, 101(2), 180-186.
- Suji, K. K., Prince, K. S. J., Mankhar, P. S., Kanagaraj, P., Poornima, R., Amutha, K.,... & Babu, R. C. (2012). Evaluation of rice (*Oryza sativa* L.) near iso-genic lines with root QTLs for plant production and root traits in rainfed target populations of environment. *Field Crops Research*, 137, 89-96.

- Swamy, B. P., Vikram, P., Dixit, S., Ahmed, H. U., & Kumar, A. (2011). Meta-analysis of grain yield QTL identified during agricultural drought in grasses showed consensus. *BMC Genomics*, *12*(1), 1-18.
- Temnykh, S., DeClerck, G., Lukashova, A., Lipovich, L., Cartinhour, S., & McCouch, S. (2001). Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Research*, *11*(8), 1441-1452.
- Uga, Y., Okuno, K., & Yano, M. (2010). Fine mapping of *Sta1*, a quantitative trait locus determining stele transversal area, on rice chromosome 9. *Molecular Breeding*, *26*(3), 533-538.
- Uga, Y., Okuno, K., & Yano, M. (2011). *Dro1*, a major QTL involved in deep rooting of rice under upland field conditions. *Journal of Experimental Botany*, *62*(8), 2485-2494.
- Uga, Y., Sugimoto, K., Ogawa, S., Rane, J., Ishitani, M., Hara, N.,... & Yano, M. (2013). Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. *Nature Genetics*, *45*(9), 1097-1102.
- Uga, Y., Kitomi, Y., Ishikawa, S., & Yano, M. (2015). Genetic improvement for root growth angle to enhance crop production. *Breeding Science*, *65*(2), 111-119.
- Van Ha, C., Le, D.T., Nishiyama, R., Watanabe, Y.A.S.U.K.O., Sulieman, S., Tran, U. T.,... & Tran, L. S. P. (2013). The auxin response factor transcription factor family in soybean: genome-wide identification and expression analyses during development and water stress. *DNA Research*, *20*(5), 511-524.
- Venuprasad, R., Shashidhar, H. E., Hittalmani, S., & Hemamalini, G. S. (2002). Tagging quantitative trait loci associated with grain yield and root morphological traits in rice (*Oryza sativa* L.) under contrasting moisture regimes. *Euphytica*, *128*(3), 293-300.
- Veyrieras, J. B., Goffinet, B., & Charcosset, A. (2007). MetaQTL: a package of new computational methods for the meta-analysis of QTL mapping experiments. *BMC Bioinformatics*, *8*(1), 1-16.
- Visscher, P. M., & Goddard, M. E. (2004). Prediction of the confidence interval of quantitative trait loci location. *Behavior Genetics*, *34*(4), 477-482.
- Wang, R., & Estelle, M. (2014). Diversity and specificity: auxin perception and signaling through the TIR1/AFB pathway. *Current Opinion in Plant Biology*, *21*, 51-58.
- Wang, Y., Xu, J., Deng, D., Ding, H., Bian, Y., Yin, Z.,... & Zhao, Y. (2016). A comprehensive meta-analysis of plant morphology, yield, stay-green, and virus disease resistance QTL in maize (*Zea mays* L.). *Planta*, *243*(2), 459-471.
- Wang, Y., Wang, D., Gan, T., Liu, L., Long, W., Wang, Y.,... & Wan, J. (2016). *CRL6*, a member of the CHD protein family, is required for crown root development in rice. *Plant Physiology and Biochemistry*, *105*, 185-194.
- Wissuwa, M., Yano, M., & Ae, N. (1998). Mapping of QTLs for phosphorus-deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *97*(5), 777-783.
- Woo, Y. M., Park, H. J., Su'udi, M., Yang, J. I., Park, J. J., Back, K.,... & An, G. (2007). Constitutively wilted 1, a member of the rice YUCCA gene family, is required for maintaining water homeostasis and an appropriate root to shoot ratio. *Plant Molecular Biology*, *65*(1), 125-136.
- Wu, W., & Cheng, S. (2014). Root genetic research, an opportunity and challenge to rice improvement. *Field Crops Research*, *165*, 111-124.

- Xu, C. G., Li, X. Q., Xue, Y., Huang, Y. W., Gao, J., & Xing, Y. Z. (2004). Comparison of quantitative trait loci controlling seedling characteristics at two seedling stages using rice recombinant inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(3), 640-647.
- Yamamoto, T., Yoshida, Y., Nakajima, K., Tominaga, M., Gyohda, A., Suzuki, H.,... & Koshiba, T. (2018). Expression of RSOsPR10 in rice roots is antagonistically regulated by jasmonate/ethylene and salicylic acid via the activator OsERF87 and the repressor OsWRKY76, respectively. *Plant Direct*, 2(3), e00049.
- Yamauchi, T., Tanaka, A., Inahashi, H., Nishizawa, N. K., Tsutsumi, N., Inukai, Y., & Nakazono, M. (2019). Fine control of aerenchyma and lateral root development through AUX/IAA- and ARF-dependent auxin signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(41), 20770-20775.
- Yue, B., Xiong, L., Xue, W., Xing, Y., Luo, L., & Xu, C. (2005). Genetic analysis for drought resistance of rice at reproductive stage in field with different types of soil. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(6), 1127-1136.
- Zhang, S., Wang, S., Xu, Y., Yu, C., Shen, C., Qian, Q.,... & Qi, Y. (2015). The auxin response factor, *OsARF 19*, controls rice leaf angles through positively regulating *OsGH 3-5* and *OsBRI 1*. *Plant, Cell & Environment*, 38(4), 638-654.
- Zhang, X., Shabala, S., Koutoulis, A., Shabala, L., & Zhou, M. (2017). Meta-analysis of major QTL for abiotic stress tolerance in barley and implications for barley breeding. *Planta*, 245(2), 283-295.
- Zhao, L., Liu, H. J., Zhang, C. X., Wang, Q. Y., & Li, X. H. (2015). Meta-analysis of constitutive QTLs for disease resistance in maize and its synteny conservation in the rice genome. *Genet. Mol. Res*, 14, 961-970.
- Zhou, Y., Dong, G., Tao, Y., Chen, C., Yang, B., Wu, Y.,... & Wang, Y. (2016). Mapping quantitative trait loci associated with root traits using sequencing-based genotyping chromosome segment substitution lines derived from 9311 and Nipponbare in Rice (*Oryza sativa* L.). *PLoS One*, 11(3), e0151796.
- Zheng, B. S., Ling, Y. A. N. G., Chuan-Zao, M. A. O., Zhang, W. P., & Ping, W. U. (2006). QTLs and candidate genes for rice root growth under flooding and upland conditions. *Acta Genetica Sinica*, 33(2), 141-151.
- ZhiMing, Y., Bo, K., XiaoWei, H., ShaoLei, L., YouHuang, B., WoNa, D.,... & Ping, W. (2011). Root hair-specific expansins modulate root hair elongation in rice. *The Plant Journal*, 66(5), 725-734.