مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره 1، شماره 1، پاییز 1388)

مکان‌یابی ژن‌های کمی کنترل‌کننده میزان سدیم و پتاسیم در برنج تحت تنش شوری

قاسم محمّدی‌نژاد[*1]، احمد ارزانی[2]، عبدالمجید رضایی[2]، راکش کومار سینگ[3]، حسین صبوری[4]، محمد مهدی مجیدی[2]، محمدحسین فتوکیان[5]، علی مومنی[6]، وگلن گریگوریو[2]

[1] بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

[2] بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

[3] مرکز تحقیقات بین المللی برنج (IRRI)، لوسبانیوس، فیلیپین

[4] بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی مجتمع آموزش عالی گنبدکاووس

[5] بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران

[6] مرکز تحقیقات برنج ایران، رشت

چکیده

این بررسی با هدف نقشه‌یابی QTL های کنترل‌کننده تحمل به شوری با استفاده از لاین بسیار متحمل FL478 در موسسه تحقیقات بین المللی برنج IRRI، در سال‌های1384 تا 1386 اجرا گردید. ارزیابی فنوتیپی 2350 لاین BC_3F_4 حاصل از تلاقی ژنوتیپ‌های FL478× IR29، در مرحله گیاهچه در شرایط کنترل شده برای صفات امتیاز تحمل به شوری ژنوتیپ‌ها، میزان انباشت سدیم و پتاسیم در برگ چهارم و نسبت آنها، بر وجود تفاوت معنی‌دار بین فامیل‌های تلاقی برگشتی دلالت داشت. نتایج نشان داد که پایین بودن نسبت Na^+/K^+ در لاین FL478، عمدتاً از طریق جذب کمتر سدیم رخ می‌دهد. نتایج مکان یابی QTL ها با ژنوتیپ‌یابی انتخابی 500 تک بوته کرانه‌ای با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، بیانگر وجود بیشترین و کمترین تعداد QTL به ترتیب، برای غلظت‌های Na^+ و K^+ بود. مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب نشان داد که علاوه بر کروموزوم 1، کروموزم‌های 6، 8 و 10 دارای QTL های مهم و تأثیرگذار بر تحمل به شوری در مرحله گیاهچه می‌باشند. برای غلظت سدیم در برگ چهارم یک QTL در ناحیه *Saltol* مکان‌یابی شد، در حالی‌که برای امتیاز تحمل به شوری، غلظت پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم QTL تأثیرگذاری در ناحیه فوقانی *Saltol* شناسائی شد. برای امتیاز تحمل به شوری، مکان‌های ژنی بزرگ‌اثری روی کروموزوم های 1، 3 و 6 مکان‌یابی شدند. برای غلظت سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم، کروموزوم‌های 1، 6، 10 و 12 دارای QTL های بزرگ‌اثر بودند که منشاء اکثر آن‌ها FL478 بود. همچنین، هیچ‌گونه اپیستازی معنی‌داری نیز بینQTL ها دیده نشد. بنابراین، در اصلاح به کمک نشانگر و با استفاده از لاین FL478 به عنوان یکی از متحمل‌ترین لاین‌های اصلاحی، لازم است هرم‌سازی QTL ها و ادغام همزمان چند QTLبزرگ اثر به ارقام مدنظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: برنج، تحمل به شوری، ژنوتیپ متحمل ، نسبت سدیم به پتاسیم، FL478، QTL، نشانگر ملکولی، مکان یابی ژن.

* نویسنده مسئول: قاسم محمدي نژاد تلفن: ۰۳۴۱۳۲۰۲۶۳۹ Email: Mohammadinejad@uk.ac.ir

مقدمه

برنج غذای اصلی بیش از نیمی از مردم دنیا را تشکیل می‌دهد و از نظر سطح زیر کشت پس از گندم، در رتبه دوم قرار دارد و حدود 153 میلیون هکتار از زمین‌های دنیا زیر کشت برنج است. این محصول غذای اصلی 90% از مردم جنوب و جنوب شرق آسیا می باشد (Tanji, 1990). برنج پس از گندم، غذای اصلی مردم ایران است و در سطحی معادل 600 هزار هکتار زراعت می‌شود. میانگین عملکرد برنج در ایران 4 تا 5 تن در هکتار است (آمارنامه وزارت کشاورزی). شوری خاک یکی از عوامل محدود کننده توسعه کشاورزی است، به طوری که از کل 165 میلیون هکتار مساحت کشور، در حدود 23/5 میلیون هکتار معادل 14/2 درصد کل مساحت کشور به درجات متفاوت با مسائل شوری، سدیمی(قلیایی-بودن) و ماندابی روبرو است (Pazira, 1986). گرچه شوری مشکل جدی تولید محصول در استان‌های گیلان و مازندران که بیش از 80 درصد شالیزارهای کشور در آن‌ها قرار دارد نیست، ولی مشکل آینده در این استان‌ها به ویژه در زمین های نزدیک دریای خزر و نیز مشکل فعلی در شالیزارهای جنوب کشور به ویژه در استان خوزستان است (Fotokian, 2005). علاوه بر این، یکی از موانع توسعه کشت برنج در مناطق دیگر به شرط وجود آب، چالش شوری است. به‌طور کلی، برنج را جزو گیاهان حساس و نیمه حساس به شوری طبقه‌بندی می‌کنند. تحمل به شوری در گیاهان صفت پیچیده و برآیند تعدادی مسیر فیزیولوژیک و صفت مختلف است که هر کدام به نوبه خود به شدت تحت تأثیر محیط قرار می-گیرند. واکنش برنج به شوری در مراحل مختلف رشد متغیر است. همچنین به دلیل عدم وجود تنوع ژنتیکی کافی و از طرفی نبود روش‌های گزینش کارآ، با وجود تلاش‌های زیادی که برای افزایش تحمل به شوری در برنج صورت گرفته است، اصلاح این صفت با روش‌های متداول با مشکل روبرو بوده و موفقیّت ها حاصل در این زمینه چندان چشمگیر نبوده است. روش‌های مولکولی با نشانمند کردن ژن‌ها و گزینش به کمک نشانگر، برنامه‌های اصلاحی را سرعت بخشیده است (Flowers and Yeo, 1995). شناسایی نشانگرهای مولکولی کاملاً پیوسته با ژن مورد نظر و مکان‌یابی آن، یک هدف مهم در اصلاح برنج است که به این روش می‌توان بر پیچیدگی‌های روش‌های اصلاحی متداول غلبه

کرد. یک مکان کروموزومی بزرگ‌اثر که در تنظیم جذب سدیم، جذب پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم و تحمل به شوری در مرحله گیاهچه در برنج مؤثر است، توسط Gregorio در سال 1997 در نسل F8 حاصل از تلاقی Pokkali×IR29 شناسائی شد. این ناحیه در کروموزوم یک با استفاده از جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب و با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره (SSR[1] و SSLP2) تحت نام *Saltol* شناسائی شد (Gregorio, 1997). در پژوهش گریگوریو یکی از لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی Pokkali×IR29، لاین IR66946-3R-178-1-1 بود که FL478 نامیده می‌شود و تحمل بالاتری از والد متحمل(Pokkali)داشت و هم‌اکنون به‌عنوان والد متحمل (شاهد) در آزمایش‌های ارزیابی شوری در برنج به کار می رود (Gregorio, 1997). این پژوهش در راستای دستیابی به اهداف زیر انجام شد. ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی و نقشه‌یابی جوامع حاصل از لاین FL478 جهت درک بهتر مکانیسم تحمل، شناسائی دقیق‌تر نقش *Saltol* در ایجاد تحمل، بررسی سایر مکان‌های ژنی مؤثر در تحمل به شوری و آثار متقابل ژنی و سرانجام فراهم نمودن مسیر دقیق‌تر انتخاب به کمک نشانگر و یا هرم سازی ژنی با هدف گرد هم آوردن مکان‌های ژنی مرتبط با مکانیسم‌های مختلف تحمل به شوری بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، 2350 لاین تصادفی از بین 10000 لاین BC_3 F_4 حاصل از تلاقی دو لاین برنج ایندیکا IR29 و FL478 مورد ارزیابی فنوتیپی قرار گرفتند. لاین IR29، از لاین‌های اصلاحی پرمحصول موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج می‌باشد، ولی حساسیت بسیار بالایی به شوری در مراحل گیاهچه و زایشی دارد و به عنوان شاهد حساس به شوری در مطالعات اصلاحی استفاده می شود. لاین FL478 که نام کامل آن IR66946-3R-178-1-1 می‌باشد، از تلاقی Pokkali×IR29 به دست آمده است و تحمل بیشتری نسبت به والد متحمل خود (Pokkali) به شوری دارد و به عنوان والد استاندارد تحمل به شوری، استفاده می شود (Gregorio, 1997).

[1] Simple Sequence Repeat
[2] Simple Sequence Length Polymorphism

این آزمایش در مؤسسه تحقیقات بین‌المللی برنج (IRRI) در فیلیپین از فروردین تا خرداد 1385 به روش گریگوریو و همکاران (Gregorio *et al.*, 1997) در شرایط کنترل شده (اتاقک رشد) اجرا شد. بذور قبل از استفاده در آزمایش‌های شوری، به مدت یک هفته در دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرارگرفتند تا خواب احتمالی در بذر شکسته شود. سپس بذور در دستگاه جوانه زنی در دمای 35 درجه سانتی‌گراد جوانه‌دار شدند. بذور جوانه‌زده در درون حفره‌های ایجاد شده در یونولیت[3] که یک شبکه نایلونی در زیرآن قرار گرفته بود، کشت شدند. محیط کشت به مدت 2 روز آب مقطر و سپس محلول غذایی یوشیدا[4] بود که با افزودن کلرید سدیم هدایت الکتریکی آن به 12 دسی زیمنس بر متر ($EC=12dSm^{-1}$) رسید. اسیدیته محلول غذایی به طور روزانه تنظیم و با استفاده از NaOH و HCl در pH برابر با 5/2 ثابت نگه داشته شد.

پس از 14 روز تیمار شوری، ابتدا با ارزیابی ظاهری وضعیت ساقه و ریشه گیاهچه‌ها، امتیاز ژنوتیپی برای تحمل به شوری بر اساس روش تغییریافته Gregorio و همکاران (1997) برای هر بوته تعیین شد و سپس غلظت سدیم و پتاسیم (برحسب میلی‌مولار در گرم برگ) و نسبت آنها در برگ چهارم به روش فلیم‌فتومتری (شعله سنجی) تعیین گردید.

برای مطالعه چندشکلی در والدین براساس بانک اطلاعاتی توالی‌یابی بین‌المللی ژنوم برنج و با تأکید بر کاربرد بیشترین نشانگر برای ناحیه *Saltol* در کروموزوم یک و همچنین براساس نقشه‌های ژنتیکی موجود، تعداد 1125 نشانگر ریزماهواره طوری گزینش شدند که تمام ژنوم را پوشش دهند. پس از انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز، برای هر کدام از نشانگرها الکتروفورز انجام شد و پس از وضوح نوارها در ژل‌های رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید، تعداد 312 نشانگر چندشکل تعیین شد.

ژنوتیپ‌یابی 100 تک بوته کرانه بالا و100 تک بوته کرانه پایین در جمعیت BC_3F_4 با استفاده از 312 نشانگر چند شکل انجام شد. تعداد 107 نشانگر، چند شکلی معنی‌داری مرتبط با صفات اندازه گیری شده در بین نتاج BC_3F_4 نشان دادند. سپس ژنوتیپ‌یابی 150 تک بوته از کرانه‌ی بالا و 150 تک بوته از کرانه‌ی پایین توده

[3] Styrofoam
[4] Yoshida

مورد مطالعه با 107 نشانگر مورد استفاده قرار گرفت.

نقشه‌یابی فاصله‌ای (IM[5]) و نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM[6])، براساس مدل کامل Xu, (2000) برای داده‌های فنوتیپی 2350 تک بوته و داده‌های ژنوتیپی 500 تک بوته صورت گرفت. پیمایش برای QTL با استفاده از نرم‌افزارهای QTL Cartographer و QGene در سطح احتمال 1 درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج ارزیابی فنوتیپی

برای تمام صفات مورد بررسی اختلاف بسیار معنی‌داری بین فامیل‌ها مشاهده شد (جدول 1). همچنین، تفاوت بین والدین از نظر همه صفات به جز غلظت پتاسیم معنی‌دار بود (جدول 2). بنابراین، تفرق بین نتاج برای غلظت پتاسیم ممکن است ناشی از پدیده تفکیک متجاوز[7] باشد. به نظر می‌رسد مکانیسم تحمل به شوری در لاین FL478 بیشتر مربوط به جذب کمتر Na^+ و نه جذب بیشتر پتاسیم باشد. البته این امکان هم وجود دارد که پتاسیم در سایر بخش‌های گیاه نظیر غلاف برگ زیاد بوده باشد (Mitsuya *et al.*, 2002)، ولی در این مطالعه غلظت پتاسیم فقط در برگ چهارم اندازه‌گیری شد. میزان سدیم جذب شده و نسبت Na^+/K^+ همبستگی بسیار معنی‌داری با امتیاز تحمل ژنوتیپ‌ها به شوری در مرحله گیاهچه نشان دادند، در حالی که غلظت پتاسیم ارتباط معنی داری با غلظت سدیم و امتیاز تحمل به شوری نشان نداد (جدول 3).

با توجه به این نتایج و همچنین وجود گزارش های متعدد نظیر (Mohammadi-Nejad et al. , *2008*; Mohammadi-Nejad et al., 2010) در زمینه اهمیت نسبت سدیم به پتاسیم در تحمل به شوری، کاربرد این معیار در ارزیابی تحمل به-شوری مورد تاکید قرار گرفت. در این مطالعه رابطه خطی معنی‌داری بین میانگین‌های امتیاز تحمل به شوری و نسبت سدیم به پتاسیم به صورت Y= 2.747X مشاهده شد، که Y و X به ترتیب امتیاز تحمل به شوری و نسبت سدیم به پتاسیم می‌باشند.

[5] Interval Mapping
[6] Composite Interval Mapping
[7] Transgressive segregation

نقشه پیوستگی و مکان‌یابی QTL ها

نقشه پیوستگی تهیه شده براساس اطلاعات 107 نشانگر ریزماهواره روی 500 تک بوته از جمعیت BC_3F_4، نشان داد که نشانگرهای گزینش‌شده همه 12 کروموزوم برنج را پوشش دادند. این پوشش برابر با 1403/68 سانتی‌مورگان با میانگین فاصله 13/12 سانتی مورگان بین دو نشانگر مجاور بود. این نشانگرها که از بین 312 نشانگر چندشکل بین دو والد و براساس اطلاعات ژنتیکی گزینش شده‌اند، تراکم متفاوتی برای کروموزوم‌های مختلف داشتند، به طوری که کروموزوم‌های 9 و 11 کمترین تعداد نشانگر را داشتند. بیشترین میانگین طول گروه پیوستگی، مربوط به کروموزوم 8 و برابر با 21/6 سانتی مورگان بود و کمترین آن به کروموزوم 1 و با طول 6/95 سانتی‌مورگان بود (شکل 1).

جدول 1- تجزیه واریانس صفات مختلف تحت شرایط شوری.

میانگین مربعات درون فامیل ها Mean of Squares within families	میانگین مربعات بین فامیل ها Mean of Squares among families	صفت Trait
5.74	77.98**	امتیاز تحمل به شوری Standard Evaluation Score
17.45	65.16**	غلظت سدیم Na^+ Concentration
0.31	1.77**	غلظت پتاسیم K^+ Concentration
18.84	85.78**	نسبت سدیم به پتاسیم Na^+/K^+ Ratio

** معنی دار در سطح احتمال 1درصد می باشد و درجه آزادی فامیل 53 می‌باشد.

** Highly significant (P<0.01), degree of freedom is 53.

Table 1- Analysis of variance for the studied traits under salt treatment.

جدول 2- مقایسه میانگین‌های صفات مختلف در والدین تلاقی برگشتی IR29 و FL478 و میانگین جامعه.

نسبت سدیم به پتاسیم Na^+/K^+ Ratio	غلظت پتاسیم mM/g K^+ Concentration	غلظت سدیم mM/g Na^+ Concentration	امتیار تحمل به شوری Standard Evaluation Score	والدین جامعه Population parents
0.72	1.29	0.9	1.43	FL478
8.1	1.1	8.24	8.56	IR29
4.51	0.99	4.138	4.82	میانگین جامعه Population Mean

Table 2- Mean comparison of different traits for the Parent of Back cross, IR29 and FL478 as well as population mean.

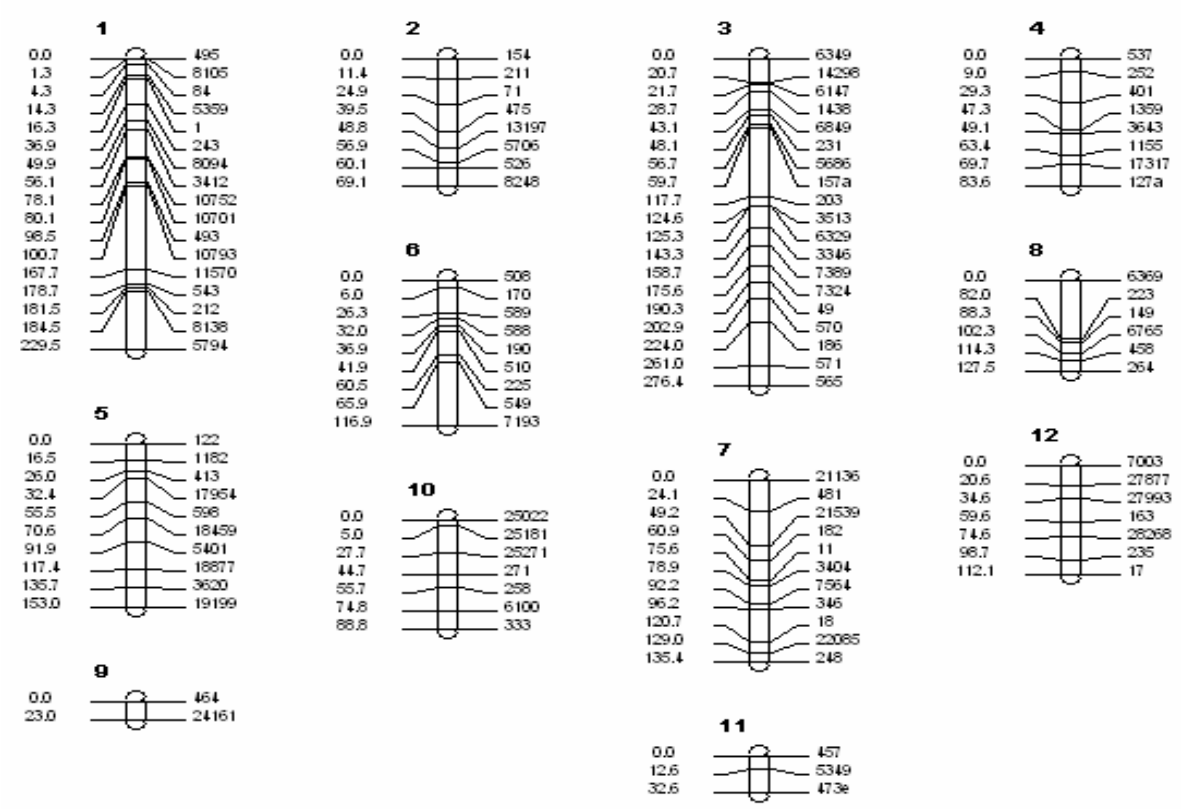
جدول 3- همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد مطالعه در فامیل‌های تلاقی برگشتی.

صفت Trait	امتیاز تحمل به شوری Standard Evaluation Score	غلظت سدیم Na^+ Concentration	غلظت پتاسیم K^+ Concentration	نسبت سدیم به پتاسیم Na^+/K^+ Ratio
امتیاز تحمل به شوری Standard Evaluation score	1	**-0.687	^{ns}0.267	**-0.364
غلظت سدیم Na^+ Concentration		1	0.158^{ns}	**0.836
غلظت پتاسیم K^+ Concentration			1	-0.275^{*}
نسبت سدیم به پتاسیم Na^+/K^+ Ratio				1

**,*معنی‌دار در سطوح احتمال 5 و 1درصد.

- ** : significant and highly significant (P<0.05 and P<0.01), respectively.

Table3 – Phenotypic correlation among studied traits in Backcross families.



شکل 1- نقشه پیوستگی 107 نشانگر با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی 500 فرد نسبتاً ایزوژن BC_3F_4 حاصل از تلاقی IR29× FL478.

Figure 1- Linkage map of 107 Markers using 500 NIL, (BC_3F_4) derived from IR29×FL478.

جدول 4- نشانگرهای پیوسته با QTL های کنترل کننده صفات مختلف تحت تنش شوری به روش تجزیه تک نشانگری.

سطح معنی داری Probability Level	LRT	B_1	$^{*}B_0$	کروموزوم Chromosome	نشانگر Marker	صفت Trait
**0.007	6.25	-0.396	4.93	1	RM1	امتیاز تحمل به شوری Standard evaluation Score
**0.005	8.15	0.8	4.97	1	RM243	
****0.000	20.15	-1.4	4.92	1	RM8094	
**0.009	5.84	-0.51	5.23	3	RM157A	
****0.000	19.86	-1.02	4.28	3	RM203	
**0.007	7.46	-0.76	4.95	3	RM570	
**0.003	8.96	-0.42	5.02	3	RM186	
**0.001	19.37	-0.69	4.71	3	RM571	
**0.006	7.37	-0.37	5.06	6	RM508	
**0.001	10.82	-0.76	4.89	6	RM170	
**0.006	7.69	-0.17	4.91	6	RM589	
****0.000	12.96	-0.96	4.89	6	RM549	
****0.000	15.89	-1.2	4.73	6	RM7193	
****0.000	11.46	0.82	5.04	7	RM346	
**0.001	9.68	0.68	5.07	7	RM18	
**0.001	8.74	-0.41	5.03	8	RM6369	
**0.009	6.42	-0.72	4.93	8	RM223	
**0.003	9.49	-0.42	5.33	8	RM458	
**0.007	5.89	-0.53	5.19	8	RM264	
**0.001	9.69	-0.48	4.94	12	RM7003	
**0.001	10.65	0.49	4.89	12	RM27877	
**0.009	6.43	-0.42	4.35	12	RM27993	
**0.005	6.49	-0.61	4.4	12	RM163	
**0.001	12.24	0.64	5.0	1	RM3412	غلظت سدیم در برگ چهارم Sodium Content in 4th leaf
****0.000	24.34	1.13	5.05	1	RM10752	
**0.006	76.7	-0.22	4.97	1	RM10701	
****0.000	13.24	-1.03	5	1	RM493	
****0.000	17.33	-0.96	4.93	1	RM11570	
**0.007	7.48	-086	4.76	1	RM543	
**0.009	6.61	-0.13	4.8	3	RM157A	
**0.005	8.46	-0.85	4.86	3	RM203	

Table 4- Correlated markers with QTLs controlling different traits under salt stress by Single marker analysis.

ادامه جدول 4- نشانگرهای پیوسته با **QTL** های کنترل کننده صفات مختلف تحت تنش شوری با روش تجزیه تک نشانگری.

سطح معنی‌داری Probability Level	LRT	*B1	*B_0	کروموزوم Chromosome	نشانگر Marker	صفت Trait
**0.007	7.4	-0.47	5.07	3	RM570	غلظت سدیم در برگ چهارم Sodium Content in 4th leaf
**0.001	10.47	-0.11	4.66	3	RM186	
**0.009	6.91	-0.50	4.99	3	RM571	
**0.005	8.15	0.49	4.89	6	RM508	
**0.001	9.48	0.34	5.04	6	RM170	
**0.005	7.2	-0.74	5.02	6	RM170	
**0.001	8.75	-0.83	4.91	6	RM589	
****0.000	15.15	-1.11	4.89	6	RM549	
****0.000	14.28	-0.99	5.19	6	RM7193	
**0.001	8.46	-0.87	5.13	8	RM6369	
**0.009	7.67	-0.215	5.02	8	RM223	
**0.007	7.66	-0.41	4.97	8	RM458	
**0.001	9.24	-0.61	5.22	8	RM264	
****0.000	6.01	-0.93	5.2	10	RM25271	
****0.000	9.04	-0.87	4.66	10	RM271	
**0.001	8.98	-0.76	4.63	10	RM258	
**0.007	6.05	-0.41	5.23	10	RM25022	
**0.006	9.21	-0.33	5.01	12	RM7003	
**0.003	7.32	0.49	5.18	12	RM27877	
**0.001	12.59	0.76	5.17	12	RM27993	
****0.000	19.60	-0.81	4.88	12	RM27877	
**0.006	7.77	0.08	1.07	1	RM1	غلظت پتاسیم در برگ چهارم Pottasium Content in 4th leaf
**0.008	7.09	0.07	1.08	1	RM243	
**0.002	6.72	0.08	1.05	3	RM6349	
**0.006	6.02	0.11	0.98	3	RM14298	
**0.007	7.77	0.01	1.11	6	RM508	
**0.005	8.62	0.03	1.06	6	RM170	
****0.000	14.78	-0.12	1.09	6	RM549	
**0.001	10.43	0.04	1.13	6	RM7193	
**0.006	7.95	0.11	0.94	8	RM6369	
**0.003	9.49	0.09	1.05	8	RMRM223	
**0.002	7.01	-0.11	1.09	12	RM27993	
*0.01	4.79	-0.06	1.03	12	RM163	
**0.001	7.09	-0.82	5.3	1	RM243	نسبت سدیم به پتاسیم Na^+/K^+ ratio in 4th leaf
****0.000	7.55	-1.09	5.17	1	RM8094	
**0.006	7.76	-0.39	5.84	6	RM508	
**0.005	7.29	-0.46	6.19	6	RM170	
**0.007	7.38	-0.49	6.38	6	RM589	
**0.008	7.20	-0.28	5.44	6	RM7193	
**0.007	8.01	-0.32	5.69	7	RM346	
**0.005	9.74	-0.17	5.53	7	RM18	
****0.000	13.49	-1.17	5.47	8	RM458	
**0.009	6.12	-0.92	5.65	8	RM264	
****0.000	10.41	-1.12	5.53	8	RM6369	
**0.007	7.51	-0.72	4.74	8	RM223	
**0.003	9.28	-0.38	4.7	10	RM25022	
**0.001	10.04	-0.2	5.57	10	RM25181	
**0.005	8.25	-0.33	5.14	10	RM25271	
**0.001	9.58	-0.43	5.29	10	RM271	
**0.007	10.54	-0.69	5.63	10	RM6100	
**0.001	9.72	-0.86	5.18	10	RM333	
**0.009	5.90	-0.65	5.02	12	RM7003	
0.005**	7.43	-0.71	5.63	12	RM27877	

Cont. Table 4- Correlated markers with QTLs controlling different traits under salt stress by single marker analysis.

با توجه به این که میانگین فاصله بین نشانگرها 13/12 سانتی‌مورگان بود، می‌توان این نقشه را برای مکان‌یابی QTL ها به کار برد. نقشه پیوستگی حاضر با فواصل نشانگری ارائه شده توسط پروژه توالی یابی ژنوم برنج، مطابقت خوبی نشان داد (IRGSP, 2005).

نتایج تجزیه تک نشانگری: برای امتیاز تحمل به شوری در مرحله گیاهچگی، 23 نشانگر پیوستگی بسیارمعنی‌داری با QTL ها داشتند (جدول 4). از نشانگرهای مستقر در ناحیه *Saltol*، تنها RM8094 به طور بسیار معنی‌داری با QTL پیوستگی داشت. نشانگرهای RM3412 و RM493، پیوستگی معنی-داری با QTL نشان ندادند. به جز ناحیه *Saltol*، کروموزوم‌های 3، 6 و 12 بیشترین QTL بسیار معنی‌دار را برای این صفت داشتند. برای غلظت پتاسیم در برگ چهارم، نشانگرهای فوقانی *Saltol* شامل RM243 و RM1 و نشانگرهای RM6349 و RM14298 روی کروموزوم 3 و همچنین 4 نشانگر روی کروموزوم 6 و دو نشانگر روی کروموزوم‌های 8 و 12 پیوستگی بالائی با QTLها نشان دادند و جزو نشانگرهای معنی‌دار و بسیار معنی‌دار به شمار آمدند. حضور مکان‌های نشانگری پیوسته با QTL برای این صفت در حالی که والدین اختلاف معنی‌داری نداشتند، ناشی از تفکیک متجاوز در نتاج است. برای غلظت سدیم در برگ چهارم، بیشترین تعداد QTL یافت شد به طوری که تعداد 29 نشانگر روی کروموزوم‌های 1، 3، 6، 8، 10 و 12 با QTL ها پیوستگی داشتند. تعداد 20 نشانگر پیوسته با QTL های نسبت سدیم و پتاسیم مکان‌یابی شدند که روی کروموزوم‌های 1، 6، 7، 8،10 و 12 قرار داشتند. نشانگر RM8094 که از مهم‌ترین نشانگرهای پیوسته به *Saltol* می‌باشد، پیوستگی بسیار معنی-داری با QTL نسبت سدیم به پتاسیم در ناحیه *Saltol* داشت. بدین ترتیب با تجزیه تک نشانگری دیدگاه کلی از نحوه کنترل ژنتیکی صفات به دست آمد.

مکان‌یابی فاصله ای مرکب: در مجموع، 25 مکان شناسایی شدند که کنترل 4 صفت مورد بررسی را بر عهده داشتند. اکثر QTL های شناسائی‌شده در کنترل چند صفت دخالت داشتند. چهارده QTL برای امتیازتحمل به شوری ، 6 عدد برای غلظت پتاسیم، 16 عدد برای غلظت سدیم و 12 عدد برای نسبت سدیم به پتاسیم شناسائی شدند (جدول 5). اثر پلیوتروپی QTL ها یکی از دلایل مشاهده همبستگی‌های معنی‌دار بین صفات

است. با در نظر گرفتن موقعیت QTL های بزرگ اثری که عمدتاً برای چند صفت در یک مکان دیده شدند، می‌توان چنین عنوان کرد که علاوه بر ناحیه *Saltol* روی کروموزوم 1، روی کروموزوم-های 3، 6، 8، 10 و 12 نیز مکان‌های تأثیرگذار بر تحمل به شوری در مرحله گیاهچه در FL478 وجود دارد، که سبب تحمل بسیار بالا در این لاین متحمل می‌گردند. بیشترین تعداد QTL های بزرگ اثر برای Na^+/K^+ (4 عدد)، سپس غلظت Na^+ و امتیاز تحمل به شوری (3 عدد) و سرانجام کمترین آن برای غلظت پتاسیم (2عدد) مشاهده شد که روی کروموزوم‌های 1، 3 ، 6 ،10 و 12 قرار داشتند. امتیاز تحمل به شوری در مرحله گیاهچه چهارده QTL برای این صفت روی کروموزوم‌های 1، 3، 6، 7، 8 و 12 مکان‌یابی شدند، که از بین آن‌ها qscor3a بیشترین LOD و بیشترین ضریب تبیین (20%) را داشت (شکل2).

جدول5- **QTL** های شناسایی شده برای صفات مرتبط با تحمل به شوری به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب.

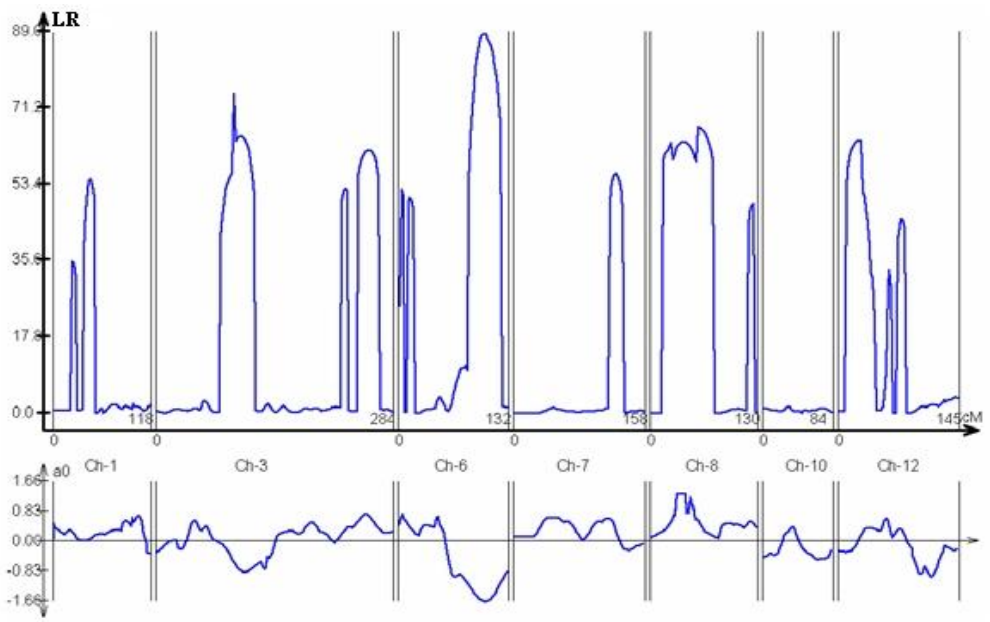
درصد واریانس **Variance Percentage**	اثر افزایشی **Additive effect**	**LR**	موقعیت **Position**	نشانگرهای مجاور **Flanking Markers**	کروموزوم **Chromosome**	**QTL**	صفت **Trait**
3	2.84	34	24	RM1-RM243	1	qscor1a	امتیاز تحمل به شوری Standard evaluation Score
15	-3.18	54	41	RM243-RM8094	1	qscor1b	
20	-7.66	75	90	RM157-RM203	3	qscor3a	
4	-2.68	48	227	RM570-RM186	3	qscore3b	
7	-4.25	59	256	RM186-RM571	3	qscore3c	
8	-3.42	52	5	RM508-RM170	6	qscore6a	
6	-1.97	51	13	RM170-RM589	6	qscore6b	
12	-6.52	86	99	RM549-RM7193	6	qscore6c	
5	-2.35	55	120	RM346-RM18	7	qscore7	
5	-3.2	58	60	RM6369-RM223	8	qscore8a	
5	-2.76	43	123	RM458-RM264	8	qscore8b	
6	-4.26	62	27	RM7003-RM27877	12	qscore12a	
3	-1.17	31	58	RM27877-M27993	12	qscore12b	
7	-3.27	43	74	RM27993-RM163	12	qscore12c	
15	1.40	34	71	RM3412-RM10752	1	qNa1a	غلظت سدیم در برگ چهارم Sodium Content in 4th leaf
9	-0.86	23	90	RM10701-RM493	1	qNa1b	
9	-1.7	22	99	RM11570-RM543	1	qNa1c	
4	-0.84	17	90	RM157-RM203	3	qNa3a	
7	1.12	15	225	RM570-RM186	3	qNa3b	
3	-0.75	15	258	RM186-RM571	3	qNa3c	
5	-0.64	17	5	RM508-RM170	6	qNa6a	
7	-0.12	16	12	RM549-RM7193	6	qNa6b	
13	-1.7	23	105	RM508-RM170	6	qNa6c	
6	-0.02	23	60	RM6369-RM223	8	qNa8a	
7	-1.05	20	125	RM458-RM264	8	qNa8b	
14	-1.58	17	15	RM25271-RM271	10	qNa10a	
5	-1.40	15	53	RM271-RM258	10	qNa10b	
4	-0.78	17	27	RM7003-RM27877	12	qNa12a	
3	0.20	24	43	RM27877-RM27993	12	qNa12b	
15	-1.31	16	61	RM7003-RM27877	12	qNa12c	

Table 5- Identified QTLs for traits attributed to salinity tolerance by Composite Interval Mapping.

ادامه جدول5- **QTL** های شناسایی شده برای صفات مرتبط به تحمل به شوری به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب.

6	0.46	15	24	RM1-RM243	1	qK1	غلظت پتاسیم در برگ چهارم Potassium Content in 4th leaf
7	0.65	15.2	15	RM6349-RM14298	3	qK3	
5	0.12	19	5	RM508-RM170	6	qK6a	
15	-0.82	17	39	RM549-RM7193	6	qK6b	
16	1.20	28	26	RM6369-RM223	8	qK8	
10	-0.42	11.5	74	RM27993-RM163	12	qK2	
15	-2.3	40	46	RM243-RM8094	1	qNaK1a	نسبت سدیم به پتاسیم Na^+/K^+ ratio in 4th leaf
5	-0.85	64	70	RM3412-RM10752	1	qNaK1b	
4	-0.42	30	110	RM11570-RM543	1	qNaK1c	
5	-1.87	37	5	RM508-RM170	6	qNaK6a	
3	-1.20	36	12	RM170-RM589	6	qNaK6b	
14	-0.70	34	105	RM549-RM7193	6	qNaK6c	
4	-1.21	28	120	RM346-RM18	7	qNaK7	
5	-1.7	45	42	RM458-RM264	8	qNaK8a	
3	-2.44	21	125	RM6369-RM223	8	qNaK8b	
2	-1.7	31	5	RM25022-RM25181	10	qNaK10a	
5	-2.33	40	15	RM25181-RM25271	10	qNaK10b	
16	-1.2	43	46	RM25271-RM271	10	qNaK10c	
3	-0.75	34	76	RM6100-RM333	10	qNaK10d	
17	1.31	46	43	RM7003-RM27877	12	qNaK12	

Cont. Table 5- Identified QTLs for traits attributed to salinity tolerance by Composite Interval Mapping.



شکل 2- **QTL** های مکان‌یابی شده برای امتیاز تحمل به شوری در مرحله گیاهچه.

Figure 2- Identified QTLs for Standard Evaluation scoring at seedling stage.

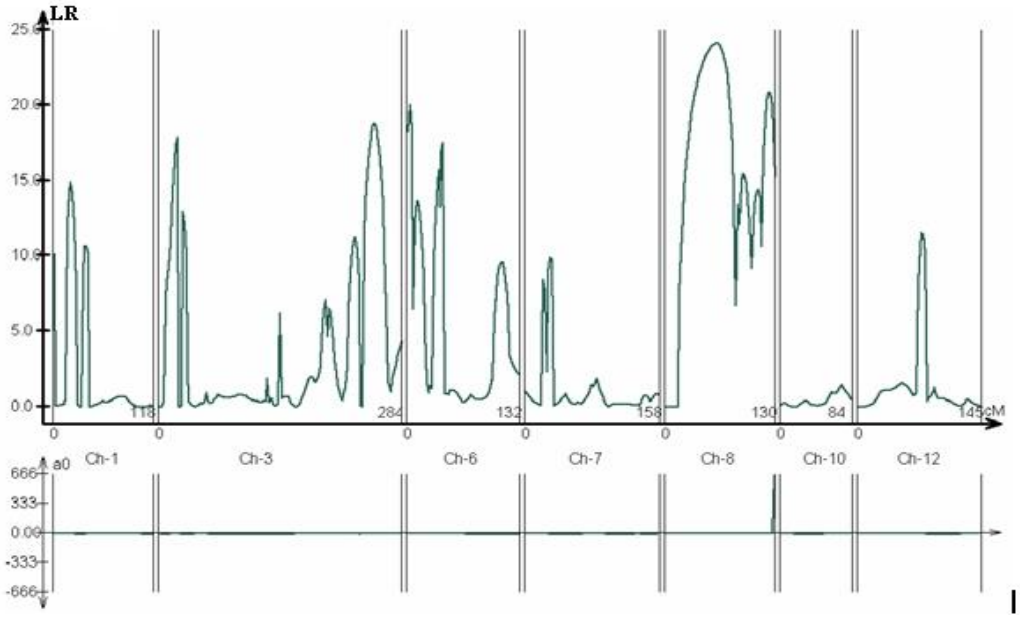
qscor 1b در ناحیه فوقانی *Saltol* روی کروموزوم 1 با ضریب تبیین 15% نیز به عنوان QTL بزرگ‌اثر شناخته شد. میزان LOD بالا برای صفات می‌تواند ناشی از انحراف تفکیکی باشد که به علت ژنوتیپ‌یابی انتخابی و استفاده از افراد کرانه ای در ژنوتیپ یابی اعمال شده است و با وجود این‌که از کل داده‌های فنوتیپی استفاده شد، اما هنوز وجود اریبی امکان‌پذیر است. برای این صفت، اثر افزایشی بین 2/84+ تا 7/66- متغیر بود. منشاء qsco1a والد دوره‌ای و منشاء سایر QTL ها والد دهنده بود.

وجود یک QTL مرتبط با امتیاز تحمل به شوری در فاصله 9/9 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم 7 گزارش شد(Gong *et al.*, 1999)، در حالی‌که در مطالعه حاضر یک QTL برای این صفت روی کروموزوم 7 در فاصله 120 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم دیده شد که منشاء آن والد دهنده است. همچنین در پژوهشی دیگر یک QTL مرتبط با امتیاز تحمل به شوری بر روی کروموزوم 8 در فاصله 6/3 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم و در نزدیکی RM223 گزارش گردید (Lang *et al.*, 2001). در این پژوهش، دو QTL برای این صفت با مقادیر LOD به ترتیب برابر با 12/5 و 9/34 در موقعیت‌های 60 و 123 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم 8 شناسائی شدند که منشاء هر دو والد دهنده بود.

برای درصد بقاء گیاهچه‌ها، 3 عدد QTL روی کروموزوم‌های 1، 6 و 7 گزارش شده است که به‌ترتیب 18، 17 و 13/9 درصد از تغییرات این صفت را توجیه کردند (Lin *et al.*, 2004). در این مطالعه دو QTL در موقعیت‌های 24 و 41 سانتی مورگان روی کروموزوم 1 و تعداد سه QTL روی کروموزوم 6 در موقعیت‌های 5، 13 و 99 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم شناسائی شدند. وجود یک QTL برای بنیه گیاه در مرحله گیاهچه در تنش شوری نیز توسط Flowers and Yeo (1995) روی کروموزوم 6 و با ضریب تبیین 15/8 گزارش شده است. وجود دو QTL بزرگ اثر برای تحمل به شوری روی کروموزوم‌های 1 و 7 توسط Gong و همکاران (1999) گزارش شده است. تفاوت در محل دقیق این QTL ها در مطالعات مختلف، ناشی از وجود جوامع مختلف برای نقشه یابی، نشانگرهای متفاوت و تفاوت در فنوتیپ یابی است.

غلظت پتاسیم در برگ چهارم

شش مکان QTL روی کروموزوم‌های 1، 3، 6، 8 و 12 یافت شدند که از این بین qK6b و qK8 به عنوان QTL های بزرگ‌اثر شناسائی شدند (شکل3). منشاء qK6b، والد دوره‌ای و منشاء qK8، والد دهنده است. میزان اثر افزایشی QTL ها برای این صفت بین 0/82 تا 1/2 برآورد گردید. Gregorio (1997) QTL های کنترل‌کننده غلظت پتاسیم را روی کروموزوم‌های 1، 4 و 12 شناسائی نمود. در نتیجه QTL مستقر روی کروموزوم 1 در فاصله 14/7 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم با ضریب تبیین 80/2 درصد و LOD برابر با 17/23 قرار داشت و QTL مستقر روی کروموزوم 4 در ابتدای بازوی کوتاه کروموزوم قرار داشت. یک QTL نیز در فاصله 2/21 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم 12 با LOD برابر با 3/26 و ضریب تبیین 21/2 گزارش شد. در این پژوهش در فاصله 24 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم 1، یک QTL با ضریب تبیین 6 درصد و QTL دیگری روی کروموزوم 12 در فاصله 74 سانتی-مورگان از ابتدای کروموزوم با ضریب تبیین 11/5 درصد شناسائی شدند. یکی از دلایل عدم انطباق این نتایج از لحاظ موقعیت کروموزومی با نتایج گریگوریو استفاده از نشانگرها و جمعیت مختلف می‌باشد (Gregorio, 1997).



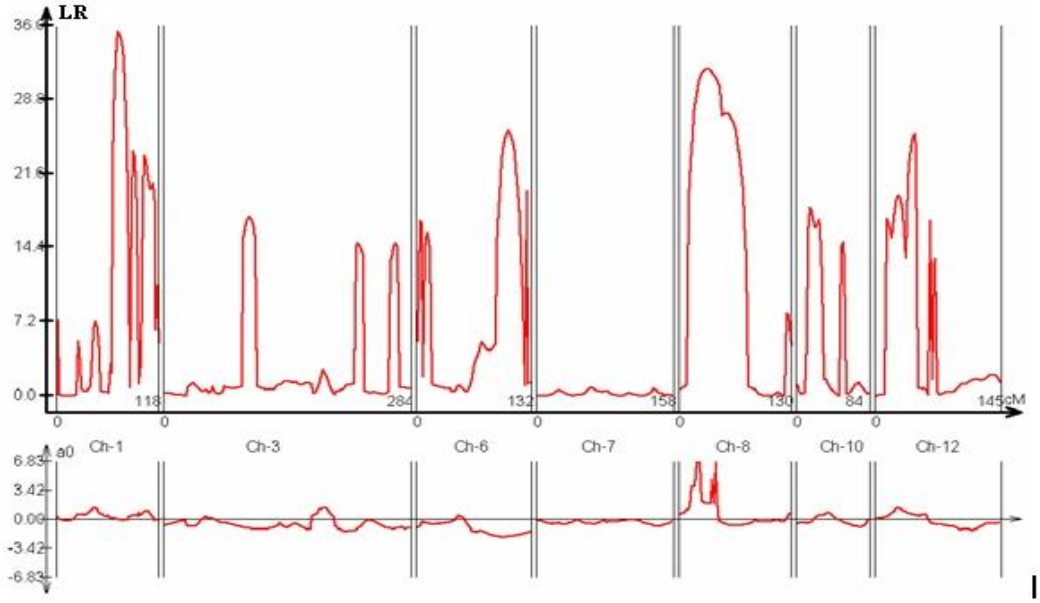
شکل3- QTL های مکان‌یابی شده برای غلظت پتاسیم در برگ چهارم.

Figure 3- Identified QTLs for Potassium Content in 4th leaf.

در مطالعه Flowers and Yeo (1995) دو QTL برای غلظت پتاسیم روی کروموزوم‌های 6 و 9 مشاهده شد، ولی مکان دقیق آن را گزارش ننمودند. در پژوهش حاضر نیز دو QTL روی کروموزوم 6 در فواصل 5 و 39 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم شناسائی شدند که به‌ترتیب 5 و 15 درصد از تغییرات را توجیه کردند. Koyama (2001)، QTL هائی برای این صفت روی کروموزوم 1 در فاصله 74 سانتی‌مورگان، کروموزم 4 در فاصله 24/9 و کروموزوم 6 در فواصل 30 و 96 سانتی‌مورگان گزارش کرد. Ammar (2004)، QTL کنترل‌کننده این صفت را روی کروموزوم 1 در فاصله 1 سانتی‌مورگان از بالای کروموزوم با ضریب تبیین 7/5 درصد مکان‌یابی نمود. وی همچنین سه QTL روی کروموزوم 4 در فواصل 6/01، 10/99 و 14/99 سانتی‌مورگان شناسائی‌کرد. Lin و همکاران (2004)، نیز یک QTL برای غلظت پتاسیم روی کروموزوم 1 با ضریب تبیین 4/1 درصد شناسائی کردند.

غلظت سدیم برگ چهارم

بیشترین تعدادQTL برای غلظت سدیم، در برگ چهارم یافت شد، به‌طوری‌که 16 عدد QTL روی کروموزوم‌های 1، 3، 6، 8،10 و 12 کنترل این صفت را برعهده داشتند (شکل 4).



شکل4- QTL های مکان‌یابی شده برای غلظت سدیم در برگ چهارم.

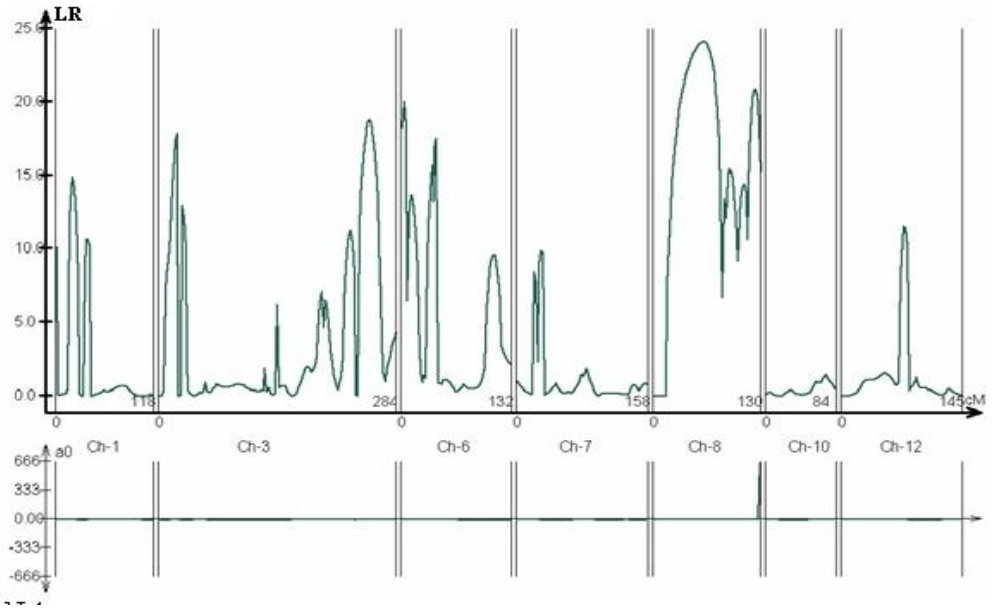
Figure 4- Identified QTLs for Sodium Content in 4th leaf.

ضمن این‌که از این بین کروموزوم‌های 10، 6 و 12 بیشترین توجیه تغییرات فنوتیپی را برای این صفت داشتند. qNa1a در ناحیه *Saltol* ، qNa12c، qNa10a و qNa6c به ترتیب 15، 15، 14 و 13% تغییرات غلظت سدیم را تبیین نموده و با توجه به میزان LOD بالا به‌عنوان QTL های بزرگ‌اثر شناخته شدند. دو QTL در ناحیه *Saltol* یافت شدند که منشاء qNa1a، والد دوره‌ای و منشاء دومی والد دهنده بود، همچنین QTL مستقر روی بازوی مقابل *Saltol* در کروموزوم یک از والد دهنده بود. منشاء سایر QTL ها به‌جز qNa12b، والد دهنده و میزان اثر افزایشی آن‌ها بین 1/7- تا 1/14 + متغیر بود.

تعداد شانزده QTL برای کنترل غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم در گیاهچه‌های برنج با استفاده از نشانگرهای AFLP و جمعیت اینبرد لاین‌های نوترکیب حاصل از تلاقی دو لاین والدی متفاوت از نظر انتقال سدیم، گزارش گردید (Flowers and Teo, 1995). این پژوهشگران دوازده QTL روی بازوی کوتاه کروموزوم 6 و چهار QTL کاملا واضح برای جذب سدیم بالا روی کروموزوم‌های 1 و 2 گزارش کردند. Lin (2004) برای غلظت سدیم اندام هوایی دو QTL روی کروموزوم 1 در فواصل 36/1 و 30/99 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم شناسائی کردند. Koyama و همکاران (2001) نیز دو QTL برای غلظت سدیم روی کروموزوم 1 در فواصل 56 و 74 سانتی‌مورگان با ضرایب تبیین 10/6 و 8/9 درصد مکان‌یابی نمودند. در مطالعه حاضر سه QTL در فواصل 71، 90 و 99 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم 1 تشخیص داده شدند که qNa1b در ناحیه *Saltol* قرار دارد. برای غلظت سدیم اندام هوایی Lin و همکاران (2004) نیز یک QTL با ضریب تبیین 16/1 درصد روی کروموزوم 7 گزارش‌کردند، در حالی‌که در مطالعه حاضر چنین مکانی برای کنترل این صفت روی کروموزوم 7 مشاهده نشد. Gregorio (1997)، دو QTL روی کروموزوم 3 در فواصل 4/1 و 0/6 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم با ضرایب تبیین 16 و 17/1 درصد گزارش کرد، در حالی‌که در مطالعه حاضر سه QTL در فواصل 90، 225 و 258 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم 3 برای غلظت سدیم شناسائی شدند. در این پژوهش دو QTL برای غلظت سدیم برگ در فواصل 15 و 53 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم10 با ضرایب تبیین 14 و 5 درصد شناسائی شدند.

نسبت سدیم به پتاسیم

دوازده مکان ژنی برای نسبت سدیم به پتاسیم روی کروموزوم‌های 1، 6، 7، 8، 10 و 12 شناسائی شدند که qNaK1 با ضریب تبیین 15% ، qNaK10c با ضریب 16%، qNaK3c با ضریب 14% و qNaK12 با ضریب 17% برای توجیه تغییرات این صفت به عنوان QTL بزرگ‌اثر شناخته شدند (شکل 5).



شکل 5- QTL های مکان‌یابی شده در برخی کروموزوم‌ها برای نسبت سدیم به پتاسیم.

Figure 5- Identified QTLs for Na^+/K^+ ratio content in 4th leaf.

مقدار اثر افزایشی برای این صفت بین 2/44- تا 0/2+ متغیر بود. منشاء همه QTL های بزرگ اثر به استثنای qNaK12، والد دهنده بود. مکان qNaK1 در ناحیه فوقانی *Saltol* قرار دارد و منشاء آن FL478 است. برای نسبت سدیم به پتاسیم QTL های بزرگ اثری روی کروموزوم 1 (*Saltol*) و کروموزوم های 10 و 12 به‌ترتیب در فواصل 65/6 سانتی‌مورگان و 21/2 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم توسط Gregorio (1997) شناسائی شد. در این پژوهش سه QTL روی کروموزوم یک در فواصل 46، 70 و 110 سانتی-مورگان از ابتدای کروموزوم مشاهده شدند که qNaK1b با نتیجه Gregorio (1997) مطابقت داشت. همچنین در پژوهش حاضر کروموزوم 10

حاوی چهار QTL برای نسبت سدیم به پتاسیم در فواصل 5، 15، 46 و 76 سانتی‌مورگان از ابتدای این کروموزوم بود. در نهایت با استفاده MIM[8]، اپیستازی معنی داری بین QTL های مورد بررسی مشاهده نگردید که بیانگر استقلال آللی QTL های شناسائی شده می باشد و توجیه کننده بیان مستقل ژن های یاد شده در القاء تحمل به شوری می-باشد. برای نسبت سدیم به پتاسیم Lang و همکاران (2001) یک QTL در فاصله 12/3 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم 12 با ضریب تبیین 8/8 درصد شناسائی کردند، ولی در پژوهش حاضر QTL مستقر در این کروموزوم برای این صفت در فاصله 43 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم قرار داشت و 17 درصد از تغییرات آن را توجیه کرد. همچنین این پژوهشگران، یک QTL برای این صفت در فاصله 33 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم 1 با ضریب تبیین 9/14 درصد و QTL دیگری در فاصله 37/7 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم 7 گزارش نمودند. یک QTL برای این صفت توسط Koyama و همکاران (2001) در فاصله 74 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم 1 شناسائی نمودند که 9/1 درصد از تغییرات آن را توجیه کرد. در این پژوهش یک QTL در فاصله 70 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم 1 با LOD برابر با 15/8 شناسائی شد که منشاء آن والد دهنده است. به دلیل کاربرد مواد ژنتیکی متفاوت و نقشه‌های پیوستگی مختلف نتایج پژوهش های مختلف تطابق دقیقی با هم نشان نمی‌دهند. براساس این نتایج، مکان‌های مختلفی در ژنوم برنج با اثر بالا برای واکنش به شوری در مرحله گیاهچه وجود داشتند. این مسأله تا حدی بر پیچیدگی فرآیند اصلاح به کمک نشانگر تاکید دارد. به نظر می رسد که تحمل بالای FL478، عمدتاً ناشی از QTL هائی غیر *از Saltol* می‌باشد. بنابراین، در روش اصلاح به کمک نشانگر با استفاده از FL478 به عنوان یکی از متحمل‌ترین لاین‌های اصلاحی والدی، بهتر است هرم سازی ژن‌ها مدنظر قرار گیرد.

[8] Multiple Interval Mapping

منابع

1- Ammar MHM (2004) Molecular mapping of salt tolerance in rice. Ph.D. Thesis of Plant Breeding, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India.
2- Flowers TJ, Koyama ML, Flowers SA, Sudhaker C, Singh KP, Yeo AR (2000) QTL: their place in engineering tolerance of rice to salinity. Journal of Experimental Botany 51:99-106.
3- Flowers TJ, Yeo AR (1995) Breeding for salinity resistance in crop plants. Australian Journal of Plant Physiology 22:875-884.
4- Fotokian M (2005) QTL analysis of genes related to salinity tolerance and grain quality in rice. PhD dissertation, Tehran University.
5- Gong JM, He P, Qian QA, Shen LS, Zhu LH, Chen SY (1999) Identification of salt-tolerance QTL in rice. China Science Bullitten 4:68-71.
6- Gregorio GB (1997) Tagging salinity tolerance genes in rice using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). PhD Thesis, University of Philippines, LosBaños, Philippines.
7- Gregorio GB, Senadhira D, Mendoza RD (1997) Screening rice for salinity tolerance, IRRI Discussion Paper Series No. 22. International Rice Research Institute, LosBaños, Philippines.
8- IRGSP (International Rice Genome Sequencing Project) (2005) The map-based sequence of the rice genome. Nature 436:793-800.
9- Koyama ML, Levesley A, Koebner RMD, Flowers TJ, Yeo AR (2001) Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. Plant Physiology 125:406-422.
10- Lang NT, Yanagihara S, Buu BC (2001) QTL analysis of salt tolerance in rice (Oryza sativa L.). SABRAO Journal of Breeding and Genetics 33:11-20.
11- Lin, HX, Zhu MZ, Yano M, Gao JP, Liang ZW, Su WA, Hu XH, Ren H, Chao DY (2004) QTLs for Na+and K+ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance. Theoretical and Applied Genetics 108: 253-260.
12- Mitsuya S, Katsuya Y, Kawasaki M, Taniguchi M, Miyake H. (2002) Relationship between the Distribution of Na+ and the Damages caused by salinity in the leaves of rice seedling growth under a saline condition, Plant Production Science, 5: 269-274.
13- Mohammadi-Nejad G, Arzani A, Rezaie AM, Singh RK, Gregorio GB 2008 Assessment of rice genotypes for salt tolerance using micro satellite markers associated with the *Saltol* QTL, African Journal of Biotechnology. 7:730-736.
14- Mohammadi-Nejad G, Singh RK, Arzani A, Rezaie AM, Sabouri H, Gregorio GB (2010) Evaluation of salinity tolerance in rice genotypes. International Journal of Plant Production 4:199-208.
15- Pazira A (1986) an overview on salinity and sodicity of soils and lands, evaluation methods, improvement and its assessments. national Institute of soil and water.
16- Szaboles I (1989) Salt-Affected Soils. CRC Press, Florida.
17- Tanji KK (1990) In: Tanji KK ed., Agricultural Salinity Assessment and Management. Amer. Soc. Civil Engineers, N.Y.

Mapping of quantitative genes controlling Na^+ and K^+ content in Rice under salinity

Mmohammadi-Nejad G.[*1], Arzani A.[2], Rezaie A.M.[2], Singh R.K.[3], Sabouri H.[4], Majidi M.M.[2], Fotokian M.H.[5], Moumeni A.[6], Gregorio G.B.[2]

[1] Dep. of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman
[2] Dep. of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology
[3] Plant Breeding, Genetics and Biotechnology Division – International Rice Research Institute, (IRRI), LosBanos-Laguna- Philippines.
[4] Dep. of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Gonbad High Education Center
[5] Dep. of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Shahed University- Tehran
[6] Rice Research Institute of Iran, Rasht- Iran

Abstract

To identify the QTLs responsible for salinity tolerance in tolerant line (FL478), 2350 BC3F4 lines derived from IR29×FL478 were used at IRRI during 2005-2007. Significant differences among back cross families were found for salinity tolerance scoring, sodium and potassium concentration and their ratio. The results showed that the low ratio for Na^+/K^+ in FL478 is mainly through lower amount of Na^+ uptake rather than high amount of K^+. Selective Genotyping with 500 extreme individuals indicated that the highest and lowest number of QTLs for Na^+ and K^+, respectively. The result of QTL mapping by SSR markers using 500 extremes individuals showed the highest and lowest number of QTLs for Na^+ and K^+ respectively. Composite interval mapping analysis revealed that in addition to chromosome 1, there are major QTLs on chromosomes 6, 8, 10 and 12 for salinity tolerance at seedling stage in rice. In the *Saltol* region, one QTL was found for Na^+ concentration while for the other traits the QTLs were found in the upper part of *Saltol* region. Major QTLs responsible for salinity tolerance scoring were located on chromosomes 1, 3 and 6. For Na^+ concentration and Na^+/K^+ ratio, chromosomes 1, 3, 6, 10 and 12 contained the major QTLs which mainly originated tolerant parent. The epistatic effects were not found for any of detected major QTLs. Based on the present results, breeding methods for QTLs pyramiding using marker-assisted selection could be very useful for the development of new varieties with a high level of salt tolerance by targeting several major QTLs for salt-tolerance using FL478.

Key words: FL478, Na^+/K^+ ratio, QTL, Rice, Salinity tolerance, Selective genotyping

[*] Corresponding author: Ghasem Mmohammadi-Nejad Email: **Mohammadinejad@uk.ac.ir**