

مکان‌یابی ژنی صفات مرتبط با تحمل به شوری در مراحل زایشی و رویشی برنج

مرجان قاسم خانی<sup>1</sup>، قاسم محمدی نژاد<sup>2\*</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد بخش بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

2- استادیار بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: 1390/4/5، تاریخ پذیرش: 1391/3/12

### چکیده

به منظور مکان‌یابی ژن‌های صفات کنترل کننده تحمل به شوری در مراحل رویشی و زایشی برنج و تعیین سهم هر مکان ژنی در تنوع فنوتیپی، 80 فرد از جمعیت رگه‌های درون زاد نوترکیب حاصل از تلاقی IR29/Pokkali مورد مطالعه قرار گرفتند. امتیاز تحمل ژنوتیپ‌ها به شوری، غلظت سدیم، پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم در مرحله گیاهچه‌ای و صفات ارتفاع گیاه، تعداد و وزن دانه، تعداد پانیکول، تعداد پنجه، باروری و عملکرد بیولوژیک در مرحله زایشی اندازه‌گیری شدند. با استفاده از 81 نشانگر چند شکل SSR، یک QTL بزرگ اثر برای صفت امتیاز تحمل به شوری در بازوی مقابل *Saltol* بر روی کروموزوم 1 مشاهده شد، همچنین برای صفات غلظت سدیم، غلظت پتاسیم و نسبت آن‌ها، ناحیه بزرگ اثری بر روی کروموزوم‌های 1 و 10 مکان‌یابی شدند که مجموعاً تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای را کنترل می‌نمودند. برای تحمل به شوری در مرحله زایشی چندین QTL بزرگ اثر برای درصد کاهش وزن دانه‌های پر و عملکرد بیولوژیک بر روی کروموزوم‌های 7، 9 و 10 مشاهده شد که QTL‌های واقع بر روی کروموزوم 10، در مراحل رویشی و زایشی مشترک بود، که می‌توان آن را به عنوان ناحیه کاندید جهت نقشه‌یابی دقیق و اصلاح به کمک نشانگر مطرح نمود. بنابراین با هرم سازی این ناحیه به همراه *Saltol* کروموزوم یک می‌توان افراد متحمل به شوری ایجاد نمود.

**کلمات کلیدی:** برنج، تحمل به شوری، رگه‌های درون زاد نوترکیب (RILs)، مکان‌یابی QTLs

برنج گیاهی است که امروزه در تغذیه صدها میلیون انسان در سرتاسر جهان نقش داشته و کشت آن در چین و هندوستان سابقه 7000 ساله دارد (FAO, 2005). برنج بعد از گندم غذای اصلی مردم ایران است و در سطحی معادل 600 هزار هکتار کشت می‌شود. متوسط عملکرد برنج در ایران 4 تا 5 تن در هکتار است (Agricultural Statistics, 2003). شوری خاک‌های زراعی و آب آبیاری را می‌توان جزو عمده‌ترین عوامل محدودکننده غیرزیستی گیاهان در اغلب نقاط جهان به ویژه ایران دانست که می‌تواند از طریق تنش اسمزی، سمیت یونی و عدم تعادل عناصر غذایی موجب کاهش عملکرد گردد. به دلیل فشار جمعیت و افزایش تقاضای غذا، خاک‌های متأثر از املاح، بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته‌اند. بنابراین تولید ارقام مقاوم به شوری برای اقتصاد کشور بسیار مهم و ضروری به نظر می‌رسد. برنج جزو گیاهان نسبتاً حساس به شوری طبقه‌بندی می‌شود و در مرحله گیاهچه-ای حساسیت زیادی به شوری نشان می‌دهد (Yeo et al., 1990). شوری صفتی پیچیده است که به تنهایی توسط یک ژن کنترل نمی‌شود. به دلیل پیچیدگی‌های صفات کمی، محققین ژنتیک و به‌نژادگران گیاهی، اطلاعات اندکی از تعداد ژن‌ها، جایگاه کروموزومی آن‌ها و سهم نسبی شرکت هر یک از ژن‌ها در تظاهر و توزیع فنوتیپی یک صفت کمی دارند. مکان‌یابی ژن‌های کمی می‌تواند این مدل پیچیده ژنتیکی را به

اجزای ژنتیکی منفرد تجزیه نماید، که در این-صورت صفات کمی نیز با کارآیی صفات تک ژنی مطالعه خواهند شد (Botstein & Lander, 1980). نتایج بررسی‌های مولکولی برای یافتن ژن‌های کنترل‌کننده صفات تاثیرگذار بر القای تحمل در این مرحله، منجر به شناسایی مکان کروموزومی بزرگ اثری به نام *Saltol* بر روی کروموزوم 1 در ارتباط با نسبت سدیم به پتاسیم شده است (Gregorio, 1997). این نتیجه به وسیله محققین مختلفی تأیید گردیده است (Mohammadi-Nejad, 2008; Flowers et al., 2000; Niones, 2004). در حالی که تحمل به شوری در مرحله زایشی پیشرفت چشمگیری نظیر آنچه که در مرحله گیاهچه‌ای یافت شد، در بر نداشته است. در این پژوهش از 80 رگه درون زاد نوترکیب حاصل از تلاقی IR29 و Pokkali که توسط گریگوریو و همکاران حاصل شد و منجر به شناسایی *Saltol* برای تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای گردیده است (Gregorio et al., 1997)، استفاده شد. این مکان کروموزومی بزرگ اثر در تنظیم جذب سدیم، پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم و تحمل به شوری در نسل F8 حاصل از تلاقی Pokkali/IR29 با استفاده از نشانگر AFLP<sup>1</sup> بر روی کروموزوم 1 شناسایی گردید که در مجموع 64/5 درصد از تنوع فنوتیپی برای تحمل به شوری را با LOD برابر با 14/5 توجیه می‌کرد. پس از این گزارش مطالعات متعددی جهت ارزیابی دقیق آن با هدف شناسایی ژن‌های موجود در این ناحیه صورت گرفت. با

<sup>1</sup> - Amplified fragment length polymorphism

استفاده از 76 فرد جمعیت دابل هاپلوئید حاصل از تلاقی IR64 که یک وارسته هندی بود و Azucena به عنوان یک وارسته ژاپنی توانستند دو QTL برای درصد جوانه زنی بذر، یک QTL برای طول ریشه گیاهچه، سه QTL برای ماده خشک و یک QTL برای قدرت گیاهچه شناسایی کنند (Prasad et al., 2000). در مطالعه دیگری، از 118 فرد نسل ششم جمعیت RIL حاصل از تلاقی IR4630-22-2-51-3/IR15324-117-3-2-2 برای مکان‌یابی صفات مرتبط با تحمل شوری استفاده نمودند. هشتاد و پنج نشانگر AFLP و 27 نشانگر SSR پلی‌مورفیسم به کار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه، یازده QTL روی کروموزوم‌های 1، 4، 6 و 9 برای صفات مختلف شناسایی نمودند که 6/4 تا 19/6 درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند (Koyama et al., 2001).

با استفاده از 118 فرد جمعیت نسل هشتم RIL حاصل از تلاقی Tesnai2 (چینی) و CB (ایالات متحده) نشانگرهای RFLP و SSR پیوسته‌ای با QTL‌های صفاتی چون بقای گیاهچه در محلول شور، وزن خشک ریشه و جوانه، جذب سدیم و پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم روی کروموزوم‌های 1، 2، 3، 7، 9، 11 و 12 شناسایی گردیدند (Lang et al., 2001). در بررسی آمار، دویست فرد F2 حاصل از تلاقی CSR27 (رقم مقاوم به شوری) و MI-48 (رقم حساس به شوری) جهت مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با شوری استفاده شد و صفاتی چون

استفاده از دو نشانگر SSR و SSLP<sup>1</sup> مکان کروموزومی *Saltol* بین نشانگرهای RM140 و C1733 در فاصله 51/6 تا 65/9 سانتی‌مورگان از ابتدای کروموزوم 1، تعیین گردید (Bonilla et al., 2002). در مطالعه دیگری با استفاده از نشانگر ریزماهواره و EST به اشباع این ناحیه پرداختند و طول ناحیه نقشه‌یابی شده برابر با 8/23 سانتی‌مورگان با متوسط طول 1/2 سانتی‌مورگان بین نشانگرها بود (Niones, 2004).

در پژوهشی برای ردیابی QTL‌های کنترل‌کننده عملکرد و صفات مرتبط با آن از یک جمعیت F<sub>2</sub> و دو جمعیت F<sub>3</sub> استفاده نمودند. از بین QTL‌های ردیابی شده، هفت QTL وزن هزار دانه، شش QTL تعداد کل دانه‌های پر و پوک در خوشه، پنج QTL صفات تعداد دانه‌های پر در خوشه و وزن دانه در بوته را کنترل می‌کردند. برای صفاتی که همبستگی معنی‌داری داشتند، QTL‌های شناسایی شده غالباً در نواحی ژنومی مشابهی قرار داشتند. به علاوه برای اینگونه صفات، جهت اثر افزایشی QTL‌ها به محیط بستگی نداشت، به عبارت دیگر حتی برای QTL‌هایی که اثر متقابل ژنوتیپ × محیط در آنها معنی‌دار بود نیز جهت اثرات افزایشی یکسانی برآورد گردید (Zhuang et al., 1997).

در مطالعه دیگری، شانزده QTL مسئول جذب یون‌های سدیم و پتاسیم در جوانه‌های برنج با استفاده از تجزیه نشانگر AFLP گزارش کردند (Flowers et al., 2000). در پژوهشی با

<sup>2</sup> - Simple sequence length polymorphism

هدف از اجرای این تحقیق بنابراین در مطالعه حاضر، ردیابی ژن‌های کمی مرتبط با تحمل به شوری در مرحله زایشی، همچنین شناسایی و اعتبارسنجی QTL های کنترل‌کننده تحمل به شوری در مرحله رویشی، و مقایسه نواحی مختلف ژنومی از نظر کنترل تحمل به شوری در مراحل رویشی و یا زایشی نیز انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

##### مواد گیاهی

جمعیت مورد استفاده شامل 80 رگه درون زاد نوترکیب<sup>2</sup> (RIL) حاصل از تلاقی IR29 و Pokkali بود که به وسیله مرکز بین‌المللی تحقیقات برنج (IRRI) تهیه شده بودند. رقم Pokkali یک رقم پابلند بومی هند است که به شوری متحمل است، در حالی که IR29 رقم نیمه پاکوتاه اصلاحی است که در IRRI تولید شده و حساس به شوری است. این دو رقم به عنوان شاهد متحمل و حساس در تحقیقات شوری برنج استفاده می‌گردند. جمعیت از طریق بالک تک بذر و روش تولید سریع نسل‌ها در گلدان‌های پلاستیکی به دست آمد و هشتاد فرد که به صورت تصادفی انتخاب شدند برای شناسایی QTL های کنترل کننده تحمل شوری در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند.

شاخص آسیب شوری به گیاهچه، جذب سدیم، پتاسیم و کلر در بافت برگ‌ها و ساقه‌ها در مرحله رویشی و زایشی مورد ارزیابی قرار گرفتند (Ammar, 2004). در پژوهشی با استفاده از جمعیت‌های F2 و F3 حاصل از تلاقی Nona Bokra (رقم هندی متحمل به شوری) و Koshihikari (وارتبه ژاپنی حساس به شوری) - QTL های مسئول جذب سدیم و پتاسیم را در ریشه و جوانه نقشه‌یابی نمودند (Ren et al., 2004; Lin et al., 2003). والدین و 113 فرد جمعیت F3 برای ارزیابی تحمل شوری استفاده شدند. بیشترین مقدار LOD برای صفت جذب پتاسیم برابر با 11/74 بدست آمد که بیش از 40 درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه می‌کرد. این QTL در فاصله بین نشانگرهای C1214-S2139 بر روی کروموزوم یک قرار گرفته بود و موقعیت آن مشابه گزارش‌های پژوهش‌هایی بود که جهت شناسایی QTL های پارامتر رشد گیاه برنج، از 98 فرد جمعیت BIL<sup>1</sup> حاصل از تلاقی Nipponbare/Kasalath استفاده نمودند (Grigorio, 1997; Bonilla, 2002; Takehisa et al., 2004). Nipponbare یک واریته نسبتاً متحمل به شوری در حالی که Kasalath حساس به شوری می‌باشد. بعد از تجزیه داده‌های حاصل از ارزیابی فنوتیپی و ارزیابی ژنوتیپی با استفاده از 245 نشانگر RFLP، مشخص شد هفت QTL بر روی کروموزوم‌های 1، 2، 3، 4، 7 و 12 طول جوانه را کنترل می‌کردند.

<sup>2</sup> Recombinant Inbred Line

<sup>1</sup> - Backcross inbred lines

## ارزیابی ژنوتیپی

تکثیر شدند و فرآورده‌های حاصل به منظور تعیین ژنوتیپ افراد، الکتروفورز شدند.

## ارزیابی فنوتیپی

ارزیابی فنوتیپی در موسسه بین المللی تحقیقات برنج صورت پذیرفت. در مرحله گیاهچه‌ای و 3 روز پس از کشت، اعمال تنش در محلول غذایی یوشیدا با هدایت الکتریکی برابر با  $12 \text{ dsm}^{-1}$  به مدت 21 روز تحت شرایط کنترل شده در فیتوترون در دمای  $34^\circ \text{C}$  در روز و  $29^\circ \text{C}$  در شب و رطوبت 70 درصد انجام شد و امتیاز تحمل به شوری ژنوتیپ‌ها با استفاده از سیستم نمره‌دهی 9-1 صورت پذیرفت (Gregorio *et al.*, 2002). ژنوتیپ‌ها در پنج گروه 1، 3، 5، 7 و 9 رتبه‌دهی شدند که متحمل-ترین ژنوتیپ رتبه 1 و حساس‌ترین ژنوتیپ رتبه 9 را به خود اختصاص دادند. سپس میزان سدیم و پتاسیم بر حسب میلی‌مولار بر گرم در برگ چهارم و نسبت آنها به روش فلایم‌فومتری تعیین گردید. بدین منظور برگ چهارم هر گیاه در لوله‌های آزمایش با 10 میلی‌لیتر اسید استیک 0/1 نرمال مخلوط و سپس به مدت 2 ساعت در حمام آب گرم در  $90^\circ$  سانتیگراد قرار گرفت. یک میلی‌لیتر از محلول گرم شده به 9 میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شده اضافه شد و با دستگاه جذب اتمی اسپکتروفتومتر میزان بهینه (OD)<sup>1</sup> نمونه‌ها ثبت گردید. سپس با استفاده از مدل رگرسیونی،  $Y = -0/0001 X^2 + 0/0261 X$ ، که در آن X میزان خوانده شده توسط دستگاه و Y میزان

نمونه‌های برگگی از جمعیت RILs و والدین (IR29 و Pokkali) تهیه شد. DNA ژنومی طبق روش تغییر یافته دلاپورتا از برگ‌های جوان استخراج گردید (Delaporta, 1983). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Eppendorf در حجم  $10 \mu\text{l}$  انجام شد. مخلوط واکنش حاوی بافر PCR یک برابر، 0/25 میکرولیتر  $\text{MgCl}_2$  1/5 میلی‌مولار، یک میکرو لیتر dNTPs، 0/5 میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت 5 میلی‌مولار، تک پلیمرز یک واحد و 50 نانو گرم از DNA الگو بود. به منظور تکثیر قطعات DNA چرخه‌های PCR به شرح زیر انجام شد: بعد از 5 دقیقه واسرشت سازی در دمای  $94^\circ \text{C}$ ، 35 چرخه شامل: یک دقیقه در دمای  $94^\circ \text{C}$ ، 45 ثانیه در دمای اتصال  $55^\circ \text{C}$ ، یک دقیقه در دمای  $72^\circ \text{C}$  و بسط نهایی 7 دقیقه در دمای  $72^\circ \text{C}$  انجام شد. محصولات PCR در ژل پلی‌اکریل آمید 8% با ولتاژ 100 در بافر TBE (1x) به مدت 2 ساعت تفکیک شده و سپس در اتیدیوم برماید رنگ آمیزی شدند. آغازگرها با استفاده از نقشه‌های ریزماهواره ارایه شده توسط سایر محققین انتخاب شدند (McCouch *et al.*, 2002). مجموع 640 جفت آغازگر SSR برای بررسی چندشکلی والدین مورد استفاده قرار گرفتند و تعداد 81 نشانگر چندشکل‌الگوی نواربندی متفاوتی برای دو والد، نشان دادند. در مرحله بعد، نمونه‌های DNA افراد درون زاد نوترکیب با استفاده از 81 جفت آغازگر فوق

<sup>1</sup> - Optimal density

در هر گیاه شمارش گردید. درصد باروری دانه ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

پوک) / تعداد دانه‌های پر } = درصد باروری دانه  $\times 100$  (تعداد دانه‌های پر + تعداد دانه‌های

برای محاسبه عملکرد بیولوژیک گیاهان به‌طور انفرادی در آون در دمای  $70^{\circ}\text{C}$  به مدت یک هفته خشک شدند و سپس وزن آنها اندازه گیری شد. در نهایت جهت نشان دادن تأثیرپذیری صفات فوق در افراد مختلف نسبت به شوری، درصد کاهش صفات ذکر شده بدین صورت محاسبه شد:

$\times 100$  { تیمار در شرایط نرمال / (تیمار در شرایط شور - تیمار در شرایط نرمال) }

تجزیه و تحلیل آماری، مقایسه صفات مختلف در مراحل رویشی و زایشی و ارزیابی رابطه بین صفات، با نرم افزارهای آماری SAS و Excel انجام شد.

#### طراحی نقشه پیوستگی و تجزیه آماری مکان-یابی QTLها

نقشه لینکاژی نشانگرهای SSR با استفاده از نرم افزار Map Manager QTX ترسیم شد و فاصله ژنومی (سانتی مورگان) با استفاده از تابع کوزامبی با فاصله کمتر از 50 سانتی مورگان محاسبه گردید. با استفاده از روش تک نشانگری، نشانگرهای همبسته با صفات مرتبط با تحمل به شوری در مراحل رویشی و زایشی تعیین شدند و سپس از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب به وسیله نرم افزار QTL Cartographer v 2.5

برآورد شده سدیم یا پتاسیم می باشد، میزان عناصر سدیم و پتاسیم بر حسب ppm (قسمت در میلیون) با استفاده از نمونه‌های استاندارد برآورد شد. نمونه‌های برگي سپس به مدت 3 روز در آون در دمای 70 درجه سانتی‌گراد خشک شدند و وزن آنها تعیین شد. در نهایت میزان عناصر بر حسب میلی‌مولار در گرم وزن خشک برگ محاسبه شد. برای ارزیابی صفات در مرحله زایشی گلدان‌ها در داخل محفظه‌های سیمانی قرار داده شدند و روی سطح خاک گلدان‌های داخل هر محفظه با آب پوشیده شد. دو سری گلدان در چهار تکرار برای شرایط کنترل و شوری نگهداری شدند. سه هفته بعد از مرحله گیاهچه‌ای تنش شوری برابر با  $5\text{dsm}^{-1}$  اعمال گردید و عملکرد در دو شرایط اندازه‌گیری شد. آزمایش‌ها در چهار تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شدند. بذرهاي پیش‌جوانه زده شده در گلدان پلاستیکی سوراخ‌دار کاشته شدند. از میان سه بذر قرار داده شده از هر ژنوتیپ در هر گلدان در نهایت یک گیاهچه بعد از وجین نگهداری شد. در روز بیست و یکم گیاهچه‌ها با محلول نمک که هدایت الکتریکی آن برابر با  $5\text{dsm}^{-1}$  بود آبیاری شدند. سطح شوری آب تا مرحله بلوغ تحت کنترل بود. صفات ارتفاع گیاه، تعداد و وزن دانه، تعداد پانیکول، تعداد پنجه، باروری دانه و عملکرد بیولوژیک در مرحله زایشی در دو شرایط نرمال و تنش شوری مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارتفاع گیاه از سطح خاک تا نوک پانیکول اندازه گیری شد، همچنین تعداد و وزن دانه‌های پر نیز

داشتند (جدول 1). به منظور بررسی رابطه بین تحمل در دو مرحله رشدی، براساس صفت امتیاز تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای، افراد متحمل و نیمه متحمل در گروه 1 و افراد حساس در گروه 2 قرار گرفتند و مقایسه صفات مختلف مرحله زایشی بین این دو گروه انجام شد. بررسی میانگین صفات و دامنه تغییرات دو گروه مورد بررسی که شامل 37 فرد متحمل و نیمه متحمل در گروه 1 و 43 فرد حساس در گروه 2 بود، نشان داد که میانگین صفات مورد بررسی در شرایط نرمال با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند و همچنین میانگین صفات مورد بررسی در شرایط شوری نیز اختلاف معنی داری نداشتند ولی روی میزان کاهش صفات فوق در اثر شوری بین گروه متحمل و حساس به شوری در مرحله گیاهچه‌ای اختلاف بسیار معنی داری ( $p \leq 0/01$ ) مشاهده شد (جدول 1) که بیانگر مکانیسم‌های متفاوت تحمل به شوری در مراحل مختلف رشد می‌باشد. برای جامعه مورد مطالعه ارتباط معنی داری بین میزان تحمل در مرحله گیاهچه‌ای و گیاه بالغ وجود دارد و برای یافتن صفاتی از مرحله زایشی که تأثیر پذیری بیشتری از مرحله رویشی دارند بررسی کاهش در تک تک صفات مورد مطالعه در دو گروه نشان داد که صفات درصد کاهش ارتفاع گیاه، درصد کاهش تعداد و وزن دانه‌های پر و درصد کاهش عملکرد بیولوژیک اختلاف معنی داری بین دو گروه داشتند و احتمال می‌رود ژن‌های مرتبط با کاهش این صفات با ژن‌های کنترل کننده تحمل در مرحله گیاهچه‌ای همبسته

(Basten *et al.*, 2001) برای تعیین مکان‌های کنترل کننده صفات مورد مطالعه استفاده شد. سرعت پیمایش بر روی کروموزوم‌ها برای محاسبه جزء نو ترکیبی و محاسبه LOD برابر 0/5 سانتی مورگان بود. QTL‌های به دست آمده از نظر تعیین مکان دقیق پالایش شدند و پارامترهای مربوط به QTL‌ها مثل اثر افزایشی و جزء نو ترکیبی با نشانگرهای مجاور آزمون گردیدند. عملیات جستجو برای QTL بیشتر، مجدداً انجام شد. نام گذاری QTL‌ها براساس روش مک کوچ و همکاران انجام گرفت (McCouch *et al.*, 2002).

## نتایج و بحث

### نتایج ارزیابی فنوتیپی

پراکنش صفات در جمعیت نشان داد که صفات مورد مطالعه در مرحله رویشی و زایشی، دارای تفرق فرارونده<sup>1</sup> می‌باشند و توزیع فنوتیپی پیوسته و نرمال صفات اندازه گیری شده در جامعه مورد مطالعه حاکی از وراثت پلی ژن صفات مورد بررسی است. بررسی صفات فنوتیپی امتیاز تحمل شوری، غلظت سدیم، پتاسیم و نسبت آن‌ها در مرحله گیاهچه‌ای و صفات ارتفاع گیاه، تعداد و وزن دانه، تعداد پانیکول، تعداد پنجه، باروری و عملکرد بیولوژیک در مرحله زایشی نشان داد که افراد مورد بررسی، تنوع قابل ملاحظه‌ای از نظر صفات مرتبط با تحمل در مرحله گیاهچه‌ای و همچنین صفات متأثر از شوری در مرحله زایشی

<sup>1</sup> Transgressive Segregation

بیولوژیک همبستگی داشت. بنابراین شاید بتوان به نواحی ژنی دست یافت که حاوی ژن های کنترل کننده هر دو مکانیسم باشد و با انتقال آن نواحی کروموزومی، تحمل به شوری نسبت به هر دو مرحله ایجاد نمود به عبارتی جامعه فوق از نظر شناسایی این ژن ها مفید می باشد.

### نتایج ارزیابی ژنوتیپی و مکان یابی QTL ها نقشه پیوستگی

نقشه پیوستگی بر اساس اطلاعات 81 نشانگر ریزماهواره چند شکل بر روی 80 رگه درون زاد نوترکیب تهیه شد. نشانگرهای گزینش- شده هر 12 کروموزم برنج را پوشش دادند. این پوشش برابر با 2085/6 سانتی مورگان با متوسط فاصله 25/74 سانتی مورگان بین دو نشانگر مجاور بود. این نشانگرها که از بین 640 نشانگر چندشکل بین دو والد و براساس اطلاعات ژنتیکی گزینش شده اند تراکم متفاوتی برای کروموزوم های مختلف داشتند، به طوری که کروموزوم 4 کمترین تعداد نشانگر را داشت. بیشترین متوسط طول گروه پیوستگی مربوط به کروموزوم 4 و برابر با 65/6 سانتی مورگان بود و کمترین آن به کروموزوم 10 و با طول 8/27 سانتی مورگان تعلق داشت و در نقشه حاصله متوسط فاصله بین نشانگرها 25/74 سانتی مورگان بود (Mohammadi-Nejad et al., 2009)، که از آن برای مکان یابی QTL ها استفاده گردید (شکل 1).

باشند (جدول 1). بر اساس نتایج همبستگی، امتیاز تحمل به شوری در مرحله گیاهچه ای همبستگی بسیار بالا و معنی داری با صفات غلظت سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم و همبستگی منفی و بسیار معنی داری با غلظت پتاسیم داشت که حاکی از نقش مهم تعادل این نسبت در ایجاد تحمل به شوری در مرحله گیاهچه ای می باشد. از طرفی صفات مختلف متأثر از شوری در مرحله زایشی با یکدیگر همبستگی معنی داری داشتند که البته این ارتباط معنی دار کمتر از رابطه همبستگی در صفات مرتبط با مرحله گیاهچه ای بود. امتیاز تحمل به شوری در مرحله گیاهچه ای بیشترین همبستگی را با صفت درصد کاهش عملکرد بیولوژیک نشان داد ( $r=0/44^{**}$ ) که البته علی رغم معنی دار شدن، میزان همبستگی بالا نیست که گویای وجود مکانیسم های مختلف برای تحمل در این دو مرحله می باشد. میزان پتاسیم رابطه منفی و معنی داری با صفات غلظت سدیم داشت و نسبت سدیم به پتاسیم با همه صفات متأثر از شوری در مرحله زایشی همبستگی معنی داری نشان داد (جدول 2). بنابراین تمرکز بر روی شناسایی مکانیسم ژنتیکی کنترل کننده این نسبت در القا تحمل بسیار مفید می باشد. در نهایت اینکه بین صفات مرتبط با تحمل در مرحله گیاهچه ای و صفات متأثر از شوری در مرحله زایشی همبستگی متوسط و معنی داری مشاهده شد، به طوری که امتیاز تحمل به شوری در مرحله گیاهچه ای با درصد کاهش ارتفاع گیاه، درصد کاهش وزن دانه های پر، درصد کاهش عملکرد



جدول 1- مقایسه میانگین صفات مختلف و درصد کاهش آنها طی تنش شوری در مرحله زایشی در محیط شور و نرمال.

**Table 1- Mean comparison and reduction percentage of different traits under salinity stress at reproductive stage in saline and normal conditions**

درصد کاهش		شرایط شور		شرایط نرمال		صفات
Reduction percentage		Saline condition		Natural condition		Traits
میانگین	دامنه	میانگین	دامنه	میانگین	دامنه	
Average	Range	Average	Range	Average	Range	
لاین‌های متحمل و نیمه متحمل به شوری در مرحله زایشی						
Tolerant and semi tolerant lines to salinity in reproductive stage						
18.4	0.39-42.4	126.2	62.2-173.2	158.6	84.7-231.5	ارتفاع گیاه (سانتی متر) Plant height (cm)
24.5	0-58.3	5.4	2.6-8	7.4	4.66-10.50	تعداد پنجه Number of tiller
25.9	0-66.6	5.2	2-8	7.2	4.66-10.50	تعداد پانیکول Number of Panicle
51.2	6-84.9	233.2	51-463	494	187.6-674.3	تعداد دانه های پر Number of filled grain
12.7	0.06-54.7	65.7	25-85.4	74.8	38.6-91.3	باروری دانه Grain fertility
9.7	0.18-21.8	2.2	1.67-2.85	2.5	1.94-3.08	وزن صد دانه 100-grain weight
49.4	5.7-85.5	5.5	1.27-10.57	11.9	3.92-18.35	وزن دانه های پر Filled grain weight
45.3	2-80.5	13.4	5.8-22.7	26.8	10.1-43	عملکرد بیولوژیک (T/ha) Biological yield
افراد حساس به شوری در مرحله زایشی						
Sensitive lines to salinity in reproductive stage						
25.3	9.1-45.4	138.9	65.1-170.3	186	98.5-220	ارتفاع گیاه (سانتی متر) Plant height (cm)
30.2	0-73.3	5	2.3-7.6	7.3	4.5-9.5	تعداد پنجه Number of tiller
32.3	3.7-69.8	4.7	2.3-7.3	7.1	4.5-9.3	تعداد پانیکول Number of Panicle
60.5	5.7-90.3	194.3	17.5-465	513.9	182-816	تعداد دانه های پر Number of filled grain
16.6	0.3-49.4	64.1	29.6-85.4	76.7	58.6-90.6	باروری دانه Grain fertility
12.4	0.8-28.9	2	1.5-2.6	2.3	1.8-3.5	وزن صد دانه 100-grain weight
63.6	3.5-90.6	4.2	0.3-11.1	12.1	3.6-22.6	وزن دانه های پر Filled grain weight
61.3	8.2-88.9	11.1	3.2-28	28.9	14.2-52.9	عملکرد بیولوژیک (T/ha) Biological yield

جدول 2- ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه در مراحل گیاهچه ای و گیاه بالغ.

Table 2- Coefficient Correlation among studied traits in seedling and adult stage.

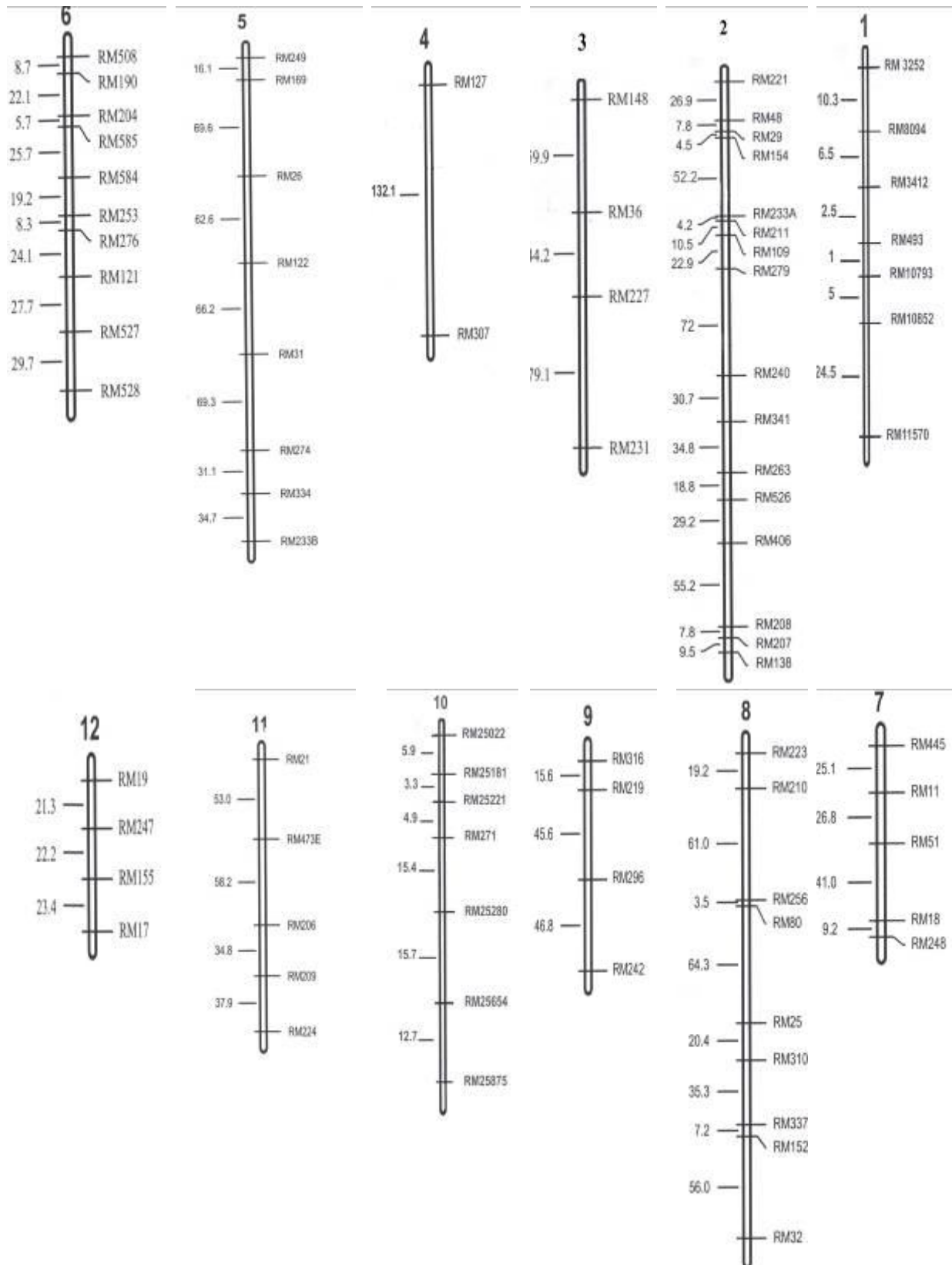
RSWT	RFGWT	RFERT	RPH	RTIL	RPAN	RNFG	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	SES	Traits صفات
										0.910**	Na <sup>+</sup>
									-0.726**	-0.747**	K <sup>+</sup>
								-0.852**	0.955**	0.891**	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>
							0.289**	-0.166	0.279*	0.279*	RNFG
						0.721**	0.246*	-0.145	0.242*	0.247*	RPAN
					0.905**	0.608**	0.222*	-0.141	0.209	0.239*	RTIL
				0.396**	0.447**	0.622**	0.367**	0.272*	0.374**	0.356**	RPH
			0.303**	0.129	0.161	0.466**	0.224*	-0.252*	0.190	0.158	RFERT
		0.428**	0.681**	0.552**	0.659**	0.906**	0.343**	-0.205	0.377**	0.373**	RFGWT
	0.362**	0.106	0.389**	0.252*	0.277*	0.277*	0.290**	-0.275*	0.261*	0.235*	RSWT
0.337**	0.756**	0.285*	0.688**	0.552**	0.626**	0.726**	0.444**	-0.334*	0.440**	0.444*	RBWT

\*\*،\* معنی دار در سطوح احتمال 5 و 1 درصد.

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

SES: امتیاز تحمل ژنوتیپ ها به شوری، Na: غلظت سدیم، K: غلظت پتاسیم، Na/K: نسبت سدیم به پتاسیم، RNFG: درصد کاهش تعداد دانه های پر، RPAN: درصد کاهش تعداد پانیکول، RTIL: درصد کاهش تعداد پنجه ها، RPH: درصد کاهش ارتفاع گیاه، RFERT: درصد کاهش باروری دانه، RFGWT: درصد کاهش وزن دانه های پر، RSWT: درصد کاهش وزن صد دانه، RBWT: درصد کاهش عملکرد بیولوژیک.

SES: Standard Evaluation Score, Na<sup>+</sup> concentration, K<sup>+</sup> concentration, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> discrimination, RNFG: Reduction of Number of Filled Grains, RPAN: Reduction of Number of Panicles, RTIL: Reduction of Number of tillers, RPH: Reduction of Plant Height, RFERT: Reduction of Fertility, RFGWT: Reduction of Filled Grain Weight, RSWT: Reduction of 100-Seed Weight, RBWT: Reduction of Biomass Weight.



شکل 1- نقشه لینکاژی نشانگری با QTL های شناسائی شده.

Figure 1- Linkage map of microsatellite markers linked to identified QTLs.

## نتایج مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب در مرحله گیاهچه‌ای

QTL‌های مشاهده شده برای کنترل تحمل به شوری در این مرحله بر روی کروموزوم‌های 1 و 10 قرار گرفتند. اکثر QTL‌های شناسایی شده در کنترل چند صفت دخالت داشتند. سه QTL برای امتیاز تحمل شوری، 2 عدد برای میزان سدیم، 2 عدد برای میزان پتاسیم و 2 عدد برای نسبت سدیم به پتاسیم مکان‌یابی شدند که از این میان qSES10 به عنوان QTL بزرگ اثر با LOD برابر با 24/92 شناسایی شد که در فاصله بین نشانگرهای RM10852 و RM11570 قرار داشت و 58 درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کرد و منشأ آن Pokkali می‌باشد (جدول 3). اگر یک QTL بتواند تنوع بیشتری را نسبت به سایر QTL‌های مکان‌یابی شده برای یک صفت نشان دهد، می‌توان آن را به عنوان یک مکان ژنی اصلی یا یک ژن بزرگ اثر کنترل کننده صفت تلقی کرد (Lin et al., 2004) که qSES10 با تبیین حدود 58 درصد از تنوع فنوتیپی این صفت چنین مشخصه‌ای داشت. دقیقاً ناحیه یکسانی بر روی کروموزوم یک در فاصله بین نشانگرهای RM3252 و RM8094 برای میزان سدیم، پتاسیم و نسبت آن‌ها ردیابی شد که به ترتیب دارای LOD برابر با 8/87، 6/57 و 6/55 می‌باشند و همچنین ناحیه یکسانی برای این سه صفت بر روی کروموزوم 10 نیز مشاهده گردید که به ترتیب با LOD برابر با 2/65، 2/95 و 2/6 می‌باشند. در مطالعه‌ای برای میزان سدیم دو QTL بر

روی کروموزوم 1 با ضریب تبیین 12/4 شناسایی کردند (Lin et al., 2004). همچنین در مطالعه دیگری برای میزان سدیم بر روی کروموزوم یک در فاصله 10 cM از ابتدای کروموزوم، یک QTL شناسایی گردید که 49 درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه می‌کرد (Ammar, 2004). در مطالعه حاضر نیز دو QTL شناسایی شده که به ترتیب در فاصله 10/3 و 5/9 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم‌های 1 و 10 قرار گرفتند و مجموعاً بیست و پنج درصد از تغییرات فنوتیپی میزان سدیم را توجیه کردند. در پژوهشی، یک QTL برای میزان پتاسیم بر روی کروموزوم 1 با ضریب تبیین 40/1 درصد شناسایی کردند (Lin et al., 2004). در مطالعه دیگری نیز برای این صفت در فاصله 11/46 cM از ابتدای کروموزوم 1، یک QTL با LOD برابر با 10 گزارش نمودند (Ren et al., 2005). در این مطالعه qk1 در فاصله 10/3 از ابتدای کروموزوم 1 و qK10 در فاصله 5/9 cM از ابتدای کروموزوم 10 که در مجموع 30 درصد تغییرات میزان پتاسیم را تبیین نمودند، شناسایی شد. در مطالعه لانگ و همکاران، برای نسبت سدیم به پتاسیم در فاصله 33 cM از ابتدای کروموزوم 1، یک QTL با ضریب تبیین 9/14 گزارش گردید (Lang et al., 2001). در مطالعه حاضر دو QTL بر روی کروموزوم‌های 1 و 10 در فواصل 10/3 و 5/9 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم برای این صفت شناسایی شدند که به ترتیب 10 درصد و 19 درصد از تغییرات را توجیه کردند. با توجه به استفاده از مواد ژنتیکی

می‌باشد که هم برای صفات غلظت سدیم، پتاسیم و نسبت آن‌ها در مرحله گیاهچه‌ای و هم برای درصد کاهش وزن دانه‌های پر و درصد کاهش عملکرد بیولوژیک در مرحله زایشی ناحیه‌ای اثرگذار و حاوی QTL‌های بزرگ اثر است و بعد از *Saltol* می‌تواند به عنوان موثرترین ناحیه جهت القا تحمل در مرحله گیاهچه‌ای و گیاه بالغ مطرح شود و مدنظر قرار دادن آن‌ها در مطالعات هر-سازای QTL می‌تواند مفید باشد. در فاصله بین نشانگرهای RM10852 و RM11570، QTL بزرگ اثری در مرحله رویشی مشاهده گردید که به منظور نقشه‌یابی دقیق، استفاده از نشانگرهای بیشتری در این ناحیه لازم است و در صورت تأیید نتایج، جهت القا تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای می‌توان از هر-سازای QTL سانتول به همراه این ناحیه و ناحیه احاطه شده بین نشانگرهای RM25022 و RM25181 بهره گرفت.

متفاوت و نقشه‌های پیوستگی مختلف، نتایج در رابطه با صفت نسبت سدیم به پتاسیم مطابقت دقیقی با هم نشان ندادند.

### نتایج تجزیه QTL در مرحله زایشی

در ارتباط با صفت درصد کاهش وزن دانه‌های پر، سه QTL بر روی کروموزوم‌های 9، 7 و 10 یافت شدند که بیشترین LOD در بین آن‌ها برابر با 3/89 و در فاصله بین نشانگرهای RM445 و RM11 قرار داشت و 21 درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کرد. این QTL از والد حساس انتقال یافته و در زمینه ژنتیکی نتاج بیان شده است. چهار QTL برای درصد کاهش عملکرد بیولوژیک برای شوری شناسایی گردیدند که بر روی کروموزوم‌های 3، 7، 9 و 10 قرار داشتند و به ترتیب 17%، 39%، 21% و 18% از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند (جدول 3). جهت القا تحمل به شوری در مرحله زایشی، ناحیه یکسانی بر روی کروموزوم‌های 7، 9 و 10 برای دو صفت درصد کاهش وزن دانه‌های پر و درصد کاهش عملکرد بیولوژیک شناسایی گردید که بررسی و نقشه‌یابی دقیق ناحیه احاطه شده بین نشانگرهای RM445 - RM11 بر روی کروموزوم 7 و RM219 - RM316 بر روی کروموزوم 9 می‌تواند زمینه ساز معرفی نشانگرهای ارزشمند در انتخاب به کمک نشانگر برای تحمل در این مرحله باشد. از طرفی نتیجه جالب و قابل توجه، ناحیه بین نشانگرهای RM25022 - RM25181 بر روی کروموزوم 10

جدول 3- QTL های شناسایی شده به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب برای صفات مرتبط با تحمل به شوری در برنج.

**Table 3- Identified QTLs using composite interval mapping for attributed traits to salinity stress in rice.**

صفات				
Traits				
R <sup>2</sup>	LOD	نشانه‌گرهای مجاور	کروموزوم	مرحله رویشی
		Adjacent markers	Chromosome	Vegetative stage
0.58	24.92	RM 10852-RM11570	1	qSES1
0.21	3.02	RM25022-RM25181	10	qSES10a
0.12	2.41	RM25280-RM645	10	qSES10b
0.095	8.87	RM3252-RM8094	1	qNa1
0.16	2.65	RM25022-RM25181	10	qNa10
0.085	6.57	RM3252-RM8094	1	qK1
0.22	2.95	RM25022-RM25181	10	qK10
0.10	6.55	RM3252-RM8094	1	qNa/K1
0.19	2.6	RM25022-RM25181	10	qNa/K10
مرحله زایشی				
Reproductive stage				
0.21	3.89	RM445-RM11	7	qRFGWT7
0.19	3.24	RM316-RM219	9	qRFGWT9
0.17	3.5	RM25022-RM25181	10	qRFGWT10
0/17	3.37	RM36-RM231	3	qRBWT3
0/39	8.07	RM445-RM11	7	qRBWT7
0/21	3.7	RM316-RM219	9	qRBWT9
0/18	2.8	RM25022- RM25181	10	qRBWT10

Na<sup>+</sup>: غلظت سدیم، K<sup>+</sup>: غلظت پتاسیم، SES: امتیاز تحمل به شوری، RFGWT: وزن دانه پر، RBWT: عملکرد بیولوژیک

Na<sup>+</sup>: Sodium concentration, K<sup>+</sup>: Potassium concentration, SES: standard evaluation score, RFGWT: Reduction of Filled Grain Weight, RBWT: Reduction of Biomass Weight.

#### منابع

- Akbar M, Yabuno Y, Nakso S (1972). Breeding for saline resistant varieties of rice. I. Variability for salt tolerance among some rice varieties. *Japanes Journal of Breeding*. 22: 277-284.
- Agricultural Statistics (2003). Crop and horticultural products (Vol, 1). Ministry of Jihad-e-Agriculture Ammar MHM (2004). Molecular mapping of salt tolerance in rice. PhD Thesis. Indian Agricultural Research Institute. New Delhi. India.
- Basten CJ, Weir BS, Zeng ZB (2001). QTL Cartographer: A reference manual and tutorial for QTL mapping. North Carolina State University. USA.

- Bonilla P, Dvorak J, Mackill D, Deal K, Gregorio G (2002). RFLP and SSLP mapping of salinity tolerance genes in chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using recombinant inbred lines. *Philippine Agricultural Scientist* 85: 68-76.
- Delaporta SL, Wood J, and Hicks J B (1983). A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molecular Biology* 4: 19-21.
- FAO (2005). Food and Agricultural Organization of United Nation (FAO), <http://apps.fao.org>.
- Flowers TJ, Koyama ML, Flowers S, Sudhakar C, Singh KP, Yeo AR (2000). QTL: their place in engineering tolerance of rice to salinity. *Journal of Experimental Botany* 51: 99-106.
- Gregorio GB (1997). Tagging salinity tolerance genes in rice using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). PhD Thesis. Los Baños. Philippines.
- Gregorio GB, Senadhira D, Mendoza RD (1997). Screening rice for salinity tolerance, IRRRI Discussion paper Series No.22. International Rice Research Institute, Los Baños. Laguna, Philippines.
- Gregorio GB, Senadhira D, Mendoza RD, Manigbas NL, Roxas JP, Guerta CQ (2002). Progress in breeding for salinity tolerance and other abiotic associated stresses in rice. *Field Crops Research* 76: 91-101.
- Islam MM (2005). Mapping salinity tolerance gene in rice (*Oryza sativa* L.) at reproductive stage. PhD Thesis. Los Baños. Philippine.
- Kato Y, Hirotsu S, Nemoto K, Yamagishi J (2008). Identification of QTLs controlling rice drought tolerance at seedling stage in hydroponic culture. *Euphytica*. 160: 423-430.
- 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.
- Lander ES, Botstein D (1989). Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199.
- Lang NT, Yanagihara S Buu BC (2001). QTL analysis of salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *SABRAO I Breed. Genet* 33: 11-20.
- Lin H X, Zhu MZ, Yano M, Gao JP, Liang ZW, Su WA, Hu XH, Ren H, Chao DY (2004). QTLs for Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 253-260.
- McCouch SR, Teytelman L, Xu Y, Lobos K, Clare K, Walton M (2002). Development of 2243 new SSR markers for rice by the international rice microsatellite initiative. *Proc. First International Rice Congress China* pp. 150 -152.
- Mohammadi-Nejad G, Arzani A, Rezaie AM, Singh RK Gregorio GB (2008). Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the *saltol* QTL. *African Journal of Biotechnology* 7 (6): 730-736.
- Mohammadi-Nejad G, Arzani A, Rezaie AM, Singh RK, H. Sabouri, Majidi MM, Fotokian MH, Moumeni A, Gregorio GB (2009). Mapping of quantitative genes controlling Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> content in Rice under salinity. *Journal of Agricultural Biotechnology* 1: 81-101 (In Farsi).
- 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.
- Niones JM (2004). Fine mapping of the salinity tolerance gene on chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using near isogenic lines. MS dissertation. Los Baños, Laguna. Philippines.

- Prasad SR, Bagali PG, Hittalmani S, Shashidhar HE (2000). Molecular mapping of quantitative trait loci associated with seedling tolerance to salt stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Current Science* 78: 162-164.
- Ren H, Zhu MZ, Yano M, Gao JP, Liang ZW, Su WA, Hu XH, Chao DY, Lin HX (2003). QTLs for Na and K content of shoot and root controlling rice salt tolerance. *Proc. First Intl. Symp. Rice Functional Genomics, International Convention Center, Shanghai, China*, pp. 67.
- Ren ZH, Gao JP, Li GL, Cai X L, Huang W, Chao DY, Zhu MZ, Wang ZY, Luan S, Lin HX (2005). A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nature Genetics* 37: 1141-1146.
- Takehisa H, Shimodate T, Fukuta Y, Ueda T, Yano M, Yamaya T, Kameya T, Sato T (2004). Identification of quantitative trait loci for plant growth of rice in paddy field flooded with salt water. *Field Crops Research* 89: 85-95.
- Yang GP, Maroof MAS, Xu CG, Zhang Q, Biyashcv RM (1994). Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in land races and cultivars of rice. *Molecular General Genetics* 245: 187-194.
- Yeo AR, Yeo ME, Flowers SA, and Flowers TJ (1990). Screening of rice (*Oryza Sativa* L.) genotypes for physiological characters contributing to salinity resistance, and their relationship to overall performance. *Theoretical and Applied Genetics* 79: 377-384.
- Zhuang JY, Lin HX, Lu J, Qian HR, Hittalmani S, Huang N, Zheng KL (1997). Analysis of QTL×environment interaction for yield components and plant height in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 799–808.



## Gene Mapping of Attributed Traits to Salinity Tolerance at Seedling and Reproductive Stages in Rice

Ghasemkhani M.<sup>1</sup>, Mohammadi-Nejad G.\*<sup>2</sup>

1- MS Student, Department of Biotechnology, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

2-Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman-Iran.

### Abstract

In order to identify the responsible QTLs attributed to salinity tolerance at seedling and reproductively stages in rice and detection of the ratio of each QTL in phenotypic variation, eighty RILs derived from IR29/Pokkali cross were used. The Sodium (Na) and Potassium (K) concentration, Na/K ratio at seedling stage and height, number and grain weight, number of panicle, number of tillers, fertility and biomass of rice in salinity stress at reproductive stage were assessed as phenotypic traits. Using 81 polymorphic SSR markers, a major QTL related to seedling stage tolerance was detected on the opposite arm of *Saltol* QTL in chromosome 1. Moreover, a major effected QTL for Na, K and their ratio was found on chromosomes 1 and 10 which totally controlled the tolerance at seedling stage. For tolerance to salinity at reproductive stage; major QTLs detected on chromosome 7, 9 and 10 for Reduction of Filled Grain Weight and Reduction of Biomass Weight . Multi trait QTL which were located on chromosome 10 had the same location with the QTL mapped for seedling stage tolerance, so it can be a good candidate for marker assisted breeding. It can be expected to achieve to the high tolerant genotypes through QTL pyramiding of *saltol* and chromosomal region of 10 together.

**Key words:** *QTL mapping, Recombination inbred lines (RILs), Rice, Salinity tolerance,*

\*Corresponding Author: Mohammadi-Nejad Gh. Tel: 09133415937

Email: Mohammadinejad@uk.ac.ir