

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

قاسم محمدی نژاد^{1*}، احمد ارزانی²، عبدالمجید رضایی²، راکش کومار سینگ³، حسین صبوری⁴، محمد مهدی مجیدی²،

محمدحسین فتوکیان⁵، علی مومنی⁶، وگلن گریگوریو²

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 بین‌المللی برنج (IRRI)، لوس‌بانوس، 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 بین‌المللی برنج IRRI، در سال‌های 1384 تا 1386 اجرا گردید. ارزیابی فنوتیپی 2350 لاین BC₃F₄ 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 مکان‌یابی QTL ها با ژنوتیپ‌یابی انتخابی 500 تک بوته کرانه‌ای با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره، 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، کروموزوم‌های 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 کروموزوم‌های 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 بین QTL 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 QTL بزرگ اثر به ارقام مدنظر قرار گیرد.

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

مقدمه

خوزستان است (Fotokian, 2005). علاوه بر این، یکی از موانع توسعه کشت برنج در مناطق دیگر به شرط وجود آب، چالش شوری است. به طور 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 می‌گیرند. 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 موفقیت‌ها 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

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 می‌باشد (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 زمین‌های نزدیک دریای خزر و نیز مشکل فعلی در شالیزارهای جنوب کشور به ویژه در استان

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 گیاهیچه و زایشی دارد و به عنوان شاهد حساس به شوری در مطالعات اصلاحی استفاده می‌شود. 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 می‌شود (Gregorio, 1997).

کرد. یک مکان کروموزومی بزرگ‌اثر که در تنظیم جذب سدیم، جذب پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم و تحمل به شوری در مرحله گیاهیچه 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 نو ترکیب و با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره (SSR^1) و ($SSLP^2$) تحت نام *Saltol* شناسائی شد (Gregorio, 1997). در پژوهش گریگوریو یکی از لاین‌های اینبرد نو ترکیب 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 می‌رود (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

¹ Simple Sequence Repeat

² Simple Sequence Length Polymorphism

روش تغییر یافته 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 فلیم‌فتمتری (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 پلیمرز، 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 و 100 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

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 قرار گرفتند 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 یونولیت³ که یک شبکه نایلونی در زیر آن قرار گرفته بود، کشت شدند. محیط کشت به مدت 2 روز آب مقطر و سپس محلول غذایی یوشیدا⁴ 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

³ Styrofoam

⁴ Yoshida

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 معنی‌داری با غلظت سدیم و امتیاز تحمل به شوری نشان نداد (جدول 3).

با توجه به این نتایج و همچنین وجود گزارش‌های متعدد نظیر (Mohammadi-Nejad et al., 2010; Mohammadi-Nejad et al., 2008) 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.

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 متجاوز⁷ باشد. به نظر می‌رسد مکانیسم تحمل به شوری در لاین FL478 بیشتر مربوط به جذب کمتر Na^+ و نه

⁵ Interval Mapping

⁶ Composite Interval Mapping

⁷ Transgressive segregation

نقشه پیوستگی و مکان‌یابی QTL ها

نشانه‌گر 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 نشانه‌گر 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 سانتی مورگان بود (شکل 1).

نقشه پیوستگی تهیه شده براساس اطلاعات 107 نشانه‌گر ریزماهواره روی 500 تک بوته از جمعیت BC₃F₄، نشان داد که نشانه‌گرهای گزینش شده همه 12 کروموزوم برنج را پوشش دادند. این پوشش برابر با 1403/68 سانتی مورگان با میانگین فاصله 13/12 سانتی مورگان بین دو نشانه‌گر مجاور بود. این نشانه‌گرها که از بین 312

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 1 درصد 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	امتیاز 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.

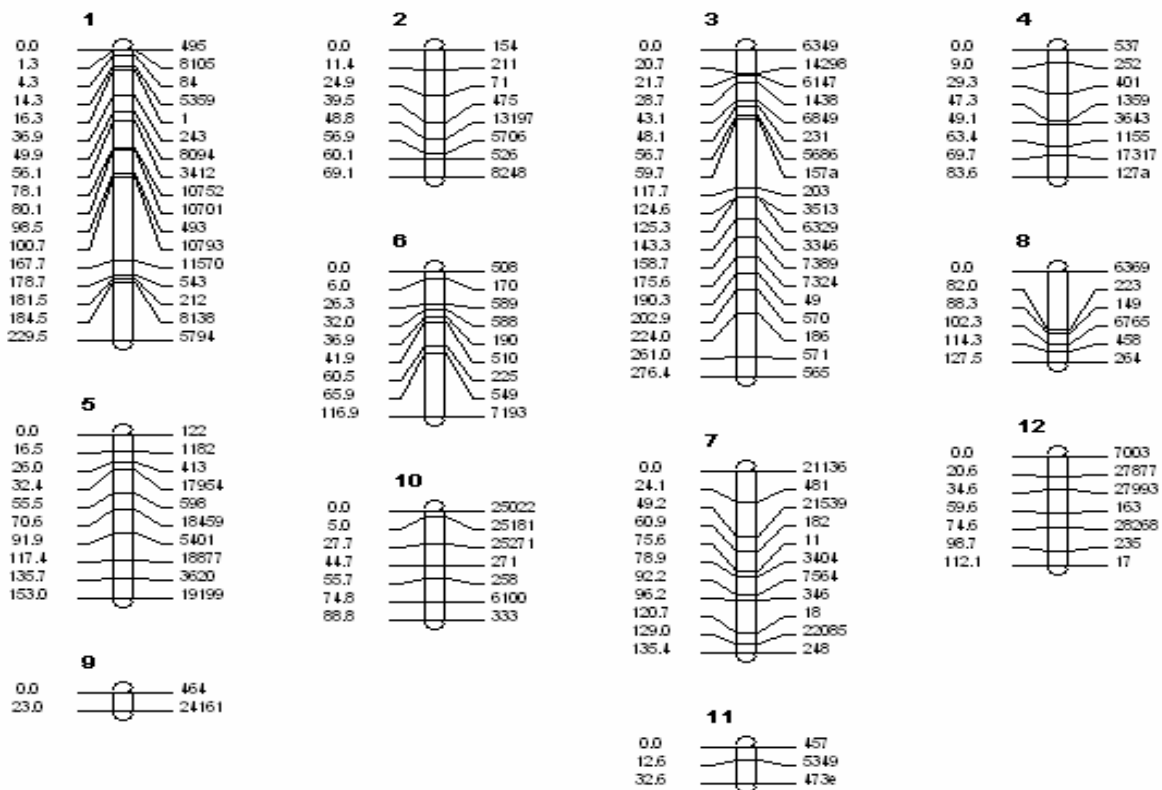
جدول 3- همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد مطالعه در فامیل‌های تلاقی برگشتی.

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

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

- ** : 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 BC₃F₄ حاصل از تلاقی

IR29× FL478

Figure 1- Linkage map of 107 Markers using 500 NIL, (BC₃F₄) 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	
****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	غلظت سدیم در برگ چهارم Sodium Content in 4 th leaf
****0.000	17.33	-0.96	4.93	1	RM11570	
**0.007	7.48	-0.86	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 معنی داری Probability Level	LRT	B1	B0	کروموزوم Chromosome	نشانگر Marker	صفت Trait
**0.007	7.4	-0.47	5.07	3	RM570	
**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	غلظت سدیم در برگ چهارم
**0.001	8.98	-0.76	4.63	10	RM258	Sodium Content in 4 th leaf
**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	
**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	غلظت پتاسیم در برگ چهارم
**0.006	7.95	0.11	0.94	8	RM6369	Pottasium Content in 4 th leaf
**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	
****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	نسبت سدیم به پتاسیم
**0.007	7.51	-0.72	4.74	8	RM223	Na ⁺ /K ⁺ ratio in 4 th leaf
**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.

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 QTL‌ها پیوستگی داشتند. تعداد 20 نشانگر پیوسته با QTL‌های 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 معنی‌داری 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 QTL‌های شناسایی شده در کنترل چند صفت دخالت داشتند. چهارده QTL برای امتیازتحمیل به شوری، 6 عدد برای غلظت پتاسیم، 16 عدد برای غلظت سدیم و 12 عدد برای نسبت سدیم به پتاسیم شناسایی شدند (جدول 5). اثر پلیوتروپی QTL‌ها یکی از دلایل مشاهده همبستگی‌های معنی‌دار بین صفات

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

نتایج تجزیه تک نشانگری: برای امتیازتحمیل به شوری در مرحله گیاهچگی، 23 نشانگر پیوستگی بسیار معنی‌داری با QTL‌ها داشتند (جدول 4). از نشانگرهای مستقر در ناحیه *Saltol*، تنها RM8094 به طور بسیار معنی‌داری با QTL پیوستگی داشت. نشانگرهای RM3412 و RM493، پیوستگی معنی‌داری 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 بالایی 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

امتیاز تحمل به شوری (3 عدد) و سرانجام کمترین آن برای غلظت پتاسیم (2 عدد) 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 (شکل 2).

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 کروموزوم‌های 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

جدول 5- QTL های شناسایی شده برای صفات مرتبط با تحمل به شوری به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب.

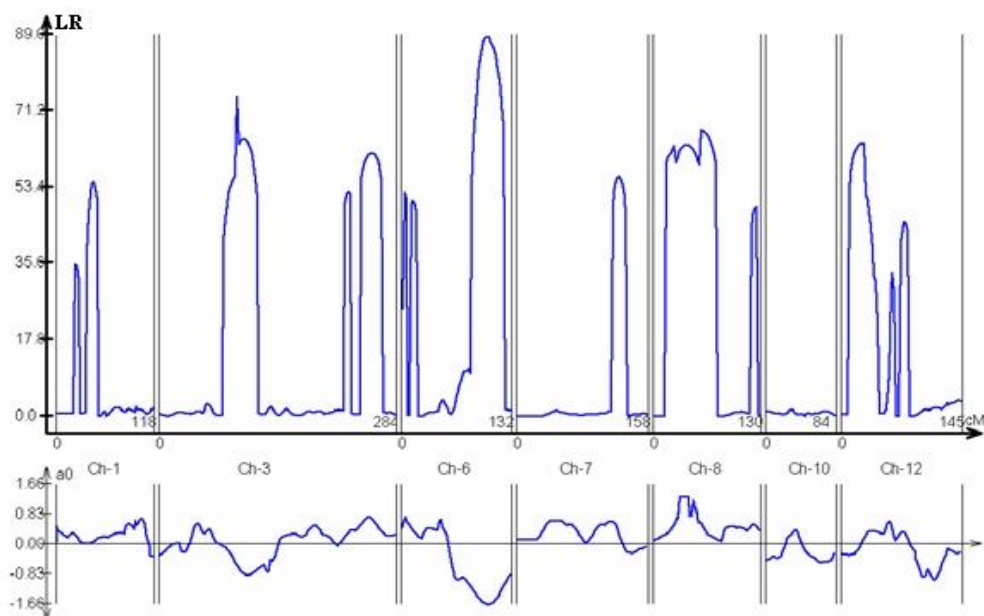
درصد واریانس	اثر افزایشی	LR	موقعیت	نشانه‌های مجاور	کروموزوم	QTL	صفت
Variance Percentage	Additive effect		Position	Flanking Markers	Chromosome		Trait
3	2.84	34	24	RM1-RM243	1	qscor1a	
15	-3.18	54	41	RM243-RM8094	1	qscor1b	
20	-7.66	75	90	RM157-RM203	3	qscor3a	
4	-2.68	48	227	RM570-RM186	3	qscore3b	
7	-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	امتیاز تحمل
12	-6.52	86	99	RM549-RM7193	6	qscore6c	
5	-2.35	55	120	RM346-RM18	7	qscore7	به شوری
5	-3.2	58	60	RM6369-RM223	8	qscore8a	Standard evaluation Score
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	
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	غلظت سدیم
6	-0.02	23	60	RM6369-RM223	8	qNa8a	
7	-1.05	20	125	RM458-RM264	8	qNa8b	در برگ
14	-1.58	17	15	RM25271-RM271	10	qNa10a	
5	-1.40	15	53	RM271-RM258	10	qNa10b	چهارم
4	-0.78	17	27	RM7003-RM27877	12	qNa12a	
3	0.20	24	43	RM27877-RM27993	12	qNa12b	Sodium Content in
15	-1.31	16	61	RM7003-RM27877	12	qNa12c	4 th leaf

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

ادامه جدول 5- 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
7	0.65	15.2	15	RM6349-RM14298	3	qK3	
5	0.12	19	5	RM508-RM170	6	qK6a	در برگ
15	-0.82	17	39	RM549-RM7193	6	qK6b	چهارم
16	1.20	28	26	RM6369-RM223	8	qK8	
10	-0.42	11.5	74	RM27993-RM163	12	qK2	Potassium Content in 4 th leaf
15	-2.3	40	46	RM243-RM8094	1	qNaK1a	نسبت سدیم به پتاسیم Na ⁺ /K ⁺ ratio in 4 th 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.

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 به ترتیب 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 سانتی‌مورگان 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 بینه 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 QTL‌ها در مطالعات مختلف، ناشی از وجود جوامع مختلف برای نقشه یابی، نشانگرهای متفاوت و تفاوت در فنوتیپ یابی است.

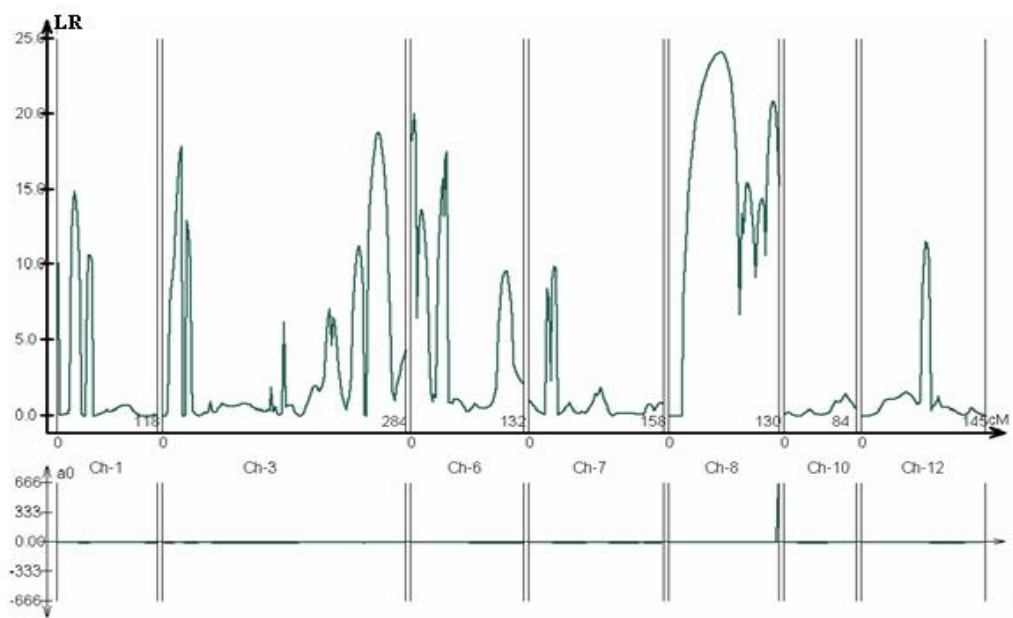
qscor 1b در ناحیه فوقانی *Saltol* روی کروموزوم 1 با ضریب تبیین 15% نیز به عنوان QTL بزرگ‌اثر شناخته شد. میزان LOD بالا برای صفات می‌تواند ناشی از انحراف تفکیکی باشد که به علت ژنوتیپ‌یابی انتخابی و استفاده از افراد کرانه ای در ژنوتیپ یابی اعمال شده است و با وجود این‌که از کل داده‌های فنوتیپی استفاده شد،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

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 بزرگ اثر شناسائی شدند (شکل 3). 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 سانتی‌مورگان 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).



شکل 3- QTL های مکان‌یابی شده برای غلظت پتاسیم در برگ چهارم.

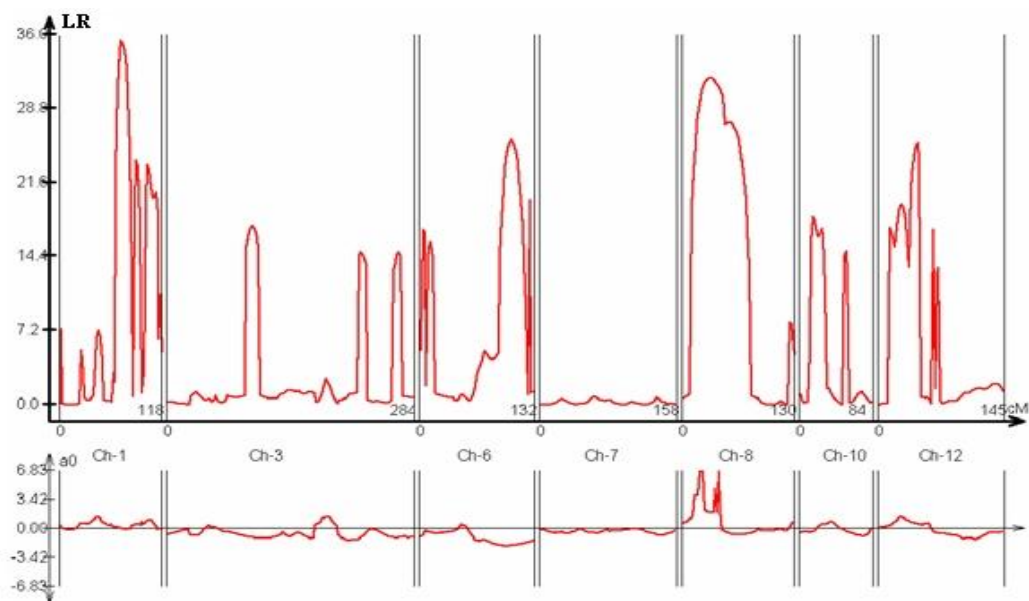
Figure 3- Identified QTLs for Potassium Content in 4th leaf.

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 شناسائی کرد. 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 تعداد QTL برای غلظت سدیم، در برگ چهارم یافت شد، به طوری که 16 عدد QTL روی کروموزوم‌های 1، 3، 6، 10.8 و 12 کنترل این صفت را برعهده داشتند (شکل 4).

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 به ترتیب 5 و 15 درصد از تغییرات را توجیه کردند. Koyama (2001)، QTL هائی برای این صفت روی کروموزوم 1 در فاصله 74 سانتی‌مورگان، کروموزوم 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



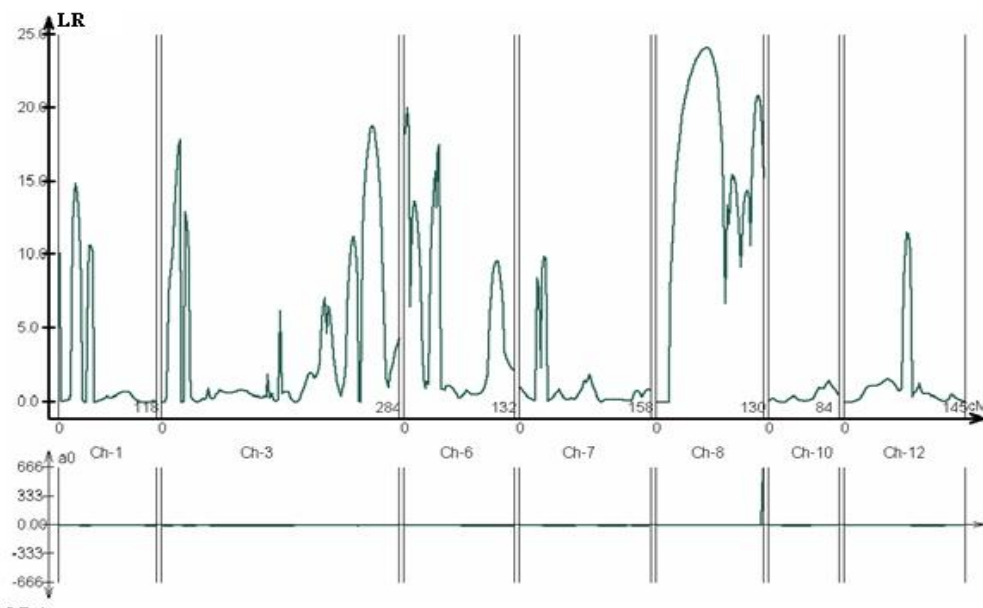
شکل 4- QTL های مکان‌یابی شده برای غلظت سدیم در برگ چهارم.
Figure 4- Identified QTLs for Sodium Content in 4th leaf.

روی کروموزوم 1 در فواصل 36/1 و 30/99 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم شناسائی کردند. Koyama و همکاران (2001) نیز دو QTL برای غلظت سدیم روی کروموزوم 1 در فواصل 56 و 74 سانتی مورگان 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 گزارش کردند، در حالی که 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 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم با ضرایب تبیین 16 و 17/1 درصد گزارش کرد، در حالی که در مطالعه حاضر سه QTL در فواصل 90، 225 و 258 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم 3 برای غلظت سدیم شناسائی شدند. در این پژوهش دو QTL برای غلظت سدیم برگ در فواصل 15 و 53 سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم 10 با ضرایب تبیین 14 و 5 درصد شناسائی شدند.

ضمن این‌که از این بین کروموزوم‌های 10، 6 و 12 بیشترین توجیه تغییرات فنوتیپی را برای این صفت داشتند. qNa1a در ناحیه *Saltol*، qNa10a، qNa12c و qNa6c به ترتیب 15، 14، 15 و 13% تغییرات غلظت سدیم را تبیین نموده و با توجه به میزان LOD بالا به‌عنوان QTL‌های 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 QTL‌ها 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 کاملاً واضح برای جذب سدیم بالا روی کروموزوم‌های 1 و 2 گزارش کردند. Lin (2004) برای غلظت سدیم اندام هوایی دو QTL

نسبت سدیم به پتاسیم
دوازده مکان ژنی برای نسبت سدیم به پتاسیم روی کروموزوم‌های 1، 6، 7، 8، 10 و 12 شناسایی 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) شناسایی شد. در این پژوهش سه QTL روی کروموزوم یک در فواصل 46، 70 و 110 سانتی-مورگان از ابتدای کروموزوم مشاهده شدند که مورگان از ابتدای کروموزوم مشاهده شدند که با نتیجه Gregorio (1997) مطابقت داشت. همچنین در پژوهش حاضر کروموزوم 10

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

سانتی مورگان از ابتدای کروموزوم 1 شناسائی نمودند که 9/1 درصد از تغییرات آن را توجیه کرد. در این پژوهش یک QTL در فاصله 70 سانتی مورگان 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 پژوهش‌های 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 می‌رسد 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.

حاوی چهار QTL برای نسبت سدیم به پتاسیم در فواصل 5، 15، 46 و 76 سانتی مورگان از ابتدای این کروموزوم بود. در نهایت با استفاده⁸ MIM، اپیستازی معنی داری بین QTL های مورد بررسی مشاهده نگردید که بیانگر استقلال آلی QTL های شناسائی شده می‌باشد و توجیه کننده بیان مستقل ژن های یاد شده در القاء تحمل به شوری می‌باشد. 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 سانتی مورگان 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 سانتی مورگان 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

⁸ Multiple Interval Mapping

- 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 Bulliten* 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