مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره 4، شماره 2، پاییز و زمستان 1391)

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

مرجان قاسم خانی[1]، قاسم محمدی نژاد*[2]

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 تلاقیIR29/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 اندازه گیری 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 مکان یابی شدند که مجموعاً تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای را کنترل می نمودند. 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*

* نویسنده مسئول: قاسم محمدی نژاد تلفن: 09133415937 Email: Mohammadinejad@ uk.ac.ir

مقدمه

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 هکتارکشت 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 گیاهچه‌ای 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 این‌صورت صفات کمی نیز با کارآیی صفات تک ژنی مطالعه خواهند شد (Botstein & Lander, 1980). نتایج بررسی‌های مولکولی برای یافتن ژن‌های کنترل کننده 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 F_8 حاصل از تلاقی Pokkali/IR29 با استفاده از نشانگر AFLP[1] 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

[1] - Amplified fragment length polymorphism

استفاده از دو نشانگر SSR و SSLP[1] 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 سانتی مورگان بین نشانگرها بود (Niones, 2004).

در پژوهشی برای ردیابیQTLهای کنترل کننده عملکرد و صفات مرتبط با آن از یک جمعیت F_2 و دو جمعیت F_3 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 معنی داری داشتند، QTLهای شناسایی شده غالباً در نواحی ژنومی مشابهی قرار داشتند. به علاوه برای اینگونه صفات، جهت اثر افزایشی QTL ها 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 ازتجزیه نشانگر AFLP گزارش کردند (Flowers *et al.*, 2000). در پژوهشی با استفاده از 76 فرد جمعیت دابل‌هاپلوئید حاصل از تلاقی IR64 که یک واریته هندی بود و Azucena به عنوان یک وایته 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 کروموزوم های 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 QTL های مرتبط با شوری استفاده شد و صفاتی چون

[2] - Simple sequence length polymorphism

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 (واریته ژاپنی حساس به شوری) - QTLهای مسئول جذب سدیم و پتاسیم را در ریشه و جوانه نقشه‌یابی نمودند (Ren *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2004). 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 می کرد. 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 QTLهای پارامتر رشد گیاه برنج، از 98 فرد جمعیت BIL[1] حاصل از تلاقی Nipponbare/Kasalath استفاده نمودند (Grigorio, 1997; Bonilla, 2002; Takehisa *et el.*, 2004). Nipponbare یک واریته نسبتاً متحمل به شوری در حالی که Kasalath حساس به شوری می باشد. بعد ازتجزیه 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.

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، ومقایسه 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[2](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 QTLهای کنترل کننده تحمل شوری در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند.

[1] - Backcross inbred lines

[2] Recombinant Inbred Line

ارزیابی ژنوتیپی

نمونه‌های برگی از جمعیت RILs و والدین (IR29 و Pokkali) تهیه شد. DNA ژنومی طبق روش تغییریافته دلاپورتا از برگ‌های جوان استخراج گردید (Delaporta, 1983). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Eppendorf در حجم 10 µl انجام شد. مخلوط واکنش حاوی بافر PCR یک برابر، 0/25 میکرولیتر MgCl2 1/5 میلی مولار، یک میکرو لیتر dNTPs، 0/5 میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت 5 میلی‌مولار ، تک پلیمراز یک واحد و 50 نانو گرم از DNA الگو بود. به منظور تکثیر قطعات DNA چرخه های PCR به شرح زیر انجام شد: بعد از 5 دقیقه واسرشت سازی در دمای 94°C، 35 چرخه شامل: یک دقیقه در دمای 94 °C، 45 ثانیه در دمای اتصال 55 °C، یک دقیقه در دمای 72 °C و بسط نهایی7 دقیقه در دمای 72 °C انجام شد. محصولات PCR در ژل پلی اکریل آمید 8% با ولتاژ 100در بافر TBE (1x) به مدت 2 ساعت تفکیک شده و سپس در اتیدیوم برماید رنگ آمیزی شدند. آغازگرها با استفاده از نقشه های 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 چندشکل الگوی نواربندی متفاوتی برای دو والد، نشان دادند. در مرحله بعد، نمونه‌های DNA افراد درون زاد نوترکیب با استفاده از 81 جفت آغازگر فوق 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 $12dsm^{-1}$ به مدت 21 روز تحت شرایط کنترل شده در فیتوترون در دمای $34^{\circ}C$ در روز و $29^{\circ}C$ 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 متحمل‌ترین 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 فلایم‌فتومتری تعیین گردید. بدین‌منظور برگ چهارم هر گیاه در لوله‌های آزمایش با 10 میلی لیتر اسید استیک 0/1 نرمال مخلوط و سپس به مدت 2 ساعت در حمام آب گرم در 90° 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)[1] 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

[1] - Optimal density

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 برگی 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 $5dsm^{-1}$ اعمال گردید و عملکرد در دو شرایط اندازه‌گیری شد. آزمایش ها در چهار تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شدند. بذرهای 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 $5dsm^{-1}$ 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 در هر گیاه شمارش گردید. درصد باروری دانه ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

درصد باروری دانه = { تعداد دانه‌های پر / (تعداد دانه‌های پر + تعداد دانه‌های پوک) } ×100

برای محاسبه عملکرد بیولوژیک گیاهان به‌طور انفرادی در آون در دمای 70°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:

{ (تیمار در شرایط نرمال - تیمار در شرایط شور) / تیمار در شرایط نرمال } ×100

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

(Basten *et al.*, 2001) برای تعیین مکان‌های کنترل کننده صفات مورد مطالعه استفاده شد. سرعت پیمایش بر روی کروموزوم‌ها برای محاسبه جزء نوترکیبی 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 نوترکیبی با نشانگرهای مجاور آزمون گردیدند. عملیات جستجو برای QTL بیشتر، مجدداً انجام شد. نام‌گذاری 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 فراونده[1] می‌باشند و توزیع فنوتیپی پیوسته ونرمال 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 ملاحظه ای از نظر صفات مرتبط با تحمل در مرحله گیاهچه ای و همچنین صفات متأثر از شوری در مرحله زایشی 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 نیمه‌متحمل 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 (جدول1) که بیانگر مکانیسم‌های متفاوت تحمل به شوری در مراحل مختلف رشد می‌باشد. برای جامعه مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری 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 معنی‌داری بین دو گروه داشتند و احتمال می رود ژن‌های مرتبط با کاهش این صفات با ژن‌های کنترل کننده تحمل در مرحله گیاهچه‌ای همبسته

[1] Transgressive Segregation

باشند (جدول1). بر اساس نتایج همبستگی، امتیاز تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای همبستگی بسیار بالا و معنی‌داری با صفات غلظت سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم و همبستگی منفی و بسیار معنی‌داری با غلظت پتاسیم داشت که حاکی از نقش مهم تعادل این نسبت در ایجاد تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای می‌باشد. از طرفی صفات مختلف متأثر از شوری در مرحله زایشی با یکدیگر همبستگی معنی‌داری داشتند که البته این ارتباط معنی‌دار کمتر از رابطه همبستگی در صفات مرتبط با مرحله گیاهچه‌ای بود. امتیاز تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای بیشترین همبستگی را با صفت درصد کاهش عملکرد بیولوژیک نشان داد ($r=0/44^{**}$) که البته علی رغم معنی‌دار شدن، میزان همبستگی بالا نیست که گویای وجود مکانیسم‌های 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 (جدول2). بنابراین تمرکز بر روی شناسایی مکانیسم ژنتیکی کنترل کننده این نسبت در القا تحمل بسیار مفید می‌باشد. در نهایت اینکه بین صفات مرتبط با تحمل در مرحله گیاهچه‌ای و صفات متأثر از شوری در مرحله زایشی همبستگی متوسط و معنی‌داری مشاهده شد، به طوری که امتیاز تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای با درصدکاهش ارتفاع گیاه، درصد کاهش وزن دانه‌های پر، درصد کاهش عملکرد 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 ژن‌ها مفید می‌باشد.

نتایج ارزیابی ژنوتیپی و مکان‌یابی QTL ها

نقشه پیوستگی

نقشه پیوستگی بر اساس اطلاعات 81 نشانگر ریزماهواره چند شکل بر روی80 رگه درون زاد نوترکیب تهیه شد. نشانگرهای گزینش-شده هر 12 کروموزم برنج را پوشش دادند. این پوشش برابر با 2085/6سانتی‌مورگان با متوسط فاصله 25/74 سانتی‌مورگان بین دو نشانگر مجاور بود. این نشانگرها که از بین 640 نشانگر چندشکل بین دو والد و براساس اطلاعات ژنتیکی گزینش شده‌اند تراکم متفاوتی برای کروموزوم‌های مختلف داشتند، به‌طوری که کروموزوم4 کمترین تعداد نشانگر را داشت. بیشترین متوسط طول گروه پیوستگی مربوط به کروموزوم 4 و برابر با 65/6 سانتی‌مورگان بود و کمترین آن به کروموزوم 10 و با طول 8/27 سانتی‌مورگان تعلق داشت و در نقشه حاصله متوسط فاصله بین نشانگرها 25/74 سانتی مورگان بود (Mohammadi-Nejad *et al.*, 2009)، که از آن برای مکان‌یابی QTLها استفاده گردید (شکل 1).

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 Reduction percentage		شرایط شور Saline condition		شرایط نرمال Natural condition		صفات Traits
میانگین Average	دامنه Range	میانگین Average	دامنه Range	میانگین Average	دامنه 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	تعدادپنجه 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	تعدادپنجه 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^+/K^+	K^+	Na^+	SES	Traits صفات
										0.910^{**}	Na^+
									-0.726^{**}	-0.747^{**}	K^+
								-0.852^{**}	0.955^{**}	0.891^{**}	Na^+/K^+
							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

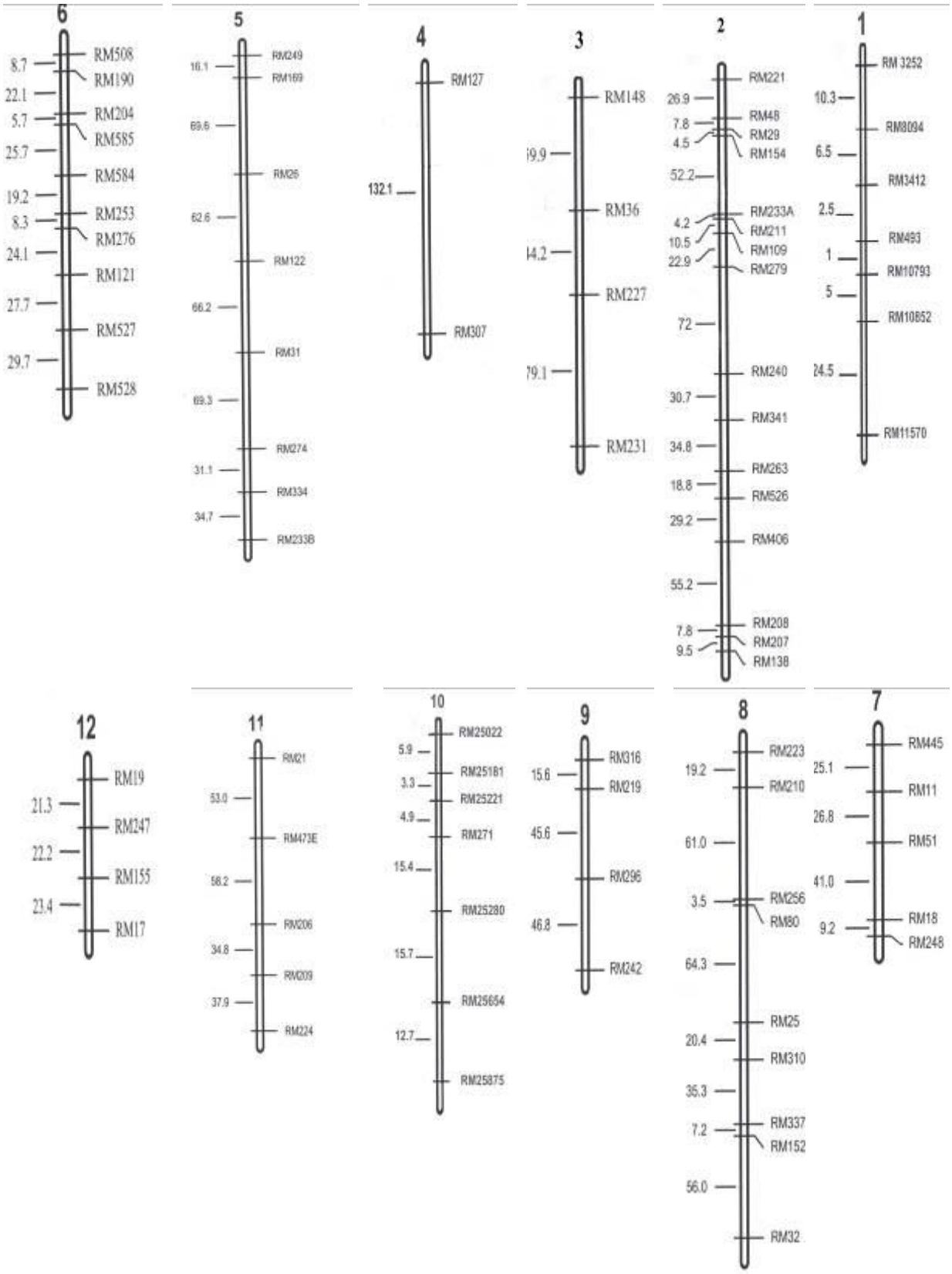
****,* معنی دار در سطوح احتمال 5 و 1درصد.**

**** 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 تعدا 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^+ concentration, K^+ concentration, Na^+/K^+ 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، 2عدد 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 ازتغییرات فنوتیپی را توجیه کرد و منشأ آن Pokkali می‌باشد (جدول 3). اگر یک QTL بتواند تنوع بیشتری را نسبت به سایر QTL های 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 و6/55 می‌باشند و همچنین ناحیه یکسانی برای این سه صفت برروی 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 شناسائی 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 ازتغییرات فنوتیپی را توجیه می کرد (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 شناسایی‌کردند (Lin *et al*., 2004). در مطالعه دیگری نیز برای این صفت در فاصله 11/46cM 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 cM 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

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 و10 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 و10 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 RM11 - RM445 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 RM25181 - RM25022 بر روی کروموزوم 10 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 هرم-سازی 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 هرم‌سازی QTL سالتول به همراه این ناحیه و ناحیه احاطه شده بین نشانگرهای RM25022 و RM25181 بهره گرفت.

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

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

Na^+: Sodium concentration, K^+: 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 Carto*g*rapher: A reference manual *a*nd 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 minipreparation: version II. Plant Molecular Biology 4: 19-21.

FAO (2005). Food and Agricultural Organization of Unated 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 o*f* Experimenta*l* Botany 51: 99-106.

Gregorio GB (1997). Tagging salinity tolerance genes in rice using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). PhD Thesis. Los Banos. Philippines.

Gregorio GB, Senadhira D, Mendoza RD (1997). Screening rice for salinity tolerance, IRRI 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^+ and K^+ 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, Rezai AM, Singh RK , H. Sabouri, Majidi MM, Fotokian MH, Moumeni A, Gregorio GB (2009). Mapping of quantitative genes controlling Na+ and K+ 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.[1], Mohammadi-Nejad G.[*2]

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