"مجله علوم زراعي ايران"
جلد ششم، شماره ٤، زمستان ١٣٨٣

مكان‌يابي ژن‌هاي كنترل‌كننده تحمل به شوري در برنج با استفاده از نشانگرهاي ريزماهواره

QTL mapping of genes affecting salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite markers

محمدحسين فتوكيان[١]، عليرضا طالعي[٢]، بهزاد قره‌ياضي[٣]، كاظم پوستينى[٤] و علی‌اكبر شاه‌نجات بوشهری[٥]

چكيده

فتوكيان، م. ح. ، ع. طالعي، ب. قره‌ياضي، ك. پوستيني، ع. ا. شاه‌نجات بوشهري، ١٣٨٣. مكان‌يابی ژن‌های كنترل‌كننده تحمل به شوری در برنج با استفاده از نشانگرهای ريزماهواره، مجله علوم زراعی ايران. جلد ٦، شماره ٤، صفحه ٣٧٣-٣٦١.

برنج به شوري نسبتآ حساس بوده و شوري رشد گياه را در مراحل مختلف از جوانه‌زني تا رسيدن كامل به درجات مختلف تحت تأثير قرار مي‌دهد. تحمل به شوري يك صفت پيچيده ژنتيكي و فيزيولوژيكي و داراي توارث كمي است. گزينش براي تحمل به شوري به كمك نشانگرهاي مولكولي، پيشرفت اصلاح را از طريق افزايش كارآيي گزينش سرعت مي‌بخشد. به منظور مكان‌يابي QTLهاي مرتبط با تحمل به شوري و تعيين سهم هر QTL در تنوع فنوتيپي صفت مربوطه، ٦٣ لاين BC_2F_5 كه از تلاقي IR64 به عنوان والد دوره‌اي و طارم مولايي به عنوان والد دهنده به دست آمده بودند در مؤسسه بين‌المللي تحقيقات برنج در فيليپين مورد مطالعه قرار گرفتند. صفات مورد مطالعه براي بررسي فنوتيپي عبارت بودند از: غلظت سديم و پتاسيم در ريشه و ساقه، وزن تر و خشك ريشه و اندام هوايي، و نسبت سديم به پتاسيم در ريشه و اندام هوايي. بررسي چندشكلي در والدين با ٢٣٥ نشانگر ريزماهواره كه كل ژنوم برنج را به طور يكنواخت پوشش مي‌دادند هم در ژل آگاروز و هم در ژل پلي آكريل آميد انجام گرفت كه در نهايت ١١٤ نشانگر چندشكلي كاملآ واضح نشان دادند و براي بررسي ژنوتيپي جمعيت مورد مطالعه استفاده گرديدند. طول نقشه كروموزمي مورد استفاده ١٦٩٢/٦ سانتي‌مورگان با متوسط فاصله ١٦/٣ سانتي‌مورگان بين دو نشانگر مجاور بود. براي همه صفات تفكيك متجاوز مثبت يا منفي مشاهده گرديد. غلظت سديم و غلظت پتاسيم در ريشه و اندام هوايي داراي ارتباط معني‌دار با يكديگر بودند. براي صفات پتاسيم اندام هوايي، وزن خشك اندام هوايي و ريشه، نسبت سديم به پتاسيم در ريشه و اندام هوايي QTLهايي به دست آمدند كه داراي اثرات افزايشي بودند. براي نسبت سديم به پتاسيم ريشه در همه كروموزم‌ها به استثناي كروموزم ٩، QTL مشاهده شد. در اين تحقيق فقط QTLهاي با LOD بزرگتراز ٤ كه به وسيله هر دو روش IM و CIM مورد تأييد قرار گرفتند بحث مي‌شوند.

كلمات كليدي: برنج، تحمل به شوري، ريزماهواره، QTL

تاريخ دريافت: ١٣٨٢/٧/٨

١ـ عضو هيأت علمی دانشگاه شاهد
٢ـ عضو هيأت علمی دانشگاه تهران
٣ـ عضو هيأت علمی مؤسسه تحقيقات بيوتكنولوژی كشاورزی
٤ـ محقق مؤسسه بين‌المللی تحقيقات برنج (IRRI)

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

مقدمه

نود درصد شالیزارهای دنیا به نوعی تحت تأثیر شوری هستند (Ansari et al. 2001). برنج به شوری نسبتاً حساس است (Gregorio, 1997; Lang et al., 2001a). شوری رشد گیاه برنج را در مراحل مختلف رشد از جوانه‌زنی تا رسیدن کامل به درجات مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد (Lang et al., 2001b). گیاه برنج در مرحله جوانه‌زنی به شوری نسبتاً متحمل، در اوایل دوره گیاهچه‌ای (۳ برگی) خیلی حساس شده و مجدداً در مرحله رشد رویشی مقاوم می‌گردد. در مرحله گرده‌افشانی و لقاح نیز به شوری حساس شده و در مرحله رسیدن دانه به طور فزآینده‌ای مقاوم‌تر می‌گردد (Moradi, 2002; Lang et al., 2001a).

اصلاح تحمل به شوری توسط محققان زیادی مطالعه شده است (Gregorio et al., 2002; Ponnamperuma, 1984; Shannon, 1984). موفقیت‌های به دست آمده در گذشته به دلیل پیچیدگی کار اصلاح برای تحمل به شوری، فقدان احساس ضرورت و فوریت واقعی برای اصلاح آن، تنوع ژنتیکی ناکافی برای تحمل به شوری، پیچیدگی اثرات متقابل شوری با عوامل محیطی و فقدان تکنیک‌های گزینشی کارآ چندان قابل توجه نبوده است (Flowers, 1995; Gregorio, 1997). در حال حاضر با پیشرفت‌هایی که در اصلاح ژرم‌پلاسم، تکنیک‌های ارزیابی (Gregorio et al., 1997)، تعیین توارث ژنتیکی (Gregorio and Senadhira, 1993; Lee et al., 1996)، استفاده از نشانگرهای ملکولی و مکان‌یابی (mapping) و نرم‌افزار (Jansen and Stam, 1994; Kearsey and Farquhar, 1998; Kearsey and Hyne, 1994) انجام گرفته، پیشرفت اصلاح برای تحمل به شوری و سایر تنش‌های غیرزنده تسهیل شده است.

طراحی استراتژی‌های اصلاحی پویا برای اصلاح تحمل به شوری در ارقام برنج نیازمند درک مکانیسم‌های تحمل به شوری است (Moradi, 2002). در برنج چندین مکانیسم برای تحمل به شوری شناسایی شده‌اند (Yeo and Flowers, 1986) که عبارتند از: ممانعت از ورود نمک، جذب نمک اضافی از آوند چوبی پس از جذب اولیه (Salt reabsorbtion)، ارتباط الکترولیتی ریشه با اندام هوایی، انتقال نمک اضافی از برگ‌های‌جوان به‌برگ‌های پیرتر (Compartmentation)، ذخیره نمک در واکوئل (Tissue tolerance) و رقیق نگه‌داشتن نمک در داخل برگ (Dilution effect). همه این مکانیسم‌ها باعث کاهش یون سدیم در بافت‌های فعال و در نتیجه منجر به کاهش نسبت یون سدیم به یون پتاسیم در اندام‌های هوایی می‌شود. نسبت یون سدیم به یون پتاسیم معیار مناسبی برای ارزیابی تحمل به شوری است. واریته‌های برنج متحمل به شوری تنها یک یا دو مکانیسم را دارند نه همه را. بهترین واکنش برای افزایش تحمل به شوری با بهینه کردن چندین صفت فیزیولوژیکی که احتمالاً مستقل از هم هستند به دست می‌آید (Flowers et al., 2000; Shehata Ismail, 1995). تحمل به شوری مانند سایر تنش‌های محیطی در گیاهان عالی یک صفت پیچیده ژنتیکی و فیزیولوژیکی است. بیشتر فرآیندهای گیاهی که در تحمل به شوری مهم هستند دارای توارث کمی بوده و تنوع پیوسته نشان می‌دهند و تحت تأثیر شرایط محیطی نیز هستند (Koyama et al., 2001).

مطالعات ژنتیکی در مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (IRRI) نشان می‌دهد که هم اثرات افزایشی و هم اثرات غالبیت ژن در توارث تقریباً همه صفات مرتبط با شوری دخالت دارند (Gregorio, 1997; Lee, 1995; Mishra et al., 1990). گریگوریو و سنادهیرا (Gregorio and Senadhira, 1993) در برنج مشخص کردند که دو گروه ژن در جذب سدیم و پتاسیم دخالت دارند: یک گروه برای ممانعت از جذب سدیم و دیگری برای جذب پتاسیم. ژن‌های موثر در انتقال سدیم و پتاسیم متفاوت هستند و جذب آن‌ها در دو مسیر مختلف و مستقل از هم انجام می‌گیرد. اصولاً جذب سدیم به

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

صورت آپوپلاستیک (Apoplastic) و برای پتاسیم انتقال یک فرآیند مبتنی بر غشاء است (Gregorio and Senadhira, 1993).

شناسایی نشانگرهای ملکولی کاملاً پیوسته با ژن مورد نظر و مکان‌یابی آن در روی کروموزم یک هدف مهم در اصلاح نباتات برای کلون کردن ژن‌ها و گزینش به کمک نشانگر (Marker-aided selection) است (Arif, 2002). مطالعه پیرامون مکان‌یابی (Mapping) و یا نشانمند کردن (Tagging) اطلاعاتی را در مورد تعداد ژن‌های کنترل‌کننده صفت و محل این ژن‌ها در نقشه لینکاژ (Linkage map) ارائه می‌دهد.

در برنج به طور بالقوه ۵۷۰۰ الی ۱۰۰۰۰ ردیف ریزماهواره (Microsatellite) با واحدهای تکراری (Motif) ۲، ۳ و یا ٤ نوکلئوتیدی (Nucleotide) متفاوت وجود دارد که می‌تواند برای ساخت یک نقشه ژنتیکی کامل برنج مورد استفاده قرار گیرد (Arif, 2002). ریزماهواره‌ها که به آن‌ها توالی تکراری ساده (Simple Sequence Repeat = SSR) نیز می‌گویند دارای یک الی ٦ جفت باز هستند و در ژنوم یوکاریوت‌ها وجود دارند (McCouch et al., 2002). این نشانگر ملکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (Polymerase Chain Reaction = PCR) است و دارای کاربرد فراوان در مطالعات ملکولی است.

مک‌کوچ و همکاران (McCouch et al., 2002) توانستند نقشه‌ای شامل ۲۲٤۰ نشانگر ریزماهواره را تهیه نمایند که کل ژنوم برنج را پوشش می‌دهد. در برنج این نشانگرها برای مکان‌یابی ژن‌ها و گزینش به‌کمک نشانگرمفید هستند (Chen et al., 1997; Moncada et al., 2001) و قادرند در بین و در درون واریته‌های برنج چندشکلی (polymorphism) نشان دهند (Akagi et al., 1996; Akagi et al., 1997;Olufowote et al., 1997; Panaud et al., 1996; Yang et al., 1994).

در برنج برای تحمل به شوری تعدادی از ژن‌های صفات فیزیولوژیکی مکان‌یابی شده‌اند (Gong et al., 1999; Koyama et al., 2001; Prasad et al., 2000). کویاما و همکاران (Koyama et al., 2001) با استفاده از نشانگرهای ملکولی AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism) , RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism) , و SSR در لاین‌های اینبرد نوترکیب (Recombinant inbred lines) نشان دادند که QTLهای (Quantitative Trait Loci) مربوط به جذب سدیم و پتاسیم و نسبت این دو در گروه‌های لینکاژی متفاوتی قرار دارند. آن‌ها برای جذب پتاسیم در کروموزم‌های یک، ٤ و ۱۲ و برای جذب سدیم در کروموزم‌های یک و ۱۰ و همچنین برای نسبت سدیم به پتاسیم در کروموزم‌های یک، ۱۰ و ۱۲ توانستند QTLهایی شناسایی کنند. گونگ و همکاران (Gong et al., 1999) نیز در کروموزم یک برنج یک QTL اصلی برای تحمل به شوری گزارش دادند. لانگ و همکاران (Lang et al., 2001a) با نشانگرهای SSR و خانواده‌های F_3 توانستند در مرحله رویشی پیوستگی معنی‌داری بین نشانگر RM223 و QTL مربوط به تحمل به شوری در کروموزم یک بیابند که ۹۲ و ۸۲ درصد تنوع فنوتیپی به ترتیب در مرحله رویشی و زایشی به این مکان ژنی نسبت داده شد.

هدف از اجرای این تحقیق مکان‌یابی QTLهای تحمل به شوری از طریق اجزاء فیزیولوژیکی تحمل به شوری، مشخص کردن اثر افزایشی هر QTL، و تعیین سهم هر QTL در تنوع فنوتیپی صفت مربوطه به کمک نشانگر ریزماهواره بوده است.

مواد و روش‌ها

۱- بررسي فنوتيپي(Phenotyping)

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل ٦۳ لاین تلاقی برگشتی پیشرفته BC_2F_5 بود که از تلاقی دو

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

واریته زراعی برنج IR64 به عنوان والد دوره‌ای(Recurrent) و واریته طارم مولایی به عنوان والد دهنده(Donor) به دست آمده بودند. واریته IR64 دارای سطح کشت گسترده در جنوب و جنوب شرقی آسیا است و نسبت به شوری و سایر تنش‌های غیر زنده دارای تحمل متوسط است (Moradi, 2002). واریته طارم مولایی که واریته بومی شمال کشور است و دارای کیفیت پخت عالی است دارای تحمل قابل توجه به شوری است.

١-١- ارزیابی لاین‌ها در شرایط شوری در فیتوترون(phytotron)

ابتدا بذرها در دستگاه جوانه‌زنی در دمای ٣٠ درجه سانتی‌گراد جوانه‌دار شدند. بذرهای جوانه زده در درون سوراخ‌های استیروفوم(Styrofoam) قرار داده شدند. برای هر لاین ٥ سوراخ در هر تکرار در نظر گرفته شد و در هر سوراخ دو بذر جوانه زده قرار داده شد. بذرهای جوانه زده به مدت ٣ روز بر روی آب مقطر و سپس بر روی محلول غذایی یوشیدا (Yoshida) قرار داده شدند. گیاهچه‌ها به مدت یک هفته با محلول یوشیدای دارای هدایت الکتریکی ٦ دسی زیمنس بر متر ($EC=6\ dsm^{-1}$) و به مدت دو هفته با محلول دارای هدایت الکتریکی ١٢ تیمار گردیدند. pH محلول غذایی به طور روزانه به اسیدیته ٥/٥ تنظیم گردید. دمای روزانه و شبانه فیتوترون به ترتیب ٢٩ و ٢٢ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ٧٠ درصد بوده است. واریته‌های برنج FL478 و IR29 به ترتیب به عنوان شاهد متحمل و حساس به شوری همراه با والدین و لاین‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند. این آزمایش در فیتوترون موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج- فیلیپین در دو تکرار اجرا گردید. ارزیابی گیاهچه‌ها از نظر تحمل به شوری طی دو مرحله- ١٥ و ٢٢ روز پس از تیمار شوری- و با استفاده از سیستم ارزیابی استاندارد (International Rice Research Institute, 2002) انجام گرفت. ریشه و اندام هوایی گیاهچه‌های ارزیابی شده از هم جدا و وزن تر با ترازوی حساس توزین گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشک ابتدا اندام‌های فوق به مدت ٣ روز در آون در دمای ٧٠ درجه سانتی‌گراد خشک شده و سپس توزین شدند (Gregorio et al., 1997; International Rice Research Institute, 2002).

٢-١- اندازه‌گیری غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم

بیست میلی‌گرم از نمونه‌های کاملاً خشک و خرد شده ریشه و اندام هوایی با ١٠ میلی‌لیتر اسید استیک ١/. نرمال مخلوط و سپس به مدت ٢ ساعت در حمام آب ٩٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. یک میلی‌لیتر از محلول صاف شده با ٩ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی (Atomic Absorbtion Spectrophotometer) مقادیر OD (Optical Density) نمونه‌ها ثبت گردید. با استفاده از فرمول رگرسیون حاصل از OD و غلظت بر حسب قسمت در میلیون (ppm) نمونه‌های استاندارد شده، مقادیر OD به ppm تبدیل گردید.

٢ - بررسي ژنوتيپي (Genotyping)

٢-١ - استخراج DNA

برای استخراج DNA چهار میلی گرم از نوک برگ گیاهچه‌ها در ٨٠٠ میکرولیتر محلول CTAB کاملاً له گردید. هفتصد میکرولیتر از مخلوط حاصل به مدت ١٥ دقیقه در حمام آب ٦٥ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از خنک شدن ٧٠٠ میکرولیتر کلروفورم به آن اضافه و به مدت ١٥ دقیقه مخلوط حاصل با شیکر تکان داده شد. پس از سانتریفوژ به مدت ٤ دقیقه در ١٥ هزار دور در دقیقه، ٥٠٠ میکرولیتر از محلول رویی(supernatant) با هزار میکرولیتر اتانول خالص مخلوط و در دمای ٢٠- درجه سانتی‌گراد به مدت ٣٠ دقیقه نگهداری شد. عمل سانتریفوژ به شرح فوق مجدداً انجام گرفت. توده DNAی به دست آمده با اتانول ٧٠ درصد شسته شد و در ٥٠ میکرولیتر محلول TE حل گردید. محلول حاصل برای استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ١٠٠ برابر با TE رقیق گردید.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

۲-۲- واکنش زنجیره اي پلیمراز و الکتروفورز DNA

برای تهیه محلول PCR به حجم ۱۰ میکرولیتر، از دو میکرولیتر محلول DNA، ٤/۷۵ میکرولیتر آب مقطر، یک میکرولیتر بافر PCR۱۰ x ، یک میکرولیتر dNTP، نیم میکرولیتر از هریک از آغازگرهای جلوبر(Forward) و عقب‌بر(Backward) و ۲۵/. میکرولیتر آنزیم تک پلیمراز (Taq polymerase) استفاده گردید. برنامه ماشین PCR به شرح زیر تنظیم گردید:یک چرخه(cycle) به مدت ۵ دقیقه دردمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه و هر چرخه شامل دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه (برای تعدادی از نشانگرها این دما ٦۱ و یا ٦٦ درجه سانتی‌گراد بوده است) دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه و یک چرخه به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد (Arif, 2002).

مطالعه چندشکلی در والدین (Parental Survey) با استفاده از ۲۳۵ نشانگر ریزماهواره و در ژل‌های پلی آکریل آمید ٥٪ و آگاروز ۳٪ انجام گرفت. تعداد ۷۲ نشانگر با ژل پلی آکریل آمید و ٤۲ نشانگر با ژل آگاروز الکتروفورز گردیدند. رنگ‌آمیزی ژل پلی آکریل آمید با نیترات نقره (Panaud et al., 1996) و رنگ‌آمیزی ژل آگاروز با اتیدیوم بروماید انجام گرفت (Arif, 2002). انتخاب نشانگر برای مطالعه چندشکلی در والدین بر اساس توزیع یکنواخت در سطح ژنوم و بررسی منابع انجام گرفت (Koyama et al., 2001; Lang et al., 2001a; Lang et al., 2001b).

۳- تجزیه‌هاي آماري و مکان‌یابي QTL

محاسبه توزیع فراوانی صفات با نرم‌افزار Excel و محاسبه ضریب همبستگی فنوتیپی پیرسون با نرم‌افزار SPSS و تجزیه QTL به کمک نرم‌افزار QTL Cartographer V.2 انجام گرفت (Basten et al., 2001). شناسایی‌ژن‌ها یا QTLهای صفات مرتبط با تحمل به شوری طی دو مرحله انجام گرفت. در مرحله نخست تجزیه با دو روش مکان‌یابی فاصله‌ای(Interval Mapping) و مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب(Composite Interval Mapping) به طور جداگانه انجام شد. در مرحله بعد فقط QTLهایی که با هر دو روش دارای آستانه (threshold)یا LOD (Logarithm of Odds) بزرگتر از ٤ بودند انتخاب گردیدند. سرعت پیمایش(Walk Speed) بر روی کروموزم‌ها برای محاسبه لینکاژ یک سانتی‌مورگان بود. برای تجزیه به روش CIM از رگرسیون جلوبر و مدل ٦ استفاده شد (Basten et al., 2001). برای ۱۱٤ نشانگر ریزماهواره که در والدین چندشکلی واضح نشان داده بودند نقشه لینکاژ به کمک نرم‌افزار Mapmaker تهیه شد. این نشانگرها کل ژنوم برنج را با ۱٦۹۲/٦ سانتی‌مورگان با متوسط فاصله ۱٦/۳ سانتی‌مورگان بین دو نشانگر مجاور پوشش دادند. حداکثر طول گروه لینکاژ در کروموزم ۳ با ۲۳۱ سانتی‌مورگان و حداقل ۹۵/۳ سانتی‌مورگان در کروموزم۱۲ بوده است.

نسبت کل واریانس ژنوتیپی قابل توجیه به وسیله هر QTL با معیار R^2 (نسبت واریانس ژنوتیپی هر QTL به واریانس ژنوتیپی صفت مورد مطالعه) برآورد گردید. نام‌گذاری QTLها بر اساس مک‌کوچ و همکاران (McCouch et al., 1997) انجام شد.

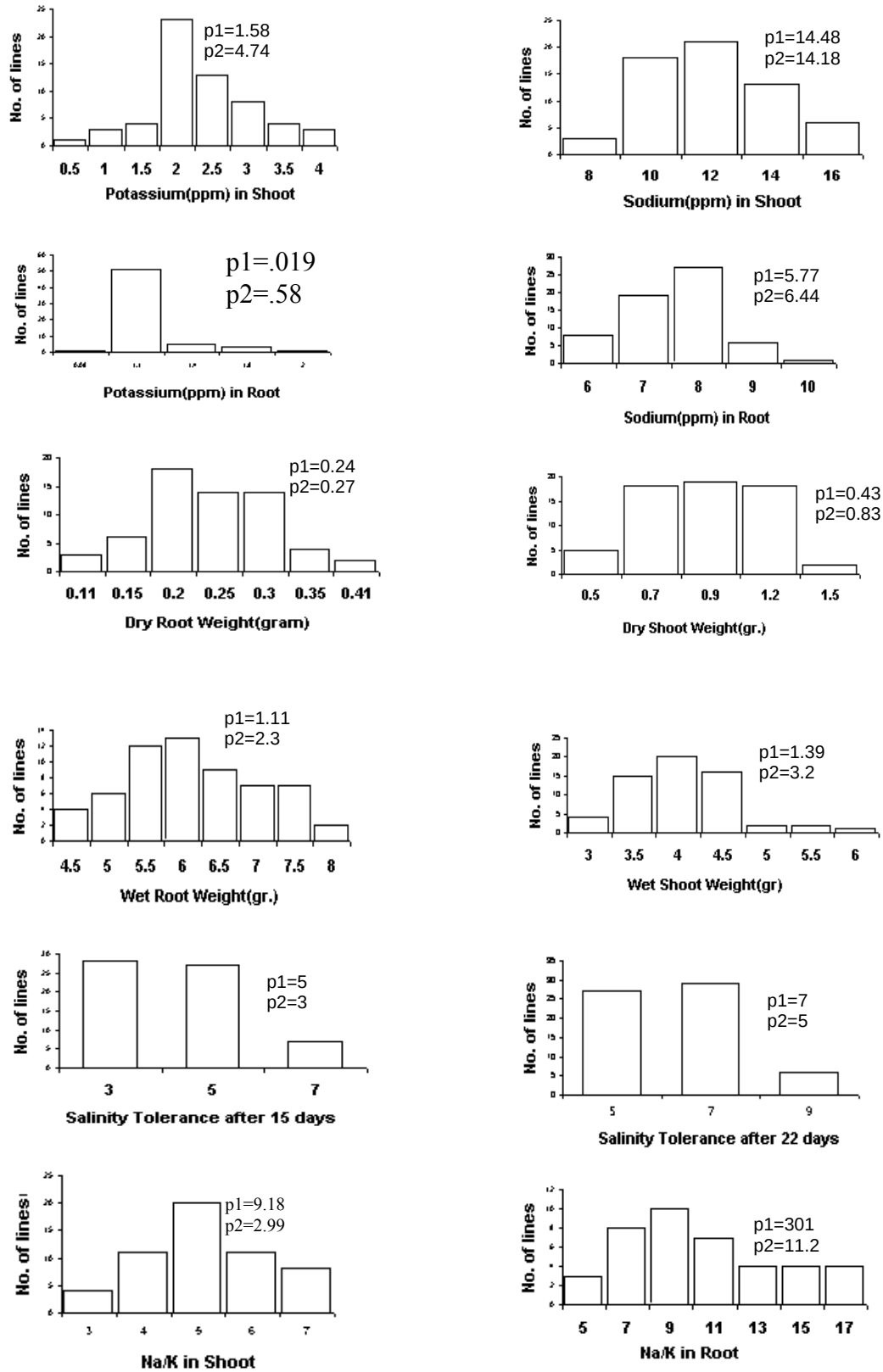
نتایج وبحث

۱- توزیع فراواني صفات

شکل ۱ توزیع فراوانی صفات را در لاین‌های BC_2F_5 به همراه میانگین والدین نشان می‌دهد. همه صفات به استثنای ارزیابی تحمل به شوری دارای توزیع پیوسته و تقریباً نرمال بودند. برای همه صفات تفکیک متجاوز(Transgressive Segregation) مثبت ویا منفی مشاهده گردید. برای مقدار پتاسیم در اندام هوایی، وزن خشک ریشه و ارزیابی تحمل به شوری میانگین جمعیت دارای چولگی (Skewness) به سمت والد دوره‌ای بوده است. برای صفات نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و وزن

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]



شکل ۱- توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در جمعیت BC_2F_5. والد دوره‌ای IR64 با P1 و والد دهنده با P2 نشان داده شده‌اند. در صفت ارزیابی تحمل به شوری عدد ۳ تحمل و عدد ۹ حساسیت به شوری را نشان می‌دهد

Fig. 1. Frequency distribution of traits under study in BC_2F_5 population. The recurrent and donor parents demonstrated by p1 and p2

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

خشک اندام هوایی چولگی به سمت والد دهنده (طارم مولایی) مشاهده شد. همه لاین‌های مورد مطالعه از نظر وزن تر ریشه مقادیر بزرگتری نسبت به والدین داشتند. نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه والد دوره‌ای بسیار بزرگ بود که ناشی از ناچیز بودن غلظت پتاسیم در ریشه این واریته بوده است. والد دوره‌ای برای صفت پتاسیم در اندام هوایی دارای بیشترین مقدار بود. در همه صفات مورد مطالعه که از اجزاء فیزیولوژیکی تحمل به شوری هستند، والد دهنده در مقایسه با والد دوره‌ای IR64 دارای علائم تحمل بیشتر به شوری بود. و این اختلاف در پتاسیم ریشه و در نتیجه در نسبت سدیم به پتاسیم ریشه حداکثر و در وزن خشک ریشه حداقل بوده است. با توجه به وجود تفکیک متجاوز قابل توجه در صفات مورد مطالعه می‌توان نسبت به شناسایی لاین‌های امیدبخش از نظر تحمل به شوری و در نتیجه به انتقال و هرمی کردن (pyramiding) ژن‌های مربوطه اقدام کرد.

۲- همبستگي بين صفات

جدول ۱ نتایج همبستگی فنوتیپی را بین صفات مورد مطالعه نشان می‌دهد. غلظت سدیم در ریشه و اندام هوایی دارای همبستگی معنی‌دار بودند و برای غلظت

جدول ۱- ضرایب همبستگی فنوتیپی بین صفات مرتبط با تحمل به شوری در جمعیت BC_2F_5

Table 1. Phenotypic correlation coefficients among traits examined in BC_2F_5 population

a	Potassium in Shoot (KS)	NaS	KR	NaR		DSW	WRW	WSW	FS	FLS	NaS/KS
Sodium in Shoot (NaS)	.23**										
Potassium in Root (KR)	.08	-.13									
Sodium in Root (NaR)	.07	-.2*	.23**								
Dry Root Weight (DRW)	.12	-.1	.04	.01							
Dry Shoot Weight (DSW)	.1	-.71**	.06	.4**	.35**						
Wet Root Weight (WRW)	.006	-.63**	.07	.38**	.29**	.89**					
Wet Shoot Weight (wsw)	.09	-.72**	.01	.39**	.32**	.97**	.89**				
Salinity Tolerance after 15 days (FS)	-.5	.63**	.08	-.36**	-.1	-.7**	-.67**	-.73**			
Salinity Tolerance after 22 days (FLS)	-.1	.67**	-.04	-.46**	-.14	-.7**	-.65**	-.74**	.65**		
NaS/KS	-.49**	.28**	-.18*	-.02	-.11	-.11	-.03	-.01	.004	.13	
NaR/KR	.002	.18*	-.24**	-.11	-.18*	-.1	-.06	-.01	.03	.1	.04

*,** : به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

* and ** : Significant at 5% and 1% level of probability respectively.

a : KS و KR = به ترتیب غلظت پتاسیم در اندام هوایی و ریشه، NaS و NaR= به ترتیب غلظت سدیم در اندام هوایی و ریشه ، DRW و DSW= به ترتیب وزن خشک ریشه و اندام هوایی، WRW و WSW= به ترتیب وزن تر ریشه و اندام هوایی، FS و FLS = به ترتیب ارزیابی ۱۵ و ۲۲ روزه در تیمار شوری در فیتوترون، NaS/KS = نسبت غلظت سدیم به پتاسیم در اندام هوایی، NaR/KR = نسبت غلظت سدیم به پتاسیم در ریشه،

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

پتاسیم این رابطه معنی‌دار نبوده است. غلظت‌های سدیم و پتاسیم هم در ریشه و هم در اندام هوایی با هم همبستگی معنی‌دار داشتند. غلظت سدیم در اندام هوایی با وزن تر اندام هوایی و ریشه ارتباط معنی‌دار داشت و جهت این ارتباط منفی بوده است. در حالی که این رابطه برای غلظت سدیم ریشه مثبت و معنی‌دار بود و این می‌تواند بدان معنی باشد که هر چه غلظت سدیم در اندام هوایی بیشتر می‌شود بدلیل کاهش فتوسنتز و مواد آلی از میزان وزن کاسته می‌شود. ارزیابی تحمل به شوری در فیتوترون با غلظت سدیم در ریشه و اندام هوایی دارای ارتباط معنی‌دار بود. این نتیجه مورد انتظار بود زیرا با افزایش سدیم ، اثرات سوء شوری از طریق کاهش رشد و خشک شدن برگ‌ها ظاهر می‌گردد. غلظت سدیم در اندام هوایی با نسبت سدیم به پتاسیم ریشه همبستگی معنی‌دار داشت و این ارتباط از طریق همبستگی معنی‌دار سدیم اندام هوایی با سدیم ریشه ایجاد شده است گرچه سدیم اندام هوایی با پتاسیم ریشه فاقد ارتباط معنی‌دار بود. پتاسیم ریشه با سدیم اندام هوایی ارتباط معنی‌دار نداشت ولی با نسبت سدیم اندام هوایی به پتاسیم اندام هوایی همبستگی داشت و این ارتباط می‌تواند از طریق سدیم ریشه باشد زیرا این صفت با سدیم اندام هوایی دارای همبستگی معنی‌دار بود. رابطه

جدول ٢- QTLهای مکان‌یابی شده برای صفات مرتبط با تحمل به شوری در جمعیت BC_2F_5

Table 2. The QTLs diticted for salinity tolerance traits in BC_2F_5 population

Traits صفات	کروموزم Chromosome	فواصل نشانگر Marker interval b	QTL	LOD	R^2 c	اثر افزایشی Additive effect
Potassium in shoot (KS)	1	RM583-M23	QKs1	4.1	21.8	-8
	8	RM25-M339	QKs8	5.7	20.9	13.7
Dry root weight (DRW)	5	RM163-M161	QDrw5	7.2	27.8	8.5
Dry shoot weight (DSW)	5	RM163-M161	QDsw5	7.2	23.7	8.5
Sodium-potassium ratio in shoot (NaS/KS)	7	RM214-RM11	QNas/Ks7	12.7	24.6	-18.5
	11	RM287-M229	QNas/Ks11	11.5	17.4	-12
Sodium-potassium ratio in root (NaR/KR)	1	RM431-M14	QNar/Kr1	6.2	7.3	60
	2	RM71-M300	QNar/Kr2	6.7	4.8	-64
	3	RM16-M203	QNar/Kr3	6.2	9.3	-58
	4	RM261-M273	QNar/Kr4	7.2	7.5	-54
	5	RM289-M163	QNar/Kr5	5.6	2.6	58
	6	RM204-M314	QNar/Kr6	7.7	1.5	-54
	7	RM172-M51	QNar/Kr7	6.6	25	-50
	8	RM25-M339	QNar/Kr8	8.9	28	67
	10	RM474-M216	QNar/Kr10	7.1	8.3	-75
	11	RM287-M229	QNar/Kr11	4.1	12.7	-58
	12	RM247-M313	QNar/Kr12	13.8	21.2	-69

a: Ks = غلظت پتاسیم در اندام هوایی ، DRW و DSW: به ترتیب وزن خشک ریشه و اندام هوایی، NaS/KS= نسبت غلظت سدیم به پتاسیم در اندام هوایی، NaR/KR = نسبت غلظت سدیم به پتاسیم در ریشه،

b: نشانگرهایی که زیرشان خط کشیده شده به QTL مربوطه نزدیکتر هستند. b: Underlined markers are more closer to QTL.

c: واریانس فنوتیپی نسبت داده شده به هر QTL c: Phenotypic variance explained by each QTL.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

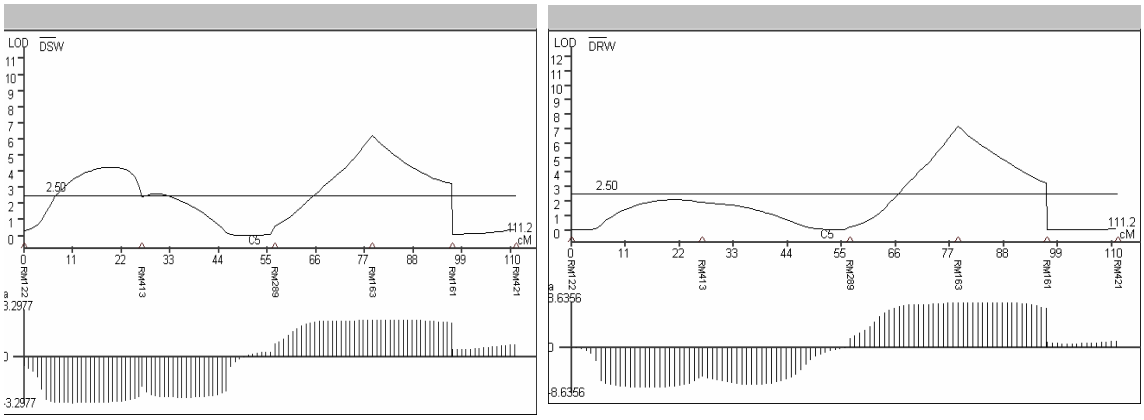
معنـی‌دار ارزیـابی‌هـای تحمـل بـه شـوری در تیمـار شوری ۱۵ و ۲۲ روزه (**۶۵/. = R) و همسـویی واکـنش آن‌هـا با سایر صفات مـی‌توانـد مؤیـد اسـتفاده از تیمـار شـوری ۱۵ روزه بـه جـای ۲۲ روزه باشـد کـه در ایـن صورت در میزان مصرف امکانات و زمـان اخیـر ارتبـاط معنی‌دار صرفه‌جویی خواهد شد. پتاسیم ریـشه بـا پتاسـیم و سدیم اندام هوایی همبستگی نداشت ولی بـا نـسبت دو صفت همبستگی نشان داد و این رابطه می‌تواند از طریـق سدیم ریشه تحقق پیدا کنـد زیـرا سـدیم ریـشه و سـدیم اندام هوایی دارای همبستگی معنی‌دار بودند.

۳- مکان‌یابي QTLها

در جدول ۲ QTLهای مکان‌یابی شـده بـرای صـفات مرتبط با تحمل بـه شـوری در جمعیـت مـورد مطالعـه بـه همـراه موقعیـت QTLهـا در کرومـوزم، LOD، نـسبت واریانس ژنوتیپی و اثر افزایشی ارائه شده است. همه ایـن QTLهـا دارای اثـرات افزایـشی(additive) و فاقـد اثـر غالبیت و اپیستازی بودند. لاین‌های مـورد مطالعـه تقریبـاً خـالص هـستند و لـذا اثـرات ژنتیکـی از نـوع افزایـشی است .

این QTLها در همه ۱۲ کرومـوزم بـرنج بـه اسـتثنای کرومـوزم ۹ حـضور داشـتند و بخـش قابـل تـوجهی از واریـانس ژنـوتیپی بـرای صـفات انـدازه‌گیـری شـده در جمعیت مورد مطالعه به آن‌ها نسبت داده شد.

بزرگتـرین LOD در صـفت نـسبت سـدیم بـه پتاسـیم ریـشه بـا مقـدار ۱۳/۸ مـشاهده شـدکه QTL مربوطـه در کرومـوزم ۱۲ قـرار داشـت و توانـست ۲۱/۲ درصـد واریانس ژنوتیپی صفت را به خود نسبت دهد. ایـن QTL بر صفت فوق اثر کاهـشی داشـت و لـذا مـی‌توانـد بـرای تحمل به شوری مفید باشد. البته در تجزیه بـه روش CIM بزرگترینLOD در صفت نسبت سـدیم بـه پتاسـیم انـدام هوایی مـشاهده گردیـد. ایـن QTL در کرومـوزم ۲ قـرار داشت و مقدار LOD آن بزرگتر از ۱٤ بوده اسـت. یـک QTL مـشترک بـرای وزن خـشک ریـشه و وزن خـشک انـدام هـوایی کـه در کرومـوزم ۵ قـرار داشـت از طریـق نشانگر RM163 شناسایی گردید. این QTL با اثر افزایشی ۸/۵ باعث افزایش مقدار در صـفات فـوق مـی‌گـردد. در شکل ۲ موقعیت این QTL در کروموزم ۵ نشان داده شده است.



شکل ۲- مو قعیت نشانگر RM163 در کروموزم ۵ که با QTL وزن خشک ریشه ارتباط معنی‌دار دارد

Fig. 2. Location of RM163 in chromosome 5 linked to QTL for Dry root weight

بـین روش‌هـای CIM و IM از نظـر ارائـه QTL تفاوت‌هـایی مـشاهده گردیـد. بـرای مثـال بـرای صـفات سـدیم انـدام هـوایی و سـدیم ریـشه در روش IM هـیچ QTL ی مشاهده نشد در حـالی کـه در روش CIM بـرای

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

صفات فوق QTL به دست آمد. در هر دو روش برای نسبت سدیم به پتاسیم ریشه در همه کروموزم‌ها باستثنای کروموزم ۹، QTL به دست آمد. برای سدیم وپتاسیم ریشه گرچه هیچ QTLی به دست نیامد ولی برای نسبت این دو تعداد QTLهای به دست آمده قابل توجه است. برای پتاسیم اندام هوایی دو QTL که در کروموزم‌های ۱ و ۸ قرار داشتند به دست آمد که اولی دارای اثر افزایشی منفی و دیگری دارای اثر افزایشی مثبت بود. نوع مثبت باعث افزایش پتاسیم در اندام هوایی می‌شود که برای اصلاح تحمل به شوری مفید است. برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی یک QTL به دست آمد که در کروموزم ۱۱ قرار داشت و دارای اثر افزایشی منفی بوده است. این QTL نیز برای تحمل به شوری مفید است. برای صفت مورد مطالعه در کروموزم ۹ هیچگونه QTL ی به دست نیامد. کویاما و همکاران (Koyama et al., 2001) با نشانگر RFLP توانستند برای غلظت پتاسیم در اندام هوایی در کروموزم یک QTL پیداکنند. در این تحقیق نیز در این کروموزم برای صفت فوق QTL به دست آمد که ممکن است در همان مکان واقع باشد.

QTLهای ارایه شده در جدول ۲ دارای LOD> ٤ هستند. برای این صفات و تعداد دیگری از صفات نیز QTL با LOD کمتر از ٤ و بزرگتر از ۲/۵ به دست آمد که در جدول ارائه نشده‌اند. به عبارت دیگر نتایج به دست آمده حالت پلی‌ژن بودن صفات مورد مطالعه را مورد تأیید قرار می‌دهد و این حالت برای صفت نسبت سدیم به پتاسیم ریشه بسیار معنی‌دار است و برای این صفت تعداد قابل توجهی QTL به دست آمد.

لانگ و همکاران (Lang et al., 2001b) توانستند برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی در کروموزم ۷ از طریق نشانگر RM214 یک QTL شناسایی کنند. در این تحقیق نیز ما توانستیم برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی این QTL را با LOD= ۱۲/۷ شناسایی کنیم که توانست بیش از ٢٤/٦ درصد واریانس ژنوتیپی را به خود نسبت دهد.فلاورز و یئو (Flowers and Yeo, 1995) با نشانگر AFLP توانستند در کروموزم ٤ برای نسبت سدیم به پتاسیم یک QTL شناسایی کنند. ما هم در این تحقیق برای نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و اندام هوایی توانستیم QTL پیدا کنیم که احتمالاً ممکن است این دو QTL مشابه باشند. کویاما وهمکاران (Koyama et al., 2001) توانستند با نشانگر RM261 برای نسبت سدیم به پتاسیم در کروموزم ٤ یک QTL پیدا کنند. ما هم توانستیم در این جمعیت با این نشانگر یک QTL برای نسبت سدیم به پتاسیم ریشه شناسایی کنیم که دارای LOD>۷/۱ بود و حدود ۷/۵ درصد واریانس ژنوتیپی صفت فوق به این QTL نسبت داده شد و همچنین دارای اثر افزایشی منفی بود و از این‌رو می‌تواند برای اصلاح تحمل به شوری به ویژه در هرمی کردن مورد استفاده قرار گیرد. گریگوریو (Gregorio, 1997) نیز توانست با نشانگر AFLP برای نسبت سدیم به پتاسیم سه QTL در کروموزم‌های یک، ۱۰ و ۱۲ مکان‌یابی کند. ما هم در این تحقیق برای صفت فوق توانستیم در کروموزم‌های یاد شده QTL پیدا کنیم که ممکن است با نتایج گریگوریو مشابه باشند.

گرچه در جمعیت مورد مطالعه نشانگرهای به کار رفته کل ژنوم برنج را پوشش دادند ولی در بعضی نقاط و در بعضی از کروموزم‌ها مثل کروموزم‌های ۱، ٦، ۷ و۱۲ در مناطقی به دلیل فقدان چندشکلی بین والدین از نظر آغازگرهای این نواحی، این پوشش کامل نبوده است. بروندانی و همکاران (Brondani et al., 2001) و همچنین عارف (Arif, 2002) در کروموزم‌های ۱، ٤، ٥، ٦، ۷ و ۱۰ چندشکلی کمتر از میزان مورد انتظار مشاهده کردند. تولید و استفاده از نشانگرهای ریزماهواره بیشتر (McCouch et al., 1997; Temnykh et al., 2001) برای افزایش تعداد نشانگرهای مکان‌یابی شده در همه کروموزم‌ها مفید خواهد بود و همچنین دقت مکان‌یابی QTL را تسهیل خواهد کرد.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

انتقال QTLهای مؤثر در این تحقیق بدرون یک زمینه ژنتیکی مناسب به کمک نشانگر (Marker aided introgression) می‌تواند روش خوبی در اصلاح تحمل به شوری در برنج باشد.

References

Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki and T. Fujimura. 1996. Microsatellite DNA markers for rice chromosomes.Theor. Appl. Genet. 93: 1071-1077.

Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki and T. Fujimura. 1997. Highly polymorphic microsatellites of rice consist of AT repears, and a classification of closely related cultivars with these microsatellite loci. Theor. Appl. Genet. 94: 61-67.

Ansari, R., A. Shereen, T.J. Flowers and A. R. Yeo. 2001. Identification rice lines for improved salt tolerance from a mapping population. In: Peng, S. and B. Hardy (eds.). Rice research for food security and poverty alleviation. Proceeding of the International Rice Research Conference,31 March- 3 April 2000, Los Banos, Philippines. pp: 285-291.

Arif, M. 2002. Molecular mapping of genes/QTLs affecting resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* and grain quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). PhD thesis. University of Philippines in Los Banos. Philippines.

Basten, C. J., B. S. Weir and Z. B. Zeng. 2001. QTL cartographer,version 1.15. Department of statistics, North carolina state university. Raleigh, NC. USA.

Brondani, C., R. P. V. Brondani, P. H. N. Rangel and M. E. Ferreira. 2001. Development and mapping of *Oryza glumaepatula* derived microsatellite markers in the interspecific cross *Oryza glumaepatula* x *Oryza sativa*. Hereditas 134: 59-71.

Chen, X., S. Temnykh, Y. Xu, Y. G. Cho and S. R. McCouch. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice. Theor. Appl. Genet. 95: 553-567.

Flowers, T. J. and A. R. Yeo. 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? Aust. J. Plant Physiology. 22: 875-884.

Flowers, T. J., M. L. Koyama, S. A. Flowers, C. Sudhakar, K. P. Singh and A. R. Yeo. 2000. QTL: their place in engineering tolerance of rice to salinity. Journal of Experimental Botany. 51: 99-106.

Gong, J. M., P. He, Q. A. Qian, L. S. Shen, L. H. Zhu and S. Y. Chen. 1999. Identification of salt-tolerance QTL in rice. Chin. Sci. Bull. 4: 68-71.

Gregorio, G. B. 1997. Tagging salinity tolerance genes in rice using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). PhD thesis. University of Philippines in Los Banos.

Gregorio G. B. and D. Senadhira. 1993. Genetic analysis of salinity tolerance in rice. Theor. Appl. Genet. 86: 333-338.

Gregorio, G. B., D. Senadhira and RD. Mendoza. 1997. Screening rice for salinity tolerance. IRRI Discussion paper series No. 22.International Rice Research Institute. Philippines.

Gregorio, G. B., D. Senadhira and R. D. Mendoza. 2002. Progress in breeding for salinity tolerance and associated abiotic stresses in rice. Field Crop Research. 79: 91-101.

Internationl Rice Research Institute. 2002. Standard Evaluation System for rice (SES). Internationl Rice Research Institute.Philippines. 56 pages.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

Jansen, R. C. and P. Stam. 1994. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. Genetics 136: 1447-1455.

Kearsey, M.J. and A.G.L. Farquhar. 1998. QTL analysis in plants; where are we now? Heredity 80: 137-142.

Kearsey, M. J. and V. Hyne. 1994. QTL analysis: a simple marker-regression approach. Theor. Appl. Genet. 89: 698-702.

Koyama, M. L., A. Levesley, R. M. D. Koebner, T. J. Flowers and A.R. Yeo. 2001. Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. Plant Physiology 125: 406-422.

Lang, N. T., S. Yanagihara, and B. C. Buu. 2001a. A microsatellite marker for a gene contributing salt tolerance on rice at the vegetative and reproductive stages. SABRAO Journal of Breeding and Genetics 33: 1-10.

Lang, N. T., S. Yanagihara, and B. C. Buu. 2001b. QTL analysis of salt tolerance in rice (*Oryza sativa L.*). SABRAO Journal of Breeding and Genetics. 33: 11-20.

Lee, K. S. 1995. Variability and genetics of salt tolerance in japonica rice. PhD thesis. University of Philippines,Los Banos. Philippines.

Lee, K. S., D. Senadhira and G. B. Gregorio. 1996. Genetic analysis of salinity tolerance in japonica rice. SABRAO Journal of Breeding and Genetic 28: 7-13.

McCouch, S. R., L. Teytelman, Y. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xiang, Q. Zhang, I. Kano, M. Yano, R.F. Jellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Wave and L. Stein. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa L.*).DNA Research 9: 199-207 and 257-279.

McCouch, S. R.,Y. G. Cho, M. Yano, E. Paul, and M. Blinstrub. 1997. Report on QTL nomenclature. Rice Genetic Newsletter. 14: 11-13.

Mishra, B., M. Akba and D. V. Seshu. 1990. Genetic studies on salinity tolerance in rice towards better productivity in salt-affected soils. Proceeding of the paper presented at the rice research seminar. July, 12.International Rice Research Institute. Philippines.

Moncada, P., C. P. Martinez, J. Borrero, M. Chatel, H. Gauch, E. Guimaraes, J. Tohme, and S.R. McCouch. 2001. Quantitative trait loci for yield and yeild components in an *Oryza sativa* x *Oryza rufipogon* BC_2F_2 population evaluated in an upland environment. Theor. Appl. Genet. 102: 41-52.

Moradi, F. 2002. Physiological characterization of rice cultivars for salinity tolerance during vegetative and reproductive stages. PhD thesis. University of Philippines, Los Banos. Philippines.

Mori, I. and T. Kinoshita. 1987. Salt tolerance of rice callus clones. Rice Genetic Newsletter 4: 112-113.

Olufowote, J. O., Y. Xu, X. Chen, W. O. Park, H.M. Beachell, R. H. Dilday, M. Goto, and S. R. McCouch. 1997. Comparative evaluation of within cultivar variation of rice using microsatellite and RFLP markers. Genome 40: 370-378.

Panaud, O., X. Chen and S. R. McCouch. 1996. Development microsatellite markers and charactrization of Simple Sequence Length Polymorphism (SSR) in rice. Mol. Gen. Genet. 252: 597-607.

Ponnamperuma, F. N. 1984. Role of cultivar tolerance in increasing rice production in saline lands. Strategies for crop improvement. John Willey and Sons. 443 pages.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

Prasad, S. R., P. G. Bagali, S. Hiltalmani and H. E. Shashidhar. 2000. Molecular mapping of quantitative trait loci associated with seedling tolerance to salt stress in rice. Curr. Sci. 78: 162-164.

Shannon, M. C. 1984. Breeding, selection and the genetics of salt tolerance.In: Staples, R.CR and G.H. Toenniessen (eds.). Salinity tolerance in plants. Johan willey and Sons. pp: 231-254.

Shehata, I. S. M. 1995. Genetic studies on salt and drought tolerance in rice. PhD thesis. Zagazig university. Egypt.

Temnykh, S., G. DeClerk, A. Lukashova, N. Lipovich, S. Cartinhour, and S. R. McCouch. 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa L.*): frequency, length variation, transposon associations, and genetic. Genome Research 11 (8): 1441-1452.

Yang, G. P., M. A. Saghai Maroof, C. G. Xu, Q. Zhang and R. M. Biyashew. 1994. Comparative analysis of microsatellited DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. Mol. Gen. Genet. 245: 187-194.

Yeo, A. R. and T. J. Flowers. 1986. Salinity resistance in rice and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils. Aust. Journal of Plant Physiology 13: 161-173.

Zhang, G. Y., Y. Guo, S. L. Chen and S. Y. Chen. 1995. RFLP tagging of a salt tolerance gene in rice. Plant Science 110: 227-234.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

QTL mapping of genes affecting salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite markers

Fotokian[1], M., A. Taleie[2], B. Ghareyazie[3], K. Postini[4], A. A. Shahnejat Bushehri[5] and Z-k. Li[6]

ABSTRACT

Rice is moderately sensitive to salinity. Salinity affects virtually all aspects of rice growth in varying degree at all stages from germination through maturity. Tolerance to salinity is genetically and physiologically complicated and inherited quantitatively. Application of molecular-marker aided selection technique for improvement of salinity tolerance would accelerate breeding progress by increasing selection efficiency. In order to map the Quantitative Trait Loci (QTLs) for salinity tolerance in rice and determine the contribution of each QTL in phenotypic variation, 63 advanced backcross lines (BC_2F_5) derived from a cross between IR64 as recurrent parent and Tarom Molaii as donor parent, were used. The phenotypic traits under study included: Sodium(Na) and Potassium(K) concentration in root and shoot, dry and wet weight of root and shoot, Na^+:K^+ ratio in root and shoot. Polymorphism between the two parents was assesed using 235 SSR markers with uniform coverage on all 12 linkage groups, through which 114 markers showed polymorphism and assigned for genotyping. The map length was 1692.6 cM with an average interval size of 16.3 cM. Transgressive segregation was observed for all traits. We found QTLs with additive effects for K^+ in shoot, dry weight of root and shoot, Na^+:K^+ ratio in root and shoot. At least one QTL was mapped for Na^+:K^+ ratio in root, on all chromosomes except chromosome 9. All detected QTLs had significant threshold (LOD>4) and also approved by both IM and CIM methods.

Key words: Rice (*Oryza sativa* L.), Salinity tolerance, Microsatellite, QTL, Na:K ratio, Transgressive segregation.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-08-02]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1383.6.4.1.2]

Recieved: September, 2003

1- Scientific board member of shahed University, Iran
3- Scientific board member of Agrcultural Biotechnology Research Institute Iran
2 , 4 and 5- Scientific board member g the University of Tehran, Iran